ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

"DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA EL ANÁLISIS DE SURFACTANTES ANIÓNICOS Y COMPUESTOS FENÓLICOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA Y DE CADMIO Y PLOMO POR VOLTAMETRÍA, EN MUESTRAS DE AGUA"

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

PAÚL ESTEBAN MÉNDEZ SILVA

e-mail: paulestebanms@gmail.com

DIRECTOR: DR. PATRICIO CARRERA

e-mail: info@hidroecuador.com

CODIRECTOR: ING. LUIS JARAMILLO

e-mail: luis.jaramillo@epn.edu.ec

Quito, Noviembre 2010

DERECHOS DE AUTOR

© Escuela Politécnica Nacional 2010

Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo Paul Esteban Méndez Silva, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

_____

Paul Esteban Méndez S.

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Paul Esteban Méndez Silva, bajo mi supervisión.

Dr. Patricio Carrera.	Ing. Luis Jaramillo
DIRECTOR DE PROYECTO	**CODIRECTOR DEL PROYECTO**

DEDICATORIA

A Dios, quien me guía y acompaña en cada momento de mi vida.

A mi Madre Dolorosa,

A mis Padres, por toda su dedicación y amor; por ser mi soporte en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación y Control Ambiental, a la Ingeniera Carola Fierro, al Ingeniero Luis Jaramillo, a las Ingenieras Pamela Sierra, Maria Eugenia Suing y a todo el personal del laboratorio por su apoyo y por compartir su tiempo, experiencia y conocimientos durante el desarrollo de mi tesis.

Al Doctor Patricio Carrera, cuyos conocimientos y guía han sido muy importantes para el desarrollo exitoso de este proyecto.

A mis padres y a mi familia por su soporte y amor incondicional en todo momento de mi vida.

A mis amigos Edsson, Diego, Mary, Gaby, Marcelo, Mauricio…, quienes han compartido conmigo estos años de universidad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PÁGINA

RESUMEN **xxiii**
INTRODUCCIÓN **xxv**
ABREVIATURAS **xxvii**
GLOSARIO **xxx**

1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA **1**

1.1 Sistemas de gestión de la calidad 1

1.1.1 Introducción 1

1.1.2 Normas 1

1.1.2.1 ISO 9001 – Calidad 1

1.1.2.2 ISO 17025: Requisitos generales para la competencia de laboratorios 2

1.2 Revisión de conceptos estadísticos 3

1.2.1 Definiciones 3

1.2.1.1 Precisión 3

1.2.1.2 Exactitud 4

1.2.2 Tipos de errores en los datos experimentales 4

1.2.2.1 Errores sistemáticos 5

1.2.2.2 Errores aleatorios 6

1.2.2.3 Distribución de los errores experimentales 7

1.2.3 Análisis de varianza ANOVA 7

1.2.4 Incertidumbre de las medidas 11

1.2.4.1 Definición 11

1.2.4.2 Propagación de incertidumbres 11

1.3 Espectrofotometría 12

1.3.1 Aspectos cuantitativos de las medidas espectroquímicas 13

1.3.1.1 Transmitancia 14

1.3.1.2 Absorbancia 14

1.3.2 La ley de Beer 14

1.3.2.1 Limitaciones de la ley de Beer 15

1.3.2.2 Aplicación de la ley de Beer a mezclas 16

1.3.2.3 Medida de la transmitancia y de la absorbancia *17*
1.3.3 Espectroscopia ultravioleta - visible 18
1.3.4 Análisis por espectrofotometría UV-visible 19
1.4 Electroquímica 20
1.4.1 Voltametría 20
1.4.1.1 Electrolito de soporte *23*
1.4.1.2 Corriente faradáica y corriente capacitiva *23*
1.4.1.3 Barrido de potencial *24*
1.4.1.4 Potencial y corriente de pico *25*
1.4.2 Técnicas voltamétricas 26
1.4.2.1 Voltametría lineal de barrido *26*
1.4.2.2 Voltametría cíclica *27*
1.4.2.3 Voltametría de pulso diferencial *27*
1.4.2.4 Voltametría de onda cuadrada *28*
1.4.2.5 Voltametría de redisolución *29*
1.4.2.6 Instrumento de medición *30*
1.4.3 Método de adición de estándares 30
1.4.3.1 Introducción *30*
1.4.3.2 Método de adición de estándares múltiples. *31*
2 PARTE EXPERIMENTAL 33
2.1 Puesta a punto de los métodos 33
2.1.1 Necesidad analítica 33
2.1.2 Descripción del método 33
2.1.2.1 Fenoles *33*
2.1.2.2 Surfactantes aniónicos *34*
2.1.2.3 Metales pesados: Cd y Pb *35*
2.1.3 Ensayos preliminares 35
2.1.3.1 Fenoles *35*
2.1.3.2 Surfactantes aniónicos *35*
2.1.3.3 Metales pesados: Cd y Pb *36*
2.1.4 Preparación de las muestras 37
2.1.4.1 Fenoles *37*

2.1.4.2 Surfactantes aniónicos *37*
2.1.4.3 Metales pesados: Cd y Pb *38*
2.1.5 Procedimientos de análisis 39
2.1.5.1 Fenoles *39*
2.1.5.2 Surfactantes aniónicos *41*
2.1.5.3 Metales Pesados: Cd y Pb *43*
2.1.6 Calibración de equipos 47
2.1.6.1 Espectrofotómetro HACH DR-2800 *47*
2.1.6.2 Analizador electroquímico CH instruments *48*
2.2 Sistema de validación de los métodos 49
2.2.1 Elección de los parámetros de validación 49
2.2.2 Fijación de objetivos para los parámetros de validación. 49
2.2.3 Diseño experimental y estadístico 50
2.2.3.1 Surfactantes aniónicos *51*
2.2.3.2 Fenoles *52*
2.2.3.3 Tratamiento estadístico para los métodos espectrofotométricos *53*
2.2.3.4 Metales pesados: cadmio y plomo *53*
2.2.3.5 Modelos matemáticos para el tratamiento de datos *54*
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN **68**
3.1 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos 68
3.2 Discusión de resultados 68
3.2.1 Surfactantes aniónicos 68
3.2.1.1 Ensayos preliminares *70*
3.2.1.2 Análisis de varianza simple *73*
3.2.1.3 Exactitud, precisión e incertidumbre *75*
3.2.1.4 Función de respuesta *77*
3.2.1.5 Límite de detección y cuantificación *77*
3.2.2 Fenoles 78
3.2.2.1 Ensayos preliminares *79*
3.2.2.2 Análisis de varianza simple *81*
3.2.2.3 Exactitud, precisión e incertidumbre *81*
3.2.2.4 Función de respuesta: *83*

3.2.2.5 Límite de detección y cuantificación *83*
3.2.3 Análisis de voltamétrico de metales 83
3.2.3.1 Ensayos preliminares *86*
3.2.3.2 Cadmio *99*
3.2.3.3 Plomo *103*
3.3 Informe final y declaración del método validado 108
3.3.1 Surfactantes aniónicos 109
3.3.2 Fenoles 112
3.3.3 Metales pesados: cadmio y plomo 113
3.3.3.1 Cadmio *113*
3.3.3.2 Plomo *114*
4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 115
4.1 Conclusiones 115
4.1.1 Surfactantes aniónicos 115
4.1.2 Fenoles 116
4.1.3 Cadmio y plomo 116
4.2 Recomendaciones 118
BIBLIOGRAFÍA 119
ANEXOS 123

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1.1.	Resumen de los cálculos necesarios para ANOVA	10
Tabla 2.1.	Parámetros utilizados para la afinación del método voltamétrico	36
Tabla 2.2.	Volumen de muestra a utilizar según concentración esperada, para el análisis de surfactantes anióncos.	38
Tabla 2.3.	Rango del método a emplearse según concentración esperada para el análisis de metales pesados.	39
Tabla 2.4.	Parámetros generales del barrido SWV para el análisis de metales pesados	44
Tabla 2.5.	Parámetros del preacondicionamiento para cada rango	44
Tabla 2.6.	Concentración del estándar de adición según el rango	45
Tabla 2.7.	Objetivos de la validación para surfactantes aniónicos	49
Tabla 2.8.	Objetivos de la validación para fenoles	50
Tabla 2.9.	Objetivos de la validación para metales pesados (Cd y Pb)	50
Tabla 2.10.	Niveles de concentración para cada rango de concentraciones	51
Tabla 2.11.	Niveles de concentración escogidos para el rango de concentración a validar	52
Tabla 2.12.	Niveles de concentración para cada rango de concentraciones a validar	53
Tabla 3.1.	Recuperación para estándares de 0,020 y 0,025 mg/L para el análisis de surfactantes aniónicos	70
Tabla 3.2.	Resultados de las pruebas de significancia entre muestras analizadas con y sin el pretratamiento con alcohol isopropílico y peróxido de hidrógeno	71
Tabla 3.3.	Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo	73
Tabla 3.4.	Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio	74
Tabla 3.5.	Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto	74
Tabla 3.6.	Resultados para la prueba de Cochrand para el rango de dilución	74
Tabla 3.7.	Recuperación sobre una matriz real.	75
Tabla 3.8.	Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango bajo	75
Tabla 3.9.	Resultados de los parámetros de precisión e incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos	75

Tabla 3.10. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango medio 76
Tabla 3.11. Resultados de los parámetros de validación para el método de surfactantes aniónicos 76
Tabla 3.12. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración del rango alto 76
Tabla 3.13. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para diluciones 76
Tabla 3.14. Resultados de los parámetros de validación para el método de surfactantes aniónicos 76
Tabla 3.15. Función de respuesta en cada rango para el método de análisis de surfactantes aniónicos 77
Tabla 3.16. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de surfactantes aniónicos 78
Tabla 3.17. Recuperación para estándares de 0,01 y 0,020 mg/L de fenoles 79
Tabla 3.18. Resultados de la prueba de significancia para el pretratamiento de muestras por destilación 80
Tabla 3.19. Resultados del análisis ANOVA para el método de fenoles 81
Tabla 3.20. Resultados del análisis ANOVA para las diluciones del método de fenoles 81
Tabla 3.21. Recuperación sobre una matriz real. 82
Tabla 3.22. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración 82
Tabla 3.23. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para diluciones 82
Tabla 3.24. Resultados de los parámetros de validación para el método de fenoles 82
Tabla 3.25. Función de respuesta para el método de análisis de fenoles 83
Tabla 3.26. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de fenoles 83
Tabla 3.27. Coeficientes de variación para la altura y área del pico, en el análisis de cadmio 86
Tabla 3.28. Coeficientes de variación para la altura y area del pico, en el análisis de plomo 86
Tabla 3.29. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo 99

Tabla 3.30. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio 99
Tabla 3.31. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto 100
Tabla 3.32. Recuperación sobre una matriz real 100
Tabla 3.33. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango bajo 100
Tabla 3.34. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados 101
Tabla 3.35. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango medio 101
Tabla 3.36. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados 101
Tabla 3.37. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango alto 101
Tabla 3.38. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados en el rango alto 101
Tabla 3.39. Recuperación para estándares de 1, 2 y 2,5 ppb de cadmio 102
Tabla 3.40. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de cadmio 103
Tabla 3.41. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo 103
Tabla 3.42. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio 104
Tabla 3.43. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto 104
Tabla 3.44. Recuperación sobre una matriz real 105
Tabla 3.45. Exactitud obtenida a diferentes niveles de concentración para el rango bajo 105
Tabla 3.46. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados 105
Tabla 3.47. Exactitud obtenida a diferentes niveles de concentración para el rango medio 105
Tabla 3.48. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados 105
Tabla 3.49. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango alto 106

Tabla 3.50. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados 106
Tabla 3.51. Recuperación para estándares de 1, 2 y 2,5 ppb de plomo 106
Tabla 3.52. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de plomo 107
Tabla I.1. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de surfactantes aniónicos 124
Tabla I.2. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de surfactantes aniónicos 125
Tabla I.3. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de surfactantes aniónicos 126
Tabla I.4. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para las diluciones del método de surfactantes aniónicos 126
Tabla I.5. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el método de análisis de fenoles. 127
Tabla I.6. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para las diluciones del método de análisis de fenoles 128
Tabla I.7. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de análisis de cadmio 128
Tabla I.8. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de análisis de cadmio 129
Tabla I.9. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de análisis de cadmio 130
Tabla I.10. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de análisis de plomo 130
Tabla I.11. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de análisis de plomo 131
Tabla I.12. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de análisis de plomo 132
Tabla III.1. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango bajo 142
Tabla III.2. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango medio 143

Tabla III.3. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: Rango alto 144
Tabla III.4. Desviación estándar de los blancos y límites de detección 144
Tabla III.5. Límites de confianza para el método de fenoles 145
Tabla IV.1. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo 146
Tabla IV.2. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio 147
Tabla IV.3. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto 148
Tabla IV.4. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración de diluciones 149
Tabla IV.5. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo 150
Tabla IV.6. Cálculo de la incertidumbre por linealidad para el rango bajo 150
Tabla IV.7. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo 150
Tabla IV.8. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango bajo 151
Tabla IV.9. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo 151
Tabla IV.10. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango medio 151
Tabla IV.11. Cálculo de la incertidumbre de linealidad 151
Tabla IV.12. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio 152
Tabla IV.13. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango medio 152
Tabla IV.14. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango medio 152
Tabla IV.15. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango alto 153
Tabla IV.16. Cálculo de la incertidumbre por linealidad para el rango alto 153
Tabla IV.17. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango alto 153
Tabla IV.18. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango alto 154
Tabla IV.19. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango alto 154
Tabla IV.20. Cálculo de la incertidumbre del método 154
Tabla IV.21. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración 155

Tabla IV.22. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración de las diluciones 156
Tabla IV.23. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia 156
Tabla IV.24. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia 157
Tabla IV.25. Cálculo de la incertidumbre por linealidad 157
Tabla IV.26. Cálculo de la incertidumbre de análisis 158
Tabla IV.27. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad 158
Tabla IV.28. Cálculo de la incertidumbre de calibración 158
Tabla IV.29. Cálculo de la incertidumbre del método de análisis de fenoles 159
Tabla IV.30. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo 160
Tabla IV.31. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio 161
Tabla IV.32. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto 162
Tabla IV.33. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia 162
Tabla IV.34. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo 163
Tabla IV.35. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para los rangos medio y alto 163
Tabla IV.36. Cálculo de la incertidumbre del estándar de adición 163
Tabla IV.37. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo 164
Tabla IV.38. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio y alto 164
Tabla IV.39. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo 165
Tabla IV.40. Cálculo de la incertidumbre de calibración para los rangos medio y alto 165
Tabla IV.41. Cálculo de la incertidumbre del método de análisis de cadmio 165
Tabla IV.42. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo 166
Tabla IV.43. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio 167
Tabla IV.44. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto 168

Tabla IV.45. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia 168
Tabla IV.46. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo 169
Tabla IV.47. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para los rangos medio y alto 169
Tabla IV.48. Cálculo de la incertidumbre del estándar de adición 169
Tabla IV.49. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo 170
Tabla IV.50. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio 170
Tabla IV.51. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango alto 171
Tabla IV.52. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo 171
Tabla IV.53. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango medio 171
Tabla IV.54. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango alto 172
Tabla IV.55. Cálculo de la incertidumbre del método 172

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

Figura 1.1. Curva de Gauss. 7

Figura 1.2. Esquema de un espectrofotómetro 17

Figura 1.3. Reacción en el electrodo de Trabajo 21

Figura 1.4. Etapas durante el barrido de Potencial 25

Figura 1.5. Voltametría Lineal. SE = potencial de inicio, EE = potencial final, t0 y tf, tiempo inicial y final del barrido, Δd, potencial entre datos, ΔT tiempo de muestreo. 26

Figura 1.6. Voltametría Cíclica. SE = potencial de inicio, EE = potencial final, t0 y tf, tiempo inicial y final del barrido, Δd, potencial entre datos, ΔT tiempo de muestreo. 27

Figura 1.7. Voltametría de Pulso Diferencial. 28

Figura 1.8. Voltametría de Onda Cuadrada. 28

Figura 1.9. Esquema del circuito para mediciones voltamétricas 30

Figura 1.10. Esquema de la medición voltamétrica por adición de estándares 32

Figura 2.1. Reacción del Fenol con la 4-Aminoantipirina 34

Figura 2.2. Parámetros para la voltametría cíclica del ferricianuro de potasio 46

Figura 2.3. Voltametría cíclica sobre ferricianuro de potasio con electrodo de carbón vítreo 46

Figura 3.1. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango bajo. 72

Figura 3.2. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango medio. 72

Figura 3.3. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango alto. 73

Figura 3.4. Recta obtenida en las pruebas preliminares de linealidad para el método de fenoles 80

Figura 3.5. Respuesta del método en función del potencial de deposición para el análisis de 10 ppb de cadmio 88

Figura 3.6. Respuesta del método en función del potencial de deposición para el análisis de 5 ppb de plomo 88

Figura 3.7. Respuesta del método en función de la frecuencia para el análisis de cadmio 89
Figura 3.8. Respuesta del método en función de la frecuencia para el análisis de plomo 90
Figura 3.9. Cambio del ancho de pico con la frecuencia. A la izquierda respuesta a una frecuencia de 225 hz; a la derecha respuesta a 125 hz. (Análisis de una muestra de 5 ppb de cadmio bajo las condiciones ya señaladas) 90
Figura 3.10. Altura y area del pico en función de la amplitud para el análisis de cadmio 91
Figura 3.11. Altura y area del pico en función de la amplitud para el análisis de plomo 91
Figura 3.12. Repuesta del método de análisis de cadmio a distintos volúmenes de adición de solución 1 mM de mercurio 92
Figura 3.13. Respuesta del método de análisis de Cadmio a distintas concentraciones de la solución de mercurio 92
Figura 3.14. Repuesta del método para el análisis de plomo a distintos volúmenes de adición de solución 1 mM de mercurio 93
Figura 3.15. Respuesta del método para análisis de plomo a distintas concentraciones de la solución de mercurio 93
Figura 3.16. Coeficiente de variación en medidas sucesivas en función del potencial y tiempo de preacondicionamiento para el análisis de cadmio 94
Figura 3.17. Coeficiente de variación en medidas sucesivas en función del potencial y tiempo de preacondicionamiento para el análisis de plomo 95
Figura 3.18. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango bajo 96
Figura 3.19. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango bajo 96
Figura 3.20. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango medio 97
Figura 3.21. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango medio 97
Figura 3.22. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango alto 98
Figura 3.23. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango alto 98
Figura III.1. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango bajo 142

Figura III.2. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango medio 143

Figura III.3. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango alto 144

Figura III.4. Límites de confianza para el método de fenoles 145

ÍNDICE DE ANEXOS

PÁGINA

ANEXO I

DATOS EXPERIMENTALES **124**

ANEXO II

EJEMPLOS DE CÁLCULO **133**

ANEXO III

RECTAS DE CALIBRACIÓN Y LÍMITES DE CONFIANZA **142**

ANEXO IV

CÁLCULOS DE ANOVA E INCERTIDUMBRES **146**

ANEXO V

DIAGRAMAS DE CAUSA EFECTO **173**

ANEXO VI

PROCEDIMIENTO PARA LA INTRODUCCIÓN DE RECTAS DE CALIBRACIÓN EN EL ESPECTROFOTÓMETRO **179**

RESUMEN

La validación de los métodos físico químicos empleados en el análisis de muestras de aguas en el Laboratorio del Centro de Investigaciones y Control Ambiental (CICAM), es un paso importante para que éste pueda garantizar a sus clientes la calidad de sus servicios y cumplir con los requisitos necesarios para la acreditación. Con el fin de colaborar en esta tarea, este trabajo desarrolla los pasos necesarios para la validación de cuatro métodos físico-químicos de análisis, basados en el sistema de gestión de calidad implementado en el laboratorio y la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025.

El primer método validado se utiliza para al análisis de surfactantes aniónicos y abarca concentraciones de 0,025 a 100 mg/L. El método demostró poseer una exactitud, precisión e incertidumbre que cumple con los objetivos planteados previamente tanto sobre los estándares como sobre matrices reales. Los resultados finales reportan una incertidumbre del 20% para el rango bajo y alto, y una incertidumbre del 15% para el rango medio. El coeficiente de variación de repetibilidad y de reproducibilidad fue menor al 5% en todos los rangos.

El segundo método validado permite el análisis de compuestos fenólicos en un rango de concentraciones de 0,020 a 0,500 mg/L y hasta 2,000 mg/L con una dilución 1 a 5. El método satisface los objetivos planteados en cuanto a recuperación, precisión e incertidumbre. Los resultados finales reportaron una incertidumbre del método de 26% y coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad menores al 5%.

Finalmente se validaron métodos voltamétricos para la detección de cadmio y plomo en tres rangos que abarcan concentraciones entre 0,0025 a 1,0000 mg/L. El análisis de Cd se validó con una incertidumbre del 25% para el rango bajo y del 20% para el rango medio y alto. El coeficiente de repetibilidad y reproducibilidad para todos los rangos resultó cercano al 8%. El método para la detección de plomo, se validó con una incertidumbre del 25% para el rango bajo y medio y del 20% para el rango alto. El coeficiente de repetibilidad y reproducibilidad para los rangos bajo y medio resultó cercano al 8% y menor al 6% para el rango alto.

Los resultados obtenidos en este trabajo proveerán al laboratorio la evidencia necesaria para la validación de los métodos; sin embargo, hay que señalar para el caso de los métodos que usan voltametría, que este tipo de análisis se encuentra aún sujeto a importantes investigaciones en una amplia gama de campos, y en este contexto el procedimiento propuesto en este trabajo se podría considerar como una primera aproximación, que puede ser sujeta a diferentes mecanismos de mejora producto de futuras investigaciones.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las mediciones que se realizan en el campo de la química han mostrado un rápido crecimiento, principalmente en el área de la química analítica (MIDE, 2008). Gran parte de este crecimiento se atribuye a diversos problemas relacionados con la contaminación ambiental, el tratamiento de desechos y en general a un mayor compromiso por el mejoramiento en la calidad de los productos, este último resulta ser un factor clave en la competitividad de los mismos.

Los resultados que un laboratorio analítico emite puede afectar las decisiones que en un momento dado determinaran el éxito o fracaso de una organización, la aplicación de una política correcta de control ambiental, las decisiones en un litigio en transacciones comerciales ya sea a nivel nacional e internacional, etc. (ASGCLA, 1999)

La realización de un análisis de laboratorio no es un proceso que se efectúe en forma aislada, en la mayor parte de los casos se requiere materiales, reactivos, instrumentos y personal capacitado, encargado de realizar los análisis a través de métodos o procedimientos estandarizados. Todos estos elementos son indispensables en el proceso de control de calidad de las mediciones de un laboratorio. (L&S Consultores, 2004)

Todo Laboratorio requiere de métodos analíticos fiables, para cumplir con las normativas nacionales e internacionales, en todas las áreas de análisis. Por lo tanto, es indispensable que un laboratorio deba tomar las medidas pertinentes para asegurarse de que es capaz de producir, y de que produce efectivamente, datos con el nivel necesario de calidad. Dichas medidas comprenden:

- utilización de métodos de análisis validados;
- utilización de procedimientos internos de control de calidad;
- participación en ensayos de aptitud; y,
- obtención de la certificación según una norma internacional, habitualmente ISO/IEC 17025.

Así, la validación de métodos es un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables. La validación del método es necesaria, ya que permite conocer los parámetros de desempeño del método y proporcionar un alto grado de confianza y seguridad en el método y en los resultados que se obtienen al aplicarlo.

La validación de los métodos físico químicos empleados en el análisis de muestras de aguas, es por tanto un paso muy importante para el Laboratorio del Centro de Investigaciones y Control Ambiental (CICAM), con el fin de garantizar a sus clientes la calidad de sus servicios. La validación de estos métodos permitirá al laboratorio, además de garantizar que los resultados emitidos por estos análisis sean confiables, cumplir con las normas de calidad establecidas en la normativa nacional e internacional.

ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
APHA	American PublicHealthAssociation
ASV	Voltametría de redisolución anódica
$\bar{x}_i$	Media grupal por día
x_{ij}	Lectura observada en el día
SDC_B	Suma de diferencias cuadráticas entre grupos
DCM_B	Diferencias cuadráticas medias entre grupos
SDC_W	Suma de diferencias cuadráticas dentro de grupos
DCM_W	Diferencias cuadráticas medias dentro de grupos
SDC_T	Suma de diferencias cuadráticas totales
DCM_T	Diferencias cuadráticas medias totales
C_i	Concentración muestra i
G_{max}	G de Cochran
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
ISO	Organización Internacional de Estandarización
L_{est}	Respuesta del equipo estimada
$\bar{x}$	Media general
P_{MR}	Concentración promedio del material de referencia
S_{LP}	Desviación estándar de la recta
S_{Lo}	Desviación estándar de la intersección con el eje
S_R	Desviación estándar de reproducibilidad
S_m	Desviación estándar del coeficiente de regresión
U_M	Incertidumbre expandida del método
V_i	Volumen muestra i
n_A	Número de datos grupo A
n_B	Numero de datos grupo B
s_i	Desviación estándar de cada grupo
s_{max}	Desviación estándar máxima
u_{Aforo}	Incertidumbre por el aforo con cloroformo

u_{C1}	Incertidumbre de la concentración del estándar
u_{CalEq}	Incertidumbre de calibración del equipo
u_{FR}	Incertidumbre de la función de respuesta
u_L	Incertidumbre de la lectura
u_{Lo}	Incertidumbre de la intersección en el origen
u_{MR}	Incertidumbre del material de referencia
u_R	Incertidumbre de reproducibilidad
u_{V1}	Incertidumbre del volumen de alícuota
u_{V2}	Incertidumbre del volumen de aforo
$u_{análisis}$	Incertidumbre de análisis
u_{deriva}	Incertidumbre de deriva
u_m	Incertidumbre del coeficiente de regresión
$u_{método}$	Incertidumbre estándar del método
$u_{muestra}$	Incertidumbre por el volumen de muestra
u_r	Incertidumbre de repetibilidad
$u_{resolución}$	Incertidumbre de la resolución del equipo
α	Nivel de significación
FR	Función de respuesta
F	Estadístico para el análisis de varianzas
k	Coeficiente de cobertura
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
n	Observaciones totales
p	Número de observaciones por día
q	Número de días de experimentación
s	Desviación estándar
SWV	Voltametría de onda cuadrada
Sd	Desviación estándar combinada
Sr	Desviación estándar de repetibilidad
t	T de Student
CV_R	Coeficiente de variación de reproducibilidad
CVr	Coeficiente de variación de repetibilidad

L	Respuesta del equipo
Lo	Intersección de la ordenada en el origen de las abscisas
P	Concentración observada
m	Coeficiente de regresión
τ	T de Student calculado

GLOSARIO

Aguas Naturales

Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Aguas Residuales

Las aguas de composición variada provenientes de descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Blanco

Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Calibración

Es el conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada, y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, mediante los cuales se realiza una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento. (CEM, 2008)

Calidad

Se define como calidad, a la totalidad de las características y propiedades de un producto o de un servicio que permiten que este satisfaga necesidades implícitas o fijadas.

Descarga

Acción de verter infiltrar, depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando éste es un bien del dominio público de la Nación. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Límite de cuantificación del método

Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método. (CEM, 2008)

Límite de detección del método

Es la mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método. (CEM, 2008)

Material de Referencia

Es el material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien definidos para ser utilizados para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición, o para asignar valores a los materiales. (CEM, 2008)

Material de Referencia Certificado

Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de las propiedades están certificados por un procedimiento que establece la trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad, y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza. (CEM, 2008)

Medición

Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Mensurando

Se define como mensurando la magnitud particular sujeta a medición. (Norma NMX-AA-039-SCFI-2001)

Resolución

Mínima variación de la magnitud medida que da lugar a una variación perceptible de la indicación correspondiente. (CEM, 2008)

Trazabilidad

Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por la cual este puede ser relacionado con referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones que tienen todas las incertidumbres determinadas. (CEM, 2008)

Validación

La validación de un método analítico es el proceso que permite obtener la evidencia necesaria para demostrar que los resultados producidos por el análisis son fiables y reproducibles, y que el método es adecuado para la aplicación en la que se emplea. La validación permite documentar la calidad del procedimiento analítico y determina sus características sobre la base de criterios tales como la exactitud, precisión, límite de detección, rango de aplicación, etc. (INEN-ISO/IEC 17025:2006)

El proceso de validación obliga a investigar todas las posibles fuentes de error y a eliminarlas. De esta forma se demuestra que el método origina resultados que pueden ser trazados hasta las referencias elegidas. Adicionalmente debe garantizar que el laboratorio que emplea el método de análisis cuenta con estructuras adaptadas, personal capacitado, e instrumentos adecuados y convenientemente calibrados y mantenidos.

1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Sistemas de gestión de la calidad

1.1.1 Introducción

Un sistema de gestión de calidad es un conjunto de normas internacionales, que determinan cómo de organizar y administrar de forma ordenada una empresa u organización, para que esta pueda garantizar la calidad de sus productos o servicios.

Algunos de los principales elementos que constituyen un sistema de gestión de calidad son:

1. La estructura de la organización: Descrita como un organigrama, documenta la jerarquía en los niveles directivos y de gestión.
2. Como se estructuran las responsabilidades de las distintas personas y departamentos.
3. Los procedimientos destinados a controlar de manera permanente las acciones de la organización.
4. Los procesos o secuencia de operaciones que permiten lograr objetivos específicos dentro de la organización.
5. La identificación y descripción clara de los recursos económicos, humanos y técnicos.

1.1.2 Normas

1.1.2.1 ISO 9001 – Calidad

La Norma ISO 9001 ha sido elaborada por el Comité Técnico ISO/TC176 de ISO (Organización Internacional para la Estandarización) y especifica los requisitos necesarios para lograr un buen sistema de gestión de la calidad dentro de las organizaciones. Se basa en la norma BS 5750, publicada en 1979 por la entidad de normalización británica, la British Standards Institution (BSI). Su primera

publicación se dio en 1987 y después se revisó para su segunda publicación en 1994. En el año 2000 se publicó una tercera edición, que incluía cambios importantes acerca de la conceptualización e implementación de sistemas de gestión de calidad. En el 2008 se publicó su cuarta y más reciente edición: ISO 9001:2008, diseñada como una revisión menor con el fin de mejorar su entendimiento y aclarar algunos requisitos. (MDC, 2009)

Algunos de los beneficios que se señalan, son producto de la aplicación de esta norma dentro de una organización se pueden resumir en los siguientes puntos:

- La organización que implementa un Sistema de Gestión de Calidad en base a la norma ISO 9001 tiene la oportunidad de ordenar, estructurar y simplificar su forma de administrar el negocio.
- En la organización se genera una cultura de evaluación en base a indicadores de las actividades o procesos de la empresa.
- La Alta Dirección de la organización tiene la oportunidad de identificar y definir los proces os clave o básicos de su negocio.
- Los involucrados en el proyecto de implementación de la norma generan un alto sentido de pertenencia hacia la organización, debido a que participan activamente en la revisión y definición de sus propios procesos y actividades.
- Se implementan mejoras en el control y reacción ante situaciones como quejas de clientes, atención a nuevos proyectos, cuantificación de costos de calidad, etc.
- Se accede a nuevos mercados debido a que la Certificación del Sistema de Gestión de Calidad es para muchos clientes un requisito mandatorio.

1.1.2.2 ISO 17025: Requisitos generales para la competencia de laboratorios

La norma ISO/IEC 17025 es el principal estándar utilizado para laboratorios de ensayo y calibración. Los Requerimientos Generales para la Competencia de Laboratorios de Calibración y Ensayo se publicaron por ISO en diciembre de 1999 y se revisaron en mayo de 2005 para homologar conceptos con la versión ISO 9001:2000. Esta norma es el resultado de la asociación entre La Organización Internacional de Normas y La Comisión Electrotécnica Internacional. La norma

reemplaza la Guía ISO 25 y EN 45001 e introduce un mayor énfasis en las responsabilidades del administrador y requerimientos explícitos para el mejoramiento continuo del sistema de gestión con un enfoque particular en la comunicación con el cliente. (INEN-ISO/IEC 17025, 2006)

La ISO/IEC 17025 contiene dos secciones principales: Requisitos de gestión y Requisitos Técnicos. Los requisitos de gestión se relacionan principalmente con la operación y eficiencia del sistema de gestión de calidad dentro del laboratorio. Los requerimientos técnicos tratan sobre la competencia del personal, metodología y calibración/ensayo de equipos.

Esta norma cumple con los requerimientos técnicos de la ISO 9000,por tanto, toda organización que cumple con los requerimientos de ISO 17025 también cumple con los requerimientos de ISO 9000, aunque no del modo inverso. (QSIINC, 2009)

Adicionalmente la norma permite homologación de la acreditación de los laboratorios y la aceptación de la información de ensayo en todo el mundo.

1.2 Revisión de conceptos estadísticos

1.2.1 Definiciones

1.2.1.1 Precisión

El termino precisión describe la reproducibilidad de las medidas o la cercanía entre resultados obtenidos *exactamente de la misma manera.*

La precisión de un conjunto de datos, se puede definir en función de la desviación estándar, varianza y el coeficiente de variación. Estos informan sobre cuánto difiere un dato particular (x_i) de la media un resultado, o su desviación respecto a la media (d_i).

$$d_i = |x_i - \bar{x}| \qquad [1.1]$$

1.2.1.2 Exactitud

La exactitud indica la cercanía de la medida al valor aceptado o verdadero y se expresa mediante el error. La exactitud mide la concordancia entre un resultado y el valor aceptado. Con frecuencia se desconoce el valor verdadero y en su lugar, se usa un valor aceptado.

Recientemente se ha generalizado la exactitud para abarcar el desplazamiento total de un resultado respecto a su valor de referencia, y abarca tanto el error sistemático como el error aleatorio. La precisión describe por tanto la desviación producto de errores aleatorios y los errores sistemáticos están abarcados por el sesgo o veracidad (CEM, 2008) y, se expresan en términos del error absoluto o relativo.

1.2.2 Tipos de errores en los datos experimentales

Toda medición analítica está acompañada de errores e incertidumbre, la fuente más común de errores se deriva de calibraciones o estandarizaciones deficientes, o de variaciones e incertidumbres aleatorias en los resultados.

Las calibraciones, estandarizaciones y análisis frecuentes de muestras conocidas se pueden utilizar en ciertos casos para disminuir los errores, con excepción de los errores aleatorios y las incertidumbres. El error máximo que se puede tolerar en el resultado depende del método elegido y el tiempo necesario para realizar el análisis.

Los análisis químicos se ven afectados por dos tipos de errores: el error aleatorio (o indeterminado), hace que los datos se dispersen más o menos de forma simétrica con respecto a un valor medio. Este error se refleja en la precisión.

El segundo tipo de error, se conoce como error sistemático (o determinado) y hace que la media de un conjunto de datos difiera del valor aceptado.

Adicionalmente existe un tercer tipo de error, conocido como error bruto. Este ocurre de manera ocasional, suele ser grande, y se debe a errores graves por parte del analista o mal funcionamiento del equipo. (Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.1 Errores sistemáticos

Los errores sistemáticos tienen un valor definido y se asignan a una causa definida, son de la misma magnitud y signo para medidas duplicadas que se efectúan de la misma manera. Este tipo de error produce un sesgo en los resultados de una serie de medidas.

Los errores sistemáticos pueden ser constantes o proporcionales. En el caso de los errores constantes, el error absoluto es invariable con el tamaño de la muestra, mientras que el error relativo cambia al modificar dicho tamaño.

Hay tres tipos de errores sistemáticos: (1) Los errores instrumentales, causados por el comportamiento no ideal de los instrumentos, las calibraciones deficientes o el uso en condiciones no apropiadas. (2) Los errores de método, que corresponden al comportamiento químico o físico no ideal de los sistemas analíticos. (3) Los errores personales, atribuibles al descuido, falta de atención o limitaciones personales del experimentador. (Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.1.1 Errores Instrumentales

Este error puede tener varias fuentes como el uso de material de vidrio cuando las temperaturas difieren significativamente de la temperatura de calibración, deformaciones en las paredes del recipiente, errores en la calibración original, o contaminantes en la superficie interna del recipiente. Muchos errores sistemáticos de este tipo se eliminan con la calibración.

Los instrumentos electrónicos están sujetos a errores sistemáticos instrumentales, que pueden tener muchas fuentes. Asimismo podrían deberse a la utilización del instrumento bajo condiciones inadecuadas. Los cambios de temperatura causan variación en muchos componentes electrónicos, lo que puede llevar a desviaciones y errores.

Algunos instrumentos son sensibles al ruido que inducen las líneas de alimentación de corriente alterna (CA), lo cual podría influir en la precisión y exactitud. En muchos casos, este tipo de errores son detectables y corregibles.(Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.1.2 Errores de Método

Algunos errores son ocasionados por el comportamiento químico o físico no ideal de los reactivos y reacciones en los que se basa el análisis. Algunos ejemplos son la lentitud de algunas reacciones, el hecho de que otras no se completen, la inestabilidad de ciertas especies, la falta de especificidad de muchos reactivos y la posible aparición de otras reacciones secundarias que interfieren en el proceso de medida.

Los errores inherentes a un método suelen ser de detección difícil y, por tanto, son el tipo más grave de los tres de errores sistemáticos. (Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.1.3 Errores Personales

Se originan por el juicio personal que interviene en muchas mediciones, tales como la estimación de la posición de una aguja entre dos divisiones de la escala, el color de una solución en el punto final de una titulación o el nivel de un líquido con respecto a la graduación en una pipeta o bureta. Los juicios de este tipo con frecuencia están sujetos a errores sistemáticos unidireccionales.

Otra posibilidad son las aproximaciones inconscientes a valores preconcebidos o la predisposición numérica, que varía mucho de una persona a otra.(Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.2 Errores aleatorios

Estos errores no pueden ser eliminados totalmente y con frecuencia son la principal fuente de incertidumbre en una determinación. Existen numerosas variables no controladas, que son parte inevitable de todos los análisis y causan errores aleatorios. La mayor parte de los factores que contribuyen al error aleatorio no puede identificarse con certeza.

Sin embargo, el efecto acumulativo de cada una de las incertidumbres hace que las medidas por duplicado de una serie fluctúen al azar alrededor de la media del conjunto.(Skoog *et al.,* 2005)

1.2.2.3 Distribución de los errores experimentales

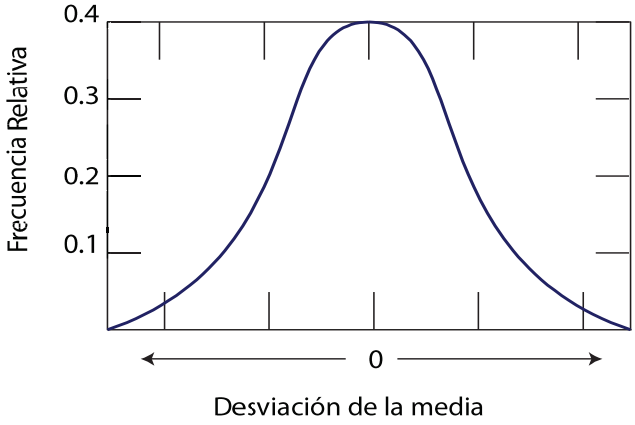


Figura 1.1. Curva de Gauss.
(Skoog *et al.,* 2005)

A partir de la experiencia con muchas determinaciones se ha observado que la distribución de los datos repetidos en la mayor parte de los análisis cuantitativos se aproxima a la curva de Gauss.

Incluso en el caso de datos analíticos que siguen otras distribuciones, generalmente se puede utilizar una distribución gaussiana como una buena aproximación, que mejora conforme aumenta el número de experimentos.

Algunos ejemplos de un comportamiento no gaussiano son los experimentos que conducen al éxito o al fracaso, que siguen una distribución binomial o los experimentos de cuentas radiactivas o de fotones que producen resultados que siguen una distribución de Poisson.

1.2.3 Análisis de varianza ANOVA

El método ANOVA compara tres o más medias muestrales para determinar si provienen de poblaciones iguales, sin comparaciones de pares de datos, como se hace en con la prueba t.

Para la aplicación de ANOVA es necesario que ciertas suposiciones puedan considerarse válidas para los datos bajo análisis, éstas son:

1. Las poblaciones siguen la distribución normal.
2. Las poblaciones tienen desviaciones estándar homogéneas.
3. Las muestras se seleccionan de modo independiente.

Cuando se cumplen estas condiciones, F se utiliza como la distribución del estadístico de la prueba. (Douglas *et al.,* 2005)

Existen diversas cantidades de importancia para el análisis de Anova. Las medias muestrales de las poblaciones son $\overline{x_1}, \overline{x_2}, \overline{x_3}, \dots, \overline{x_n}$ y las varianzas muestrales, $s_1^2, s_2^2, s_3^2, \dots, s_n^2$. Se trata de estimaciones de los valores poblaciones correspondientes. Además, es posible calcular el promedio global $\overline{x}$, que es el promedio de todos los datos. La media global se calcula como el promedio ponderado de las medias grupales, en el caso de grupos de número uniforme, como el promedio de todos los datos, como se muestra a continuación:

$$\overline{x} = \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{p} x_{ij} \qquad [1.2]$$

Donde p es el número de medidas del grupo, y q el número de grupos. Las medias para cada grupo ($\overline{x_i}$) se calculan como sigue:

$$\overline{x_i} = \sum_{j=1}^{p} L_{ij} \qquad [1.3]$$

El cálculo de la relación de varianzas necesario en la prueba F requiere obtener otras cantidades, llamadas suma de las diferencias cuadraticas:

1. Suma de las diferencias cuadráticas debidos al factor (diferencias cuadráticas entre grupos):

$$SDC_B = \sum_{i=1}^{q} p * (\overline{x_i} - \overline{x})^2 \qquad [1.4]$$

2. Suma de las diferencias cuadráticas debidos al error (diferencias cuadráticas dentro de grupos):

$$SDC_W = \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{p} \left(x_{ij} - \overline{x_i}\right)^2 \qquad [1.5]$$

Estas dos sumas de diferencias cuadráticas se usan para obtener las variaciones intergrupal e intragrupal. La suma de las diferencias cuadráticas de los errores se relacionan con las varianzas grupales mediante la ecuación:

$$SDC_W = \sum_{i=1}^{q}(p-1)s_i^2 \qquad [1.6]$$

La suma de las diferencias cuadráticas totales (SDC_T) se obtiene al sumar la SDC_B y SDC_W.

$$SDC_T = SDC_B + SDC_W \qquad [1.7]$$

La suma de diferencias cuadráticas total también puede derivarse de $(n-1)s^2$, donde s^2 es la varianza muestral de todos los puntos de datos.

Se debe obtener el número de grados de libertad para cada una de las sumas de diferencias cuadráticas. La suma de diferencias cuadráticas total tiene $n-1$ grados de libertad. Puesto que la suma de diferencias cuadráticas totales es la suma de SDC_B y SDC_W, el número total de grados de libertad $n-1$ puede descomponerse en los grados de libertad relacionados con SDC_B y SDC_W. Como se comparan q grupos, SDC_B tienen $q-1$ grados de libertad. Así se obtienen $n-q$ grados de libertad para SDC_W. (Lind *et al.,* 2005)

Si se divide las sumas de diferencias cuadráticas entre sus grados de libertad correspondientes se obtienen cantidades que son estimaciones de las variaciones intergrupal e intragrupal. Estas cantidades se llaman diferencias cuadráticas medias y se definen como:

1. Cuadrado de las diferencias cuadráticas medias intergrupales (DCM_B):
$$DCM_B = \frac{SDC_B}{q-1} \qquad [1.8]$$
2. Cuadrado de las diferencias cuadráticas medias intragrupales (DCM_W):
$$DCM_W = \frac{SDC_W}{n-q} \qquad [1.9]$$

La variable estadística de prueba es el valor *F*, calculado como sigue:

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W} \qquad [1.10]$$

La prueba de la hipótesis se completa al comparar el valor de *F* recién calculado frente a el valor crítico de la tabla en el nivel de significación α. Se rechaza H_o si *F* excede el valor crítico. Los resultados del ANOVA se pueden resumir en una tabla ANOVA, como se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Resumen de los cálculos necesarios para ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SDC)	Grados de libertad (gl)	Diferencias cuadráticas medias (DCM)	F
Intergrupal (efecto del factor)	SDC_B	$q-1$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{q-1}$	$\frac{DCM_B}{DCM_W}$
Intragrupal (error)	SDC_W	$n-q$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n-q}$	
Total	SDC_T	$\boldsymbol{n-1}$		

Como se señaló anteriormente se acepta de forma general que los datos analíticos sigue una distribución de Gauss. El supuesto de la homogeneidad de las varianzas de los grupos a analizar se puede comprobar mediante la prueba de Cochran (Correa *et a.*, 2006), dada por el siguiente estadístico:

$$G_{max} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_i^2} \qquad [1.11]$$

Donde:

$G_{máx}$ = G de Cochran

S_i = Desviación estándar de cada grupo

El valor de $G_{máx}$ calculado debe superar al valor de $G_{máx}$ tabulado; valor que se lo obtiene de la tabla de Cochran donde k=número de grupos (días) y p = número de datos del grupo; (Correa *et al.,* 2006)

Para datos provenientes de análisis químicos, a partir deANOVA se pueden obtener adicionalmente los siguientes datos:

1. Desviación estándar de Repetibilidad (S_r):

$$S_r = \sqrt{DCM_W} \qquad [1.12]$$

2. Desviación estándar de Lectura (S_L):

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{p} \qquad [1.13]$$

3. Desviación estándar de reproducibilidad (S_R):

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2} \qquad [1.14]$$

1.2.4 Incertidumbre de las medidas

1.2.4.1 Definición

La incertidumbre es el parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

Los componentes de los cuales depende el valor del mensurando se clasifican en dos tipos:

- El valor de incertidumbre que puede ser determinado directamente en las mediciones realizadas, mediante análisis estadístico de una serie de observaciones o basados en la experiencia.
- Magnitudes cuyos valores de incertidumbre son incorporados a la medición a partir de fuentes externas, tales como magnitudes asociadas con patrones de medición calibrados o MRC y datos de referencia obtenidos en manuales.

1.2.4.2 Propagación de incertidumbres

Un típico método instrumental de análisis implica varias medidas experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y cada una de ellas contribuye al error indeterminado neto del resultado final. A fin de evaluar cómo afectan dichas incertidumbres el resultado de un análisis, se considera las variables de las cuales es función un resultado dado:

$$x = f(p, q, r, ..) \qquad [1.15]$$

La incertidumbre $d_x$de la i-ésima medida de x dependerá del tamaño y signo de las correspondientes incertidumbres dp_i, dp_j, *etc:*

$$dx_i = f(dp_i, dq_i, dr_i, ...) \qquad [1.16]$$

La variación de *dx* en función de las incertidumbres de p, q, r,… puede deducirse si se tiene en cuenta la derivada parcial de x, con respecto a cada una de las variables. Es decir:

$$dx = \left(\frac{\delta x}{\delta p}\right) dp + \left(\frac{\delta x}{\delta q}\right) dq + \left(\frac{\delta x}{\delta r}\right) dr + \cdots \qquad [1.17]$$

Para obtener una relación entre la desviación estándar de x y las desviaciones estándar de p, q, r es necesario elevar al cuadrado la ecuación anterior.

Al elevar al cuadrado, surgen dos tipos de términos procedentes de la parte derecha de la ecuación anterior. Los términos elevados al cuadrado pueden escribirse:

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)^2 dp^2, \left(\frac{\partial x}{\partial q}\right)^2 dq^2, \left(\frac{\partial x}{\partial r}\right)^2 dr^2, \ldots \qquad [1.18]$$

Los términos elevados al cuadrado son siempre positivos y no pueden, por ello anularse. Por el contrario, los términos producto pueden tener signo positivo o negativo. Ejemplos de ello son:

$$\left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial q}\right) dpdq, \left(\frac{\partial x}{\partial p}\right)\left(\frac{\partial x}{\partial r}\right) dpdr, \ldots \qquad [1.19]$$

Si *dp, dq, dr*representan incertidumbres aleatorias e independientes, algunos términos producto serán negativos y otros positivos, Asi la suma de todos estos términos debe aproximarse a cero, en particular cuando el número total de muestras es grande. Como consecuencia puede suponerse que la suma está compuesta exclusivamente por los términos al cuadrado. Así pues la ecuación puede escribirse en términos de las varianzas como sigue:

$$\sigma_x^2 = \left(\frac{\delta x}{\delta p}\right)^2 \sigma_p^2 + \left(\frac{\delta x}{\delta q}\right)^2 \sigma_q^2 + \left(\frac{\delta x}{\delta r}\right)^2 \sigma_r^2 + \cdots \qquad [1.20]$$

1.3 Espectrofotometría

La espectroscopia es un término general aplicado al estudio de las distintas interacciones de la radiación con la materia.

Los métodos espectrométricos incluyen un amplio grupo de métodos analíticos que se basan en la espectroscopia atómica y molecular, estos métodos utilizan un detector fotoeléctrico u otro tipo de dispositivo electrónico para medir la intensidad de la radiación.

Los métodos espectrométricos más ampliamente utilizados son los relacionados con la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que toma varias formas, de las cuales las más conocidas son la luz y el calor radiante. Otras manifestaciones incluyen los rayos gamma, los rayos X, las radiaciones ultravioleta, de microondas y de radiofrecuencia. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.1 Aspectos cuantitativos de las medidas espectroquímicas

Los métodos espectroquímicos se clasifican en cuatro categorías: emisión (emisión atómica), luminiscencia (fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia atómica y molecular), dispersión (dispersión Raman, turbidimetría y nefelometría) y absorción (absorción atómica y molecular).

Los cuatro requieren la medida de la *potencia* radiante. *P,* que es la energía de un haz de radiación que alcanza un área dada por segundo. En los instrumentos modernos, la potencia radiante se determina con un detector de radiación que convierte la energía radiante en una señal eléctrica *S.* Generalmente *S* es un potencial o una corriente que idealmente es directamente proporcional a la potencia radiante. Esto es,

$$S = k * P \qquad [1.21]$$

donde *k* es una constante.

Muchos detectores muestran una pequeña respuesta constante, denominada *corriente oscura,* en ausencia de radiación. En esos casos, la respuesta se establece mediante la relación

$$S = k * P + k_d \qquad [1.22]$$

donde$k_d$es la corriente oscura, que es generalmente pequeña y constante al menos durante cortos períodos de tiempo. Los instrumentos espectroquímicos están normalmente equipados con un circuito compensador que reduce k_da cero cuando se realizan las medidas.

Los métodos cuantitativos basados en la absorción requieren dos medidas de potencia: una, antes de que el haz haya pasado a través del medio que contiene

al analito (P_o), y la otra, después (P). La *Transmitancia* y la *absorbancia* son los dos términos que se utilizan ampliamente en la espectrometría de absorción y se relacionan por la razón de P_o y P. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.1.1 Transmitancia

La *transmitancia T* del medio es la fracción de radiación incidente transmitida por el medio cuando un haz de radiación paralelo atraviesa un medio que tiene un espesor de *b* cm y una concentración *c* de una especie absorbente. En estas condiciones la potencia del haz disminuye de P_o a P Como consecuencia de las interacciones entre los fotones y los átomos o moléculas absorbentes:

$$T = \frac{P}{P_o} \qquad [1.23]$$

La transmitancia se expresa con frecuencia como porcentaje o

$$\%T = \frac{P}{P_o} * 100\% \qquad [1.24]$$

1.3.1.2 Absorbancia

La absorbancia *A* de un medio se define por la ecuación:

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_o}{P} \qquad [1.25]$$

Al contrario de la transmitancia, la absorbancia de un medio aumenta cuando la atenuación del haz se hace mayor.

1.3.2 La ley de Beer

Para una radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional al camino óptico *b* a través del medio y la concentración *c* de la especie absorbente. Estas relaciones vienen dadas por

$$A = a * b * c \qquad [1.26]$$

Donde *a* es una constante de proporcionalidad denominada *absortividad.* La magnitud de *a* depende de las unidades utilizadas para *b y c.* Con frecuencia para

disoluciones de una especie absorbente, *b* se da en centímetros y *c* en gramos por litro. Las unidades de la absortividad en ese caso son $L.g^{-1}cm^{-1}$.

Cuando la concentración se expresa en moles por litro y la longitud de la celda en centímetros, la absortividad se denomina *absortividad molar y* se representa por el símbolo ε.

Así, cuando *h* está en centímetros y *c* en moles por litro,

$$A = \varepsilon * b * c \qquad [1.27]$$

Donde ε. tiene las unidades de $L\ mol^{-1}\ cm^{-1}$.

Las Ecuaciones anteriores son expresiones de la *ley de Beer,* que sirven como base para el análisis cuantitativo mediante medidas de absorción atómica y molecular. (Skoog *et al*., 2001)

1.3.2.1 Limitaciones de la ley de Beer

La ley de Beer es una ley límite, ya que describe de forma correcta el comportamiento de absorción de un medio que contiene concentraciones de analito relativamente bajas. A concentraciones altas (generalmente > 0,01 M), disminuye la distancia media entre las moléculas responsables de la absorción de forma que cada molécula altera la distribución de carga de las moléculas cercanas. Esta interacción, puede alterar la capacidad de las moléculas para absorber la radiación de una determinada longitud de onda. La aparición de este fenómeno da lugar a desviaciones de la linealidad entre la absorbancia y la concentración. Un efecto similar se encuentra, en ocasiones, en medios que contienen concentraciones de absorbente bajas pero concentraciones altas de otras especies, especialmente electrólitos; este efecto se reduce mediante dilución.

También surgen desviaciones de la ley de Beer como consecuencia de la dependencia de ε con el índice de refracción del medio. Por tanto, si los cambios en la concentración causan cambios significativos en el índice de refracción de una disolución, se observan desviaciones de la ley de Beer. Este inconveniente se

puede solucionar mediante la sustitución de ε por la cantidad $\varepsilon n/(n^2+2)^2$ en la Ecuación de la ley de Beer. En general, esta corrección no es muy grande y rara vez es significativa para concentraciones menores de 0,01 M. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.2.1.1 Desviaciones químicas

Cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un disolvente para dar lugar a un producto con un espectro de absorción diferente al del analito se producen desviaciones de la ley de Beer. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.2.1.2 Desviaciones instrumentales originadas por la radiación policromática

Para que se cumpla la ley de Beer, es necesario que la radiación sea totalmente monocromática, sin embargo, en la práctica es raro el uso de radiación restringida a una sola longitud de onda debido a que los dispositivos que aíslan porciones de la señal de salida de una fuente continua generan una banda de longitudes de onda más o menos simétrica en torno a la deseada.

De forma experimental se ha observado que las desviaciones de la ley de Beer resultantes del uso de un haz policromático no son apreciables, siempre y cuando la radiación utilizada no abarque una región del espectro en la cual el absorbente muestre cambios grandes en la absorción en función de la longitud de onda. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.2.2 Aplicación de la ley de Beer a mezclas

La ley de Beer también se puede aplicar a un medio que contenga más de una clase de sustancia absorbente,siempre que no se presente interacción entre las distintas especies. En este caso la absorbancia total para un sistema multicomponente viene dado por

$$A_{total} = A_1 + A_2 + \cdots + A_n$$

$$= \varepsilon_1 . b . c_1 + \varepsilon_2 . b . c_2 + \cdots + \varepsilon_n . b . c_n \qquad [1.28]$$

donde los subíndices se refieren a los componentes absorbentes 1, 2,…, n. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.2.3 Medida de la transmitancia y de la absorbancia

La figura 1.4 muestra un esquema de un fotómetro sencillo, utilizado para medir la transmitancia y la absorbancia de disoluciones acuosas con un haz seleccionado mediante un filtro de radiación visible. En este caso, la radiación procedente de una lámpara de wolframio atraviesa un filtro de vidrio coloreado, que sólo deja pasar una banda limitada de radiación de longitudes de onda contiguas. Posteriormente el haz pasa a través de un diafragma variable, que permite ajustar la potencia de la radiación que alcanza la celda transparente que contiene la muestra. Se puede colocar un obturador enfrente del diafragma para bloquear completamente la radiación.

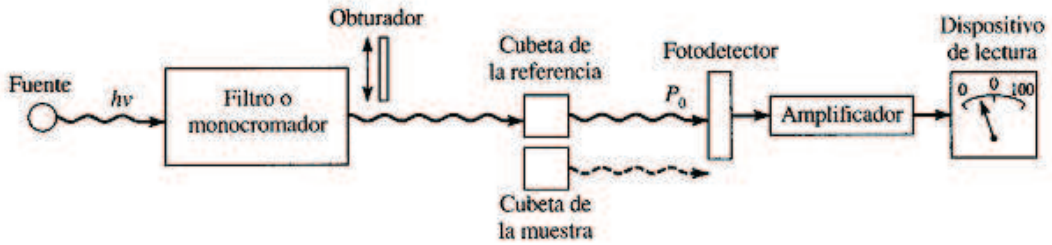


Figura 1.2. Esquema de un espectrofotómetro
(Skoog *et al.*, 2001)

Con el obturador abierto, la radiación incide sobre un dispositivo fotoeléctrico que convierte la energía radiante del haz en una corriente continua que se detecta y se mide con un microamperímetro. El medidor tiene una escala lineal que va de 0 a 100.

Para hacer lecturas directas en tanto por ciento de transmitancia con este tipo de instrumento, se realizan dos ajustes previos, denominados ajuste de la corriente oscura o del 0 por 100 T y ajuste del 100 por 100 T. El ajuste del 0 por 100 T se realiza con el detector apantallado respecto de la fuente, es decir al cerrar el obturador mecánico. Cualquier pequeña corriente oscura en el detector se anula eléctricamente.

El ajuste del 100 por 100 T se realiza con el obturador abierto y con la celda llena del disolvente en el camino óptico. La potencia radiante que llega al detector varía

hasta que el medidor lea exactamente 100. En consecuencia cuando el disolvente se sustituye por la celda que contiene la muestra, la escala indica, el tanto por ciento de transmitancia directamente. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.3 Espectroscopia ultravioleta - visible

Las medidas de absorción de la radiación ultravioleta y visible tienen una gran aplicación en la identificación y determinación de una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas.

La absorción de la radiación ultravioleta o visible por una especie atómica o molecular M se puede considerar como un proceso en dos etapas, la primera consiste en una excitación electrónica:

$$M + hv \rightarrow M^* \qquad [1.29]$$

En este caso, el producto de la reacción entre M y el fotónhv es una especie excitada electrónicamente simbolizada por M*. El tiempo de vida de la especie excitada es breve (de10^{-8} a 10^{-9} s) y su existencia se termina por alguno de los distintos procesos de relajación. La forma de relajación más común supone la conversión de la energía de excitación en calor; es decir,

$$M^* \rightarrow M + calor \qquad [1.30]$$

La absorción de radiación ultravioleta o visible resulta, generalmente, de la excitación de los electrones de enlace; como consecuencia, los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces de las especies objeto de estudio.

La espectroscopia de absorción molecular es, por tanto, válida para identificar grupos funcionales en una molécula. Sin embargo, son más importantes las aplicaciones de la espectroscopia de absorción ultravioleta y visible en la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes. (Skoog *et al.*, 2001)

1.3.4 Análisis por espectrofotometría UV-visible

Para realizar un análisis espectrofotométrico es necesario establecer las condiciones de trabajo adecuadas y preparar una curva de calibrado que relacione la absorbancia y la concentración. Este proceso se puede realizar mediante los siguientes puntos:

Selección de la longitud de onda

Para seleccionar la longitud de onda, normalmente se busca una longitud de onda correspondiente a un pico de absorción donde el cambio en la absorbancia por unidad de concentración es mayor, consiguiéndose, así, la máxima sensibilidad.

En este punto se puede esperar una buena observancia de la ley de Beer y en estas condiciones las medidas son menos sensibles a las incertidumbres que surgen de las limitaciones del instrumento para reproducir con precisión la longitud de onda seleccionada.

Variables que influyen en la absorbancia

Las variables que suelen influir en el espectro de absorción de una sustancia incluyen la naturaleza del disolvente, el pH de la disolución, la temperatura, las concentraciones de electrólito y la presencia de sustancias interferentes. Los efectos de estas variables deben ser conocidos; y se debe elegir las condiciones para el análisis de manera que se puede minimizar su efecto sobre la absorbancia.

Limpieza y manipulación de las celdas

Para maximizar la exactitud del análisis espectrofotométrico es necesario el uso de celdas contrastadas y de buena calidad. Las celdas deben calibrarse regularmente, y mantenerse de forma adecuada.

Determinación de la relación entre absorbancia y concentración

La curva de calibrado se debe preparar a partir de una serie de disoluciones patrón que abarquen el intervalo de concentración esperado en las muestras.

Generalmente no es posible asumir el cumplimiento de la Ley de Beer, y en consecuencia la absortividad molar no se puede determinar mediante el uso de un solo patrón. Tampoco se puede usar valores de absortividad molar encontrados en literatura; lo ideal es que los patrones de calibración tengan una composición parecida a la de las muestras a analizar, no sólo en cuanto a la concentración del analito sino también con respecto a la concentración de las otras especies presentes en la matriz de la muestra, para minimizar los efectos de los distintos componentes de la muestra en la absorbancia medida. Por ejemplo, la absorbancia de muchos complejos de iones metálicos muy coloreados disminuye en distinto grado en presencia de iones sulfato o fosfato como consecuencia de la tendencia de estos iones a formar complejos no coloreados con los iones metálicos.

1.4 Electroquímica

1.4.1 Voltametría

La voltametría es una técnica analítica basada en la medida de la corriente que fluye entre electrodos sumergidos en una solución que contiene un electrolito, mientras se impone un barrido de potencial.

El potencial se registra entre un electrodo de trabajo y uno de referencia. Los electrodos de trabajo se suelen elaborar de muchos materiales y usualmente tienen una superficie de muy pequeñas dimensiones, con el fin de medir rápidamente y con precisión el potencial aplicado por el circuito eléctrico. El electrodo puede ser sólido (oro, platino, carbón vítreo) o formado por una gota de mercurio que cuelga de un capilar (polarografía).

Con ayuda de una fuente de poder externa es posible aplicar cualquier potencial en el circuito eléctrico. La corriente causada por la reacción en el sistema se registra entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar. Las curvas corriente – potencial o curvas *i*-E se obtienen al cambiar gradualmente el potencial aplicado mientras se registra la corriente correspondiente.

El electrodo de trabajo funciona como cátodo en la mayor parte de los casos y el electrodo auxiliar, el cual posee una superficie mucho mayor, funciona como ánodo. El voltaje aplicado provoca la polarización del ánodo y del cátodo, y consecuentemente el flujo de corriente a través de la solución a ser analizada.

Las técnicas voltamétricas se pueden usar en una amplia variedad de campos, tales como la corrosión, prueba de materiales, pruebas de nuevos procesos electroquímicos industriales, producción de baterías, etc. Adicionalmente, una aplicación importante de la voltametría es el análisis cuantitativo de trazas de metales.

Para comprender el principio en el cual están basadas las técnicas voltamétricas de análisis cuantitativo, se puede considerar el siguiente modelo:

Se considera que el electrodo de trabajo se encuentra sumergido en una solución que contiene una especie electroactiva A que puede ser reducida de acuerdo a la siguiente reacción:

$$A_{ox} + ne^{-} \rightarrow A_{red} \qquad [1.31]$$

Para lograr esta reducción se aplica un potencial negativo menor al potencial de reducción de la especie A. En estas condiciones la especie A se deposita sobre la superficie del electrodo de trabajo.

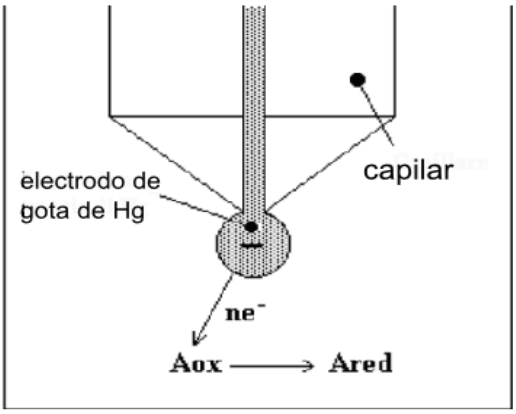


Figura 1.3. Reacción en el electrodo de Trabajo
(Protti, 2001)

Para que la especie A pueda ser reducida, es necesario que alcance la superficie del electrodo, desde la solución y, además, que la especie A pueda aceptar electrones del electrodo. Este proceso se puede considerar gobernado por la influencia de dos factores cinéticos:

- La velocidad con la que la especie A alcanza la superficie del electrodo desde la solución (V_d).
- La velocidad del intercambio electrónico entre el electrodo y la solución.

Dado las condiciones en las que se realiza la voltametría, se considera que la segunda velocidad es mucho mayor que la primera, o al menos igual; por tanto la descarga de A_{ox} sobre el electrodo es prácticamente instantánea. De esta forma la corriente de descarga depende solamente de $V_{d.}$

Los procesos que permiten el desplazamiento de una especie química en la solución son principalmente tres:

- Convección
- Migración
- Difusión

La convección se realiza cuando una solución es agitada o cuando existe un gradiente de densidad o temperatura.

La migración es el movimiento provocado por las fuerzas de atracción producto del campo eléctrico generado entre el electrodo y cada ion presente. Estas fuerzas son de atracción si las cargas son opuestas y de repulsión si los iones tienen la misma carga que el electrodo.

La difusión es el movimiento espontáneo de las especies sujetas a gradientes de concentración lo cual implica una zona de la solución donde esta concentración es más pobre que en otra. Durante el proceso de descarga la solución cercana al electrodo se torna más pobre en la especie oxidada con respecto al resto de la solución. El gradiente de concentración, provoca el desplazamiento de la especie oxidada desde la solución hacia el electrodo.

La velocidad de difusión es directamente proporcional al gradiente de concentración y éste a la concentración del compuesto electroactivo en la solución.

De los tres fenómenos descritos solo la difusión se puede relacionar a la concentración del compuesto electroactivo. De esta forma en un análisis voltamétrico es necesario tomar medidas adecuadas para asegurar que la difusión prevalezca sobre el resto de procesos. (Protti, 2001)

1.4.1.1 Electrolito de soporte

La función del electrolito de soporte es disminuir la resistencia de la solución y limitar la migración electrostática de los iones. Cuando un electrolito se añade en altas concentraciones, éste rodea el electrodo con iones que no se descargan sobre la superficie del electrodo, de esta forma reduce la atracción electrostática que podría generarse alrededor de éste.

Las propiedades a tomar en cuenta al elegir el electrolito de soporte son:

- No debe ser químicamente reactivo.
- No interferir con la difusión y el intercambio de electrones en la superficie del electrodo.
- Tener un potencial de descarga diferente al del analito.
- Tener una alta conductividad iónica y garantizar una baja resistencia eléctrica.

1.4.1.2 Corriente faradáica y corriente capacitiva

La corriente faradáica sigue las leyes de Faraday y se debe a la descarga del compuesto electroactivo. La corriente capacitiva, se produce al formarse una doble capa eléctrica en la interface entre el electrodo y la solución. Esta doble capa se debe a la alta concentración del electrolito de soporte en la solución, y actúa como un condensador con alta capacidad. La corriente que fluye a través del electrodo es finalmente el resultado de la suma de la corriente capacitiva de este condensador y la corriente faradáica.En consecuencia, la corriente capacitiva actúa como una interferencia de fondo no específica. (Protti, 2001)

1.4.1.3 Barrido de potencial

Si se considera los aspectos cinéticos, cuando un compuesto electroactivo se somete a un barrido de potencial se puede tener 3 escenarios:

1. El intercambio de electrones entre el electrodo de trabajo y la solución es más rápido que la variación de potencial y la velocidad de difusión. En este caso el potencial del electrodo de trabajo corresponde, en todo momento, al esperado en base a la ley de Nerst. El intercambio de electrones se produce principalmente debido a la difusión y existe una ausencia de sobrepotencial.
2. La velocidad de la transferencia de electrones es menor a la velocidad de difusión. El sistema redox en este caso se denomina lento o irreversible; se caracteriza por el fenómeno de un alto sobrepotencial.
3. Las dos velocidades involucradas en el proceso son iguales. La pareja redox presenta características intermedias y el proceso de descarga se rige tanto por la difusión como por la velocidad de transferencia de electrones.

Por simplicidad se considerará un barrido lineal en un sistema redox reversible y sin sobrepotencial, que se rige por la ley de Nerst. Adicionalmente se considera que no existen procesos de adsorción o reacciones colaterales en el electrodo, y que el espesor de la capa de difusión se mantiene constante.

El ejemplo a analizar será el de la reacción, producida por el barrido de potencial en una solución de Pb^{2+}, y KCl 0,1M:

$$Pb^{2+} + 2e \rightarrow Pb(Hg) \qquad [1.32]$$

El gráfico obtenido para este proceso se muestra en la figura:

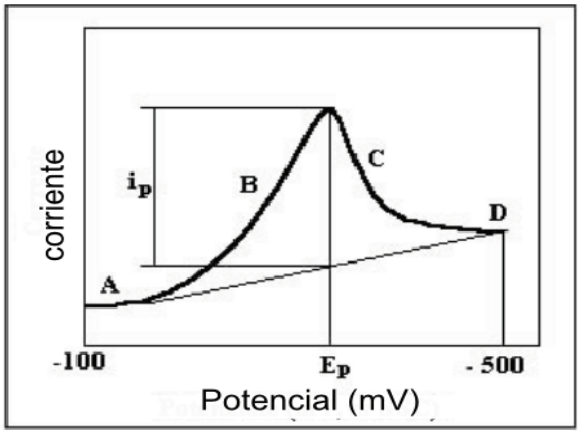


Figura 1.4. Etapas durante el barrido de Potencial
(Protti, 2001)

Al inicio del proceso (figura 1.6 parte A), el potencial no es suficiente para causar la descarga de Pb^{2+}, la corriente de fondo registrada se debe a varias causas, tales como la descarga del oxígeno residual, la corriente capacitiva y el ruido eléctrico del instrumento. Cuando se asciende en el pico (parte B), los iones Pb^{2+}, se descargan sobre el electrodo a una velocidad cada vez mayor; la capa de difusión se vuelve cada vez más pobre y se establece un flujo espontáneo de iones entre la capa de difusión y la solución. La descarga de los iones Pb^{2+}, causan la aparición de una capa de Pb metálico sobre la superficie de mercurio, en forma de amalgama.

Cuando la concentración de Pb^{2+} en la capa cercana al electrodo es prácticamente cero a causa de la difusión, la corriente decrece (parte C). La velocidad del potencial de barrido es tan alta que el compuesto electroactivo no puede alcanzar el electrodo. A estos valores de potencial, todos los iones Pb^{2+} son reducidos inmediatamente y su concentración en la capa de difusión es muy baja. La corriente tiende a disminuir (parte D). (Protti, 2001)

1.4.1.4 Potencial y corriente de pico

El punto más alto del pico corresponde al punto en el cual la mitad de la cantidad de iones Pb^{2+}, que alcanzan el electrodo se reducen, y el radio Pb^{2+}/Pb(Hg) es

igual a 1.La altura del pico, o corriente del pico es proporcional a la concentración del compuesto electroactivo en la solución.

$$i_p = K.[Pb^{2+}] \qquad [1.33]$$

1.4.2 Técnicas voltamétricas

1.4.2.1 Voltametría lineal de barrido

Esta es la técnica más simple. Al electrodo de trabajo se aplica un potencial de barrido que varía linealmente. El barrido inicia antes del potencial de descarga y termina después de éste.

La corriente capacitiva se incrementa con la velocidad de barrido y no puede ser compensada electrónicamente, por tanto el desempeño de esta técnica se ve fuertemente restringido, a límites de detección en el rango de mg/L.

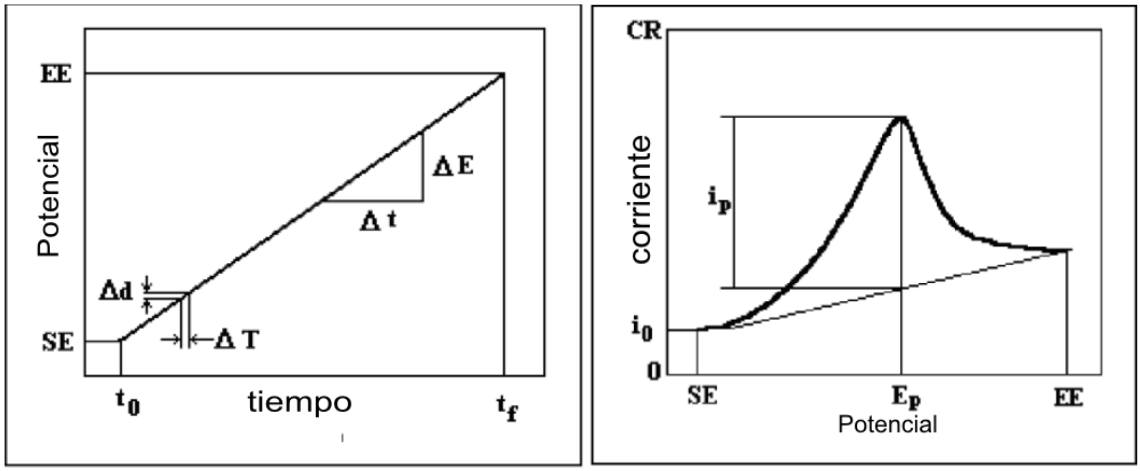


Figura 1.5. Voltametría Lineal. SE = potencial de inicio, EE = potencial final, t0 y tf, tiempo inicial y final del barrido, Δd, potencial entre datos, ΔT tiempo de muestreo.
(Protti, 2001)

1.4.2.2 Voltametría cíclica

La voltametría cíclica es una técnica utilizada para el estudio teórico del comportamiento de parejas redox. La voltametría cíclica es una forma particular de LSV que lleva a cabo un barrido de forma triangular. De esta forma la pareja redox en la solución es expuesta tanto a una reducción como a una oxidación.

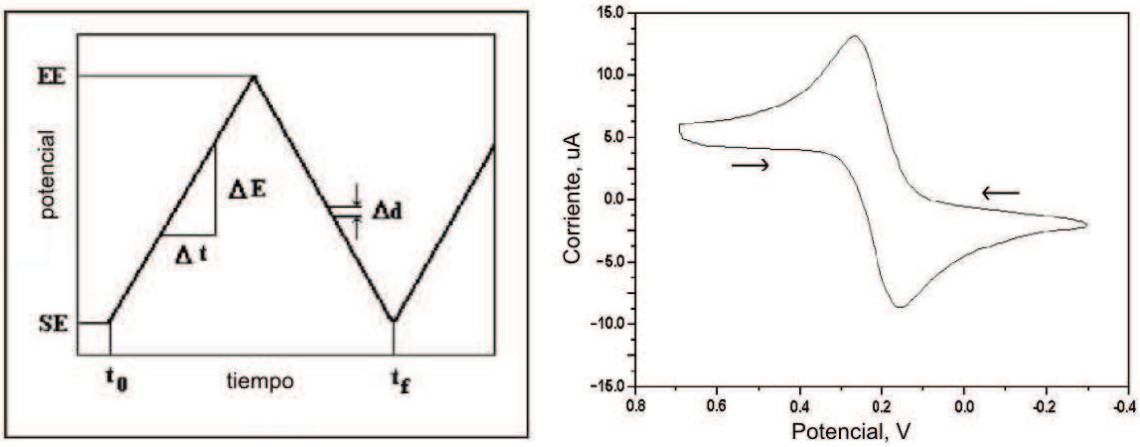


Figura 1.6. Voltametría Cíclica. SE = potencial de inicio, EE = potencial final, t0 y tf, tiempo inicial y final del barrido, Δd, potencial entre datos, ΔT tiempo de muestreo. (Protti, 2001)

1.4.2.3 Voltametría de pulso diferencial

La voltametría de pulso diferencial consiste en una serie de pulsos constantes periódicos de potencial que se superponen a un barrido lineal, consiguiéndose una mejora considerable de la señal obtenida. Además, dado que se mide la diferencia entre la corriente antes y después del pulso, la lectura es menos influenciada por la corriente capacitiva. De esta forma la lectura diferencial de corriente genera voltagramas más definidos.

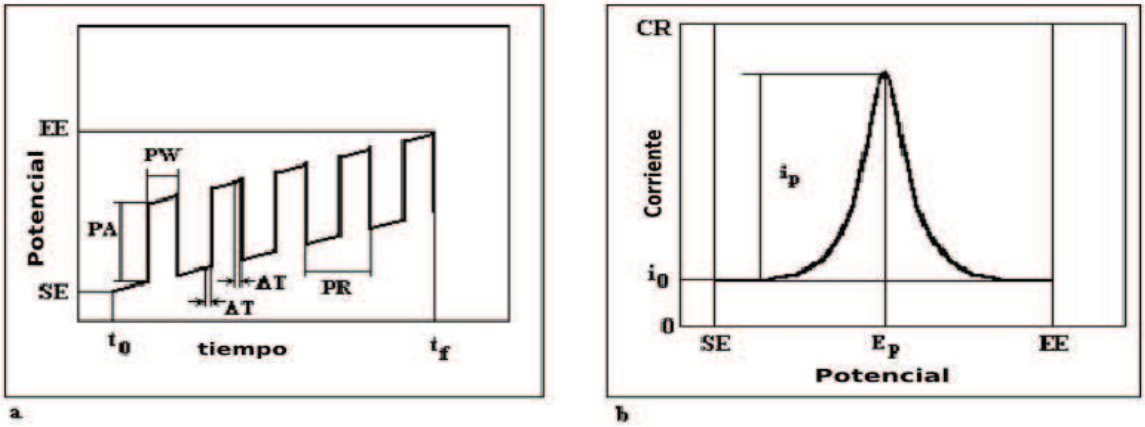


Figura 1.7. Voltametría de Pulso Diferencial.
PA = Amplitud de pulso, PW = Tiempo del pulso, PR, tiempo de repetición del pulso; SE = Potencial inicial, EE = Potencial Final, E_p= Potencial de pico, i_p = corriente de pico, t_o = tiempo de inicio del barrido, t_f = tiempo de finalización del barrido.
(Protti, 2001)

1.4.2.4 Voltametría de onda cuadrada

Esta técnica presenta un mayor desarrollo que la voltametría lineal convencional y la voltametría de pulso diferencial.

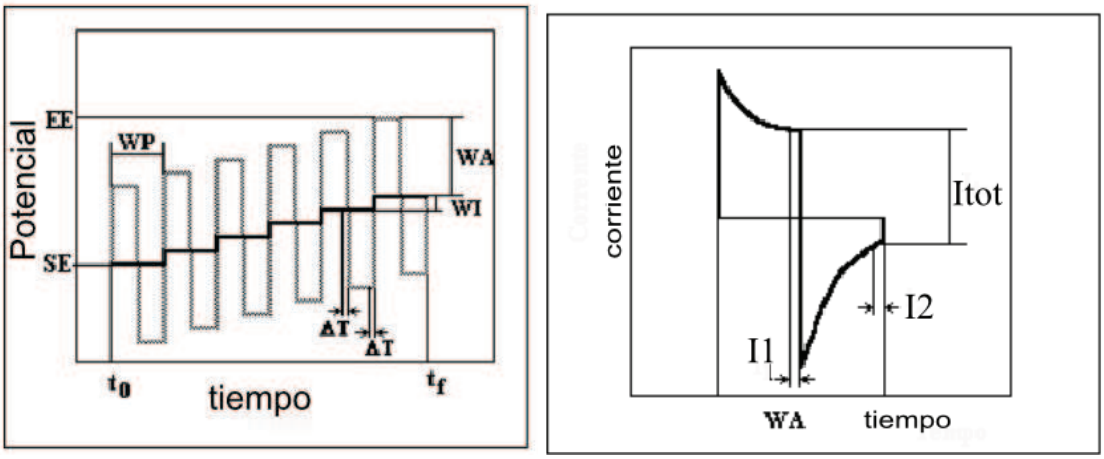


Figura 1.8. Voltametría de Onda Cuadrada.
WA = Amplitud de onda, WP = Periodo de la onda, WI, incremento de la onda; I1 corriente medida durante la parte positiva del pulso, I2 corriente durante la parte negativa del pulso, Itot corriente total.
(Protti, 2001)

Consiste en la aplicación de un potencial de barrido en pulsos, sobre cada pulso se aplica adicionalmente una onda cuadrada de alta frecuencia (20 – 100 Mhz).

La corriente se mide en dos ocasiones, al final de las dos media ondas. Si la amplitud de la onda es muy pequeña y la reacción redox es reversible, durante la primer media onda el compuesto electroactivo puede ser reducido (o oxidado), mientras en la segunda media onda, por el contrario este se oxida (o reduce). Las dos corrientes son entonces sumadas y así se consigue un incremento de la sensibilidad. La sensibilidad de esta técnica se puede incrementar si se mejora la amplitud de la onda cuadrada o la frecuencia. Los límites a este mejoramiento están dados por aspectos cinéticos del sistema redox: éste no puede ser menor a la velocidad del barrido de potencial. La interferencia por la corriente capacitiva se disminuye al mínimo dado que la corriente se mide justo al final de las medias ondas, cuando la corriente de la doble capa está en su mínimo. (Vladimirovna, 2006).

1.4.2.5 Voltametría de redisolución

Algunos metales forman amalgamas con el electrodo de trabajo y algunos aniones sales insolubles. La voltametría de redisolución se basa en esta propiedad. La técnica sigue estos pasos:

- Una preconcentración del analito en la superficie del electrodo.
- La redisolución del compuesto acumulado en la superficie del electrodo.

La redisolución toma lugar durante el barrido, el cual se puede llevar a cabo de una gran variedad de formas.

De acuerdo al signo del barrido de potencial la etapa de redisolución puede consistir de un campo negativo o positivo, que crea corriente anódica o catódica respectivamente. Cada técnica tiene su propia denominación: Voltametría de redisolución anódica (ASV) en el primer caso y voltametría de redisolución catódica (CSV), en el segundo. (Stankoviv, 2007)

1.4.2.6 Instrumento de medición

El instrumento de medición consta principalmente de una celda, el potenciostato y un ordenador con el software adecuado. La celda se construye normalmente en teflón o vidrio, dentro de esta se introducen los tres electrodos utilizados para el análisis: electrodo de trabajo, electrodo de referencia y el electrodo auxiliar.

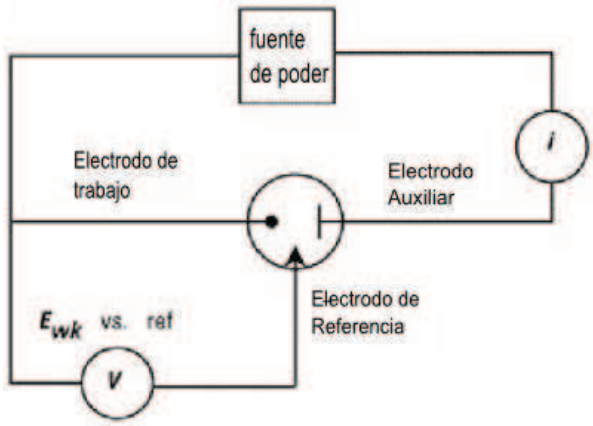


Figura 1.9. Esquema del circuito para mediciones voltamétricas
(Vladimirovna, 2006)

El equipo permite imponer el potencial de barrido deseado entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, mientras la corriente que fluye en el circuito es registrada entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar.

El software del ordenador se encarga de enviar al potensiostato los parámetros de barrido, verificar la ejecución correcta del barrido y procesar los datos de salida. (Protti, 2001; Vladimirovna, 2006)

1.4.3 Método de adición de estándares

1.4.3.1 Introducción

Si un analista prepara una curva de calibración mediante el uso de una solución estándar en agua destilada, se puede encontrar ciertas dificultades si la muestra a ser analizada tiene una matriz compleja. Estas sustancias pueden variar

significativamente algunas características físicas de la solución, pueden variar la señal de fondo no específica, o incrementar o reducir la señal del analito.

Estas interferencias deben ser removidas, para evitar errores analíticos. El mejor método para evitar la interferencia por matriz es el método de adición múltiple o de forma más simple el método de una adición. La condición esencial para el uso de la adición de estándar en la voltametría es realizar el barrido para cada adición utilizando los mismos parámetros. Otra condición importante es trabajar dentro del rango en el cual la concentración y la altura del pico son lineales. (Protti, 2001)

1.4.3.2 Método de adición de estándares múltiples.

Para aplicar el método de adición de estándares múltiples, es necesario preparar un alícuota de muestra, a la que se añade el electrolito de soporte. Se registra el voltamograma y después se realiza varias adiciones mientras se registra el voltamograma para cada una. Al final los datos se manejan de la siguiente forma:

- Cálculo de la concentración de analito después de cada adición:

$$Ca = \frac{Vst*Cst}{Vx} \qquad [1.34]$$

  Donde Vst y Cst corresponden al volumen y la concentración de la solución estándar, Vx es el volumen de muestra
- Adicionalmente se calcula el factor de dilución después de cada adición:

$$d = \frac{Vtot}{Vx} = \frac{Vx+Vst+Vr}{Vx} \qquad [1.35]$$

  Donde Vx es el volumen de muestra, Vst es el volumen de solución de estándar adicionado, Vr es el volumen de electrolito de soporte añadido.

Si consideramos la relación lineal entre la concentración y la altura del pico:

$$h = K * C \qquad [1.36]$$

donde h es la altura del pico, C la concentración del analito y K una constante.

Después de cada adición la altura del pico se incrementa, como consecuencia del incremento en la concentración total del analito:

$$C = \frac{Vx*Cx}{Vtot} + \frac{Vst*Cst}{Vtot} \qquad [1.37]$$

Donde Vtot es el volumen después de cada adición igual a: *Vx*+*Vst*+*V*, Cx es la concentración desconocido.

La relación altura del pico/concentración está dada por:

$$h = K\left(\frac{Vx*Cx}{Vtot} + \frac{Vst*Cst}{Vtot}\right) \quad [1.38]$$

si se multiplica ambos miembros por *Vtot/Vx*

$$h * \frac{Vtot}{Vx} = K\left(Cx + Cst * \frac{Vst}{Vx}\right) \quad [1.39]$$

$$h * d = K * Cx + K * Ca \quad [1.40]$$

$$y = b + mx \quad [1.41]$$

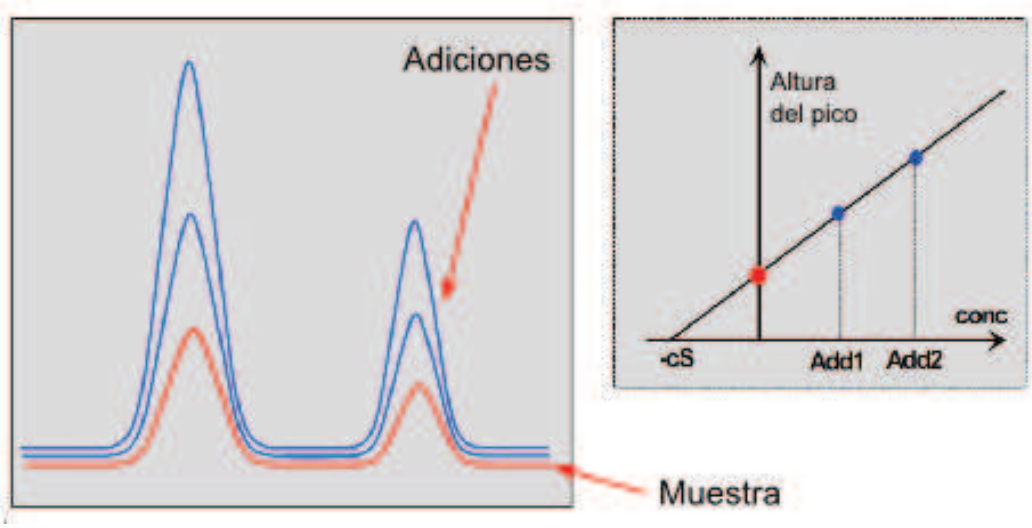


Figura 1.10. Esquema de la medición voltamétrica por adición de estándares (Metrohm, 2006)

Si se grafica *h*d* vs *Ca*, se puede determinar la concentración desconocida (*Cx*), de la intercepción de la recta con el eje de las x, o:

$$Cx = \frac{b}{m} \quad [1.42]$$

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Puesta a punto de los métodos

Para el desarrollo de los métodos se llevó a cabo, inicialmente, una extensa investigación bibliográfica encaminada a definir las posibles variaciones que se pueden realizar a los métodos, con el fin de adaptarlos a las condiciones propias del laboratorio. Para todos los métodos, la principal fuente de consulta fue el manual de la APHA (Clereserceri *et al.*, 2005). Otras fuentes adicionales fueron Cross (1998), Dean Adams (1990), Ibrahim (2007), Komatsu (1973), Kounaves (1997), Sancho (1997) y diversos boletines de aplicación publicados en el sitio web de la compañía Methrom, para el caso del análisis por voltametría de redisolución.

2.1.1 Necesidad analítica

Con el fin de establecer la necesidad analítica para los métodos propuestos y así evaluar la pertinencia del trabajo y justificar la inversión a realizarse para la validación de los mismos, se realizó una investigación bibliográfica, donde se buscó las principales fuentes de contaminación con el analito en cuestión y el impacto de la presencia de este en el medio ambiente y la salud. Adicionalmente a esta investigación, se tomó en cuenta el número de análisis y la frecuencia con que estos son solicitados por los clientes del laboratorio, así como la importancia dada por la legislación ambiental a su cuantificación.

2.1.2 Descripción del método

2.1.2.1 Fenoles

Para el análisis de fenoles el método escogido fue el método de la 4-aminoantipirina. El método de la 4-aminoantipirina determina la concentración de fenoles orto y meta sustituidos. Debido a que las muestras de agua pueden contener varios tipos de compuestos fenólicos, los resultados del ensayo serán

expresados como su concentración equivalente de fenol; este valor representa por tanto la concentración mínima de compuestos fenólicos presentes en la muestra bajo análisis.

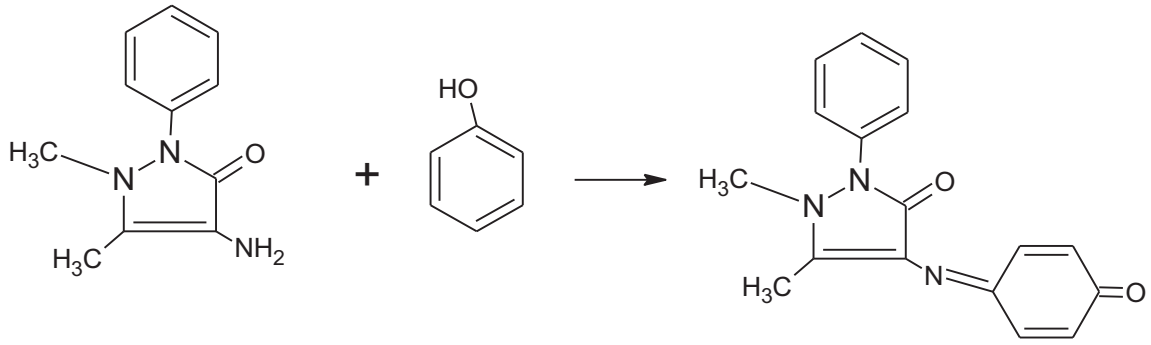


Figura 2.1. Reacción del Fenol con la 4-Aminoantipirina

Los fenoles reaccionan con la 4-aminoantipirina a pH cercano a 10 en presencia de ferricianuro de potasio para formar un tinte de antipirina amarillo o ámbar, de acuerdo a la reacción presentada en la figura 2.1. El color se intensifica por extracción de la solución acuosa con cloroformo ($CHCl_3$) y la absorbancia se mide a 460 nm. El método cubre el intervalo de concentraciones desde 0,020 mg/L a 2 mg/L. (Clereseeri *et al.*, 2005)

2.1.2.2 Surfactantes aniónicos

Para el análisis de Surfactantes aniónicos se escogió como método analítico el método extracción con azul de metileno. Este método mide principalmente los surfactantes aniónicos no jabones utilizados habitualmente en la formulación de los surfactantes aniónicos. Incluye sobre todo surfactantes del tipo sulfonato $[RSO_3]^-Na^+$, del tipo éster de sulfato $[ROSO_3]^-Na^+$, y no iónicos sulfatados $[RE_nOSO_3]^-Na^+$.

En este procedimiento LAS y otros surfactantes aniónicos reaccionarán con azul de metileno para formar una sal o par iónico entre el anión del surfactante y el catión del azul de metileno; la sal resultante es soluble en cloroformo y la intensidad del color producida es proporcional a la concentración de surfactantes aniónicos presentes en la muestra. (Ibrahim, 2007; Schmitt, 2001; Jurado, 2006).

2.1.2.3 Metales pesados: Cd y Pb

Plomo y cadmio se determinarán a través de la voltametría de redisolución anódica (ASV). El método se basa en la preconcentración de la muestra a la cual se ha añadido una pequeña cantidad de iones de mercurio, seguida por una etapa de redisolución de los metales de la superficie del electrodo de carbón vítreo.

El plomo y el cadmio se pueden concentrar sobre el electrodo de carbón conjuntamente con el mercurio. El mercurio depositado en la superficie del electrodo forma un film in-situ. Las corrientes medidas durante la etapa de barrido son proporcionales a la concentración del ión metálico en solución.

2.1.3 Ensayos preliminares

2.1.3.1 Fenoles

Se llevaron a cabo pruebas de significancia para la destilación de los estándares usados en la validación, con el fin de determinar la validez de la recta de calibración tanto para muestras que necesitaban destilación, como para aquellas cuya composición no presentaba interferencias al método, y podían determinarse directamente sin necesidad de este tratamiento previo. Adicionalmente se realizó ensayos para determinar de forma experimental el límite de cuantificación del método y de regresión a fin de encontrar el rango de respuesta lineal del método.

2.1.3.2 Surfactantes aniónicos

Se condujeron análisis preliminares, con el objeto de evaluar la existencia o no de diferencias significativas entre el procedimiento normal descrito para el análisis de surfactantes aniónicos, y la adición de peróxido de hidrógeno más alcohol isopropílico. Para el efecto las muestras así tratadas se contrastaron con los resultados obtenidos para muestras sin este tratamiento, utilizando un valor de concentración para cada rango. Adicionalmente se realizaron ensayos para determinar de forma experimental el límite de cuantificación del método y análisis

de regresión para determinar los rangos lineales, que definirían los intervalos de trabajo para el método.

2.1.3.3 Metales pesados: Cd y Pb

Con el fin de determinar el valor óptimo para los distintos parámetros que determinan la respuesta del método voltamétrico utilizado para la determinación de Cadmio y Plomo se realizaron ensayos para varios valores dentro de un rango definido en base a referencias bibliográficas (Radiometer TRL002; MetrohmBoletin 113/2; Mojica *et al.,* 2007; Vladimirovna, 2006). Mientras se cambiaba un solo parámetro el resto de parámetros mantuvieron valores constantes, los valores ensayados para los parámetros se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 2.1. Parámetros utilizados para la afinación del método voltamétrico

Parámetro	Valor constante	Valores ensayados
Volumen de muestra [ml]	10	10; 20
Volumen de solución de Mercurio [ml]	1	0,5; 1,0 y 1,5
Concentración de solución de mercurio [mM]	1	1; 5 y 10
Potencial de deposición [V]	-1,2 V	-1,6 a -0,8 con variaciones de 0,1 V
Frecuencia [hz]	125	50, 100, 125, 150, 200 y 250
Amplitud [V]	0,025	0,010; 0,025 y 0,050

Adicionalmente, se ensayó el efecto de la concentración de mercurio en el resultado del análisis, se determinó de forma experimental el límite de cuantificación del método y mediante un análisis de regresión se determinó el rango de linealidad del método.

2.1.4 Preparación de las muestras

Antes de empezar el ensayo, las muestras refrigeradas se dejaron al ambiente para que alcancen la temperatura del laboratorio y así garantizar que el volumen de la muestra tomado no se vea afectado por la temperatura.

2.1.4.1 Fenoles

En el caso de muestras que presentaban sólidos sedimentables y suspendidos o sulfuros, se realizó el procedimiento de destilación previo al análisis.

Se agitó vigorosamente la muestra antes de tomar el volumen necesario para el análisis con el fin de garantizar su uniformidad.

Para muestras con una concentración de fenoles esperada mayor a 0,5 mg/L se realizó una dilución de 1:5, para la cual se tomó 100 ml de muestra y se aforó a 500 ml.

La muestra real se almacenó a 4°C, acidificada a pH inferior a 4 con ácido fosfórico al 10%, a fin de conservar el nivel de fenoles durante el período de validación.

2.1.4.2 Surfactantes aniónicos

Las muestras que presentaron sólidos sedimentables y suspendidos, fueron filtradas, tomando un volumen adecuado de muestra, según la concentración esperada.

Para muestras con una concentración de surfactantes aniónicos esperada mayor a 1 mg/L se realizó una dilución de 1:10, para la cual se tomó 10 ml de muestra y se aforó a 100 ml, a continuación se procedió según lo señalado para el rango alto.

La solución de lavado empleada permitió eliminar las interferencias más comunes como son, sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, nitratos y cloruros inorgánicos. En el caso especial en el que se encontró presencia de sulfuros en la muestra se

agregó unas gotas de H_2O_2 para evitar la interferencia por reducción del azul de metileno. (Clereseeri *et al.*, 2005).

El rango de trabajo y en consecuencia el volumen de muestra utilizado durante el análisis, se determinó de la siguiente tabla de acuerdo a la concentración de surfactantes esperada en la muestra bajo análisis:

Tabla 2.2. Volumen de muestra a utilizar según concentración esperada, para el análisis de surfactantes anióncos.

Rango	Concentración esperada de MBAS mg/L	Volumen de muestra a ser utilizado, ml
Bajo	0,025 - 0,100	400
Medio	0,1 – 1,0	250
Alto	1 – 10	20 aforado a 100

2.1.4.3 Metales pesados: Cd y Pb

Las muestras que presentaban sólidos sedimentables y suspendidos fueron filtradas, tomando un volumen adecuado de muestra, según la concentración esperada.

Se agitó vigorosamente la muestra antes de tomar el volumen necesario para el análisis con el fin de garantizar su uniformidad.

La muestra real fue escojida y preparada de acuerdo a las siguientes consideraciones: dado que los compuestos orgánicos interfieren con la determinación estos deben ser removidos a través de la digestión de la muestra. La presencia de trazas de platino en la muestra produce la generación de hidrógeno en la superficie del electrodo, e imposibilita la determinación de cadmio y plomo. El talio y el indio pueden interferir con los potenciales del Cadmio. Altas concentraciones de zinc pueden causar interferencia por superposición al pico de cadmio, e impiden su determinación. Las muestras de aguas subterráneas, superficiales, minerales y potables se pueden determinar directamente.

El rango de trabajo y en consecuencia los parámetros a utilizar durante el análisis, se determinaron de la siguiente tabla de acuerdo a la concentración del metal, esperada en la muestra bajo análisis:

Tabla 2.3. Rango del método a emplearse según concentración esperada para el análisis de metales pesados.

Rango	Concentración esperada metal ug/L
Bajo	2,5 – 20,0
Medio	20 - 250
Alto	250 - 1000

2.1.5 Procedimientos de análisis

2.1.5.1 Fenoles

Se tomaron 300 ml de muestra para un análisis directo en los casos en que se necesitó destilación previa se tomó aproximadamente 350 ml.

2.1.5.1.1 Procedimiento de Destilación

Se ensambló el equipo de destilación, y se utilizó un erlenmeyer de 500 mL para recolectar el destilado. Al volumen tomado de muestra, se añadió unas gotas de indicador anaranjado de metilo y se acidificó con ácido fosfórico al 10% hasta que el indicador cambie de amarillo a naranja.

El volumen de muestra acidificada se colocó en el frasco de destilación, junto a un pequeño número de núcleos de ebullición y se acopló al equipo de destilación. Se abrió el agua de refrigeración y colocó el control de calentamiento en su posición máxima.

De esta destilación se recolectó aproximadamente 325 ml de destilado en un frasco erlenmeyer, y se apagó el equipo. Con el volumen recolectado se procedió con el análisis.

2.1.5.1.2 Análisis

Para el análisis se Añadó 300 ml de muestra a un balón de separación. A continuación se añadó 5 mL de Buffer de Dureza (pH = 10,0) y se agitó para homogenizar.

Se añadió el contenido del reactivo Phenol Reagent Powder, se tapó y se agitó para disolver. Se añadió el contenido del reactivo Phenol 2 Reagent Powder, y se procedió nuevamente a disolverlo.

Luego se añadió 30 ml de $CHCl_3$ y se agitó el embudo por 30 segundos. Se ventiló cualquier exceso de presión de ser necesario.

Se dejó reposar para separar las fases y se extrajo la capa de cloroformo a través de un tapón de algodón a un vial. El extracto se leyó contra un blanco de cloroformo en el programa almacenado en el espectrofotómetro correspondiente a concentración de fenoles (# 952).

Los valores obtenidos se registraron para su posterior tratamiento estadístico.

2.1.5.1.3 Medidas de seguridad

Durante todo el proceso de extracción y al transferir la solución a los viales para su lectura se utilizó una mascarilla. Adicionalmente se utilizó gafas, guantes y mandil durante toda actividad realizada en el laboratorio.

2.1.5.1.4 Materiales y Equipos

- Espectrofotómetro HACH (EI/42-00),
- Balones aforados de 50ml
- Balones de separación,
- Probetas de 25 y 500 ml
- Balones aforados de 100, 250 y 500 ml.
- Muestra de agua (residual o natural) el manejo de objetos de ensayo se encuentra en el capítulo 21 del Manual de Calidad,
- Agua destilada.

2.1.5.1.5 Reactivos

- Buffer de Dureza 1, pH 10,1, Para preparar el buffer se disuelve 16.9 g de Cloruro de Amonio (NH_4 CL) en 143 ml de Hidróxido de Amonio (NH_4 OH). A continuación disolver 1,179 g de EDTA sal y 0,78 g de Sulfato de Magnesio (MgSO_4) en 50 ml de agua destilada. Ambas soluciones se mezclan y aforan con agua destilada a 250 ml.
- Ácido fosfórico al 10 %
- Anaranjado de Metilo.- 0,1 g de anaranjado de metilo en una solución de 50 cm3 de alcohol etílico y diluir a 100 cm3 con agua.
- HACH Phenol Reagent Powder Pillow.
- HACH Phenol 2 Reagent Powder Pillow.
- Cloroformo, ACS

2.1.5.2 Surfactantes aniónicos

Se seleccionó el volumen de muestra a ser utilizado en el ensayo en base la concentración de surfactantes aniónicos esperada. Para muestras de concentración mayor a 10 ppm y menor a 100 ppm, se preparó una dilución con una alícuota de 10 ml de muestra aforada en un balón de 100 ml, con agua destilada y se seguió el procedimiento para el rango alto

Todos los balones de separación y los balones aforados de 50 ml se lavaron con una pequeña cantidad de cloroformo.

Se añadió la muestra en el balón de separación. Se alcalinizó mediante la adición de gotas de NaOH 1N, e indicador de fenolftaleína. El color rosa se eliminó mediante la adición de gotas de H_2SO_4 1N.

A continuación, se añadió 25 ml de azul de metileno y 10 ml de $CHCl_3$. Se agitó el embudo vigorosamente por 30 segundos y se dejó separar las fases. Se ventiló cualquier exceso de presión, cuando era el caso. En los casos en los que se presentó emulsión, se utilizó un agitador para ayudar a romperla.

Se separó la capa de $CHCl_3$ en un segundo embudo de separación y se repetió la extracción dos veces más usando 10 ml de cloroformo cada vez.

Se combinó todos los extractos de cloroformo en el segundo embudo de separación. Se añadió 50 ml de solución de lavado y se agitó vigorosamente durante 30 segundos.

Se dejó reposar y se extrajo la capa de cloroformo a través de un tapón de algodón en un balón aforado de 50 ml.

Se extrajo la solución de lavado dos veces con 10 ml de cloroformo, y se añadió estos volúmenes al balón de 50ml a través del tapón de algodón.

Se aforó hasta la marca con cloroformo y leyó utilizando un blanco de cloroformo en el programa almacenado en el espectrofotómetro correspondiente al rango seleccionado para el análisis (#998 para rango bajo, 999 para rango medio y 951 para rango alto).

Los valores así obtenidos se registraron para su posterior tratamiento estadístico.

2.1.5.2.1 Medidas de seguridad.

Durante todo el proceso de extracción y al transferir la solución a los viales para su lectura se utilizó una mascarilla. Adicionalmente se utilizó gafas, guantes y mandil durante toda actividad realizada en el laboratorio.

2.1.5.2.2 Materiales y Equipos

- Espectrofotómetro HACH (EI/42-00),
- Balones aforados de 50ml
- Balones de separación,
- Probetas de 25 y 500 ml
- Balones aforados de 100, 250 y 500 ml.
- Muestra de agua (residual o natural) el manejo de objetos de ensayo se encuentra en el capítulo 21 del Manual de Calidad,
- Agua destilada

2.1.5.2.3 Reactivos

- Solución indicadora de Fenolftaleína: Diluir 5 g de sal disódica de fenolftaleína en 500 ml de alcohol etílico 95% y añadir 500 ml de agua destilada.
- Hidróxido de Sodio 1N: Disolver 40g de NaOH en agua destilada. Diluir a 1L.
- Ácido Sulfúrico, 1N: Cuidadosamente añadir 28 mL de H_2 SO_4 concentrado a 500ml de Agua destilada, enfriar y diluir a 1L.
- Cloroformo: Usar en grado Reactivo
- Reactivo de Azul de Metileno: Disolver 100 mg de azul de metileno en 100 ml de agua. Transferir 30 ml a un frasco de 1000ml. Añadir 500 ml de agua destilada, 6.8 ml de H_2 SO_4 concentrado y 50 g de NaH_2 PO_4.H_2 O. Agitar hasta que la disolución sea completa. Diluir a 1L.
- Solución de Lavado: Añadir 6.8 ml de H_2 SO_4 concentrado a 500 mL de agua destilada en un frasco de 1000ml. Añadir 50 g de NaH_2 PO_4.H_2 O y agitar hasta que la disolución sea completa. Diluir a 1L con Agua destilada.

2.1.5.3 Metales Pesados: Cd y Pb

Dado que el plomo y el cadmio constituyen contaminantes relativamente comunes fue necesario una cuidadosa limpieza de todo el materia a usar durante el análisis, para este efecto se utilizó una solución 2 N de HNO_3. El material se enjuagó entonces, con agua destilada para remover el ácido.

Las celdas utilizadas en el análisis debían contener un pequeño volumen de HNO3 2N, mientras no eran utilizadas, para evitar su contaminación.

Se lavó los electrodos antes de cada lectura sumergiéndolos en agua destilada. Antes de conectar los electrodos se ejecutó el programa de análisis de hardware para comprobar el correcto funcionamiento del equipo. Luego se conectó apropiadamente los electrodos, el color verde corresponde al electrodo de trabajo, el blanco al electrodo de referencia y el rojo al electrodo auxiliar.

Se tomó 10 ml de la muestra a analizar, con una pipeta volumétrica limpia y se los colocó en la celda, a la que se añadió 1ml de la solución 1 mM de Hg y 1ml del buffer de Acetato de Amonio.

Se sumergió los electrodos, en la celda que contiene la muestra, y a continuación se agitó la celda durante unos 20 segundos.

Se corrió el análisis según los parámetros elegidos para cada rango. La técnica de barrido a utilizarse, fué la voltametría de onda cuadrada. El valor a registrarse para cada medición fué el correspondiente a la altura del pico (en microamperios).

Tabla 2.4. Parámetros generales del barrido SWV para el análisis de metales pesados

Parámetros del Barrido	
Potencial Inicial (Init E V)	-0.9
Potencial final (Final E V)	-0,1
Incremento (Incr E V)	0,01
Amplitud (Amplitude V)	0,025
Frecuencia (hz)	125
Sensibilidad (V)	1.e-004
Parámetros del Preacondicionamiento	
Potencial segunda Etapa (V)	-1.3
Potencial tercera etapa (V)	-0.9

Tabla 2.5. Parámetros del preacondicionamiento para cada rango

	Rango bajo (2,5 a 20 ug/L)	**Rango medio (20 a 250 ug/L)**	**Rango alto (250 a 1500 ug/L)**
Potencial primera etapa (V)	0.4	0.4	0.4
Tiempo primera etapa (s)	5	5	5
Tiempo segunda etapa (s)	90	15	0
Tiempo tercera Etapa (s)	5	5	3

Se registró el valor de la primera medición y se realizó una segunda medición, entre cada medición se sumergió el electrodo en agua destilada y se agitó la celda hasta recuperar el potencial de equilibrio determinado al inicio del análisis. Cuando la diferencia entre las mediciones resultó mayor al 10% de su valor, se realizó una tercera medición y se descartó la más discordante.

Luego, se realizó la adición de 0,5 ml de un estándar de concentración conocida de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 2.6. Concentración del estándar de adición según el rango

	Rango bajo (2,5 a 20,0 ug/L)	**Rango medio (20 a 250 ug/L)**	**Rango alto (250 a 1 000 ug/L)**
Concentración estándar de adición (ug/L)	100	1 000	10 000

Se realizó una segunda medición de acuerdo al proceso descrito para la medición de la muestra inicial. Se repetió el proceso nuevamente para una tercera medición y se verificó que el coeficiente de correlación de la recta resultante de las adiciones, sea mayor a 0,99.

Se calculó el valor de la muestra bajo análisis de acuerdo al procedimiento descrito para el método de adición múltiple de estándares y se registró los valores obtenidos para su posterior tratamiento estadístico.

2.1.5.3.1 Procedimiento para la preparación de electrodos de trabajo

La limpieza del electrodo se llevó a cabo antes de la primera medida del día y cada cinco mediciones o cuando se compruebaba un cambio de la respuesta del electrodo durante la medida.

Para la limpieza del electrodo, se sumergió y agitó el electrodo unos diez segundos en agua y luego en etanol, a continuación se sumergió el electrodo en una solución de Ácido Nítrico 2M (HNO_3) y se le aplicó un potencial menor a -2,4V a fin de producir un burbujeo por producción de hidrógeno, durante unos 20 segundos. A continuación se sumergió el electrodo nuevamente en agua para eliminar los restos de ácido y proceder a la verificación del estado del electrodo.

Para la verificación del estado del electrodo, se realizó un análisis de voltametría cíclica (de -0,1 a 0,5V) sobre una solución 0,5mM de Ferricianuro de Potasio - 0,1 M KNO_3.

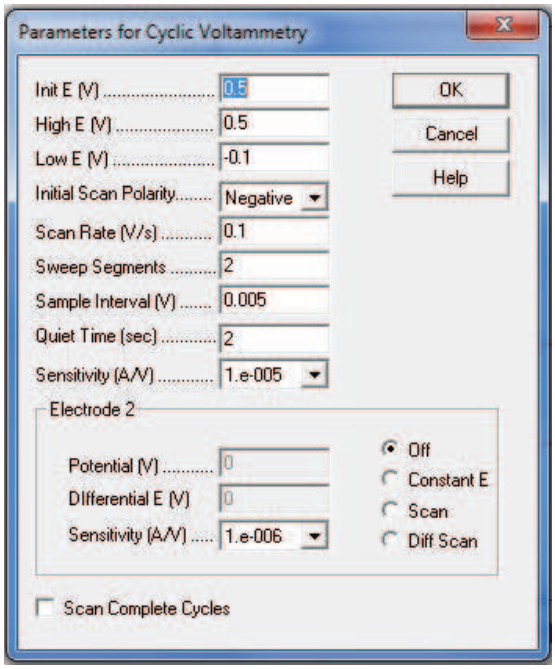


Figura 2.2. Parámetros para la voltametría cíclica del ferricianuro de potasio

El gráfico a obtenerse para el electrodo de carbón vítreo debía ser cercano al que se muestra en la figura 2.3 (el potencial del pico de reducción puede desplazarse, pero la altura del pico de reducción debe ser igual a $1{,}2e-5 \pm 15\%$.).

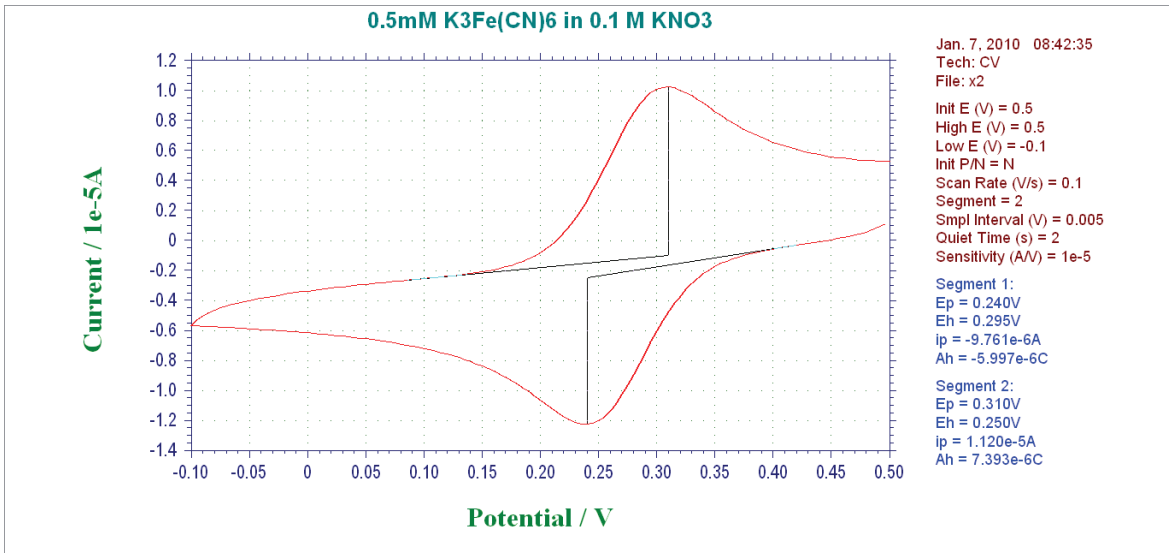


Figura 2.3. Voltametría cíclica sobre ferricianuro de potasio con electrodo de carbón vítreo

En los casos en los que no se obtuvo el gráfico esperado se realizó una segunda limpieza. Si luego de la segunda limpieza la forma del gráfico o el potencial aún difería considerablemente, se realizó una limpieza mecánica, para lo cual se pulió el electrodo con una suspensión de alúmina de 0,3 µm. Después de este pulido se repitió el protocolo normal definido para la limpieza y la verificación.

2.1.5.3.2 Materiales y Equipos

- Celdas de Vidrio de 20 ml.
- Potenciostato CH Instruments
- Electrodo de Referencia de Ag/AgCl
- Electrodo de Carbón Vítreo de 4 mm.
- Electrodo Auxiliar de Platino
- Pipeta volumétrica de 0,5, 1 y 10 ml.
- Pipeta volumétrica de 1 ml.
- Pipeta volumétrica de 0,5 ml.

2.1.5.3.3 Reactivos

- Solución 1 mM de Hg. Disolver 0,1446 g de Nitrato mercurioso, 1 ml de HNO_3 concentrado y aforar a 500 ml.
- Solución Buffer de Acetato de Amonio (2 M). Mezclar 74.9 mL de NH_3 (25%) y 118 ml de Ácido Acético glacial en un balón volumétrico de 0,5 L. El pH deberá ser 4.6. Aforar a 500 ml con agua destilada.
- Solución de Ferricianuro de Potasio (0,5 mM). Disolver 0,0832 g de Ferricianuro de Potasio y 5,106 g de KNO_3 en agua destilada, aforar a 500 ml.

2.1.6 Calibración de equipos

2.1.6.1 Espectrofotómetro HACH DR-2800

La calibración interna del espectrofotómetro HACH DR-2800 se realizó de acuerdo al método colorimétrico propuesto para los métodos de Surfactantes Aniónicos y Fenoles, basados en los “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” APHA, *et al.,* a una longitud de onda de 652 nm y

460 nm respectivamente, de acuerdo al modelo estadístico y de calculo de incertidumbres propuesto en la sección 2.2.3

2.1.6.2 Analizador electroquímico CH instruments

La calibración interna del analizador electroquímico CH Instruments para determinar Plomo y Cadmio se realizó de acuerdo al método propuesto en la sección 2.5.1, basado en los "Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales" (APHA, *et al)*, y otras referencias bilbiográficas y en el calculo de incertidumbre de calibración propuesto en la sección 2.2.3

2.1.6.2.1 Procedimiento para la verificación del electrodo de referencia.

Para la verificación del estado del electrodo de referencia, se utilizó una probeta con 10 ml de agua destilada a la que se añadió 1 ml del buffer de acetato de amonio (pH 4.6). Sobre este medio se registró el potencial en función del tiempo, entre el electrodo de referencia a verificar y otro electrodo de referencia de Ag/AgCl. En estas condiciones se debe obtener una lectura estable a un voltaje cercano a 0 V.

2.1.6.2.2 Verificación del Equipo

Para el uso diario del equipo, antes de la primera medida del día se corre el test de Hardware, disponible en el software del equipo.

Mensualmente se realiza una verificación más completa, que incluye las siguientes etapas: en primer lugar el test de hardware normal, a continuación, se procede a tomar medidas de potencial en función del tiempo, conectando entre si las terminales correspondientes al electrodo de referencia y el de trabajo; en este caso el potencial registrado debe ser constante y cercano a cero $\pm 8\,mV$. Posteriormente se conectan las terminales a una resistencia, y se realiza una voltametría lineal; el nuevo gráfico obtenido debe ser una recta con pendiente positiva e igual al valor de la resistencia.

2.2 Sistema de validación de los métodos

2.2.1 Elección de los parámetros de validación

Los parámetros a utilizarse para la validación correspondieron a los señalados en la documentación disponible en el laboratorio, tanto para validaciones anteriores, como en apartados específicos relacionados con validación de métodos (CICAM, 2006). Estos se han definido de acuerdo a literatura y a la experiencia del propio laboratorio. En cumplimiento de la Norma INEN-ISO/IEC 17025, es necesario verificar que los requisitos relacionados a la calidad de las medidas, puedan satisfacerse mediante el método de análisis propuesto.

2.2.2 Fijación de objetivos para los parámetros de validación.

Los objetivos para los parámetros de validación se fijaron en base a los parámetros utilizados en validaciones previas realizadas en el laboratorio, así como recomendaciones realizadas por analistas con experiencia en el método.

Para cada uno de los cuatro métodos validados los parámetros de validación quedaron establecidos según se muestra en las tablas 2.7, 2.8 y 2.9

Tabla 2.7. Objetivos de la validación para surfactantes aniónicos

PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad / Especificidad	Aplicable a aguas claras y residuales que no contengan interferencias por hemoglobina.
Linealidad / Función respuesta	R2 > 0,99
Límite de detección	0,001mg/l
Límite de cuantificación	0,025 mg/l
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	CVr≤ 15% CVR ≤ 20%
Exactitud (% de Recuperación)	80 − 120%
Incertidumbre	≤ 35%
Intervalo de trabajo	0,025 – 100 mg/l.

Tabla 2.8. Objetivos de la validación para fenoles

PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad / Especificidad	Aplicable a aguas claras y residuales.
Linealidad / Función respuesta	R2 > 0,99
Límite de detección	0,002mg/l
Límite de cuantificación	0,020 mg/l
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	CVr≤ 15% CVR ≤ 20%
Exactitud (% de Recuperación)	$80 - 120\%$
Incertidumbre	≤ 35%
Intervalo de trabajo	0,020 – 2 mg/l.

Tabla 2.9. Objetivos de la validación para metales pesados (Cd y Pb)

PARÁMETRO	OBJETIVO ESTABLECIDO
Selectividad / Especificidad	Aplicable a aguas claras y residuales que no contengan Talio o Indio
Linealidad Recta de Adición	R2 > 0,99
Límite de detección	0,0010 mg/l
Límite de cuantificación	0,0025 mg/l
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	CVr≤ 15% CVR ≤ 20%
Exactitud (% de Recuperación)	$80 - 120\%$
Incertidumbre	≤ 35%
Intervalo de trabajo	0,0025 – 1 mg/l.

2.2.3 Diseño experimental y estadístico

El diseño experimental, incluye el conjunto de procedimientos necesarios para la obtención de los datos necesarios para calcular los parámetros de validación señalados, a través de un modelo estadístico. Tanto el diseño experimental como el modelo estadístico usado para la obtención de estos parámetros se describen en los apartados siguientes, para cada método validado.

2.2.3.1 Surfactantes aniónicos

2.2.3.1.1 Diseño Expermiental

Para la validación del método de surfactantes aniónicos aniónicos se dividió el método en tres rangos de concentración. Se recogió datos de 3 niveles de concentración para el rango bajo, 6 para el medio y 4 para el rango alto, más los respectivos blancos. Los niveles de concentración escogidos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2.10. Niveles de concentración para cada rango de concentraciones

Rango de Concentración	Niveles escogidos
Rango bajo de 0,025 a 0,1 mg/L	0,025 – 0,050 – 0,100 mg/L
Rango medio de 0,1 a 1 mg/L	0,10 – 0,15 – 0,20 – 0,25 – 0,50 – 1 mg/L
Rango alto de 1 a 10 mg/L	1,0 – 2,5 – 5,0 – 10,0 mg/L

Adicionalmente para validar la dilución de muestras con concentración de hasta 100 mg/L, se recogieron datos para dos muestras de concentraciones 50 y 100 mg/L diluidas 1:10 y medidas en el rango alto. Finalmente para cada rango se escogió una muestra real cuya concentración sea aproximadamente igual a la mitad del rango y una muestra real para la dilución.

Para la determinación de la función de respuesta se realizaron 3 determinaciones diarias de cada nivel de concentración y de las muestras reales por 5 días, lo que resulta en un total de 15 determinaciones para cada nivel de concentración mencionado.

Para determinar la recuperación en matrices reales se tomaron 3 medidas de una adición de estándar conocida a cada una de las muestras reales. Adicionalmente se tomaron 5 mediciones de un nivel de concentración en cada rango, para las cuales se usó el procedimiento modificado por adición de peróxido de hidrógeno y alcohol isopropílico a las muestras, con el fin de realizar una prueba de significancia para el método modificado.

Aplicado el método señalado de extracciones se tomó la lectura de concentración en absorbancia a una longitud de onda de 652 nm. Todos los datos recogidos para cada nivel de concentración y muestras reales se presentan en el anexo I.

2.2.3.2 Fenoles

2.2.3.2.1 Diseño Expermiental

Para la validación del método de compuestos fenólicos se recogieron datos de 5 niveles de concentración más el blanco. Los niveles de concentración escogidos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2.11. Niveles de concentración escogidos para el rango de concentración a validar

Rango de Concentración	Niveles escogidos
0,020 – 2 mg/L	0,020 – 0,050 – 0,100 – 0,200 – 0,500 mg/L

Adicionalmente para validar la dilución de muestras con concentración de hasta 2 mg/L, se recogió datos para dos muestras de concentraciones 1 y 2 mg/L diluidas 1:5. Finalmente se escogieron una muestra real cuya concentración sea aproximadamente igual a la mitad del rango y una para las diluciones.

Para la determinación de la función de respuesta se realizó 3 determinaciones diarias de cada nivel de concentración y de las muestras reales por 5 días, lo que resulta en un total de 15 determinaciones para cada nivel de concentración mencionado.

Para determinar la recuperación en matrices reales se tomaron 3 medidas de una adición de estándar conocida a la muestra real, de agua residual. Adicionalmente se realizaron cinco medidas a 3 niveles de concentración diferentes con el fin de realizar una prueba de significación para la destilación.

Aplicado el método señalado de extracciones se tomó la lectura de concentración en absorbancia a una longitud de onda de 460 nm. Todos los datos recogidos para cada nivel de concentración y muestras reales se presentan en el anexo I.

2.2.3.3 Tratamiento estadístico para los métodos espectrofotométricos

Para las pruebas de significancia necesarias para los estudios preliminares se utilizó la prueba t de student para comparación de medias.

La recta de calibración y sus respectivos límites de confianza se construyó en base a todos los datos recogidos y se presenta en el anexo III.

Con el fin de obtener la exactitud del método de análisis, se calculó el % de Recuperación de los datos obtenidos para los diferentes niveles de concentración utilizados

Para el tratamiento estadístico de cada dato se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos con el fin de determinar la precisión (%CVr y % CV_R). Los cálculos realizados se presentan en el anexo IV.

Adicionalmente se obtuvieron los límites de detección y cuantificación, del intervalo de trabajo y finalmente la incertidumbre de calibración y la incertidumbre asociada a cada nivel, de acuerdo a los cálculos presentados en el Anexo II

2.2.3.4 Metales pesados: cadmio y plomo

2.2.3.4.1 Diseño Expermiental

Para la validación del método voltamétrico para la determinación de Cadmio y Plomo se dividió el método en tres rangos de concentración. Se recogieron datos de 4 niveles de concentración para el rango bajo, 4 para el medio y 3 para el rango alto. Los niveles de concentración escogidos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2.12. Niveles de concentración para cada rango de concentraciones a validar

Rango de Concentración	Niveles escogidos
Rango bajo de 0,0025 a 0,020 mg/L	0,0025 – 0,0050 – 0,0100 – 0,0200 mg/L
Rango medio de 0,020 a 0,25 mg/L	0,02 – 0,05 – 0,10 – 0,25 mg/L
Rango alto de 0,25 a 1 mg/L	0,25 – 0,50 – 1,00 mg/L

Adicionalmente se recogieron datos para una muestra real de agua clara y una de agua residual correspondiente a una empresa textil, en el rango bajo y medio de cada metal. Para la determinación de la función de respuesta se realizaron 3 determinaciones diarias de cada nivel de concentración y de las muestras reales por 5 días, lo que resulta en un total de 15 determinaciones para cada nivel de concentración mencionado.

Para determinar la recuperación en matrices reales, que requieren digestión se tomaron 3 medidas de una adición de estándar conocida a la muestra real de agua residual. Todos los datos recogidos para cada nivel de concentración y muestras reales se presentan en el anexo I.

2.2.3.4.2 Tratamiento Estadístico

Para las pruebas de significancia necesarias para los estudios preliminares se utilizó la prueba t de student para comparación de medias. Los intervalos de trabajo se obtuvieron por análisis de regresión lineal de datos preliminares

Para el tratamiento estadístico de cada dato se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos con el fin de determinar la precisión (%CVr y % CV_R). Los cálculos realizados se presentan en el anexo IV.

Con el fin de obtener la exactitud del método de análisis, se calculó el % de Recuperación de los datos obtenidos para los diferentes niveles de concentración utilizados. Finalmente se calculó la incertidumbre de calibración y la incertidumbre asociada a cada nivel.

2.2.3.5 Modelos matemáticos para el tratamiento de datos

2.2.3.5.1 Obtención de la ecuación de la recta de función de respuesta

Para realizar la curva de calibración se utilizaron todos los datos obtenidos, y se obtuvo la respectiva regresión lineal; en el eje de las absisas (X) se ubica la concentración real de los patrones y en el eje de las ordenadas (Y) las lecturas obtenidas. La ecuación de la recta es por tanto:

$$L = mP + Lo \qquad [2.1]$$

Donde

L = Lectura observada

m = Coeficiente de regresión

P = Concentración de los patrones

Lo = Coeficiente de la ordenada, en el origen del eje de las absisas

El cálculo del coeficiente de regresión (m) y el coeficiente de la ordenada (L_o) se realizó por el método de los mínimos cuadrados. Adicionalmente se calculó el grado de ajuste de la recta, r^2 conocido también como coeficiente de correlación. El criterio para aceptar este grado de ajuste de la recta es $r^2 > 0.995$

A partir de la ecuación de la recta se calculó Sm, S_{Lo} y $S_{L,P}$.

$$S_{LP} = \sqrt{\sum \frac{(L_{obs} - L_{est})^2}{n-2}} \quad [2.2]$$

$$Sm = S_{LP} / \sqrt{\sum (P - \bar{P})^2} \quad [2.3]$$

$$S_{Lo} = S_m * \sqrt{\sum \frac{(P_{MR})^2}{n}} \quad [2.4]$$

Donde

S_m = Desviación tipo del coeficiente de regresión de la recta
S_{LP} = Desviación tipo de la recta
S_{Lo} = Desviación tipo de la ordenada
L = respuesta del equipo
L_{est} = respuesta estimada
P = concentración observada.
$\bar{P}$ = Concentración media.
P_{MR} = Concentración promedio del material de referencia
n = número de observaciones

2.2.3.5.1.1 Determinación de la desviación estándar en la estimación de Concentración

$$S_{PL} = \frac{S_{LP}}{m} \quad [2.5]$$

Donde

S_{PL} = Desviación estándar de la Concentración (P)

S_{LP} = Desviación estándar de la recta
m = Coeficiente de regresión

2.2.3.5.2 Cálculo del límite de Detección (LD).

El límite de detección se calculó a partir de la desviación estándar de medidas del blanco:

$$LD = 3 * S_{Bl} \qquad [2.6]$$

Donde

SBl = Desviación estándar de las medidas del blanco

2.2.3.5.3 Determinación de los Niveles de Confianza del Método

Con m y los límites b$\pm t * S_{y,x}$ se obtiene una buena aproximación a la región de confianza de la recta (al nivel de significación establecido para t: 0,05.

A partir de los datos recogidos para la recta de calibración, se calculó el error tipo en la estimación de y a partir de los valores de x, S_{LP}.

Con m y los límites b $\pm\, t * S_{LP}$ se obtuvo una aproximación a la región de confianza de la recta (al nivel de significación establecido para t: 0,05):

$$Limites = m * L + (b \pm t * S_{LP}) \qquad [2.7]$$

2.2.3.5.4 Determinación de la exactitud (% Recuperación y % CV)

El cálculo del porcentaje de recuperación se realizó con la siguiente ecuación:

$$\%\mathrm{Re}cuperación = \frac{Valor\ observado}{Valor\ real} * 100 \qquad [2.8]$$

2.2.3.5.5 Incertidumbre de Surfactantes aniónicos

La incertidumbre de uso del método se calculó con la siguiente fórmula

$$U_{USO} = |U_M| + |correcciones\ no\ realizadas| \qquad [2.9]$$

Donde:

U_{uso} = Incertidumbre de uso
U_M = Incertidumbre expandida

$$U_M = u_{método} * k \qquad [2.10]$$

Donde:

$u_{método}$ = incertidumbre del método o incertidumbre estándar combinada
k = factor de cobertura

$$u_{método} = \sqrt{u_{calEq}^2 + u_R^2} \qquad [2.11]$$

Donde

u_{calEq} = Incertidumbre de calibración del Equipo
u_R = Incertidumbre de repetibilidad

El cálculo de estos últimos se detalla en las siguientes secciones

2.2.3.5.5.1 Cálculo de la incertidumbre de calibración.

2.2.3.5.5.2 Ecuación general para la incertidumbre de calibración.

La incertidumbre de calibración del equipo se obtiene de la siguiente expresión:

$$u_{calEq} = \sqrt{\mathrm{u}_{\mathrm{MR}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{FR}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{analisis}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{rMR}}^2} \qquad [2.12]$$

Donde

u_{MR} = Incertidumbre del material de referencia
u_{FR} = Incertidumbre de la función de respuesta
$u_{analisis}$ = Incertidumbre del análisis
u_{rMR} = Incertidumbre de reproducibilidad

2.2.3.5.5.2.1 Cálculo de la Incertidumbre del Material de Referencia (u_{MR}).

La expresión para la dilución, al prepara los estándares se da a continuación:

$$C_2 = \frac{(C_1.V_1)}{V_2} \qquad [2.13]$$

Donde

C_1 = Concentración de la solución estándar
C_2 = Concentración de la solución a preparar
V_1 = Alícuota tomada de solución estándar.
V_2 = Volumen de Aforo

De donde se calculó la incertidumbre para la concentración 2 o solución a preparar. El factor de sensibilidad, para cada parámetro que interviene en la ecuación anterior se calculó al derivar la ecuación 2.13 para el correspondiente parámetro, de la siguiente forma:

$$\frac{\delta C_2}{\delta C_1} = \frac{V_1}{V_2} = A \qquad [2.14]$$

$$\frac{\delta C_2}{\delta V_1} = \frac{C_1}{V_2} = B \qquad [2.15]$$

$$\frac{\delta C_2}{\delta V_2} = -\frac{C_1 V_1}{V_2^2} = C \qquad [2.16]$$

La incertidumbre resulta por tanto:

$$u_{MR}^2 = u_{C_2}^2 = A^2 * u_{C1}^2 + B^2 * u_{V1}^2 + C^2 * u_{v2}^2 \qquad [2.17]$$

Donde:

u_{C1} = Incertidumbre del material de referencia
u_{V1} = Incertidumbre de calibración del material volumétrico utilizado para tomar la alícuota de la solución estándar
u_{V2} = Incertidumbre de calibración del material volumétrico utilizado para el aforo de la solución preparada.

2.2.3.5.5.2.2 Cálculo de la Incertidumbre por linealidad (u_{FR})

La función de respuesta está dada por:

$$FR = \frac{L - L_o}{m} \qquad [2.18]$$

Donde

L = Lectura obtenida del equipo

L_o = Ordenada al origen

m = coeficiente de regresión o pendiente de la recta

Los factores de sensibilidad se obtienen de:

$$\frac{\delta FR}{\delta L} = \frac{1}{m} = A \qquad [2.19]$$

$$\frac{\delta FR}{\delta Lo} = -\frac{1}{m} = B \qquad [2.20]$$

$$\frac{\delta FR}{\delta m} = -\frac{L-Lo}{m^2} = C \qquad [2.21]$$

De acuerdo a la ley de propagación de incertidumbres se tiene:

$$u_{FR}^2 = A^2 * u_L^2 + B^2 * u_{L_O}^2 + C^2 * u_m^2 \qquad [2.22]$$

Donde

u_L = incertidumbre de la lectura obtenida

u_{Lo} = incertidumbre del coeficiente de la ordenada al origen

u_m = incertidumbre del coeficiente de regresión.

2.2.3.5.5.2.3 Cálculo de la incertidumbre de la lectura obtenida (u_L)

La incertidumbre de la lectura obtenida está dado por:

$$u_L = \sqrt{u_{resolución}^2 + u_{deriva}^2} \qquad [2.23]$$

Donde $u_{resolución}^2$ es la incertidumbre debida a la resolución del equipo; si se asume una distribución rectangular esta es igual a:

$$u_{resolución} = \frac{resolución}{\sqrt{3}} \qquad [2.24]$$

La incertidumbre por la deriva del equipo o u_{deriva} se calcula como sigue:

$$u_{deriva} = \frac{exactitud}{\sqrt{3}} \qquad [2.25]$$

2.2.3.5.5.2.4 Cálculo de la incertidumbre de la ordenada en el origen (u_{Lo})

Esta incertidumbre se calculó con la desviación estándar de la ordenada en el origen.

$$S_{LP} = \sqrt{\sum \frac{(L_{obs} - L_{est})^2}{n-2}} \quad [2.26]$$

$$S_{Lo} = S_m * \sqrt{\sum \frac{(P_{MR})^2}{n}} \quad [2.27]$$

$$u_{Lo} = S_{Lo} \quad [2.28]$$

Donde

S_{LP} = Desviación tipo de la recta
S_{Lo} = Desviación tipo de la ordenada
L = respuesta del equipo
L_{est} = respuesta estimada
P_{MR} = Concentración promedio del material de referencia
n = número de observaciones

2.2.3.5.5.2.5 Cálculo de la incertidumbre del coeficiente de regresión (u_m)

Esta incertidumbre se calculó con la desviación estándar del coeficiente de regresión:

$$Sm = \frac{S_{LP}}{\sqrt{\sum (P - \bar{P})^2}} \quad [2.29]$$

$$u_m = S_m \quad [2.30]$$

Donde

S_m = Desviación tipo del coeficiente de regresión de la recta
S_{LP} = Desviación tipo de la recta
P = concentración observada.
$\bar{P}$ = Concentración media.

2.2.3.5.5.2.6 Calculo de la incertidumbre por el Análisis ($u_{analisis}$)

La incertidumbre del análisis se atribuye principalmente a la incertidumbre en el volumen de muestra tomado, y el volumen final de aforo, por tanto se consideró igual a:

$$u_{analisis} = \sqrt{u_{muestra}^2 + u_{aforo}^2} \quad [2.31]$$

Donde $u_{muestra}$ esta dado por la incertidumbre del material volumétrico utilizado para tomar la muestra a analizar y el u_{aforo} esta dada por la incertidumbre del material volumétrico empleado para el aforo final con cloroformo. Con el fin de convertir estas incertidumbres a unidades de concentración, coherentes con las usadas en el cálculo del resto de incertidumbres se utilizó la siguiente ecuación:

$$u_{analisis} = \sqrt{\left(u_{muestra} * \frac{Cest}{V_{muestra}}\right)^2 + \left(u_{aforo} * \frac{Cest}{V_{aforo}}\right)^2} \quad [2.32]$$

Donde

Cest = Concentración del estándar utilizado
$V_{muestra}$ = Volumen de la muestra
V_{aforo} = Volumen del aforo

2.2.3.5.5.2.7 *Cálculo de la incertidumbre por Repetibilidad (u_{rMR})*

Esta incertidumbre se calculó como sigue:

$$u_r = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad [2.33]$$

Donde *s*, es la desviación estándar de los datos (desviación estándar de repetibildiad) para cada concentración y *n* el número de datos.

2.2.3.5.5.3 Cálculo de la incertidumbre de Reproducibilidad

La incertidumbre de reproducibilidad se consideró igual a:

$$u_R = S_R \quad [2.34]$$

Donde S_R es la desviación estándar de reproducibilidad obtenida del análisis de ANOVA.

2.2.3.5.6 Incertidumbre de Fenoles

La incertidumbre de uso del método se calculó con la siguiente fórmula

$$U_{USO} = |U_M| + |correcciones\ no\ realizadas| \quad [2.35]$$

Donde:

U_{uso} = Incertidumbre de uso
U_M = Incertidumbre expandida

$$U_M = u_{método} * k \qquad [2.36]$$

Donde:

$u_{método}$ = incertidumbre del método o incertidumbre estándar combinada
k = factor de cobertura

$$u_{método} = \sqrt{u_{calEq}^2 + u_R^2} \qquad [2.37]$$

Donde

u_{calEq} = Incertidumbre de calibración del Equipo
u_R = Incertidumbre de reproducibilidad

El cálculo de estos últimos se detalla en las siguientes secciones

2.2.3.5.6.1 Cálculo de la incertidumbre de calibración.

2.2.3.5.6.2 Ecuación general para la incertidumbre de calibración.

La incertidumbre de calibración del Equipo se obtiene de la siguiente expresión:

$$u_{calEq} = \sqrt{\mathrm{u}_{\mathrm{MR}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{FR}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{analisis}}^2 + \mathrm{u}_{\mathrm{rMR}}^2} \qquad [2.38]$$

Donde

u_{MR} = Incertidumbre del material de referencia
u_{FR} = Incertidumbre de la función de respuesta
$u_{analisis}$ = Incertidumbre del análisis
u_{rMR} = Incertidumbre de reproducibilidad

2.2.3.5.6.2.1 Cálculo de la Incertidumbre del Material de Referencia (u_{MR}).

Esta incertidumbre se calculó de la misma forma que la presentada en el cálculo de la incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos.

2.2.3.5.6.2.2 Cálculo de la Incertidumbre por linealidad (u_{FR})

Esta incertidumbre se calculó de la misma forma que la presentada en el cálculo de la incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos.

2.2.3.5.6.2.3 Calculo de la incertidumbre por el Análisis ($u_{analisis}$)

La incertidumbre del análisis se atribuye principalmente a la incertidumbre en el volumen de muestra tomado, y el volumen final de aforo, por tanto se consideró igual a:

$$u_{analisis} = \sqrt{u_{muestra}^2} \qquad [2.39]$$

Donde $u_{muestra}$ esta dado por la incertidumbre del material volumétrico utilizado para tomar la muestra a analizar y el u_{aforo} esta dada por la incertidumbre del material volumétrico empleado para el aforo final con cloroformo.

Con el fin de convertir estas incertidumbres a unidades de concentración, coherentes con las usadas en el cálculo del resto de incertidumbres se utilizó la siguiente ecuación:

$$u_{analisis} = \sqrt{\left(u_{muestra} * \frac{Cest}{V_{muestra}}\right)^2} \qquad [2.40]$$

Donde

Cest = Concentración del estándar utilizado
$V_{muestra}$ = Volumen de la muestra
V_{aforo} = Volumen del aforo

2.2.3.5.6.2.4 *Cálculo de la incertidumbre por Repetibilidad (u_{rMR})*

Esta incertidumbre se calculó de la misma forma que la presentada en el cálculo de la incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos.

2.2.3.5.6.3 Cálculo de la incertidumbre de Reproducibilidad

Esta incertidumbre se calculó de la misma forma que la presentada en el cálculo de la incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos.

2.2.3.5.7 Incertidumbre de Metales Pesados: Cd y Pb

La incertidumbre de uso del método se calculó con la siguiente fórmula

$$u_M = k * u_m \quad [2.41]$$

Donde

k = factor de cobertura

$$u_m = \sqrt{u_{cal}^2 + u_R^2} \quad [2.42]$$

Donde:

U_m= Incertidumbre del método
U_{cal}= Incertidumbre de calibración
U_R= Incertidumbre de reproducibilidad

2.2.3.5.7.1 Cálculo de la Incertidumbre de Reproducibilidad

$$u_R = S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2} \quad [2.43]$$

Donde:

S_R = Desviación estándar de Reproducibilidad
S_r = Desviación estándar de Repetibilidad
S_L = Desviación de la medición

2.2.3.5.7.2 Cálculo de la Incertidumbre de Calibración

$$u_{cal} = \sqrt{u_{MR}^2 + u_{ad}^2 + u_r^2 + u_{deriva}^2} \quad [2.44]$$

Donde:

U_{MR} = Incertidumbre del material de referencia
U_{ad} = Incertidumbre del proceso de adición de estándares
U_r = Incertidumbre de Repetibilidad

2.2.3.5.7.2.1 Cálculo de la Incertidumbre por el material de Referencia

La expresión para la dilución, al preparar los estándares se da a continuación:

$$C_2 = \frac{(C_1.V_1)}{V_2} \quad [2.45]$$

Donde

C_1 = Concentración de la solución estándar
C_2 = Concentración de la solución a preparar
V_1 = Alícuota tomada de solución estándar.
V_2 = Volumen de Aforo

De donde se calculó la incertidumbre para la concentración 2 o solución a preparar. El factor de sensibilidad, para cada parámetro que interviene en la ecuación anterior se calculó al derivar la ecuación 2.45 para el correspondiente parámetro, de la siguiente forma:

$$\frac{\delta C_2}{\delta C_1} = \frac{V_1}{V_2} = A \qquad [2.46]$$

$$\frac{\delta C_2}{\delta V_1} = \frac{C_1}{V_2} = B \qquad [2.47]$$

$$\frac{\delta C_2}{\delta V_2} = -\frac{C_1 V_1}{V_2^2} = C \qquad [2.48]$$

La incertidumbre por el material de referencia está dada por:

$$u_{MR}^2 = u_{C_2}^2 = A^2 * u_{C1}^2 + B^2 * u_{V1}^2 + C^2 * u_{v2}^2 \qquad [2.49]$$

Donde:

u_{C1} = Concentración del estándar
u_V = Incertidumbre por uso del material volumétrico

La incertidumbre del material volumétrico se calculó tomando en cuenta la incertidumbre reportada por el certificado de calibración del material, la incertidumbre debida al efecto de la variación de temperatura en el volumen medido y el error:

$$u_V = \sqrt{u_{mv}^2 + u_{error}^2 + u_{temp}^2} \qquad [2.50]$$

Donde:

U_{mv} = incertidumbre del material de vidrio según el certificado
U_{temp} = incertidumbre por la variación de temperatura

La incertidumbre debida al efecto de la temperatura en el volumen está dada de la siguiente forma:

$$u_{temp} = \frac{\alpha * V * \Delta T}{\sqrt{3}} \qquad [2.51]$$

Donde:

α: Coeficiente de expansión cúbica a 20ºC en ºC^{-1}. α=*0,000025 ºC*$^{-1}$
ΔT: Gradiente de temperatura (°C).
V: Volumen [ml]

2.2.3.5.7.2.2 Cálculo de la Incertidumbre de Repetibilidad

Esta incertidumbre se calculó como sigue:

$$u_r = \frac{s}{\sqrt{n}} \qquad [2.52]$$

Donde *s*, es la desviación estándar de los datos (desviación estándar de repetibildiad) para cada concentración y *n* el número de datos.

2.2.3.5.7.2.3 Cálculo de la Incertidumbre por la Deriva del equipo

Esta incertidumbre se calculó según la siguiente ecuación.

$$u_{deriva} = \frac{error_{máximo}}{\sqrt{3}} \qquad [2.53]$$

2.2.3.5.7.2.4 Cálculo de la Incertidumbre por el análisis.

Dada la ausencia de una expresión matemática general para el análisis por adición de estándares, esta incertidumbre se calculó tomando en cuenta todos los aportes de incertidumbre, de los pasos individuales del análisis. La expresión que permitió el cálculo de la incertidumbre quedó definida por tanto, de la siguiente forma:

$$\frac{u_{ad}}{C} = \sqrt{\left(\frac{u_{va}}{Va}\right)^2 * 2 + \left(\frac{u_{vi}}{Vi}\right) + 2 * \left(\frac{u_{vb}}{Vb}\right) + \left(\frac{u_{Ca}}{Ca}\right)^2} \qquad [2.54]$$

Donde:

u_{va} = Incertidumbre del material volumétrico utilizado para la adición de estándar

Va = Volumen de la adición de estándar.
u_{vb}= Incertidumbre del material volumétrico utilizado para añadir el volumen de solución buffer y de solución de mercurio.
Vb = Volumen de la adición de solución Buffer/Hg.
u_{vi} = Incertidumbre del material volumétrico utilizado para tomar la muestra.
Vi = Volumen de muestra.
u_{ca}= Incertidumbre de la concentración del estándar de adición.
Ca = Concentración del estándar de adición.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos

La primera prueba realizada con los datos obtenidos para cada rango validado fue la prueba de Cochrand. Los resultados de la prueba de Cochrand permiten comprobar el supuesto de homogeneidad de varianzas. Este es un supuesto importante para aplicar el análisis de varianza simple a un conjunto de muestras.

Demostrada la homogeneidad de las varianzas de los grupos muestrales, se realizó un análisis de varianza simple, con el fin de demostrar la homogeneidad de los grupos, según el método descrito en apartados anteriores. También se calculó el coeficiente de variación de repetibilidad y reproducibilidad para cada nivel de concentración.

Adicionalmente, los resultados del ANOVA permitieron el cálculo de magnitudes importantes para el posterior cálculo de las incertidumbres.

Finalmente, se procedió a la determinación de la incertidumbre de cada nivel de concentración, de acuerdo a las aportaciones identificadas mediante los diagramas causa-efecto, que se presentan en el Anexo V, y los modelos matemáticos descritos. Los valores de incertidumbre para el material volumétrico y el material de referencia utilizados, se obtuvieron de los respectivos certificados de calibración, disponibles en el laboratorio.

3.2 Discusión de resultados

3.2.1 Surfactantes aniónicos

La investigación bibliográfica realizada durante el desarrollo del presente trabajo permitió definir con claridad la importancia que tiene el análisis de surfactantes aniónicos para la sociedad, y más aún permitió justificar el trabajo desarrollado para realizar la validación del método, a fin de que el laboratorio pueda prestar este servicio a sus clientes.

Los surfactantes aniónicos o Detergentes contribuyen con concentraciones muy variables a la polución de las aguas residuales; generalmente se encuentran concentraciones de 1 a 20 mg/L. Los tensoactivos entran en las aguas limpias y residuales principalmente por descarga de aguas residuales del lavado doméstico e industrial de ropa y otras operaciones de limpieza. (Nollet, 2007)

Los surfactantes aniónicos causan problemas de espumas en aguas superficiales, lagos, plantas de lodos activados y, en general, en sitios de mezcla turbulenta de aguas residuales. Las moléculas de surfactantes aniónicos tienden a formar capas, sobre la superficie del agua, con la cabeza polar hidrofílica en el agua y la cadena larga de hidrocarburo hidrofóbica, no polar, en el exterior del agua. Cuando la concentración de detergente es suficientemente alta, el sistema se vuelve estable gracias a la producción de una interfaz agua – detergente – aire de área superficial grande, creándose la muy visible espuma de surfactantes aniónicos.

La biodegradabilidad de los surfactantes aniónicos es muy variable. Seegún su estructura química, pueden ser fácilmente descompuestos o difíciles de utilizar como alimento por las bacterias. Los fabricados con base en ABS (Alquil benceno Sulfonatos) son resistentes al ataque biológico por su composición molecular ramificada y por la adhesión de los anillos bencénicos a los átomos terciarios de carbono de los grupos de cadena ramificada. Los fabricados con base en LAS (Alquil benceno sulfonato linear) son biodegradables en condiciones aeróbicas, pero resistentes a la actividad bacteriana anaeróbica. Desde 1965, en Estados Unidos, los surfactantes aniónicos del tipo ABS fueron remplazados por surfactantes aniónicos del tipo LAS. La sustitución de los surfactantes aniónicos con base en fósforo no ha sido exitosa hasta la fecha, aunque hoy se emplean fórmulas con una concentración menor que la utilizada anteriormente. Cerca del 60% del fósforo en las aguas residuales proviene del uso casero de surfactantes aniónicos. (Orozco *et al.*, 2005; Schmitt, 2001)

La toxicidad de los tensoactivos parece ser más elevada para los peces, pues origina problemas en las branquias. Puede inhibir la captación de oxígeno del agua, por reducción del coeficiente de transferencia.

También pueden plantear problemas en los procesos de tratamiento en estaciones depuradoras en las etapas de floculación y, en especial, en las poblaciones bacterianas de ciertas bacterias autótrofas. (Orozco *et al.*, 2005; Ibrahim, 2007)

3.2.1.1 Ensayos preliminares

El límite de detección del método se determinó de forma experimental de acuerdo con los objetivos establecidos para la recuperación. Los resultados mostrados en la tabla 3.1 a continuación, permitieron establecer el límite de detección en 0,025 mg/l, valor a partir del cual se obtienen recuperaciones dentro de los límites de 80 a 120%.

Tabla 3.1. Recuperación para estándares de 0,020 y 0,025 mg/L para el análisis de surfactantes aniónicos

Concentración	**0,020**		**0,025**	
	Conc [mg/L]	**recuperación**	**Conc [mg/L]**	**recuperación**
1	0,026	130%	0,026	104%
2	0,023	115%	0,028	112%
3	0,024	120%	0,025	100%
Promedio	0,024	122%	0,026	105%

Como se observa en la tabla 3.2, para un nivel de significancia de 5%, el valor calculado de *t* de Student es menor al valor crítico en los tres rangos, para una prueba de una cola. En consecuencia, es posible aceptar la hipótesis nula de la prueba, según la cual no existe diferencia significativa entre el análisis de muestras a las que se adicionó alcohol isopropílico y peróxido de hidrógeno y aquellas a las que esta adición no fue realizada.

Tabla 3.2. Resultados de las pruebas de significancia entre muestras analizadas con y sin el pretratamiento con alcohol isopropílico y peróxido de hidrógeno

	Rango bajo	Rango medio	Rango alto
Concentración del Estandar Medido	0,025	0,100	1,000
Abs Media de la muestra con tratamiento	0,111	0,235	0,194
AbsMedia a de la muestra a cond. Normales	0,109	0,230	0,187
Desv. Estd. Combinada (sd)	4,66E-3	8,32E-3	7,36E-3
T calculado	0,58	1,32	1,84
Grados de Libertad	18	18	18
T student crítico	2,10	2,10	2,10

Dado que solo un reducido número de las muestras que ingresan al laboratorio requieren el tratamiento de interferencias con peróxido de hidrógeno y alcohol isopropílico, este resultado es muy importante para evitar el gasto innecesario de estos reactivos.

El resto del procedimiento descrito en este trabajo, así como las curvas de calibración obtenidas se podrán aplicar aún en los casos en los que sea necesario modificar el procedimiento común, con la adición de estos reactivos, sin alterar la incertidumbre del método.

Adicionalmente, se realizaron pruebas para determinar los rangos de concentración a ser utilizados en los análisis. Los resultados obtenidos de estas pruebas se muestran en las figuras 3.1, 3.2 y 3.3.

La linealidad de estos rangos se aceptó al obtenerse rectas con un coeficiente de correlación mayor a 0,995. Las rectas aceptadas fueron introducidas al equipo espectrofotométrico del laboratorio de acuerdo con el procedimiento descrito en el anexo VI.

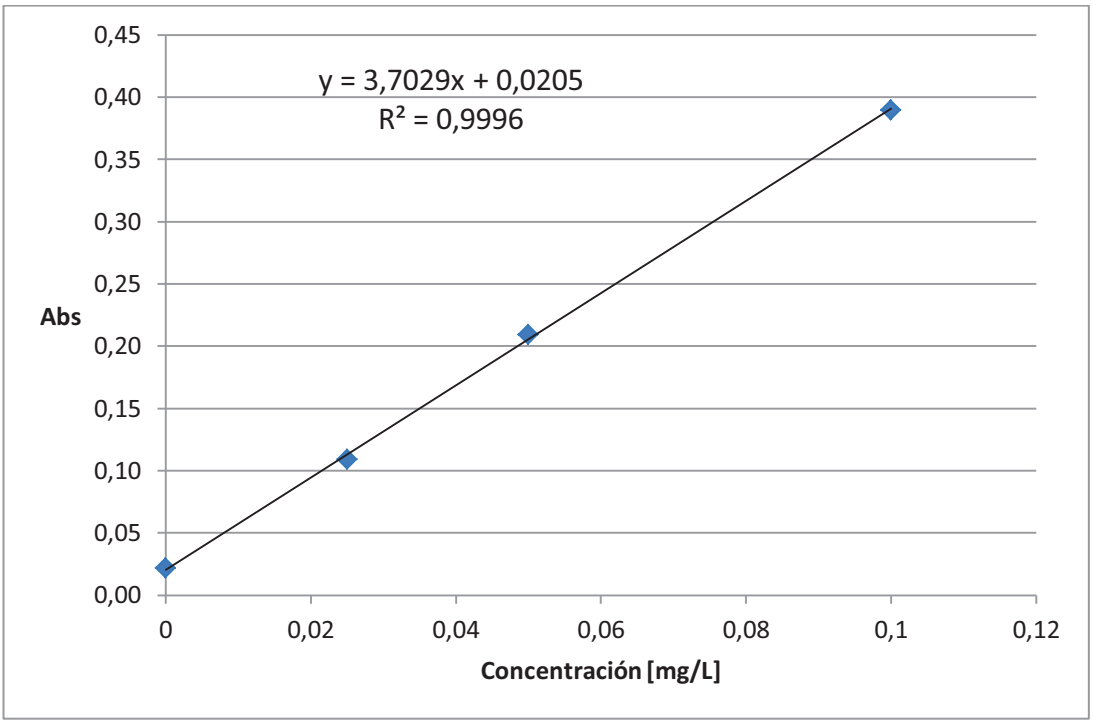


Figura 3.1. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango bajo.

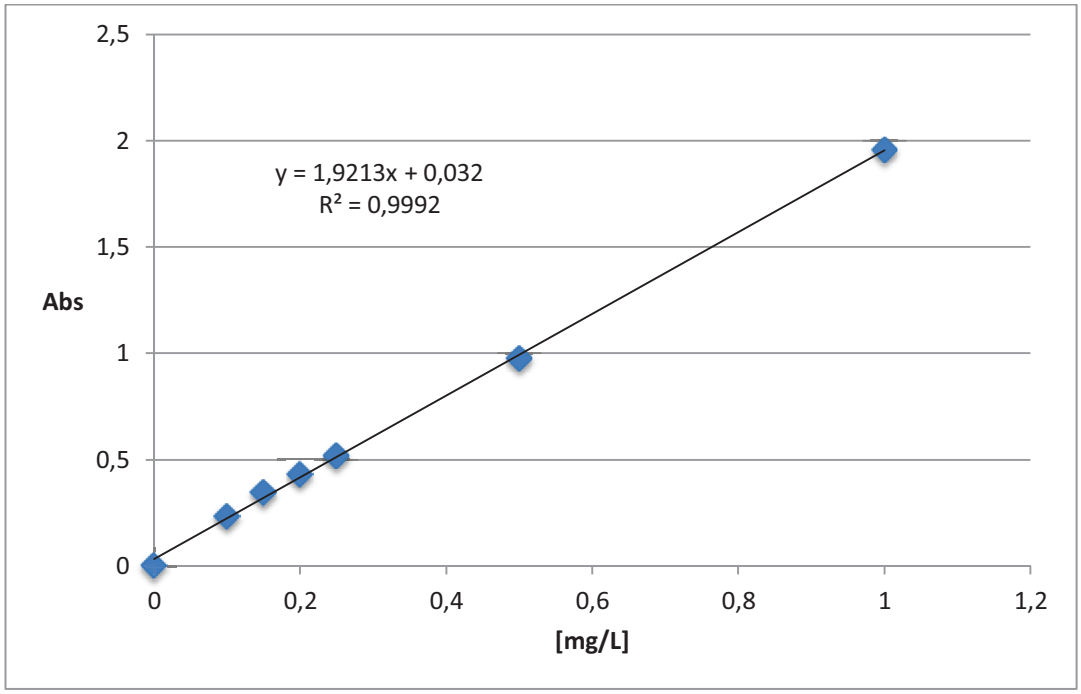


Figura 3.2. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango medio.

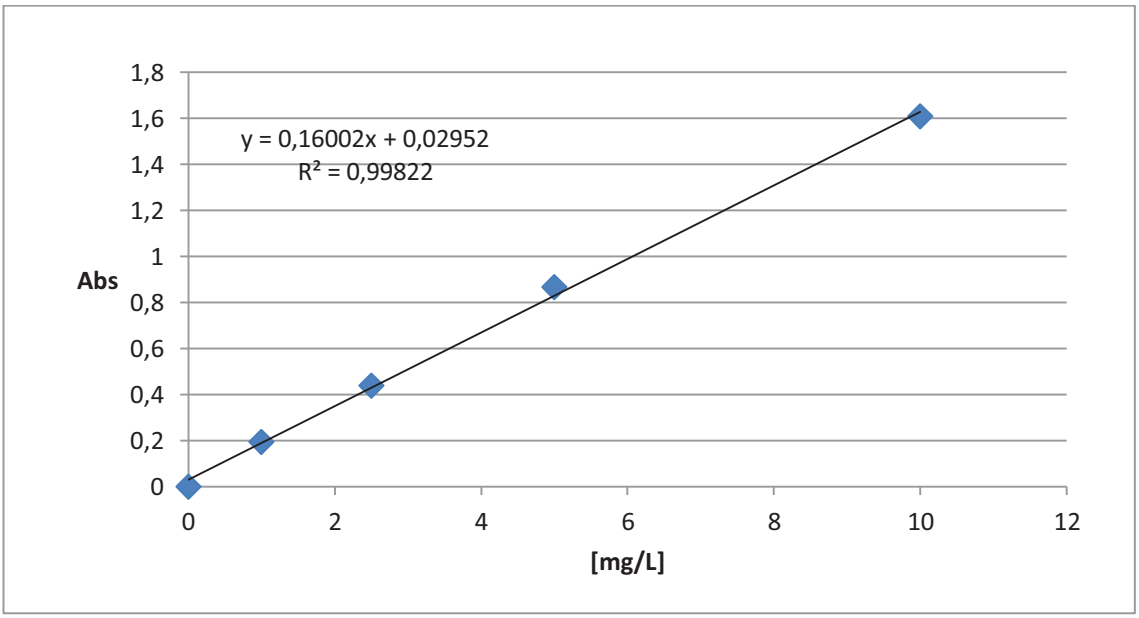


Figura 3.3. Recta obtenida en las pruebas iniciales de linealidad para el rango alto.

En el caso del rango alto, adicionalmente la elaboración de esta recta permitió definir cual es la concentración máxima que se puede determinar con el presente método. Para esto solo se incluyó los valores obtenidos, hasta el punto en el que estos permitían mantener la linealidad obtenida. Dado que se buscó permitir la más alta concentración posible, se puede justificar el que el coeficiente de correlación del rango alto resulto ligeramente menor al obtenido para los dos rangos anteriores.

3.2.1.2 Análisis de varianza simple

Tabla 3.3. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo

Conc. [mg/L]	0,000	0,025	0,050	0,100	Muest. Real
G_{max} calculado	0,339	0,441	0,438	0,389	0,575
G_{max}crítico	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,362	2,182	1,584	3,285	1,283

Tabla 3.4. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio

Conc. [mg/L]	0,00	0,10	0,15	0,20	0,25	0,50	1,00	Muest R.
G_{max} calculado	0,637	0,486	0,444	0,556	0,399	0,556	0,663	0,520
G_{max}crítico	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683	0,683
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,111	3,011	1,978	1,120	3,107	1,653	3,064	1,417

Tabla 3.5. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto

Conc. [mg/L]	0,0	1,0	2,5	5,0	10,0	Muest R.
G_{max} calculado	0,306	0,415	0,386	0,395	0,346	0,669
G_{max}crítico	0,683	0,683	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,010	3,058	2,888	2,866	2,631	1,950

Tabla 3.6. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango de dilución

Conc. [mg/L]	50 (1:10)	100 (1:10)	M. Real
G_{max} calculado	0,507	0,534	0,548
G_{max}crítico	0,683	0,683	0,683
F Crítico	3,478	3,478	3,478
F	2,321	1,200	2,120

Como lo muestran los datos presentados en las tablas 3.3, 3.4, 3.5 y 3.6, para todos los niveles de concentración analizados en los tres rangos, se obtuvo un valor para el estadístico G, menor al valor crítico, esto permite aceptar la hipótesis nula de la prueba, según la cual las varianzas de los grupos muestrales pueden considerarse homogéneos, y por tanto cumplen con un requisito necesario para la aplicación de la prueba de ANOVA. De igual forma, el estadístico F es menor al valor crítico en todos los niveles de concentración, y por tanto los grupos muestrales son homogéneos para todos los niveles de concentración dentro del rango validado.

3.2.1.3 Exactitud, precisión e incertidumbre

La exactitud se calculó a través del % de recuperación obtenido tanto sobre los estándares utilizados a cada nivel de concentración, como sobre una adición conocida a una matriz real.

Los resultados de la recuperación sobre una matriz real, obtenidos al añadir una cantidad conocida de estándar a una matriz real y medidas en cada rango, cumplieron con los objetivos planteados para la validación, al reportar valores ubicados ente 80 y 120%, como se puede observar en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Recuperación sobre una matriz real.

	Rango bajo	**Rango medio**	**Rango alto**
Estandar Añadido	0,025	0,200	2,000
Conc. Muestra [mg/L]	0,069	0,628	6,974
% Recuperación	103,1	100,7	105,6

Para cada rango validado se cumplió con los objetivos esperados para la repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre del método, como se presenta en las tablas 3.8 a 3.14.

- Rango bajo

Tabla 3.8. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango bajo

	0,025 mg/l	**0,050 mg/l**	**0,100 mg/l**
% Recuperación	95,7	101,9	99,8

Tabla 3.9. Resultados de los parámetros de precisión e incertidumbre para el método de surfactantes aniónicos

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**U Expand**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	**%U (k = 2)**
Rango bajo: **0,025 – 0,100 mg/L**	0,003	4,18	0,004	4,99	17,23

- Rango medio

Tabla 3.10. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango medio

No.	**0,10 mg/l**	**0,15 mg/l**	**0,20 mg/l**	**0,25 mg/l**	**0,50 mg/l**	**1,00 mg/l**
% Recuperación	100,0	101,1	99,5	99,9	100,0	100,0

Tabla 3.11. Resultados de los parámetros de validación para el método de surfactantes aniónicos

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango medio: **0,1-1,0 mg/L**	0,020	3,29	0,026	4,25	10,01

- Rango alto

Tabla 3.12. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración del rango alto

No.	**1,0 mg/l**	**2,5 mg/l**	**5,0 mg/l**	**10,0 mg/l**
% Recuperación	92,9	98,6	102,6	99,5

Tabla 3.13. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para diluciones

No.	**50 mg/l**	**100 mg/l**	**Muestra real**
% Recuperación	96,3	93,8	100,0

Tabla 3.14. Resultados de los parámetros de validación para el método de surfactantes aniónicos

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango alto: **1-10 mg/L**	0,196	3,80	0,244	4,93	17,89
Dilución	0,213	4,43	0,256	5,32	17,64

Contrariamente a lo esperado, la incertidumbre del rango alto resultó dar los valores más altos para el método. Esto se puede justificar en el hecho de que concentraciones altas de surfactantes, indican muestras más contaminadas, que por lo general presentan mayor propensión a formar emulsiones y otras interferencias que incrementan los valores calculados para los parámetros de repetibilidad y reproducibilidad.

Tanto la repetibilidad y reproducibilidad como el error relativo obtenidos se corresponden muy bien con los datos reportados de desviación estándar y error relativo en pruebas interlaboratorio realizadas por la APHA (Clereserci *et al.,* 2005). Para concentraciones cercanas al límite de detección reportadas en este trabajo, en pruebas interlaboratorio se reportaron desviaciones estándar del 14% y un error relativo cercanos al 10%.

3.2.1.4 Función de respuesta

Para cada rango se evaluó el coeficiente de determinación de las rectas de calibración obtenidas. Como se presenta en la tabla 3.15, en los tres rangos validados se obtuvo coeficientes de determinación mayores al valor objetivo 0,995. Esto indica una gran relación entre la concentración de surfactante a ser determinada y la señal detectada en el equipo.

Tabla 3.15. Función de respuesta en cada rango para el método de análisis de surfactantes aniónicos

Rango	Bajo	Medio	Alto
Pendiente [m]	3,703	1,951	0,159
Intersección al eje [b]	0,021	0,034	0,040
Coef. De Determinación	0,9996	0,9999	0,9996

3.2.1.5 Límite de detección y cuantificación

Para este método el límite de cuantificación se determinó de forma experimental, como se puede comprobar por la incertidumbre alcanzada a este nivel de

concentración, el límite de cuantificación cumple con los parámetros aceptables de incertidumbre y puede por tanto ser usado de forma confiable como límite inferior del rango de concentraciones validado.

El límite de detección se determinó en base a la desviación estándar de 15 medidas de blancos y se presenta en la tabla 3.16.

Tabla 3.16. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de surfactantes aniónicos

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	0,004 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	0,025 mg/l

Según la normativa vigente en el país, el límite máximo permitido de surfactantes aniónicos para agua de consumo humano o uso doméstico es 0,5 mg/l (República del Ecuador, 2003), por tanto los límites obtenidos con este método resultan muy adecuados para las necesidades de los clientes del laboratorio que desean cumplir el cumplimiento de esta normativa ambiental.

3.2.2 Fenoles

La investigación bibliográfica realizada para este método contribuyó con razones suficientes a justificar la importancia del trabajo realizado para que este método pueda ser acreditado por el laboratorio.

Los fenoles, se producen como residuos en las refinerías, plantas de carbón y en algunas plantas manufacturadoras de químicos. Las aguas naturales normales contienen menos de 1 ug/L, pero concentraciones superiores a 20 ug/L se encuentran en algunas áreas.

La cloración de estas aguas puede producir olores y sabores desagradables debidos a la formación de clorofenoles. Para remover los fenoles los procesos de tratamiento de agua incluyen la supercloración, tratamiento con dióxido de cloro o cloramina, ozonificación y adsorción con carbón activado. (Clesceri *et al.*, 2005)

Se ha encontrado que el fenol es biodegradable en aguas residuales y que no presenta efectos tóxicos para los microorganismos en concentraciones menores de 500 mg/L. Sin embargo niveles de 10 a 100 ug/L son detectables en muestras de agua por el sabor y el olor. (Jones y Johnson, 1973)

3.2.2.1 Ensayos preliminares

A fin de determinar el límite de cuantificación del método se calculó la recuperación para medidas sucesivas de estándares de 0,01 y 0,020 mg/L. Como se muestra en la tabla 3.17, la recuperación planteada en los objetivos de validación se obtuvo a partir de 0,020 mg/L y por tanto este se definió como el límite de cuantificación del método.

Tabla 3.17. Recuperación para estándares de 0,01 y 0,020 mg/L de fenoles

	0,01		**0,02**	
	Conc [mg/L]	**Recuperación**	**Conc [mg/L]**	**Recuperación**
1	0,006	60%	0,022	110%
2	0,005	50%	0,018	90%
3	0,007	70%	0,023	115%
Promedio	0,006	60%	0,021	105%

Los datos mostrados en la tabla 3.18 muestran para un nivel de significancia de 5%, un valor calculado de *t* menor al valor crítico, para una prueba de una cola.

Estos resultados permiten aceptar la hipótesis nula de la prueba, según la cual no existe diferencia significativa entre el análisis de muestras previamente destiladas y aquellas en las que, dada su composición, la destilación no fue necesaria.

Tabla 3.18. Resultados de la prueba de significancia para el pretratamiento de muestras por destilación

Concentración de Estándar Medido	0,02	0,20	0,50
Abs Media de la muestra destilada	0,113	0,962	2,343
Abs. Media de la muestra sin destilar	0,120	0,981	2,382
Desv. Estd. Combinada (sd)	6,87E-3	1,99E-2	5,27E-2
t calculado	1,95	1,82	1,43
Grados de libertad	18	18	18
t crítico	2,10	2,10	2,10

Esta prueba permite demostrar, que el laboratorio podrá decidir omitir el proceso de destilación para aquellos casos descritos en el procedimiento presentado en este trabajo en los que la muestra no presenta interferencias, tales como muestras de agua potable.

Adicionalmente el análisis de regresión, cuyo resultado se muestra en la figura 3.4, permitió aceptar el rango validado, al obtenerse una recta de calibración con coeficiente de correlación mayor a 0,995. Esta recta se introdujo al equipo espectrofotométrico del laboratorio de acuerdo al procedimiento descrito en el anexo VI.

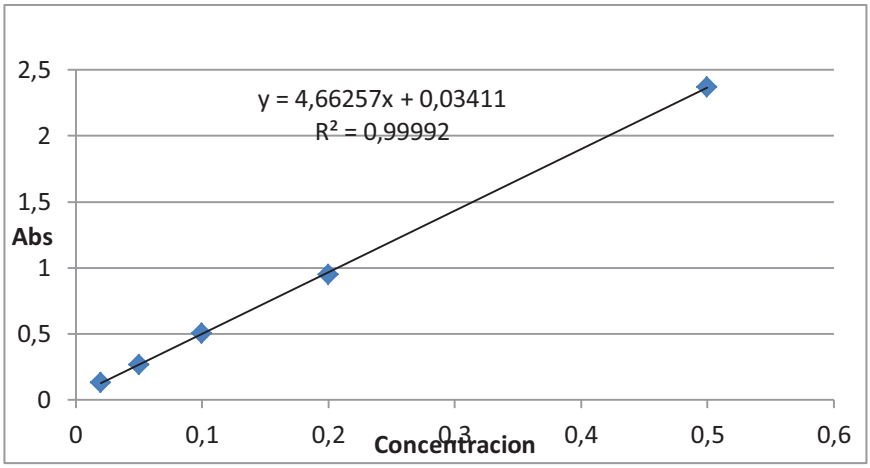


Figura 3.4. Recta obtenida en las pruebas preliminares de linealidad para el método de fenoles

3.2.2.2 Análisis de varianza simple

Como muestran las tablas 3.19 y 3.20, para todos los niveles de concentración analizados, se obtuvo un valor para el estadístico G, menor al valor crítico, por tanto se puede aceptar la hipótesis nula acerca de la homogeneidad de las varianzas de los grupos muestrales. De igual forma se obtuvo valores para el estadístico F menores al valor crítico, demostrándose así la uniformidad de los grupos para todos los niveles de concentración analizados.

Tabla 3.19. Resultados del análisis ANOVA para el método de fenoles

Conc. [mg/L]	0,00	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	Muest. R
G_{max} calculado	0,364	0,439	0,674	0,465	0,494	0,549	0,456
G_{max}crítico	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,015	1,749	1,496	2,679	1,214	1,607	1,314

Tabla 3.20. Resultados del análisis ANOVA para las diluciones del método de fenoles

Conc. [mg/L]	1	2	Muest. Real
G_{max} calculado	0,517	0,624	0,443
G_{max}crítico	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478
F	2,013	3,047	1,425

3.2.2.3 Exactitud, precisión e incertidumbre

Como se muestra en las tablas 3.21 a 3.24, todos los valores esperados tanto de repetibilidad como reproducibilidad y la incertidumbre cumplen con los objetivos establecidos para la validación.

Tabla 3.21. Recuperación sobre una matriz real.

Parámetro	Valor
Estandar Añadido	0,025
Conc. Muestra [mg/L]	0,061
% Recuperación	96,1

Tabla 3.22. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración

	0,02 mg/l	0,05 mg/l	0,10 mg/l	0,20 mg/l	0,50 mg/l
% Recuperación	92,2	93,4	102,7	100,7	99,9

Tabla 3.23. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para diluciones

	1 mg/l	2 mg/l
% Recuperación	99,0	100,1

Tabla 3.24. Resultados de los parámetros de validación para el método de fenoles

Nivel: conc.	Repetibilidad		Reproduciblidad		U Expand
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	%U (k = 2)
0,020 – 0,500 mg/L	0,011	5,49	0,012	7,40	25,24
Dilución	0,008	4,20	0,010	4,86	10,77

El método para la detección de fenoles reporta en general muy buenos valores de repetibilidad y reproducibilidad, estos valores concuerdan con aquellos presentados en bibliografía y en el caso de la recuperación los valores obtenidos en este trabajo resultaron mejores que aqullos presentados en fuentes bibliográficas. Por ejemplo, para muestras de agua de refinería, según un estudio de la APHA, el método reporta una desviación estándar relativa promedio del 12%. (Clerescerí *et al.,* 2005)

3.2.2.4 Función de respuesta:

Para la función de respuesta cuyos parámetros se presentan en la tabla 3.25, el coeficiente de determinación obtenido resultó cumplir con el objetivo establecido para la validación. El alto valor de este coeficiente, indica una excelente relación entre la concentración del estándar medido y la respuesta en absorbancia del método utilizado

Tabla 3.25. Función de respuesta para el método de análisis de fenoles

Parámetro	Valor
Pendiente [m]	4,704
Intersección al eje [b]	0,033
Coef. De Determinación	0,9999

3.2.2.5 Límite de detección y cuantificación

Para este método el límite de cuantificación se determinó de forma experimental, al igual que en el método anterior, la incertidumbre calculada a este nivel de concentración cumple con los parámetros aceptables definidos en los objetivos de validación y puede por tanto ser usado de forma confiable como límite inferior del rango de concentraciones validado. El límite de detección se determinó en base a la desviación estándar de medidas de blancos y se presenta en la tabla 3.26.

Tabla 3.26. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de fenoles

Límite De Detección (L.D.)	0,012 mg/l
Límite De Cuantificación (L.C.)	0,020 mg/l

3.2.3 Análisis de voltamétrico de metales

El principal riesgo de los metales pesados se debe a su capacidad de bioacumularse. La bioacumulación es la deposición de una sustancia química en un organismo biológico con incremento de la concentración de este elemento en el organismo cada vez que la sustancia es emitida al ambiente

independientemente de su cantidad. La acumulación de compuestos en seres vivientes es más rápida que su descomposición y ocurre cada vez que estos están expuestos a la sustancia. (Orozco *et al.*, 2005)

El cadmio y el plomo se encuentran generalmente asociados en la naturaleza, y son conocidos como contaminantes ambientales peligrosos con efectos tóxicos para los organismos vivientes. El plomo y el cadmio son de alto interés toxicológico dado que estos se acumulan en los tejidos blandos, en asociación con proteínas portadoras de metales.

El cadmio se encuentra en minerales sulfurosos que contienen adicionalmente zinc, plomo o cobre. Se utiliza en galvanoplastia, baterías, pigmentos de pinturas y en aleaciones con otros metales. El cadmio se asocia usualmente con zinc en un radio cercano a 1 parte de cadmio por 500 partes de zinc en muchas rocas y suelos.

Las principales fuentes de origen de la presencia de cadmio en el medio ambiente son la fabricación de hierro y acero, la industria del carbón y la del aceite; es frecuente su presencia en el aire ambiental, por lo que una de las principales vías de intoxicación es la contaminación atmosférica (agravada en personas que tengan déficit de zinc, al cual es antagonista). También existen pequeñas cantidades de cadmio en algunos alimentos y bebidas (los alimentos más susceptibles de contaminación por cadmio son el pescado, los mariscos y el té negro), en algunas pinturas, pigmentos, tuberías galvanizadas, tubos de escape, etc., aunque las concentraciones más elevadas se encuentran en el humo del tabaco. El Cadmio es extremadamente tóxico y se acumula en riñones e hígado, con exposiciones prolongadas a bajas concentraciones, puede causar daño permanente a los riñones. La organización de las naciones unidas para los Alimentos y la Agricultura recomienda un nivel máximo de cadmio en agua de irrigación de 10 µg/L. El estándar de la U.S EPA para agua de consumo es de 10 µg/L.

La solubilidad del cadmio está controlada en aguas naturales por el equilibrio del carbonato. Una guía para la concentración máxima de cadmio en agua natural es

la dureza o la alcalinidad del agua (i.e. entre más suave es el agua, menor es el nivel permitido de cadmio). No es esencial para plantas y animales.

Las principales fuentes de plomo son la producción de baterías de plomo para automóviles, industrias de diversos productos metálicos (armas, plomo laminado) y de productos químicos (tetraetilplomo para gasolinas). En menor proporción contribuyen también los pigmentos para pinturas y el vidriado en alfarerías. En algunas épocas hubo importantes episodios de envenenamiento por plomo debido a las cañerías fabricadas con este material, utilizadas en fontanería interior y exterior, pero actualmente esto ha dejado de ser un problema.

Las consecuencias de envenenamiento por plomo son la anemia (el plomo influye en la síntesis del grupo hemo, e inhibe la actividad enzimática) y la interferencia con otros enzimas, principalmente del riñon.

El plomo se distribuye en el cuerpo principalmente en dos reservas: una activa en la sangre y tejidos blandos y otra de almacenamiento en los huesos.

La ingestión diaria de 1 mg/L puede crear una toxicidad crónica. Debido a su fuerte toxicidad, el límite está establecido en la última Directiva de la UE (noviembre de 1998) para aguas potables en 0,01 mg/1 (10 µg/1). (Orozco *et al.*, 2005)

Dados los efectos a la salud y al ambiente de los metales pesados y en concreto del cadmio y el plomo, algunos de los cuales se han expuesto en los párrafos anteriores, resultó plenamente justificable el trabajo realizado a fin de validar este método, y así proporcionar al laboratorio las herramientas adecuadas para que este pueda brindar el servicio de análisis y cuantificación de estos analitos a la sociedad.

Para el método de voltametría de redisolución anódica, tanto en el análisis de cadmio como el de plomo, se consiguió valores de repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre que cumplen con los objetivos planteados para la validación. Sin embargo se debe señalar que la repetibilidad obtenida resultó ser relativamente alta, lo que indica que existe aún espacio para una mejora del método utilizado.

3.2.3.1 Ensayos preliminares

3.2.3.1.1 Parámetro de respuesta

Para Cadmio y plomo se calculó el coeficiente de variación presentado al tomar como referencia la altura del pico y el área del pico, a fin de determinar el parámetro que da mejor repetibilidad.

Tabla 3.27. Coeficientes de variación para la altura del pico, en el análisis de cadmio

		5 ppb	**50 ppb**
Altura	1	9,02E-7	3,99E-6
	2	1,01E-6	3,92E-6
	3	9,36E-7	4,04E-6
	4	9,17E-7	3,91E-6
	5	9,27E-7	3,75E-6
	Media	9,38E-7	3,92E-6
	Desviación Estándar	4,1072E-8	1,0897E-7
	% Cv	4,4%	2,8%
Área	1	4,09E-8	2,19E-7
	2	5,65E-8	2,08E-7
	3	5,23E-8	2,53E-7
	4	5,09E-8	2,23E-7
	5	5,22E-8	2,24E-7
	Media	5,06E-8	2,25E-7
	Desviación Estándar	5,82135E-9	1,6638E-8
	% Cv	11,51%	7,38%

Como se presenta en las tablas 3.27 y 3.28 para los dos metales el parámetro para el cual se obtuvo una mejor repetibilidad tanto para la concentración baja, como para la concentración alta ensayadas, fue la altura en amperios del pico. La diferencia en cuanto a repetibilidad fue más significativa para la concentración baja, donde es más probable que el ruido altere el área del pico obtenido, no así su altura.

Tabla 3.28. Coeficientes de variación para la altura y area del pico, en el análisis de plomo

		5 ppb	50 ppb
Altura	1	5,61E-7	1,95E-6
	2	5,70E-7	1,97E-6
	3	5,90E-7	1,83E-6
	4	5,40E-7	1,90E-6
	5	5,62E-7	1,99E-6
	Media	5,64E-7	1,93E-6
	Desviación estándar	1,8062E-8	6,1411E-8
	% Cv	3,20%	3,18%
Area	1	3,07E-8	1,42E-7
	2	3,67E-8	1,47E-7
	3	3,05E-8	1,32E-7
	4	2,90E-8	1,39E-7
	5	3,22E-8	1,49E-7
	Media	3,18E-8	1,42E-7
	Desviación Estándar	2,9506E-9	6,6042E-9
	% Cv	9,27%	4,66%

3.2.3.1.2 Potencial de Deposición

El potencial de deposición es el potencial aplicado para concentrar el metal amalgamado en la superficie del electrodo de trabajo.

Para el ensayo se consideró un rango de potenciales de deposición de -0,9 a -1,5 V, el cual toma como referencia los potenciales descritos en bibliografía. Se consideró la altura del pico obtenido y el coeficiente de variación de varias medidas, mientras se mantenía el resto de parámetros constantes. Los resultados se presentan en las figuras: 3.5 y 3.6:

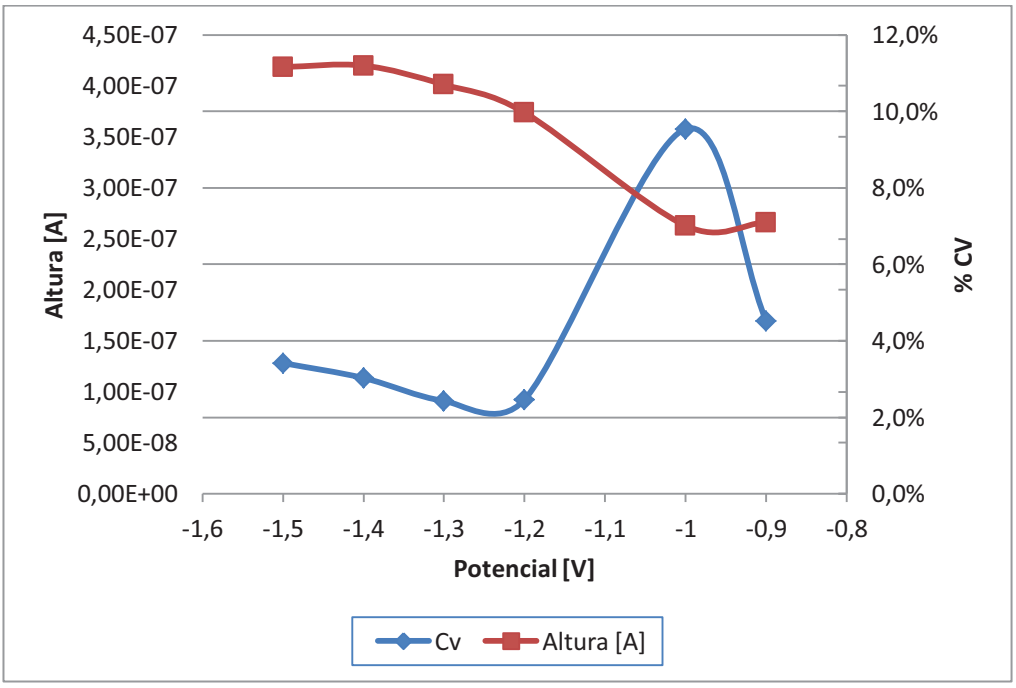


Figura 3.5. Respuesta del método en función del potencial de deposición para el análisis de 10 ppb de cadmio

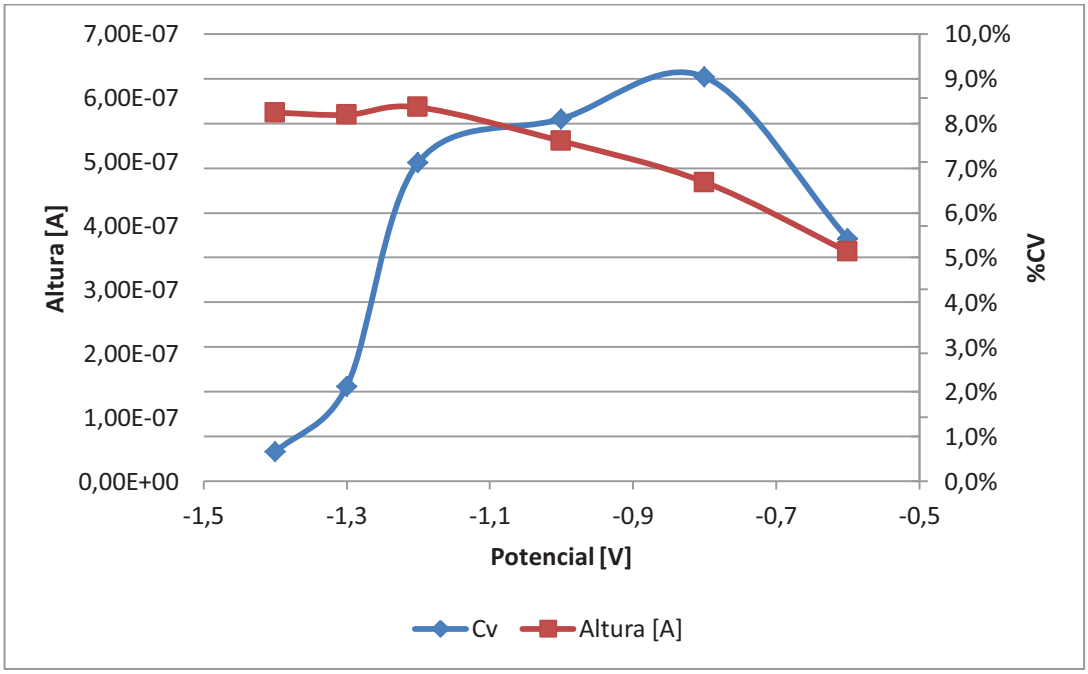


Figura 3.6. Respuesta del método en función del potencial de deposición para el análisis de 5 ppb de plomo

Tanto el área como la altura del pico presentaron un máximo a un potencial entre -1,3 V y -1,2V, valor que coincide con lo reportado en bibliografía. A potenciales mayores a -1.3, el valor de la señal permanece casi inalterado. En consecuencia para el método a utilizarse se definió como valor óptimo un potencial de deposición de -1,3 V. Valor que resulta conincidir o estar muy cercano a los valores que se presentan en literatura que trata acerca de análisis con electrodos de grafito.

3.2.3.1.3 Frecuencia

Se analizó la frecuencia en función de la respuesta tanto en altura como área de pico y se tomó en cuenta adicionalmente el efecto de la frecuencia sobre la forma del pico.

Los resultados obtenidos se presentan en la figura 3.7 y 3.8.

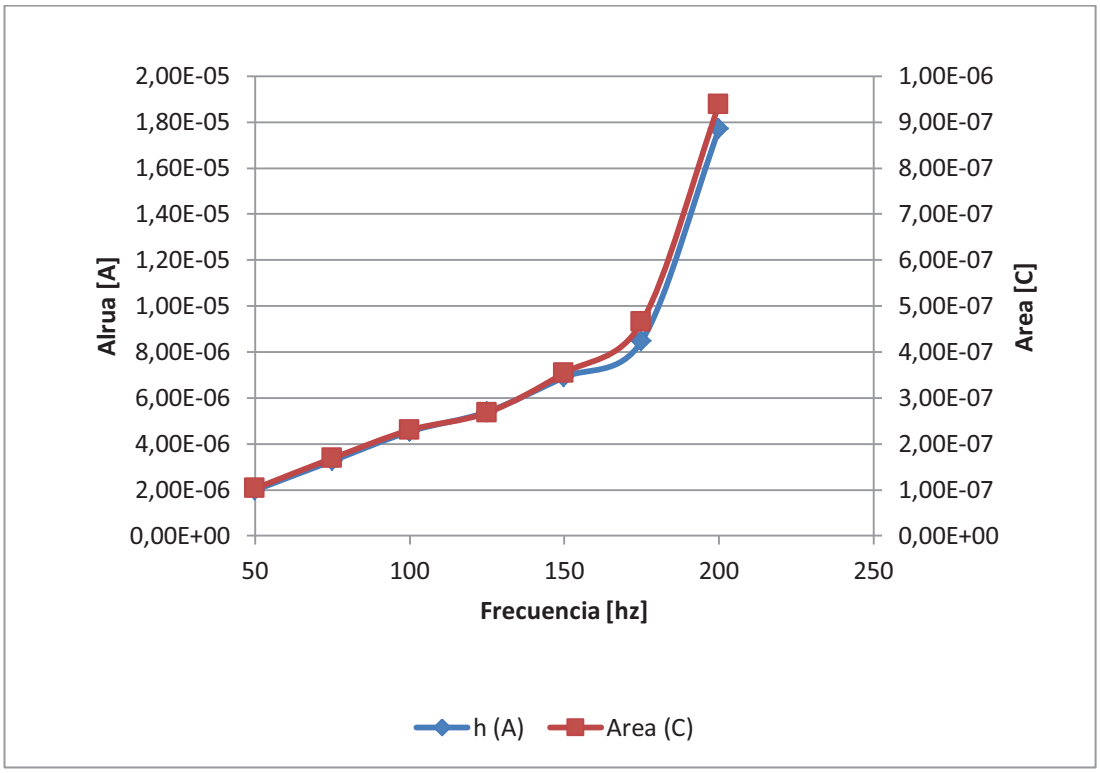


Figura 3.7. Respuesta del método en función de la frecuencia para el análisis de cadmio

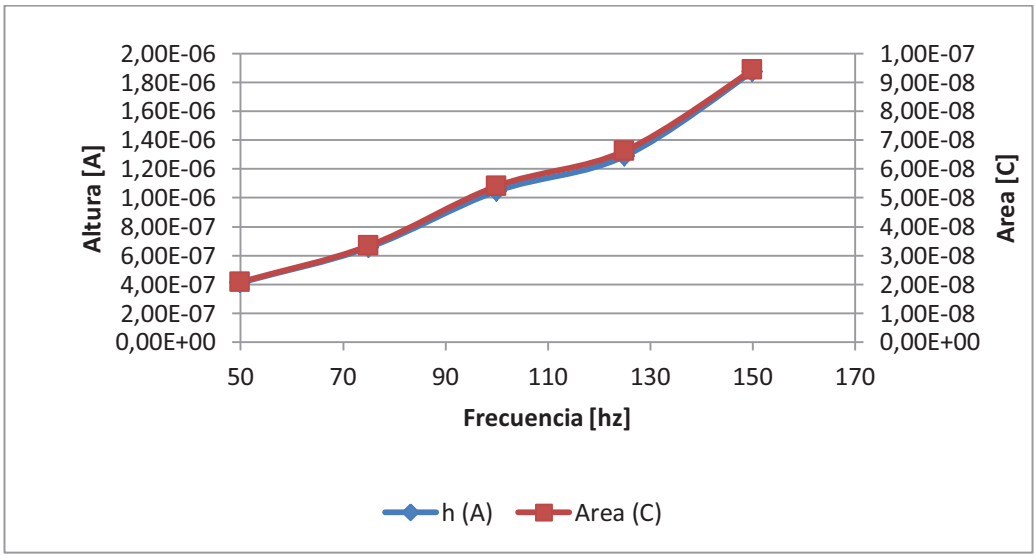


Figura 3.8. Respuesta del método en función de la frecuencia para el análisis de plomo

La tendencia en este caso fue al incremento tanto del área como la altura del pico, en función de la frecuencia, sin embargo en este caso se consideró adicionalmente la forma del pico obtenido. Conforme aumenta la frecuencia, se incrementa el ancho de la base del pico, lo cual puede conducir a una mayor interferencia de metales cuyo potencial de pico se encuentre cercano al del metal de interés, a fin de lograr un balance se escogió finalmente una frecuencia de 125 hz.

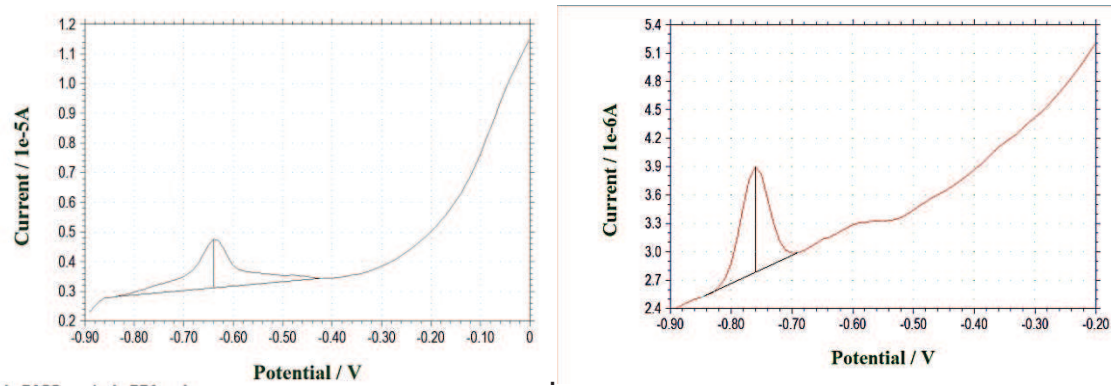


Figura 3.9. Cambio del ancho de pico con la frecuencia. A la izquierda respuesta a una frecuencia de 225 hz; a la derecha respuesta a 125 hz. (Análisis de una muestra de 5 ppb de cadmio bajo las condiciones ya señaladas)

3.2.3.1.4 Amplitud

El rango ensayo comprendió de 0,01 a 0,05V, obteniéndose un valor óptimo para la amplitud de 0,025 V.

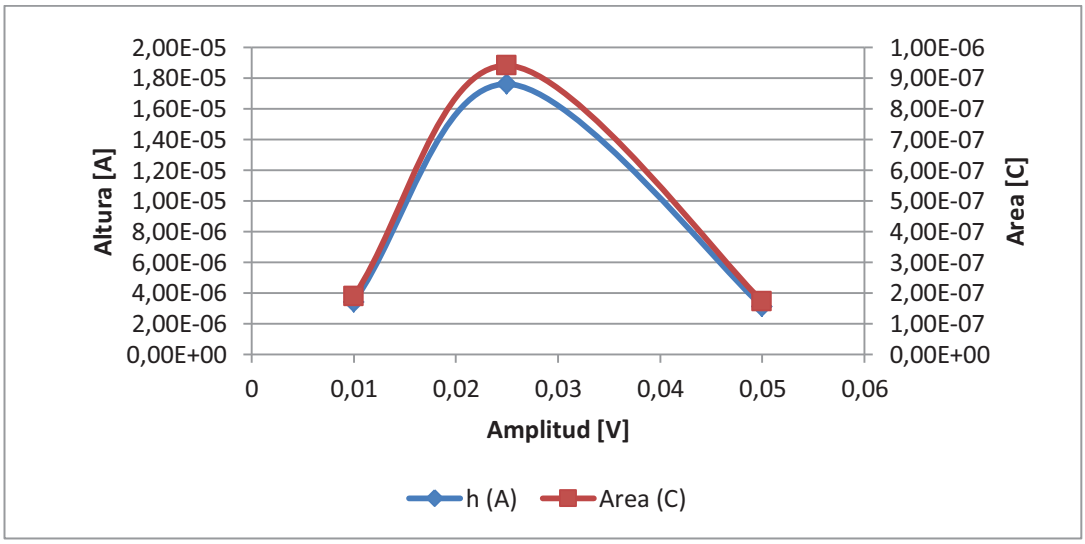


Figura 3.10. Altura y area del pico en función de la amplitud para el análisis de cadmio

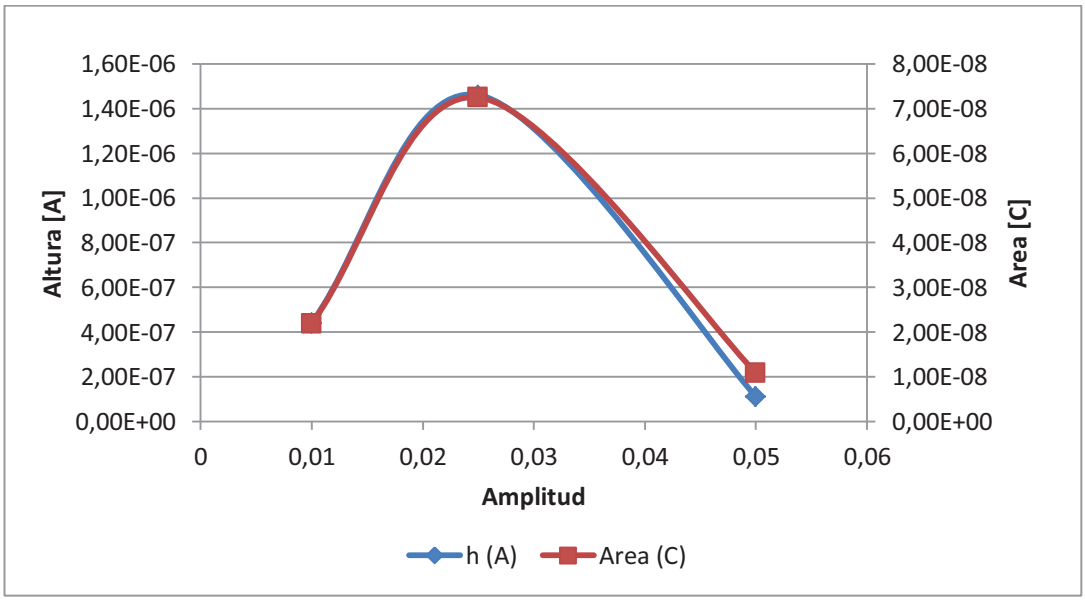


Figura 3.11. Altura y area del pico en función de la amplitud para el análisis de plomo

El valor obtenido en esta trabajo como óptimo para la amplitud resulta ser también el valor que se reporta de forma más común en otros trabajos que tratan acerca de este método de análisis.

3.2.3.1.5 Volumen de Solución de Mercurio Añadido

Se ensayó la influencia del volumen y concentración de la solución de mercurio utilizada en la adición a la muestra a analizar. Los resultados obtenidos se presentan 3.12 a 3.15.

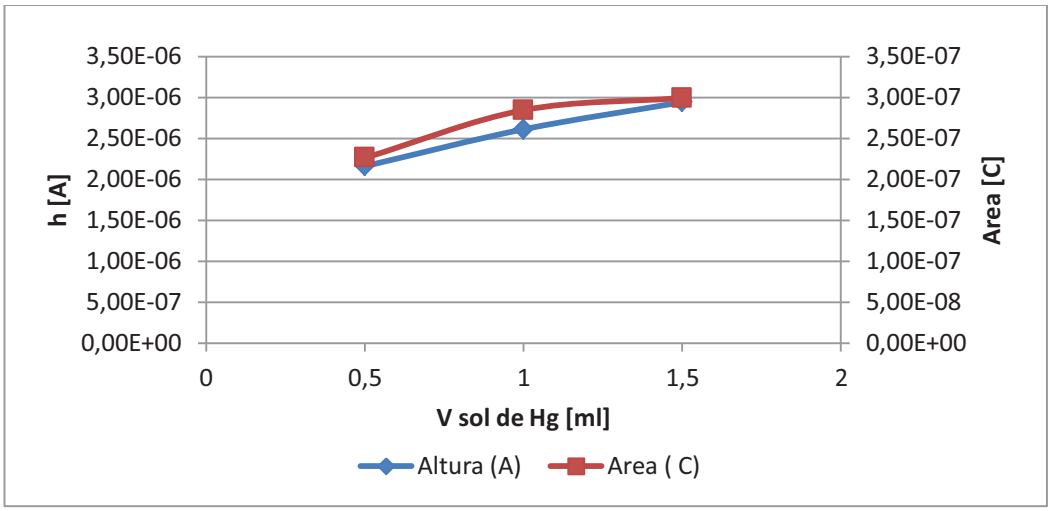


Figura 3.12. Repuesta del método de análisis de cadmio a distintos volúmenes de adición de solución 1 mM de mercurio

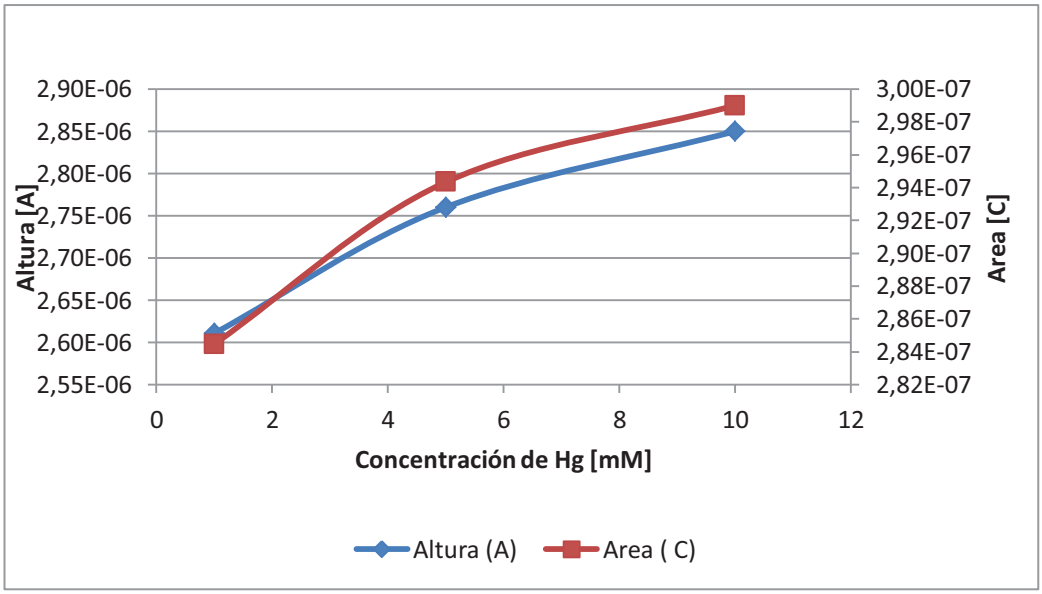


Figura 3.13. Respuesta del método de análisis de Cadmio a distintas concentraciones de la solución de mercurio

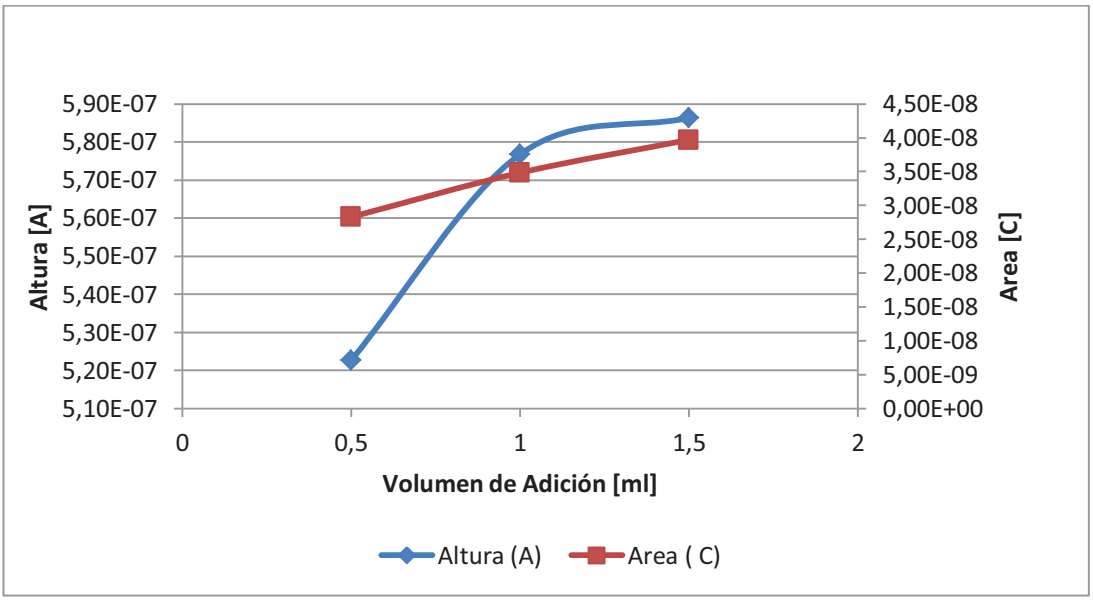


Figura 3.14. Repuesta del método para el análisis de plomo a distintos volúmenes de adición de solución 1 mM de mercurio

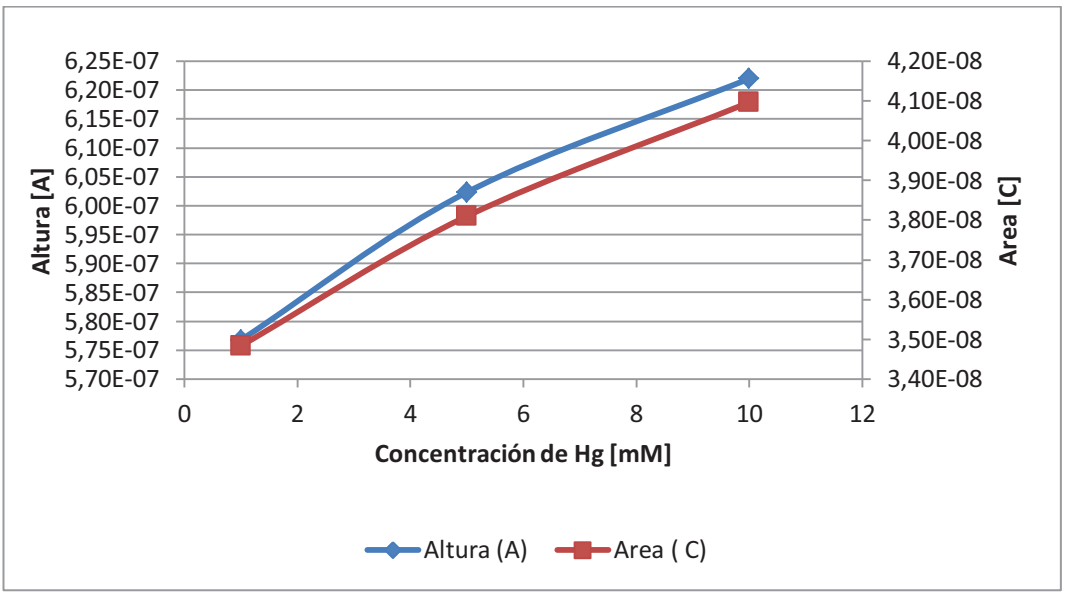


Figura 3.15. Respuesta del método para análisis de plomo a distintas concentraciones de la solución de mercurio

De los resultados se puede afirmar que dentro del rango ensayado un incremento tanto en la concentración como el volumen de mercurio añadido, conduce a un incremento de la respuesta tanto en altura como área del pico. Sin embargo, en este caso dada la naturaleza contaminante del mercurio, el criterio de selección

fue la mínima cantidad de mercurio que permita obtener una respuesta aceptable. Este valor se estableció en 0,5 ml para una solución de concentración 1mM de Hg.

3.2.3.1.6 Potencial de Preacondicionamiento.

Con el fin de eliminar el mercurio acumulado en el electrodo después de cada medición, para evitar un incremento progresivo de la señal de respuesta se estableció un potencial de preacondicionamiento para limpiar el electrodo. Para determinar el potencial que permitía la mayor repetibilidad se realizó análisis sucesivos, sobre una muestra de 10 ppm del metal de interés y se calculó la desviación estándar obtenida en cada caso. El ensayo se repitió para tiempos de preacondicionamiento de 5 y 10 segundos. Como se muestra en las figuras 3.18 y 3.19 para el análisis de cadmio y plomo se obtienen buenos resultados a 0,6 V durante 5 segundos.

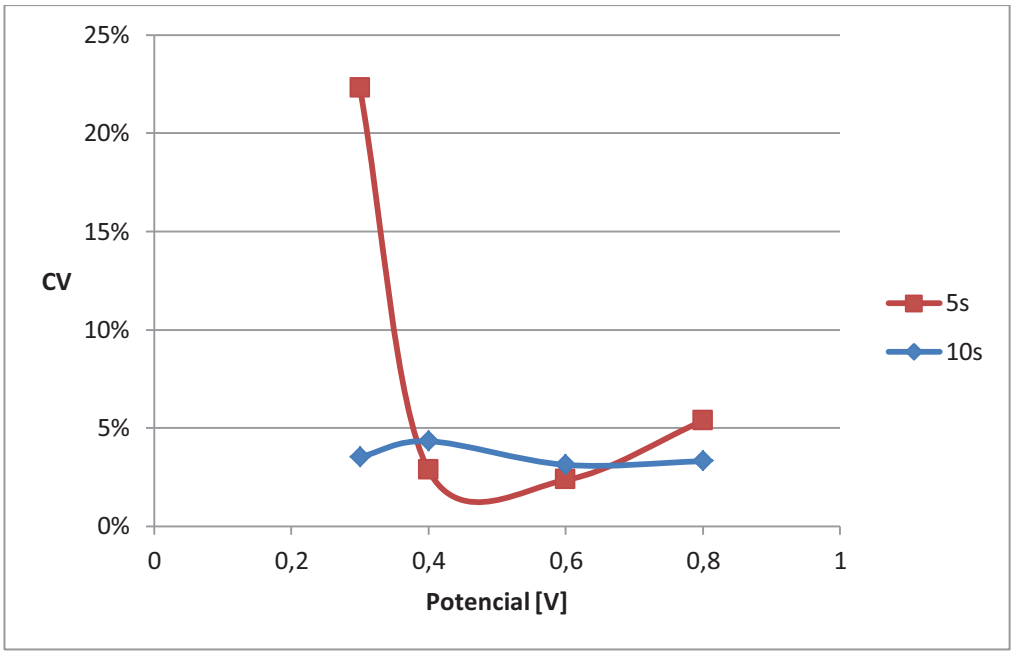


Figura 3.16. Coeficiente de variación en medidas sucesivas en función del potencial y tiempo de preacondicionamiento para el análisis de cadmio

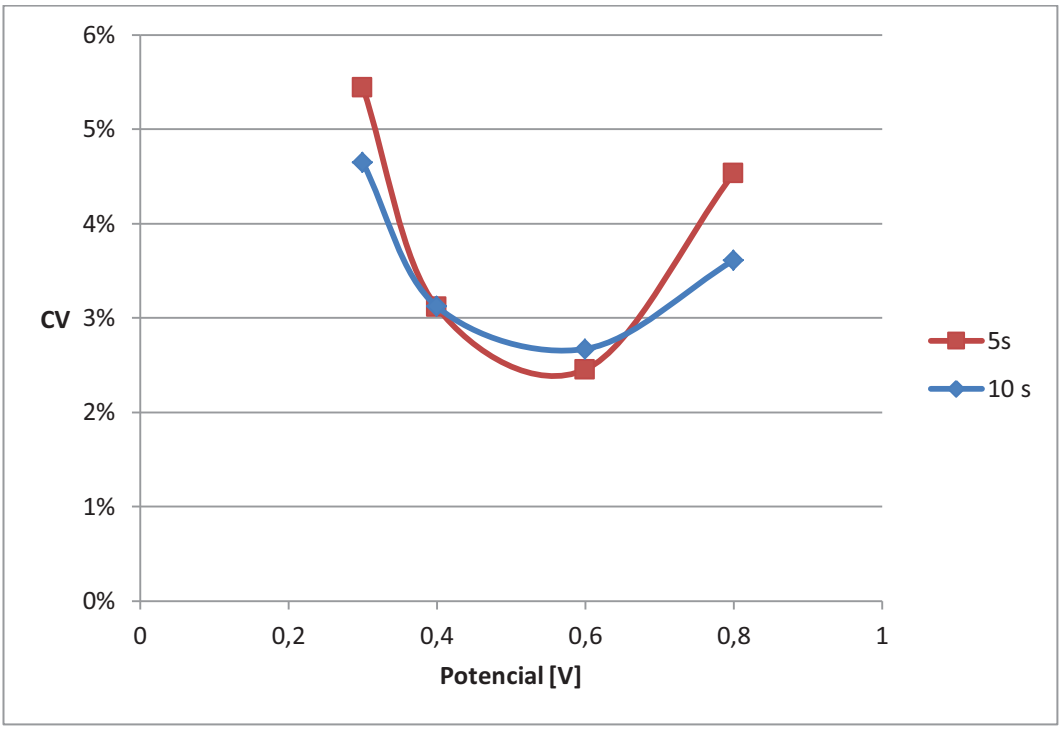


Figura 3.17. Coeficiente de variación en medidas sucesivas en función del potencial y tiempo de preacondicionamiento para el análisis de plomo

Aun cuando en las fuentes bilbiograficas no se señala como factor importante a tomar en cuenta, el tiempo de preacondicionamiento resultó afectar de forma bastante significativa la repetibilidad del método desarrollado en este trabajo, sobre todo para el caso del cadmio, como se puede apreciar en la figura 3.16.

3.2.3.1.7 Rangos Lineales

También se comprobó la linealidad de la respuesta dentro de los 3 rangos de concentraciones definidos para el método con el fin de determinar los límites de los mismos. Los resultados se resumen en las gráficas 3.18 a 3.23.

Como se demuestra en las gráficas 3.22 y 3.23 para el rango alto, el método mantiene la linealidad hasta una concentración máxima de 1 ppm, razón por la cual se definió esta concentración como límite máximo para este método.

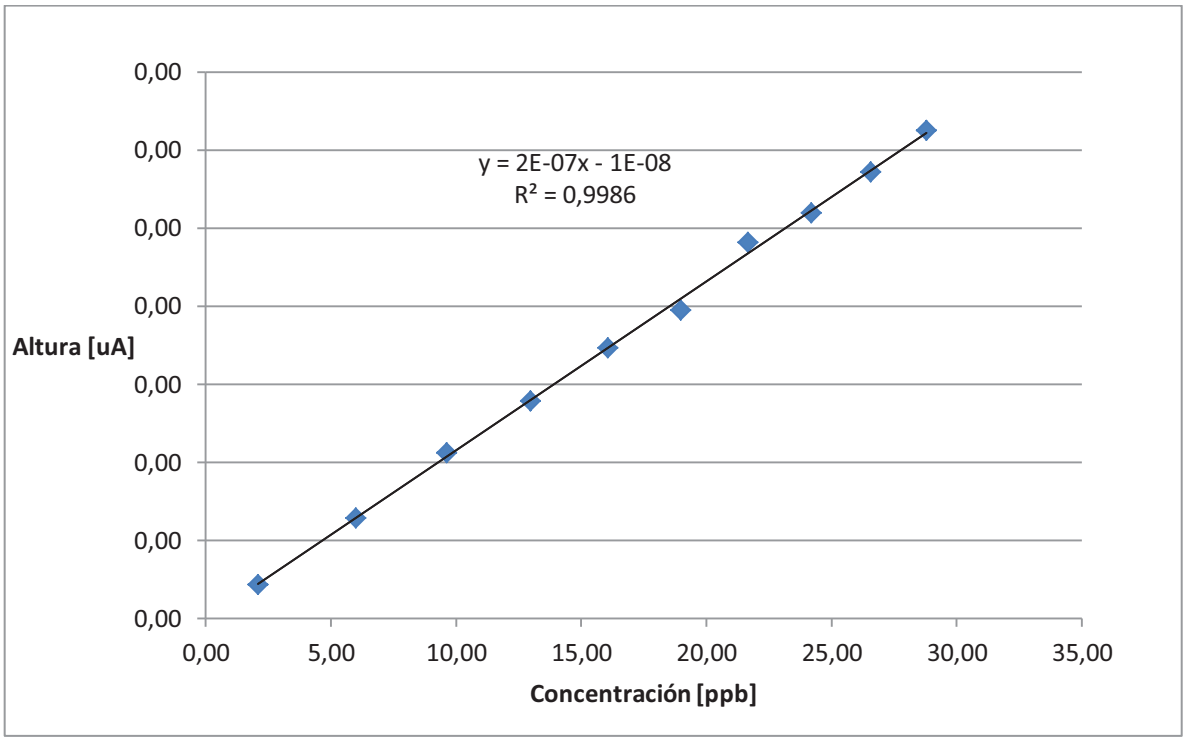


Figura 3.18. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango bajo

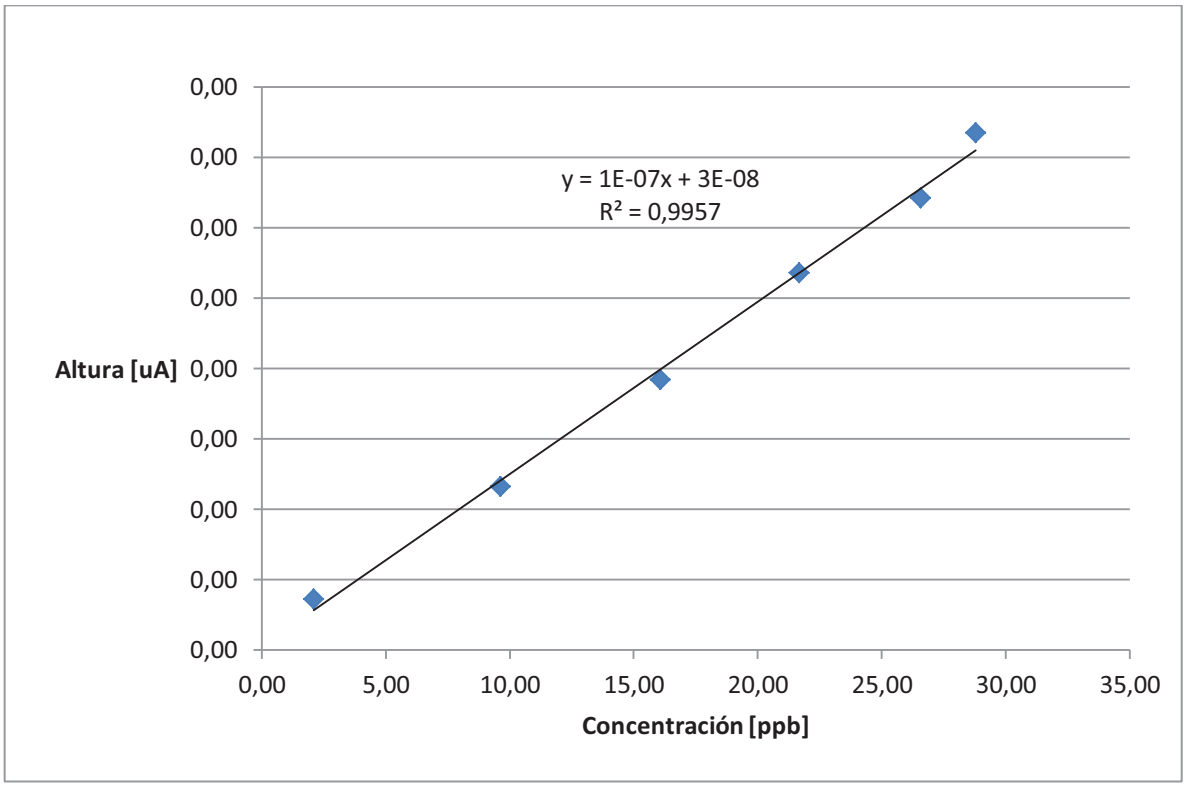


Figura 3.19. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango bajo

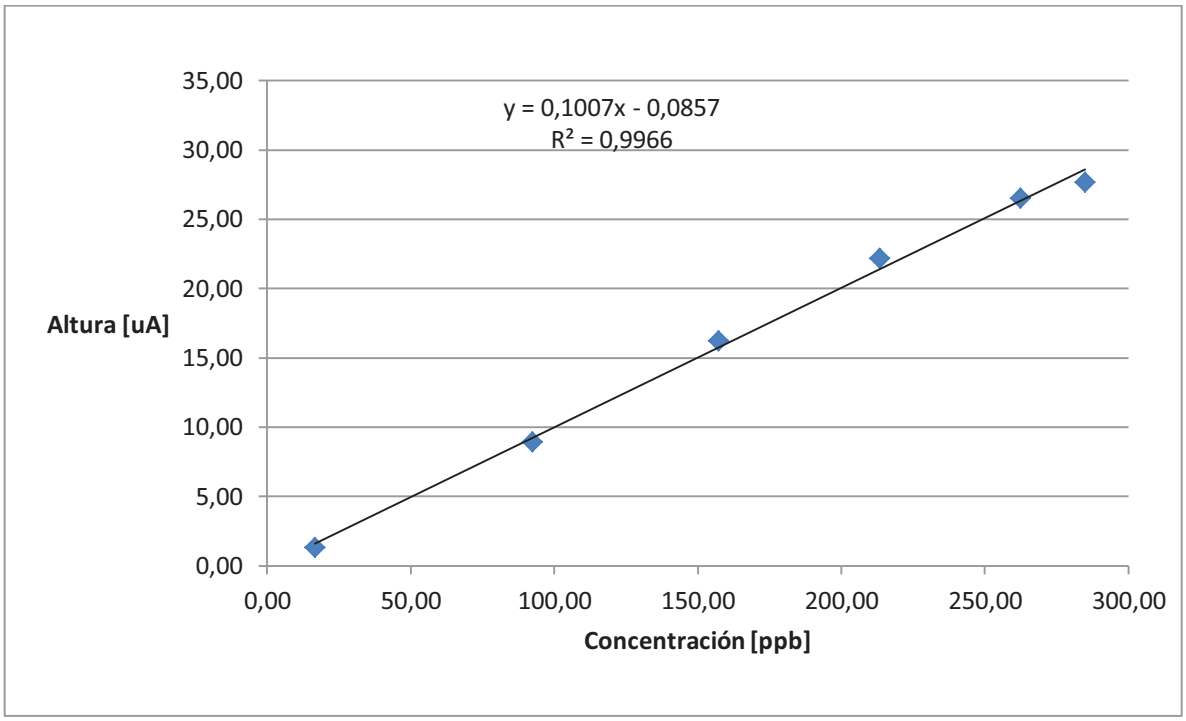


Figura 3.20. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango medio

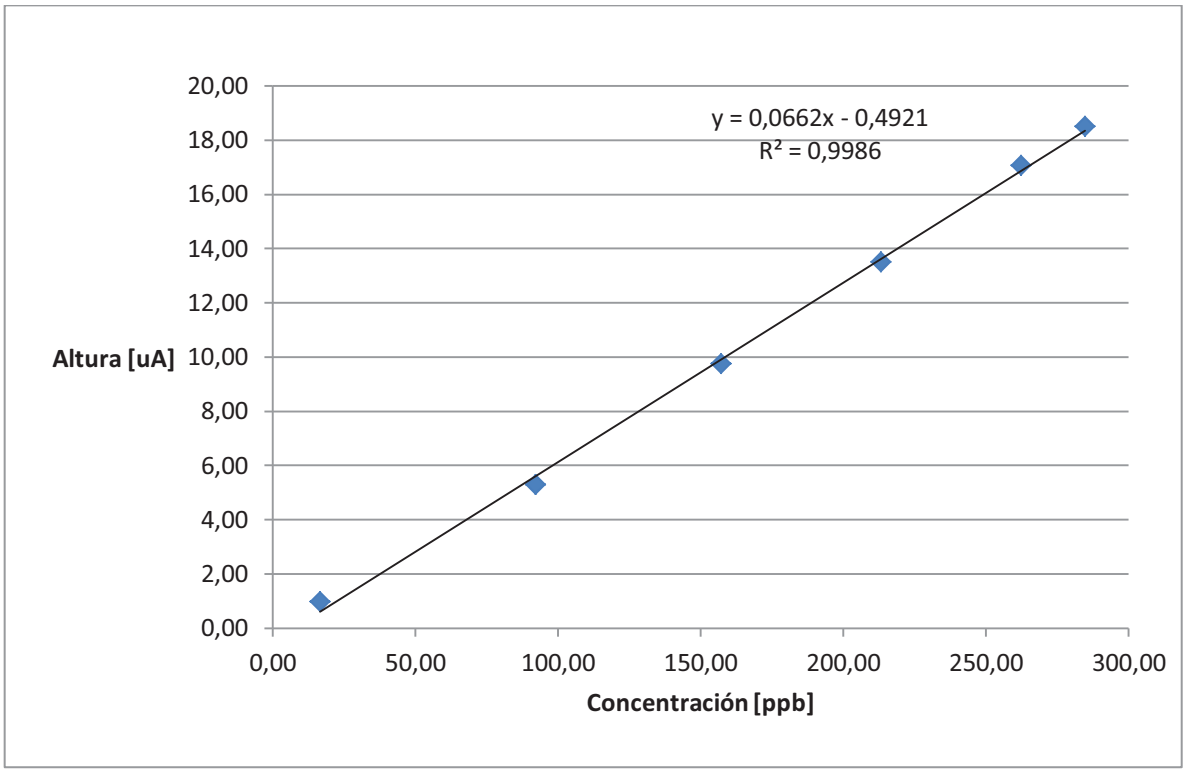


Figura 3.21. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango medio

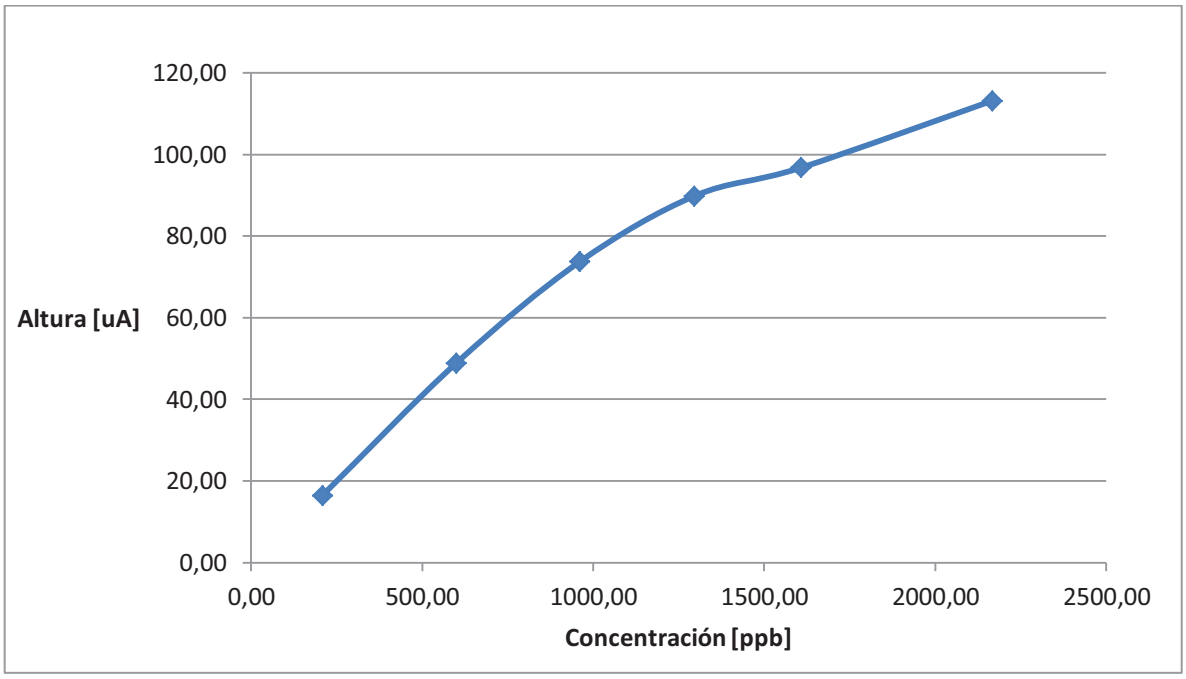


Figura 3.22. Linealidad de la respuesta para el análisis de cadmio en el rango alto

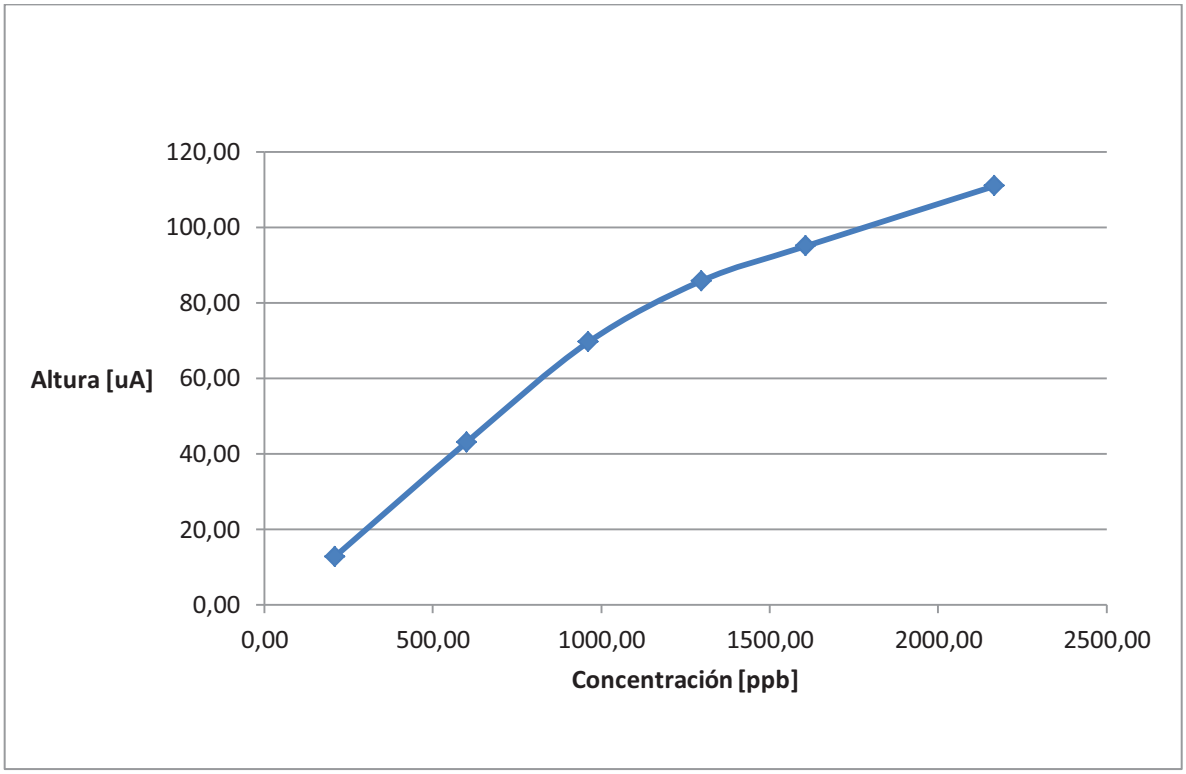


Figura 3.23. Linealidad de la respuesta para el análisis de plomo en el rango alto

3.2.3.2 Cadmio

Como se presenta en las tablas 3.29 a 3.31, para todos los grupos muestrales se pudo demostrar la homogeneidad de las varianzas, obteniéndose un estadístico G menor al valor crítico. De igual forma se obtuvo valores para el estadístico F menores al valor crítico, demostrándose así la uniformidad de los grupos para todos los niveles de concentración analizados, en los tres rangos.

3.2.3.2.1 Análisis de Varianza Simple

Prueba de ANOVA para el Rango bajo

Tabla 3.29. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo

Conc. [ppb]	2,5	5,0	10,0	20,0	Muest. Real
Gmax calculado	0,449	0,353	0,442	0,405	0,461
Gmax crítico	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	2,078	1,475	3,036	2,347	1,531

Prueba de ANOVA para el Rango medio

Tabla 3.30. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio

Conc. [ppb]	0,020	0,050	0,100	0,250
G_{max} calculado	0,455	0,305	0,624	0,678
G_{max}crítico	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,014	1,612	1,473	1,188

Prueba de ANOVA para el Rango alto

Tabla 3.31. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto

Conc. [mg/L]	0,25	0,50	1,00
G_{max} calculado	0,517	0,450	0,565
G_{max}crítico	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478
F	1,657	1,829	1,324

3.2.3.2.2 Exactitud, Precisión e Incertidumbre.

Como se muestra en las tablas 3.32 a 3.38, para los tres rangos validados se cumplieron con los parámetros definidos tanto para exactitud y precisión como para la incertidumbre del método.

Tabla 3.32. Recuperación sobre una matriz real

Parámetro	Valor
Estándar Añadido (ppb)	25,00
Conc. Muestra [mg/L]	20,12
% Recuperación	99,0

- Rango bajo

Tabla 3.33. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango bajo

	2,5 ppb	5,0 ppb	10,0 ppb	20,0 ppb
% Recuperación	101,8	99,5	95,3	95,2

Tabla 3.34. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango bajo: **0,0025 – 0,0200 mg/L**	0,0013	7,36	0,0015	7,95	24,70

- Rango medio

Tabla 3.35. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango medio

No.	**20 ppb**	**50 ppb**	**100 ppb**	**250 ppb**
% Recuperación	94,0	95,7	96,4	97,5

Tabla 3.36. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados

Nivel: conc.	Repetibilidad		Reproduciblidad		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango medio: **0,020 – 0,250 mg/L**	0,0138	6,89	0,0142	6,59	18,65

- Rango alto

Tabla 3.37. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango alto

	250 ppb	**500 ppb**	**1000 ppb**
% Recuperación	97,1	105,6	105,5

Tabla 3.38. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados en el rango alto

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango alto: **0,25 - 1 mg/L**	0,0644	6,43	0,0678	6,43	20,79

Aun cuando para los tres rangos los valores reportados resultaron cumplir con los objetivos establecidos para la validación, la incertidumbre obtenida se considera ligeramente alta. Como se explicará al final de la presentación de resultados para los dos métodos voltamétricos desarrollados en este trabajo, dado la continua evolución de estos métodos, debida en gran parte a los progresivos avances en el campo de la electrónica, es posible y recomendable que una investigación futura conduzca a optimizar el método aquí presentado.

3.2.3.2.3 Límite de Detección y Cuantificación

Para este método tanto el límite de detección como el de cuantificación se determinaron de forma experimental. El límite de detección se calculó como la mínima magnitud que da una respuesta diferenciable del ruido, durante el análisis.

Para cadmio y plomo se evaluó la recuperación obtenida mediante el uso de estándares de 1; 2 y 2,5 ppb del metal a analizar. Como se aprecia en la tabla 3.39, para los dos metales se obtuvo resultados comparables y un límite de cuantificación de 2,5 ppb.

Tabla 3.39. Recuperación para estándares de 1, 2 y 2,5 ppb de cadmio

	1,0		2,0		2,5	
	Conc [ppb]	Recuperación	Conc [ppb]	Recuperación	Conc [ppb]	Recuperación
1	0,51	51%	2,51	126%	2,31	92%
2	1,32	132%	2,27	114%	2,65	106%
3	1,28	128%	1,55	78%	2,82	113%
Promedio	1,04	104%	2,11	106%	2,59	104%

Como se presenta en la tabla 3.39 la recuperación calculada al nivel de concentración establecido como límite de detección, así como la incertidumbre presentada anteriormente, cumplen con los parámetros aceptables definidos en los objetivos de validación y puede por tanto ser usado de forma confiable como límite inferior del rango de concentraciones validado.

Tabla 3.40. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de cadmio

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	0,0010 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	0,0025 mg/l

Aun cuando el límite de detección alcanzado, resuló igual al exigido como límite máximo por la normativa ambiental vigente en el país para agua de consumo humano (República del Ecuador, 2003), hay que señalar que este límite es comparable al que se puede obtener con muchos métodos convencionales de análisis, tales como la absorción atómica. (Skoog *et al.,* 2001)

3.2.3.3 Plomo

3.2.3.3.1 Análisis de Varianza Simple

Como se presenta en las tablas 3.41 a 3.43, para todos los grupos muestrales se pudo demostrar la homogeneidad de las varianzas, obteniéndose un estadístico G menor al valor crítico. De igual forma se obtuvo valores para el estadístico F menores al valor crítico, demostrándose así la uniformidad de los grupos para todos los niveles de concentración analizados, en los tres rangos.

Prueba de ANOVA para el Rango bajo

Tabla 3.41. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango bajo

Conc. [ppb]	2,5	5,0	10,0	20,0	Muest. Real
Gmax calculado	0,267	0,395	0,412	0,372	0,337
Gmax crítico	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,148	1,782	1,906	2,618	1,734

Prueba de ANOVA para el Rango medio

Tabla 3.42. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango medio

Conc. [ppb]	0,020	0,050	0,100	0,250
G_{max} calculado	0,489	0,647	0,625	0,425
G_{max}crítico	0,684	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478	3,478
F	1,504	3,438	0,424	1,038

Prueba de ANOVA para el Rango alto

Tabla 3.43. Resultados para la prueba de Cochrand para el rango alto

Conc. [mg/L]	0,25	0,50	1,00
Gmax calculado	0,346	0,680	0,285
Gmax crítico	0,684	0,684	0,684
F Crítico	3,478	3,478	3,478
F	1,423	2,683	1,001

3.2.3.3.2 Exactitud, Precisión e Incertidumbre

Las magnitudes de los parámetros para el método de plomo resultan ser muy cercanos a los valores obtenidos para el análisis de cadmio, y cumplen así mismo con los objetivos planteados para la validación del método, como se observa en las tablas 3.44 a 3.50. Al igual que en el caso del cadmio, el valor de incertidumbre más alto se obtuvo en el rango más bajo de concentraciones, lo cual concuerda con lo esperado, dado la dificultad del trabajo con concentraciones tan bajas.

Tabla 3.44. Recuperación sobre una matriz real

Parámetro	Valor
Estandar Añadido (ppb)	25,00
Conc. Muestra [mg/L]	29,54
% de Recuperación	105,3

- Rango bajo

Tabla 3.45. Exactitud obtenida a diferentes niveles de concentración para el rango bajo

No.	2,5 ppb	5,0 ppb	10,0 ppb	20,0 ppb
% de Recuperación	102,2	101,1	103,6	99,7

Tabla 3.46. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados

Nivel: conc.	Repetibilidad		Reproduciblidad		U Expand
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	%U (k = 2)
Rango bajo: **0,0025 – 0,0200 mg/L**	0,0011	8,73	0,0014	8,18	25,06

- Rango medio

Tabla 3.47. Exactitud obtenida a diferentes niveles de concentración para el rango medio

No.	20 ppb	50 ppb	100 ppb	250 ppb
% Recuperación	103,7	98,5	95,0	95,9

Tabla 3.48. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados

Nivel: conc.	Repetibilidad		Reproduciblidad		U Expand
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	%U (k = 2)
Rango medio: 0,020 – 0,250 mg/L	0,0159	7,52	0,016	7,68	22,80

- Rango alto

Tabla 3.49. Exactitud obtenida a los diferentes niveles de concentración para el rango alto

	250 ppb	**500 ppb**	**1000 ppb**
% Recuperación	95,7	94,8	100,2

Tabla 3.50. Resultados de los parámetros de validación para el método de metales pesados

Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproducibilidad**		**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	%CVr	S_R	%CV_R	
Rango alto: **0,25 – 1,00 mg/L**	0,0616	6,29	0,0616	6,15	18,73

Igual que en el caso del método desarrollado para el cadmio, para este método también se debe señalar que problablemente una investigación más prodfunda, conduzca a modificaciones del procedimiento propuesto, que lleven a su vez a facilitar el desarrollo del análisis y reducir la incertidumbre de sus resultados.

3.2.3.3.3 Límite de Detección y Cuantificación

Igual que en el caso anterior, dado la naturaleza del análisis voltamétrico, para este método tanto el límite de detección como el de cuantificación se determinaron de forma experimental. El límite de detección se calculó como la mínima magnitud que da una respuesta diferenciable del ruido, durante el análisis.

Tabla 3.51. Recuperación para estándares de 1, 2 y 2,5 ppb de plomo

	1,0		2,0		2,5	
	Conc [ppb]	Recuperación	Conc [ppb]	Recuperación	Conc [ppb]	Recuperación
1	1,65	165%	1,2	60%	2,65	106%
2	1,32	132%	2,42	121%	2,56	102%
3	1,56	156%	2,5	125%	2,85	114%
Promedio	1,51	151%	2,04	102%	2,69	107%

Como se presenta en la tabla 3.51 la recuperación calculada al nivel de concentración establecido como límite de detección así como la incertidumbre

presentada anteriormente cumplen con los parámetros aceptables definidos en los objetivos de validación y puede por tanto ser usado de forma confiable como límite inferior del rango de concentraciones validado.

Tabla 3.52. Límite de detección y límite de cuantificación para el método de análisis de plomo

LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)	0,001 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)	0,0025 mg/l

De acuerdo a la normativa vigente los límites máximos aceptables para plomo en agua de consumo humano o doméstico son de 0,05 mg/l. (República del Ecuador, 2003). En este sentido los límites alcanzados con este análisis resultarán útiles para demostrar el cumplimiento o no de esta normativa. Adicionalmente hay que señalar que igual que en el caso del cadmio, estos límites son comparables a aquellos que se pueden alcanzar con métodos de análisis más convencionales.

Finalmente es necesario señalar que a pesar de que los estudios realizados alrededor de las determinaciones electroquímicas, tienen ya algunas décadas, este tipo de análisis aún está sujeto a importantes investigaciones. Como se cita en múltiples fuentes bibliográficas, se han planteado nuevos diseños de electrodos así como mecanismos para mejorar la difusión y en general la calidad de las medidas. Estos estudios presentan nuevas alternativas que pueden conducir a mejoras en el resultado del análisis, en su costo y reducir su complejidad. Así mismo se ha trabajado en mejorar la estabilidad de los electrodos y su comportamiento frente a diversos tipos de interferencias.

En este contexto, el desarrollo del método planteado en este trabajo se puede considerar como una primera aproximación a un procedimiento de análisis, que sin embargo está sujeto a ciertas limitantes, sobre todo en cuanto a la

interferencia de otros iones metálicos, y a los cambios que se producen en el comportamiento del electrodo a lo largo del tiempo de uso.

Aun cuando el método puede arrojar resultados válidos en la mayor parte de los casos señalados como apropiados para su utilización, este aún requiere un gran conocimiento del analista que lo ejecuta, a fin de reconocer posibles riesgos que pueden desembocar en una lectura equivocada o para implementar medidas válidas para minimizar estos riesgos y resolver ciertos problemas que pueden presentarse durante el análisis.

En la actualidad se han desarrollado equipos destinados de manera más específica a este tipo de análisis, cuyas facilidades en cuanto a equipamiento y software, permiten que el analista puede abstraerse de ciertos aspectos que afectan al análisis. Un ejemplo de esto es el uso de buretas automáticas cuya operación está acoplada al funcionamiento del analizador electroquímico, y que permiten aumentar la precisión y disminuir riesgos potenciales durante el proceso de adición de estándares. (Radiometer Analytical, 2006; Protti, 2001). Otro campo interesante de investigación es el uso de electrodos modificados o la deposición de diferentes sustancias sobre electrodos sólidos, con el fin de mejorar su sensibilidad, repetibilidad y la duración de los electrodos utilizados. (Mojica *et al.,* 2007)

3.3 Informe final y declaración del método validado

El informe final y declaración de validación del método se entregó al CICAM, de acuerdo al formato especificado en el manual de Calidad. Este formato resume los resultados más relevantes para la validación, los mismos que se presenta a continuación:

3.3.1 Surfactantes aniónicos

- Rango bajo

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Surfactantes Aniónicos
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

FUNCIÓN DE RESPUESTA	**INSTRUMENTAL**
m	0.977
S_m	4,47E-3
b	0
S_b	2,56E-4
R^2	0,995

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud**	**U Expand**
	Sr	**%CVr**	S_R	**%C**V_R	**% recup.**	**%U (k = 2)**
Rango bajo: 0,025 – 0,1 mg/L	0,003	4,18	0,004	4,99	103,1	17,23
Global	No aplica, ya que se reporta por rangos					

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,004 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,025 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD		
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	Sulfuros	sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, fenoles orgánicos, tiocianatos, cianatos, y cloruros inorgánicos.
TIPO DE INTRERFERENCIA CORRECCIÓN:	negativa adición de H_2O_2	Negativa Solución de lavado

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,025 – 100 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 98% hasta 104%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 10 a 18 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 2% a 5%;
validación aceptada

- Rango medio

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Surfactantes Aniónicos
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

FUNCIÓN DE RESPUESTA	**INSTRUMENTAL**
m	1.019
S_m	1,76E-3
b	-0,002
S_b	7,81E-4
R^2	0,999

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud**	**U Expand**
	Sr	**%CVr**	S_R	**%C**V_R	**% recup.**	**%U (k = 2)**
Rango medio: 0,1-1 mg/L	0,020	3,29	0,026	4,25	100,7	10,01
Global	No aplica, ya que se reporta por rangos					

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,004 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,025 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD		
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	Sulfuros	sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, fenoles orgánicos, tiocianatos, cianatos, y cloruros inorgánicos.
TIPO DE INTRERFERENCIA CORRECCIÓN:	negativa adición de H_2O_2	Negativa Solución de lavado

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,025 – 100 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 98% hasta 104%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 10 a 18 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 2% a 5%;
validación aceptada

- Rango alto

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Surfactantes Aniónicos
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

FUNCIÓN DE RESPUESTA	**INSTRUMENTAL**
m	0,990
S_m	2,21E-3
b	0,055
S_b	1,14E-2
R^2	0,999

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud % recup.**	**U Expand %U (k = 2)**
	Sr	**%CVr**	S_R	**%C**V_R		
Rango alto: 1-10 mg/L	0,196	3,80	0,244	4,93	105,6	17,89
Dilución	0,213	4,43	0,256	5,32	103,6	17,64

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,004 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,025 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD		
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	Sulfuros	sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, fenoles orgánicos, tiocianatos, cianatos, y cloruros inorgánicos.
TIPO DE INTRERFERENCIA CORRECCIÓN:	negativa adición de H_2O_2	Negativa Solución de lavado

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,025 – 100 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 98% hasta 104%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 10 a 18 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 2% a 5%;
validación aceptada

3.3.2 Fenoles

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Fenoles
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

FUNCIÓN DE RESPUESTA	**INSTRUMENTAL**
m	4,737
S_m	0,018
b	0,022
S_b	0,004
R^2	0,9987

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud**	**U Expand**
	Sr	**%CVr**	S_R	$\%CV_R$	**% recup.**	**%U (k = 2)**
Global	0,011	5,49	0,012	7,40	96,09	25,24
Dilución	0,008	4,20	0,010	4,86	106,6	10,77

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,012 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,020 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD		
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	Bacterias descomponedoras, sustancias oxidantes y reductoras, pH Alcalino	Impurezas no volátiles
TIPO DE INTRERFERENCIA CORRECCIÓN:	Negativa Acidificación a pH 4.0 con H_3PO_4	Negativa Destilación

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,020 – 2 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 95% hasta 107%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 5 a 17 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 2% a 5%;
validación aceptada

3.3.3 Metales pesados: cadmio y plomo

3.3.3.1 Cadmio

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Surfactantes Aniónicos
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud**	**U Expand**
	Sr	**%CVr**	S_R	$\%CV_R$	**% recup.**	**%U (k = 2)**
Rango bajo	0,0013	7,36	0,0015	7,95	103,8	24,7
Rango medio	0,0138	6,89	0,0142	6,59	94,0	18,7
Rango alto	0,0644	6,43	0,0678	6,43	105,6	20,8

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,001 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,0025 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD		
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	Sulfuros	sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, fenoles orgánicos, tiocianatos, cianatos, y cloruros inorgánicos.
TIPO DE INTRERFERENCIA CORRECCIÓN:	negativa adición de H_2O_2	Negativa Solución de lavado

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,025 – 100 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 98% hasta 104%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 10 a 18 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 2% a 5%;
validación aceptada

3.3.3.2 Plomo

CUANTITATIVO ☒	**Analito:** Plomo
CUALITATIVO ☐	**Unidades:** mg/l
DE IDENTIFICACIÓN ☐	**Matriz:** Aguas claras y residuales

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE						
Nivel: conc.	**Repetibilidad**		**Reproduciblidad**		**Exactitud**	**U Expand**
	Sr	**%CVr**	S_R	$\%CV_R$	**% recup.**	**%U (k = 2)**
Rango bajo	0,0011	8,73	0,0014	8,18	103,6	25,1
Rango medio	0,0159	7,52	0,0160	7,68	95,0	22,8
Rango alto	0,0616	6,29	0,0616	6,15	94,8	18,7

LÍMITE DE DETECCIÓN (**L.D.**)	0,001 mg/l
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (**L.C.**)	0,0025 mg/l

SELECTIVIDAD/ESPECIFICIDAD	
INTERFERENCIAS CONOCIDAS:	El análisis reporta concentraciones menores a la esperada, cuando la concentración total de cadmio, zinc, plomo y cobre es mayor a 2 ppm; cuando existe presencia de talio o indio, o cuando la concentración de cobre es mayor a 1 ppm. Se produce interferencia negativa si la concentración de cadmio en la muestra es mayor a 10 veces la de plomo presente. Grandes concentraciones de estaño (> 500 ppb) pueden producir interferencias positivas.de cadmio en la muestra es mayor a 10 veces la de plomo presente.

INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO: 0,0025 – 1 mg/L

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO:
EXACTITUD: 80% < %E < 120%, datos de 84,4% hasta 115,6%; validación aceptada. INCERTIDUMBRE: <= 35%, datos de 19,7 a 25 %; validación aceptada. %CVR <= 20%, datos de 6,83% a 8,18%;
validación aceptada

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

4.1.1 Surfactantes aniónicos

- El procedimiento descrito en el presente trabajo, para la cuantificación de surfactantes aniónicos, podrá ser aplicado por el laboratorio en tres rangos, dentro de los cuales la recta de calibración presentó una linealidad mayor a 0,995. El rango bajo abarcó concentraciones de 0,025 a 0,1 mg/L, el rango medio de 0,1 a 1 mg/L y el rango alto de 1 a 10 mg/L. Adicionalmente el análisis se extendió a muestras de hasta 100 mg/L, mediante una dilución 1 a 10.
- Se determinó que no existen diferencias significativas entre el análisis de muestras a las que se añadió alcohol isopropílico y peróxido de hidrógeno y aquellas a las que no se realizó esta adición. Este resultado permite extender el uso de las rectas de calibración obtenidas, a muestras en los dos casos y elimina la necesidad de incluir esta adición como parte del proceso de preparación de toda muestra a ser analizada.
- El método demostró poseer una exactitud que cumple con los objetivos planteados previamente tanto en los estándares como sobre matrices reales. Sobre matrices reales se obtuvo una recuperación de 103,1 % para el rango bajo, 100,7 % para el rango medio y 105,6% para el rango alto. Sobre estándares la recuperación fue de 95,7 a 101,9% para el rango bajo, de 99,5 a 101,1% para el rango medio y de 92,9 a 102,6% para el rango alto.
- El método para detección de surfactantes aniónicos descrito en el presente trabajo permite obtener resultados con una incertidumbre del 17% para el rango bajo y alto, y una incertidumbre del 10% para el rango medio.
- El coeficiente de variación de repetibilidad y de reproducibilidad del método fue menor al 5% en todos los rangos, esto indica que el procedimiento seguido a fin de optimizar y estabilizar el método, fue adecuado.

- Dado que el método descrito en el trabajó cumplió con los criterios de aceptación que se plantearon al inicio del desarrollo del presente trabajo, los datos que aquí se exponen se podrán utilizar de forma efectiva para elaborar la documentación que requiere el laboratorio para la acreditación del método.

4.1.2 Fenoles

- El procedimiento para la detección de compuestos fenólicos documentado en el presente trabajo podrá ser aplicado por el laboratorio para realizar cuantificaciones en un rango de concentraciones de 0,020 a 0,5 mg/L y hasta 2 mg/L con una dilución 1 a 5 de la muestra.
- El método de análisis de fenoles satisface los objetivos planteados en cuanto a recuperación, tanto en estándares como sobre matrices reales. En los estándares se obtuvo porcentajes de recuperación entre 92,2% a 102,7% y sobre una matriz real la recuperación fue de 96,1%
- El método para el análisis de fenoles presenta una incertidumbre del 26% y coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad menores al 5%, esto indica que el procedimiento seguido a fin de optimizar y estabilizar el método, fue adecuado.
- Al haberse cumplido con los criterios de aceptación que se plantearon para el presente método de análisis, los datos obtenidos se podrán utilizar de forma efectiva para elaborar la documentación que requiere el laboratorio para la acreditación del método.

4.1.3 Cadmio y plomo

- Los métodos voltamétricos desarrolados para la cuantificación de cadmio y plomo, que se describen en el presente trabajo se validaron en tres rangos para concentraciones comprendidas entre 0,0025 a 1,0000 mg/L. El rango bajo comprendió concentraciones de 0,0025 a 0,0200 mg/L, el rango medio de 0,02 a 0,25 mg/L y el rango alto de 0,25 a 1,00 mg/L.

- El método de análisis de cadmio se validó con una incertidumbre del 25% para el rango bajo y del 20% para el rango medio y alto. El coeficiente de repetibilidad y reproducibilidad para todos los rangos resultó cercano al 8%, esto indica que el procedimiento seguido a fin de optimizar y estabilizar el método, fue adecuado.
- La exactitud del método de análisis de cadmio, cumplió con los objetivos planteados, ya que se alcanzó una recuperación adecuada tanto sobre estándares como sobre una matriz real. Sobre estándares se obtuvo recuperaciones entre 95,2% a 101,8% para el rango bajo, de 94% a 97,5% para el rango medio y de 97,1% a 105,6% para el rango alto. Sobre una matriz real se alcanzó una recuperación del 99%.
- El método para la detección de plomo, se validó con una incertidumbre del 25% para el rango bajo y medio y del 20% para el rango alto. El coeficiente de repetibilidad y reproducibilidad para los rangos bajo y medio resultó cercano al 8% y menor al 6% para el rango alto, esto indica que el procedimiento seguido a fin de optimizar y estabilizar el método, fue adecuado.
- La exactitud del método de análisis de plomo, cumplió con los objetivos planteados al seleccionar los criterios para la aceptación del método, ya que se alcanzó una recuperación adecuada tanto sobre estándares como sobre una matriz real. Sobre estándares se obtuvieron recuperaciones entre 99,7% a 103,6% para el rango bajo, de 95 a 103,7% para el rango medio y de 94,8 a 100,2% para el rango alto. Sobre una matriz real se alcanzó una recuperación del 105,3%.
- Dado el incremento de las interacciones entre iones metálicos a concentraciones mayores a 0,5 mg/L, es necesario restringir el uso del rango alto de los análisis de Cd y Pb a muestras que presenten una cantidad menor a 1 mg/L de cadmio, plomo y cobre. En la mayor parte de casos se recomienda por tanto la dilución de la muestra para evitar inconvenientes.
- Al haberse alcanzado valores aceptables para los parámetros definidos en los criterios de aceptación que se plantearon para la cuantificación de cadmio y plomo, el presente trabajo porporcionará información suficiente

para elaborar la documentación que requiere el laboratorio para la acreditación del método.

4.2 Recomendaciones

- Es importante realizar estudios para aproximar la concentración de muestras con surfactantes, ya que en ciertos casos esta concentración no es evidente y se necesita repetir el análisis varias veces, antes de encontrar el rango o dilución conveniente para la medición; como resultado el análisis de una sola muestra puede tomar una gran cantidad de tiempo de los analistas.
- Investigar la conveniencia de métodos voltamétricos alternativos de reciente desarrollo como son el uso de electrodos de plata para el análisis de plomo, o la sustitución del mercurio por bismuto.
- Es importante investigar mecanismos que permitan mejorar la repetibilidad de los análisis voltamétricos, tales como la inclusión de un proceso de purga del oxígeno previo el análisis de la celda, o mecanismos de agitación durante la etapa de deposición del metal bajo análisis.
- La investigación de análisis voltamétricos con electrodos rotatorios podría permitir mejorar los resultados obtenidos en el presente trabajo, espacialmente en lo referente a la utilización de electrodos de oro y plata.

BIBLIOGRAFÍA

1. ASGCLA, “Resultados del Simposio sobre Armonización de Sistemas de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticod, Budapest – Hungria”, 1999, http://news.reseau-concept.net/images/oiv_es/Client/Resolution_OENO_ES_2005_08.pdf, (Noviembre 2009)

2. Centro Español de Metrología (CEM), 2008, “Vocabulario Internacional de Metrología – Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)”, ed. 3, Madrid, España, pp. 26-41

3. CICAM, 2006, “Manual de Calidad, Procedimientos Generales, Procedimiento Específico”.

4. Clerescери, S., Eaton, D., Grenberg, E., Rice, W., 2005, “Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater”, American Public Health Association, ed. 21, Washington D.C., Estados Unidos, pp. 5-56 - 5-74.

5. Correa, J., Iral, R., Rojas, L., 2006, “Estudio de potencia de pruebas de homogeneidad de varianza”, Universidad Nacional De Colombia, Revista Colombiana de Estadística, Volumen 29 Nº1, pp. 57 a 76.

6. Cross, J., 1998, “Anionic Surfactants”, ed. 2, Marcel Dekker, pp. 201-205.

7. Danzer, K., Currie, L., 1998, “Guidelines for Calibration in Analytical Chemistry”, Gran Bretaña, Pure and Applied Chemistry Vol. 70, No 4, pp 993 – 1014.

8. Dean Adams, V., 1990, “Water and Wastewater Examination Manual”, Ed CRC Press, Washington D.C, Estados Unidos, pp. 182 – 185.

9. Douglas A., Lind, W., Marchal, S., 2005, “Estadística Aplicada a los Negocios y la Economía”, Ed. McGraw-Hill, ed. 12, México D.F., pp 394- 399.

http://midelab.com.mx/notas_tec/mediciones_quimicas.pdf, (Septiembre 2009)

http://www.qsinnovations.com/iso17025Espanol.html, (Octubre 2009).

10. Ibrahim, M., 2007, “Anionic Surfactants as MBAS”, NC Division of Water Quality Laboratory, Raleigh, Estados Unidos, pp 3-19.

11. INEN-ISO/IEC 17025:2006, “Requisitos Generales para la competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración”.

12. Jones, P., Johnson, K., 1973, “Estimation of Phenols by the 4-Aminoantipyrine Method: Identification of the Colored Reaction Products by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy”, Can. J. Chem, vol 51, 2860-2868.

13. Jurado E., Fernandez, M., Nuñez, J., Luzón, G., Lechuga, M., 2006, “Simplified spectrophotometric method using methylene blue for determining anionic surfactants: Applications to the study of primary biodegradation in aerobic screening tests”, Chemosphere, 278-285.

14. Komatsu, M., 1973, “Potential-step Anodic Stripping Voltammetry”, Bulletin of The chemical Society of Japan, vol. 46, pp 1670 – 1674.

15. Kounaves, S., 1997, “Voltammetric Techniques”, Tudts, University Department of Chemistry, F.A.Settle (Ed.) Prentice Hall PTR, UpperSaddleRiver, NJ.

16. L&S Consultores, 2009, “Nota Técnica: Validación de Métodos de Ensayo”, http://www.lysconsultores.com/Descargar/NT004.pdf, (Diciembre 2009)

17. MDC Consultoría y Capacitación, “Sistemas de Gestión”, http://www.calidad.org.mx/index.htm, (Enero 2009).

18. Metrohm, 2006, “Voltammetry an Introduction in Theory”, Suiza, pp 3-36.

19. Metrohm, 2009, “Determination of cadmium, lead and copper in foodstuffs, waste water and sewage sludge by anodic stripping voltammetry after digestion”, Boletin No 113/2 e, pp 2, 3.

20. Metrohm, 2009, “Determination of Cd and Pb in sea water”, Boletin v 68, pp. 1.

21. Metrohm, 2009, “Zinc, cadmium, lead and copper in wate water after UV digestion”, Boletín V-83, pp. 1, 2.

22. MIDE, Metrologia Integral y Desarrollo, 2008, “La importancia de las mediciones Químicas·, México”,
23. Mojica, E., Santos, J., Micor, J., 2007, “Determination of Lead using a Feather Modified Carbon Paste Electrode by Anodic Stripping Voltammetry”, IDOSI Publications 2007, World Applied Sciencies Journal 2 (5): 512 – 518.

24. Nollet, L., 2007, “Handbook of water analysis”, Ed CRC Press, ed. 2, p. 200-205.

25. Norma NMX-AA-039-SCFI-2001, “Análisis de Aguas – Determinación de sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM) en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas – Método de Prueba”, Estados Unidos Mexicanos.

26. Orozco, C., Pérez, A., Nieves, A., Rodriguez, F., Alfayete, J., 2005, “Contaminación Ambiental, una visión desde la Química”, Departamento de Química Universidad de Burgos, Ed. Thomson, Primera edición, España, pp 96-109.

27. Protti, P., 2001, “AMEL Electrochemistry, Introduction to Modern Voltammetric and Polarographic Analisys Techniques”, ed. 4, pp. 1 – 34.

28. Quality Systems Innovations Inc (QSIINC), “Sistemas de Calidad ISO 17025 para Laboratorios de Ensayo y Calibración”,
29. Radiometer Analytical, 2006, “Copper, Lead and Cadmium in Water”, http://www.radiometer-analytical.com/, TRL002-9812C, Francia, (Enero 2010)

30. República del Ecuador, 2003, Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, libro VI, anexo I.

31. Sancho, D., Vega, M., Deban, L., Pardo, R., González, G., 1997, “Determination of Zinc, Cadmium and Lead in Untreated Sugar Samples by Anodic Stripping Voltammetry”, The Analyst, vol. 122 (727 – 730).

32. Schmitt, T., 2001, “Analysis of Surfactants”, ed. 2, Ed. Marcel Dekker, New York, Estados Unidos, pp 94-100.

33. Skoog, D., Holler, F., Nieman, T., (2001), “Principios de Análisis Instrumental”, Ed McGraw-Hill, Quinta Edición, pp 122 – 14, pp 919 – 932.

34. Skoog, D., West, D., Holler, F., Crouch, S., 2005,”Fundamentos de Química Analítica”, Ed Thomson, ed. 8, México D.F, pp 91-171, 795-818.

35. Stankoviv, S., Cickaric, D., Markovic, J., 2007, “Determination of Pb and Cd in water by potentiometric stripping analysis (PSA)”, Elsevier, Desalination 214, pp 282 – 287.

36. Vladimirovna, Z., 2006, “The Improvement of Anodic Stripping Voltammetric (ASV) Method of Cadmium and Mercury Determination”, Luleă University of Technology, Tesis de masterado, pp. 5 -15.

ANEXOS

ANEXO I

DATOS EXPERIMENTALES

Surfactantes aniónicos

Rango bajo:

Tabla I.1. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de surfactantes aniónicos

Concentración	0,000 mg/l					0,025 mg/l				
Días / Dato	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1 [Abs]	0,021	0,023	0,020	0,022	0,021	0,108	0,112	0,113	0,109	0,105
2 [Abs]	0,016	0,026	0,024	0,028	0,027	0,108	0,109	0,118	0,105	0,109
3 [Abs]	0,013	0,014	0,026	0,016	0,028	0,113	0,117	0,106	0,101	0,105

Concentración	0,05 mg/l					0,10 mg/l				
Días / Dato	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1 [Abs]	0,209	0,211	0,205	0,220	0,220	0,400	0,387	0,383	0,413	0,387
2 [Abs]	0,207	0,213	0,217	0,216	0,204	0,403	0,386	0,405	0,383	0,371
3 [Abs]	0,199	0,190	0,204	0,224	0,200	0,395	0,382	0,401	0,395	0,359

	Muestra Real				
Días / Dato	1	2	3	4	5
1 [Abs]	0,260	0,284	0,264	0,268	0,280
2 [Abs]	0,268	0,268	0,288	0,276	0,272
3 [Abs]	0,272	0,304	0,280	0,272	0,268

- Rango medio

Tabla I.2. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de surfactantes aniónicos

Concentración	0,00 mg/l					0,10 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,026	0,034	0,033	0,031	0,031	0,232	0,224	0,218	0,238	0,224
2 [Abs]	0,042	0,038	0,041	0,028	0,029	0,228	0,228	0,223	0,243	0,243
3 [Abs]	0,035	0,033	0,036	0,035	0,030	0,222	0,232	0,221	0,228	0,239

Concentración	0,15 mg/l					0,20 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,343	0,329	0,324	0,334	0,330	0,429	0,427	0,403	0,437	0,445
2 [Abs]	0,332	0,327	0,33	0,339	0,316	0,428	0,423	0,405	0,434	0,412
3 [Abs]	0,340	0,331	0,336	0,32	0,324	0,422	0,41	0,43	0,428	0,407

Concentración	0,25 mg/l					0,50 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,518	0,523	0,531	0,524	0,533	0,975	1,005	0,989	1,052	0,987
2 [Abs]	0,512	0,529	0,52	0,515	0,526	1,002	1,003	0,998	1,039	1,075
3 [Abs]	0,499	0,529	0,518	0,527	0,52	0,985	1,01	0,998	0,983	1,041

Concentración	1,00 mg/l					Muestra real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	1,954	1,937	1,994	1,963	1,942	1,273	1,271	1,223	1,298	1,269
2 [Abs]	1,965	1,935	2,057	2,028	1,996	1,204	1,252	1,252	1,273	1,233
3 [Abs]	1,957	1,937	2,057	1,976	2,082	1,267	1,281	1,237	1,265	1,281

- Rango alto

Tabla I.3. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de surfactantes aniónicos

Concentración	0,0 mg/l					1,0 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,031	0,045	0,038	0,042	0,038	0,188	0,194	0,189	0,179	0,188
2 [Abs]	0,045	0,035	0,029	0,046	0,058	0,202	0,188	0,182	0,18	0,181
3 [Abs]	0,036	0,053	0,052	0,057	0,054	0,188	0,201	0,182	0,187	0,182

Concentración	2,5 mg/l					5,0 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,439	0,438	0,417	0,43	0,408	0,863	0,868	0,835	0,854	0,855
2 [Abs]	0,453	0,44	0,438	0,411	0,434	0,827	0,856	0,827	0,883	0,847
3 [Abs]	0,447	0,44	0,411	0,43	0,435	0,863	0,855	0,852	0,894	0,848

Concentración	10,0 mg/l					muestra real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	1,638	1,608	1,633	1,588	1,672	1,062	1,16	1,178	1,152	1,168
2 [Abs]	1,64	1,562	1,618	1,572	1,641	1,124	1,152	1,185	1,134	1,186
3 [Abs]	1,568	1,64	1,617	1,626	1,697	1,171	1,104	1,155	1,124	1,167

- Diluciones

Tabla I.4. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para las diluciones del método de surfactantes aniónicos

Concentración	50 mg/l (1:10)					100 mg/l (1:10)				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,767	0,774	0,785	0,865	0,838	1,476	1,520	1,565	1,559	1,536
2 [Abs]	0,769	0,867	0,784	0,773	0,828	1,562	1,516	1,477	1,558	1,536
3 [Abs]	0,765	0,773	0,788	0,864	0,839	1,477	1,517	1,572	1,558	1,537

Concentración	Muestra real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,781	0,801	0,798	0,780	0,798
2 [Abs]	0,773	0,800	0,780	0,766	0,811
3 [Abs]	0,776	0,805	0,810	0,729	0,747

Fenoles

Tabla I.5. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el método de análisis de fenoles.

Concentración	0.00 mg/l					0,02 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,021	0,066	0,027	0,035	0,050	0,121	0,116	0,121	0,115	0,110
2 [Abs]	0,024	0,039	0,055	0,024	0,067	0,123	0,125	0,127	0,122	0,126
3 [Abs]	0,055	0,020	0,062	0,025	0,039	0,129	0,114	0,128	0,112	0,113

Concentración	0,05 mg/l					0,10 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,274	0,241	0,259	0,257	0,247	0,523	0,518	0,478	0,525	0,519
2 [Abs]	0,256	0,233	0,255	0,261	0,253	0,525	0,488	0,522	0,520	0,547
3 [Abs]	0,230	0,242	0,269	0,250	0,269	0,524	0,476	0,525	0,508	0,546

Concentración	0,20 mg/l					0,50 mg/l				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,976	0,972	0,971	1,023	1,001	2,358	2,402	2,367	2,264	2,393
2 [Abs]	0,972	0,961	0,968	0,973	0,989	2,373	2,446	2,371	2,432	2,438
3 [Abs]	0,978	1,012	0,951	0,971	0,991	2,444	2,360	2,313	2,315	2,457

Concentración	Muestra real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,961	0,958	0,916	0,895	0,953
2 [Abs]	0,975	0,954	0,887	0,906	0,972
3 [Abs]	0,875	0,928	0,904	0,874	0,873

- Diluciones

Tabla I.6. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para las diluciones del método de análisis de fenoles

Concentración	1 mg/l (1:05)					2 mg/l (1:5)				
Días Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,932	1,019	0,965	0,916	1,004	1,925	1,871	1,919	1,953	1,928
2 [Abs]	0,921	0,919	0,941	1,016	1,001	1,912	1,862	1,925	1,933	1,945
3 [Abs]	0,925	0,915	0,949	1,032	1,013	1,916	1,912	1,915	1,975	1,860

Concentración	Muestra (1:5)				
Días Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [Abs]	0,853	0,850	0,834	0,831	0,836
2 [Abs]	0,856	0,804	0,829	0,841	0,819
3 [Abs]	0,831	0,831	0,841	0,822	0,785

Cadmio

- Rango bajo

Tabla I.7. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de análisis de cadmio

Concentración	2,5 ppb					5,0 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	2,41	2,55	2,75	2,42	2,62	4,77	4,68	5,36	5,20	5,52
2 [ug/L]	2,07	2,54	2,37	2,52	2,89	4,73	5,02	4,89	5,27	4,90
3 [ug/L]	2,58	2,39	2,73	2,62	2,71	4,92	4,66	4,67	4,75	5,27

Concentración	10,0 ppb					20,0 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	8,51	9,48	10,60	10,12	10,38	21,66	18,45	18,83	17,88	18,15
2 [ug/L]	9,10	8,50	9,84	10,23	10,18	18,64	18,28	21,05	18,81	17,59
3 [ug/L]	8,59	9,43	9,29	9,82	8,84	20,82	21,46	18,80	18,19	16,92

Concentración	Muestra Real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	5,35	4,47	4,90	4,50	5,02
2 [ug/L]	5,20	4,75	4,65	4,60	4,72
3 [ug/L]	4,90	4,73	5,05	5,25	4,47

- Rango medio

Tabla I.8. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de análisis de cadmio

Concentración	20 ppb					50 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	19,19	18,28	20,21	19,76	20,10	50,66	49,51	47,74	45,41	50,41
2 [ug/L]	17,62	17,62	18,37	20,71	18,54	44,75	49,38	44,90	50,07	45,71
3 [ug/L]	17,03	18,86	20,62	17,11	18,11	45,68	54,43	46,38	45,62	47,20

Concentración	100 ppb					250 ppb				
Días Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	103,40	101,20	92,19	94,16	89,90	250,49	235,00	262,10	256,79	238,24
2 [ug/L]	110,41	102,89	90,58	95,55	94,08	244,56	229,57	255,05	243,91	222,89
3 [ug/L]	90,34	95,42	102,41	93,23	90,98	236,51	222,85	236,41	247,53	272,50

Concentración	Muestra Real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	20,66	20,51	22,20	19,69	19,60
2 [ug/L]	22,03	18,71	19,91	18,57	20,85
3 [ug/L]	21,30	18,25	20,39	20,91	18,17

- Rango alto

Tabla I.9. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de análisis de cadmio

Concentración	250 ppb					500 ppb				
. Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	266,60	243,82	255,61	231,44	242,45	496,52	563,59	502,47	553,92	566,18
2 [ug/L]	223,95	230,10	249,87	253,25	222,21	482,16	566,84	567,08	521,45	501,63
3 [ug/L]	236,30	237,05	274,25	236,23	237,06	502,83	521,91	566,76	525,40	480,36

Concentración	1000 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	1036,35	1114,88	1111,62	1100,37	1050,06
2 [ug/L]	1086,21	1116,49	1006,15	1053,54	1093,30
3 [ug/L]	878,89	1082,82	947,60	1039,58	1099,73

Plomo

- Rango bajo

Tabla I.10. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango bajo del método de análisis de plomo

Concentración	2,5 ppb					5,0 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	2,67	2,61	2,67	2,60	2,11	4,55	5,29	4,50	5,56	4,59
2 [ug/L]	2,42	2,69	2,34	2,39	2,40	5,38	5,24	4,60	4,77	5,19
3 [ug/L]	2,89	2,45	2,71	2,86	2,50	5,40	5,42	4,74	5,22	5,41

Concentración	10,0 ppb					20,0 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	10,90	10,61	10,03	9,87	11,38	19,52	18,23	19,28	21,24	20,98
2 [ug/L]	9,44	11,21	8,62	10,04	10,17	17,78	17,52	20,47	20,93	21,71
3 [ug/L]	11,25	10,56	9,83	10,78	10,70	20,76	19,94	20,12	21,37	19,10

Concentración	Muestra Real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	5,23	4,31	4,30	4,31	4,57
2 [ug/L]	4,97	4,94	4,71	4,91	4,26
3 [ug/L]	4,64	4,42	4,26	4,20	4,38

- Rango medio

Tabla I.11. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango medio del método de análisis de plomo

Concentración	20 ppb					50 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	17,90	21,60	20,09	17,64	22,07	51,95	51,62	43,95	45,53	54,77
2 [ug/L]	20,70	18,60	21,34	21,96	22,33	46,30	49,66	52,51	47,60	52,65
3 [ug/L]	20,20	21,10	21,57	21,19	22,72	48,20	48,67	44,22	47,26	54,17

Concentración	100 ppb					250 ppb				
Días Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	90,51	95,26	95,41	95,77	98,19	223,15	270,92	242,28	249,04	259,29
2 [ug/L]	90,69	92,13	91,11	92,51	97,58	222,87	235,87	238,90	217,76	234,71
3 [ug/L]	104,59	102,01	92,40	91,83	94,28	225,34	227,25	260,89	254,01	235,39

Concentración	Muestra Real				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	27,28	30,11	33,43	27,41	31,08
2 [ug/L]	28,02	30,20	32,67	29,43	29,16
3 [ug/L]	26,56	28,79	29,37	32,64	26,98

- Rango alto

Tabla I.12. Datos experimentales obtenidos a diferentes concentraciones para el rango alto del método de análisis de plomo

Concentración	250 ppb					500 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	253,00	220,86	239,00	239,61	253,05	489,10	458,90	509,87	437,74	453,30
2 [ug/L]	257,30	230,34	240,60	219,38	256,46	488,61	478,12	503,78	483,22	455,81
3 [ug/L]	226,72	245,50	253,00	224,67	230,78	460,00	455,02	487,38	509,49	442,09

Concentración	1000 ppb				
Días / Dato	D1	D2	D3	D4	D5
1 [ug/L]	1024,62	932,18	1114,43	945,39	982,68
2 [ug/L]	985,64	981,87	1095,26	989,18	1042,29
3 [ug/L]	927,25	1032,60	978,70	1080,78	918,02

ANEXO II

EJEMPLOS DE CÁLCULO

Surfactantes aniónicos

Ecuac	Datos	Resultado
1.2	Los 15 datos correspondientes a las 3 medidas diarias, durante 5 días, para cada nivel de concentración	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $\bar{x} = \frac{0{,}108 + 0{,}108 + \cdots + 0{,}105 + 0{,}109 + 0{,}105}{15}$ $\bar{x} = 0{,}1092$
1.3	Las 3 mediciones del día	Para el día 1: $\bar{x_i} = \frac{0{,}108 + 0{,}108 + 0{,}113}{3} = 0{,}1097$
1.11	Desviaciones estándar de los grupos (días) $G_{crítico} = 0.6831$	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $G_{max} = \frac{8{,}33E-6 + 1{,}63E-5 + 3{,}63E-5 + 1{,}60E-5 + 5{,}33E-6}{2{,}37E-4}$ $= 0{,}441$
1.4	Medias grupales y media general	Para el día 1: $(\bar{x_i} - \bar{x})^2 = (0{,}108 - 0{,}1092)^2 = 2{,}25E-7$ $SDC_B = 3 * (2.18E-7 + 1.20E-5 + 9{,}82E-6 + 1{,}76E-5 + 8{,}22E-6) = 1{,}44E-4$
1.5	Los 15 datos para cada nivel de concentración y	Para el primer dato, día 1: $(x_{11} - \overline{x_1})^2 = (0{,}108 - 0{,}1097)^2 = 2{,}8E-5$

	la media general	$SDC_w = (2.8E-6 + 2.8E-6 + \cdots + 1{,}8E-6) = 1{,}65E-4$
1.7		$SDC_T = 1{,}44E-4 + 1{,}65E-4 = 3{,}08E-4$
1.8	$q = 5$	$DCM_B = \frac{1{,}25E-4}{5-1} = 3{,}13E-5$
1.9	$n = 15$	$DCM_W = \frac{2.30E-4}{15-5} = 2.30E-5$
1.10	F crítico = 3.4780	$F = \frac{3{,}13E-5}{2{,}30E-5} = 1{,}362$
2.1	Todas las medidas tomadas para cada nivel de concentración	$L = 3.703 * P\left[Abs.\frac{L}{mg}\right] + 0{,}021$
2.2		$S_{LP} = 0{,}009$
2.3		$Sm = 4{,}69E-17$
2.4		$S_{Lo} = 2{,}68E-18$
2.5	$S_{LP} = 0{,}009$ $m = 3.703$	$S_{PL} = 0{,}03$
2.6	$S_{Bl} = 0{,}001\ mg/L$	$LD = 3 * 0{,}001 = 0{,}004\ mg/L$
2.7	$gl = 58$ $t = 2.002$ $b = 0{,}021$	$L = 3{,}703 * L + (0{,}021 \pm 2{,}002 * 0{,}009)$ $L_{sup} = 4{,}704 * L + 0{,}09$ $L_{inf} = 4{,}704 * L - 0{,}023$
2.14	Volumen alícuota = 25ml Volumen aforo = 1000ml	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $A = \frac{25}{1000} = 0{,}025$
2.15	Concentración estándar = 1mg/L	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $B = \frac{1}{1000} = 0{,}001$
2.16		Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $C = -\frac{1 * 25}{1000^2} = 2.5E-5$

2.17	$u_{C1} = 1{,}53E-3$ $u_{V1} = 0{,}001$ $u_{v2} = 0{,}015$	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $u_{MR}^2 = 0{,}025^2 * (1{,}53E-3)^2 + 0{,}001^2 * 0{,}001^2 + (2.5E-5)^2 * 0{,}015^2 = 3{,}83E-5$
2.24	Resolución = 0,001	$u_{resolución} = \frac{0{,}001}{\sqrt{3}} = 5{,}77E-4$
2.25	Exactitud = 0,005 Abs	$u_{deriva} = \frac{0{,}005/3{,}703}{\sqrt{3}} = 7{,}8E-4$
2.23		$u_L = \sqrt{5{,}77E-4^2 + 7{,}8E-4^2} = 9{,}7E-4$
2.28		$u_{Lo} = 2{,}68E-18$
2.30		$u_m = 4{,}69E-17$
2.22		$u_{FR}^2 = A^2 * u_L^2 + B^2 * u_{L_O}^2 + C^2 * u_m^2$ $u_{FR}^2 = 1 * 9{,}7E-4^2 + 1 * 2{,}68E-18^2 + (-0{,}1092)^2 * 4.69E-17^2 = 9{,}7E-4$
2.32	$u_{Vmuestra} = 0{,}03$ $V_{muestra} = 300ml$ $C_{est} = 0{,}02mg/L$ $uVAforo = 0{,}001$ $V_{Aforo} = 50ml$	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $u_{analisis} = \sqrt{\left(0{,}030 * \frac{0{,}025}{300}\right)^2 + \left(0{,}001 * \frac{0{,}025}{50}\right)^2} = 1{,}94E-6$
2.33	$s = 4.69E-3$	$u_r = \frac{4{,}69E-3}{\sqrt{15}} = 1{,}21E-3Abs$ $u_r = \frac{1{,}21-3}{3{,}703} = 3{,}27E-4$
2.12		$u_{calEq} = \sqrt{3{,}83\mathrm{E}-5 + 9{,}7\mathrm{E}-4 + 1{,}94\mathrm{E}-6^2 + 3{,}27\mathrm{E}-4^2} = 1{,}02E-3$ $\%u_{calEq} = \frac{1{,}02E-3}{0{,}025} * 100 = 4{,}10\%$
2.34		$u_R = \frac{4{,}50}{0{,}025 * 3{,}703} =$

		$u_R = 4{,}99$
2.11		$\%u_{método} = \sqrt{4{,}10^2 + 4{,}99^2} = 6{,}45$
2.10		$U_M = 6{,}45 * 2 = 12.91$
	Promedio general en mg/L = 0,0239 Concentración del estándar = 0,025 mg/L	$Correcciones\ no\ realizadas = \frac{0{,}025 - 0{,}0239}{0{,}025} * 100$ $= 4{,}32\%$
2.9		Para 0,025 mg/L $\%U_{USO} = \lvert 12{,}91 \rvert + \lvert 4{,}32 \rvert = 17{,}23\%$

Fenoles

Ecuac	Datos	Resultado
1.2	Los 15 datos correspondientes a las 3 medidas diarias, durante 5 días, para cada nivel de concentración	Para 0,020 mg/L $\bar{x} = \frac{0{,}121 + 0{,}123 + \cdots + 0{,}110 + 0{,}126 + 0{,}113}{15}$ $L_g = 0{,}12$
1.3	Las 3 mediciones del día	Para el día 1: $\bar{x_i} = \frac{0{,}121 + 0{,}123 + 0{,}129}{3} = 0{,}124$
1.11	Desviaciones estándar de los grupos (días) $G_{crítico} = 0.6838$	Para 0,020 mg/L: $G_{max} = \frac{1{,}73E-5 + 3{,}43E-5 + 1{,}43E-5 + 2.63E-5 + 7{,}23E-5}{2{,}37E-4}$ $= 0{,}439$
1.4	Medias grupales	Para el día 1:

	y media general	$(\overline{x_i} - \bar{x})^2 = (0{,}124 - 0{,}12)^2 = 1{,}76E - 5$ $SDC_B = 3 * (1{,}764E - 5 + 3{,}24E - 6 + 2{,}704E - 5 + 1{,}444E - 5 + 1{,}444E - 5) = 2.30E - 4$
1.6	Los 15 datos para cada nivel de concentración y la media general	Para el primer dato, día 1: $(x_{11} - \overline{x_1})^2 = (0{,}121 - 0{,}12)^2 = 1{,}11E - 5$ $SDC_w = (1{,}11E - 5 + 1{,}78E - 6 + \cdots + 1{,}11E - 5) = 3{,}29E - 4$
1.7		$SDC_T = 2{,}30E - 4 + 3{,}29E - 4 = 5{,}60E - 4$
1.8	$q = 5$	$DCM_B = \frac{2.30E-4}{5-1} = 5{,}76E - 5$
1.9	$n = 15$	$DCM_W = \frac{3{,}29E - 4}{15 - 5} = 3{,}29E - 5$
1.10		$F = \frac{5{,}76E - 5}{3{,}29E - 5} = 1{,}7490$
2.1	Todas las medidas tomadas para cada nivel de concentración	$L = 4{,}704 * P\left[Abs.\frac{L}{mg}\right] + 0{,}033$
2.2		$S_{LP} = 0{,}028$
2.3		$Sm = 9{,}03E - 06$
2.4		$S_{Lo} = 2.03E - 06$
2.5	$S_{LP} = 0{,}028$ $m = 4{,}704$	$S_{PL} = 0{,}06$
2.6	$S_{Bl} = 0{,}037\ mg/L$	$LD = 3 * 0{,}037 = 0{,}011\ mg/L$
2.7	$gl = 88$ $t = 1{,}987$ $b = 0{,}033$	$L = 4{,}704 * L + (0{,}033 \pm 1{,}987 * 0{,}028)$ $L_{sup} = 4{,}704 * L + 0{,}09$ $L_{inf} = 4{,}704 * L - 0{,}023$
2.40	Volumen alícuota = 10ml	Para 0,020 mg/L $A = \frac{10}{500} = 0{,}02$

	Volumen aforo = 500ml	
2.41	Concentración estándar = 1mg/L	Para 0,020 mg/L $$\frac{\delta C_2}{\delta V_1} = \frac{C_1}{V_2} = B = \frac{1}{500} = 0{,}002$$
2.42		Para 0,020 mg/L $$C = -\frac{1 * 10}{500^2} = 0{,}00004$$
2.43	$u_{C1} = 2.7E - 3$ $u_{V1} = 0{,}002$ $u_{v2} = 0{,}015$	Para 0,020 mg/L $$u_{MR}^2 = 0{,}02^2 * (2.7E - 3)^2 + 0{,}002^2 * 0{,}002^2 + (4E - 5)^2 * 0{,}015^2 = 5{,}41E - 5$$
2.51	Resolución = 0,001	$$u_{resolución} = \frac{0{,}001}{\sqrt{3}} = 5{,}77E - 4$$
2.52	Exactitud = 0,005 Abs	$$u_{deriva} = \frac{0{,}005/4{,}704}{\sqrt{3}} = 1{,}06E - 3$$
2.50		$$u_L = \sqrt{5{,}77E - 4^2 + 1{,}06E - 3^2} = 8{,}43E - 4$$
2.53		$$u_{Lo} = 2{,}03E - 6$$
2.54		$$u_m = 9{,}03E - 6$$
2.49		$$u_{FR}^2 = 1 * 8{,}43E - 4^2 + 1 * 2{,}03E - 6^2 + (-0{,}12)^2 * 9{,}03E - 6^2 = 8{,}43E - 4$$
2.56	$u_{Vmuestra} = 0{,}03$ $V_{muestra} = 300ml$ $C_{est} = 0{,}02mg/L$	Para 0,020 mg/L: $$u_{analisis} = \sqrt{\left(0{,}030 * \frac{0{,}02}{50}\right)^2} = 2E - 6$$
2.57	$s = 6{,}32E - 32$	$$u_r = \frac{6{,}32E - 32}{\sqrt{15}} = 1{,}63E - 3Abs$$ $$u_r = \frac{1{,}63 - 3}{4{,}704} = 3{,}47E - 4$$
2.38		$$u_{calEq} = \sqrt{5{,}41\mathrm{E} - 5 + 8{,}43\mathrm{E} - 4 + 2\mathrm{E} - 6^2 + 3{,}47\mathrm{E} - 4^2} = 9{,}12E - 4$$ $$\%u_{calEq} = \frac{9{,}12E - 4}{0{,}02} * 100 = 4{,}56\%$$

2.58		$u_R = \frac{5{,}34}{0{,}02 * 4{,}706} =$ $u_R = 7{,}40$
2.37		$\%u_{método} = \sqrt{4{,}56^2 + 7{,}40^2} = 8{,}59$
2.36		$U_M = 8{,}59 * 2 = 17{,}39$
	Promedio general en mg/L = 0,018 Concentración del estándar = 0,020 mg/L	$Correcciones\ no\ realizadas = \frac{0{,}02 - 0{,}0184}{0{,}02} * 100$ $= 7{,}39\%$
2.35		Para 0,020 mg/L $\%U_{USO} = \lvert 17{,}39 \rvert + \lvert 7{,}39 \rvert = 25{,}24\%$

Metales pesados: cadmio y plomo

Ecuac	Datos	Resultado (para Cd)
1.2	Los 15 datos correspondientes a las 3 medidas diarias, durante 5 días, para cada nivel de concentración	Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $\bar{x} = \frac{2{,}41 + 2{,}07 + \cdots + 2{,}62 + 2{,}89 + 2{,}71}{15}$ $L_g = 2{,}54$
1.3	Las 3 mediciones del día	Para el día 1: $\bar{x_i} = \frac{2{,}41 + 2{,}07 + 2{,}58}{3} = 2{,}353$
1.11	Desviaciones estándar de los grupos (días) $G_{crítico} = 0.6838$	Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $G_{max} = \frac{6{,}47E-2 + 8{,}03E-3 \\ 4{,}57E-2 + 1E-2 + 1{,}89E-2}{6{,}74E-2} = 0{,}449$

1.4	Medias grupales y media general	Para el día 1: $(\overline{x_i} - \bar{x})^2 = (2{,}41 - 2{,}353)^2 = 3{,}66E - 2$ $SDC_B = 3 * (3{,}66E - 2 + 2{,}64E - 3 + 5{,}18E - 3 + 6{,}08E - 4 + 3{,}82E - 2) = 0.25$
1.5	Los 15 datos para cada nivel de concentración y la media general	Para el primer dato, día 1: $(x_{11} - \overline{x_1})^2 = (2{,}41 - 2{,}353)^2 = 3{,}21E - 3$ $SDC_w = (3{,}21E - 3 + 8{,}03E - 2 + 5{,}14E - 2 + \cdots + 2{,}25E - 2 + 9E - 4) = 0.3$
1.7		$SDC_T = 0.25 + 0.3 = 0.55$
1.8	$q = 5$	$DCM_B = \frac{0.25}{5-1} = 6{,}24E - 2$
1.9	$n = 15$	$DCM_W = \frac{0.3}{15 - 5} = 0{,}03$
1.10	F crítico = 3,4780	$F = \frac{0{,}0624}{0{,}03} = 2{,}0784$
2.64	Volumen alícuota = 0.5ml Volumen aforo = 100ml	Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $A = \frac{0.5}{100} = 0{,}005$
2.65	Concentración estándar = 0.5 mg/L	Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $B = \frac{0.5}{100} = 0{,}005$
2.66		Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $C = -\frac{0.5 * 0.5}{100^2} = 5E - 5$
2.69		Para un volumen de 100 ml $uTemp = \frac{0{,}00021 * (18{,}3 - 20.5) * 100}{\sqrt{3}} = 0{,}027$

2.68	$error = 0{,}1$ $\mu = 0{,}001$	Para un volumen de 100 ml: $uV = \sqrt{0{,}001^2 + 0{,}1^2 + 0{,}027^2} = 0{,}104$
2.67	$u_{C1} = 2{,}93E - 3$ $u_{V1} = 0{,}002$ $u_{v2} = 0{,}027$	Para 0,0025 mg/L en el Rango bajo: $u_{MR}^2 = 0{,}005^2 * (2{,}93E - 3)^2 + 0{,}005^2 * 0{,}002^2 + (5E - 5)^2 * 0{,}027^2 = 1{,}73E - 5$
2.72	$u_{Vad} = 0{,}002$ $V_{adicion} = 0.5ml$ $u_{Vad} = 0{,}0021$ $V_{inicial} = 10ml$ $u_{buf} = 0{,}010$ $V_{buf} = 1ml$ $C_{est} = 0{,}1mg/L$ $u_{est} = 1{,}13E - 3$	Para 0,025 mg/L en el Rango bajo: $u_{analisis} = 0{,}0025\sqrt{2 * \left(\frac{0{,}002}{0.5}\right)^2 + \left(\frac{0{,}002}{10}\right)^2 + 2 * \left(\frac{0{,}002}{1}\right)^2 + 2 * \left(\frac{0{,}00113}{0{,}1}\right)^2}$ $= 4{,}71E - 5$
2.70	$s = 1{,}98E - 3$	$u_r = \frac{1{,}98E - 4}{\sqrt{15}} = 5{,}12E - 5$
2.71	Error máximo = 3,90E-4	$u_{deriva} = \frac{3{,}90E - 4}{\sqrt{3}} = 2{,}25E - 4$
2.62		$u_{calEq} = \sqrt{4{,}71E - 5^2 + 5{,}12E - 5^2 + 2{,}25E - 4^2}$ $= 2{,}36E - 4$ $\%u_{calEq} = \frac{2{,}36E - 4}{0{,}0025} * 100 = 9{,}45\%$
2.61		$\%u_R = 7{,}95$
2.60		$\%u_{método} = \sqrt{9{,}45^2 + 7{,}95^2} = 12{,}35$
2.59	K = 2	$U_M = 12{,}35 * 2 = 24{,}70$

ANEXO III

RECTAS DE CALIBRACIÓN Y LÍMITES DE CONFIANZA

Surfactantes aniónicos

Límites de confianza

Límites de confianza para surfactantes aniónicos:

- Rango bajo

$$Sy, x = 0{,}009$$

Tabla III.1. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango bajo

Límite	Ecuación
Límite Superior	$y = 3{,}703 + 0{,}039$
Límite inferior	$y = 3{,}703 + 0{,}002$

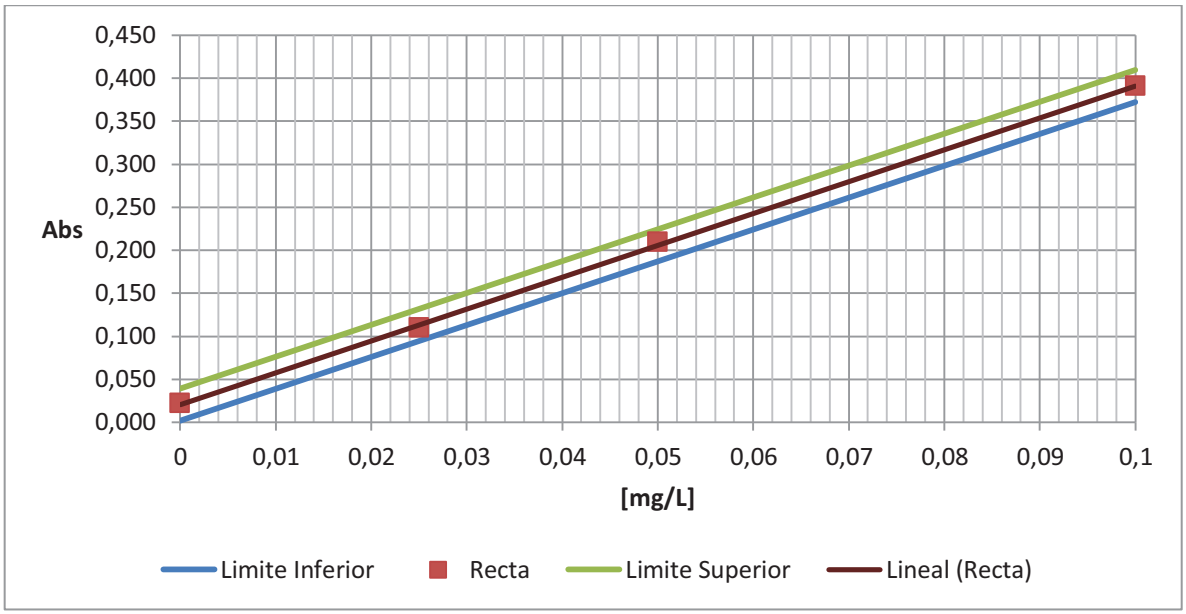


Figura III.1. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango bajo

- Rango medio

$$Sy,x = 0{,}022$$

Tabla III.2. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango medio

Límite	Ecuación
Límite Superior	$y = 1{,}951 + 0{,}078$
Límite inferior	$y = 1{,}951 - 0{,}010$

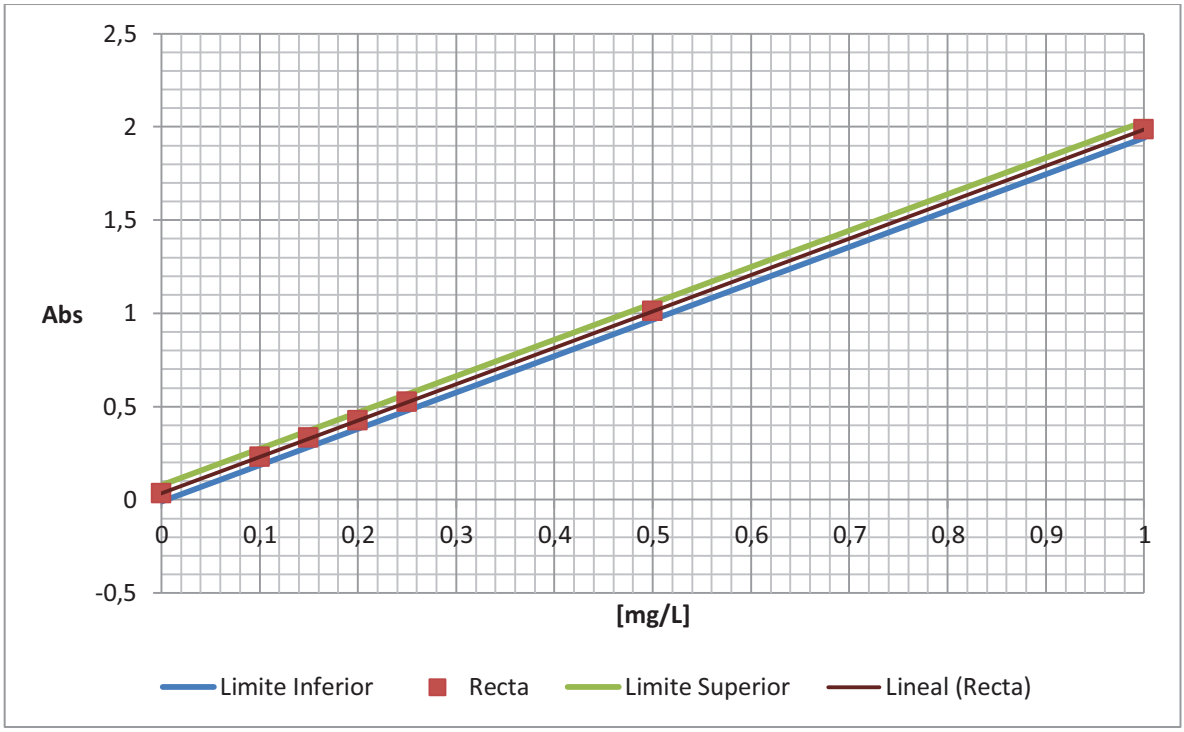


Figura III.2. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango medio

- Rango alto

$$Sy,x = 0{,}024$$

Tabla III.3. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: Rango alto

Límite	Ecuación
Límite Superior	$y = 0{,}159 + 0{,}087$
Límite inferior	$y = 0{,}159 - 0{,}007$

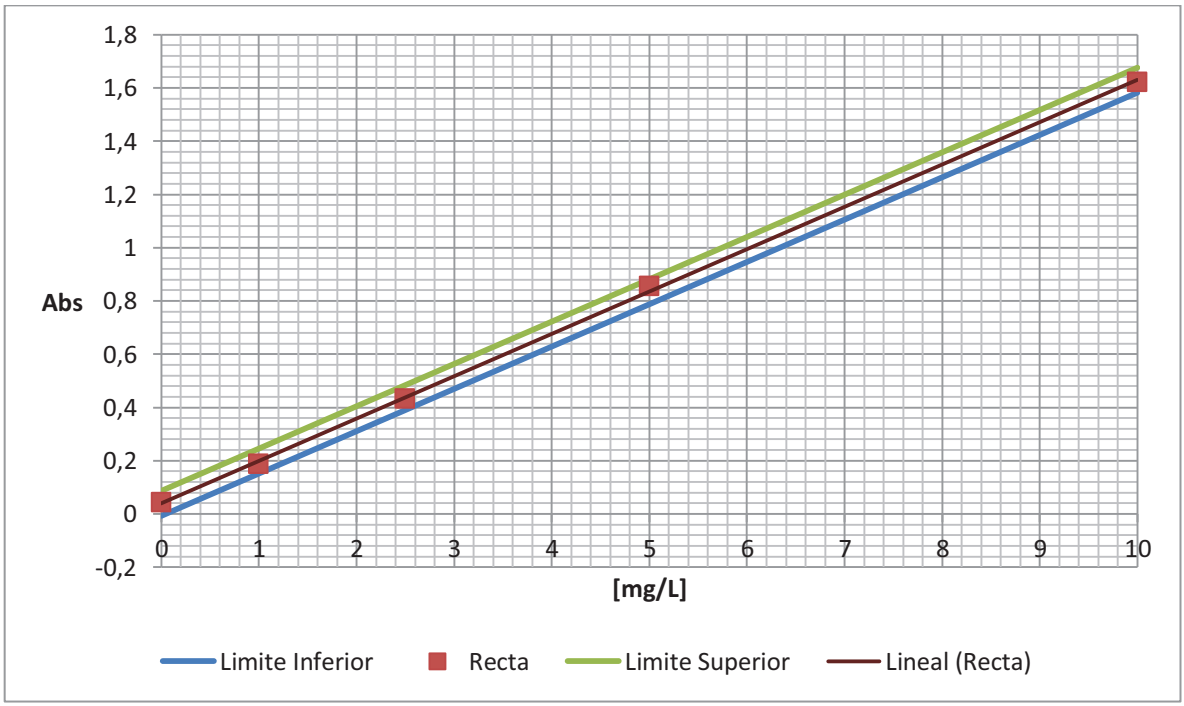


Figura III.3. Límites de confianza para el método de surfactantes aniónicos: rango alto

Fenoles

Límite de detección

Tabla III.4. Desviación estándar de los blancos y límites de detección

	mg/l
DesvStd del 0	0,0037
Límite de Detección (LD)	0,0110

Límites de confianza

Límites de Confianza para Fenoles:

$$Sy, x = 0{,}028$$

Tabla III.5. Límites de confianza para el método de fenoles

Límite	Ecuación
Límite Superior	$y = 4{,}704 + 0{,}090$
Límite inferior	$y = 4{,}704 - 0{,}023$

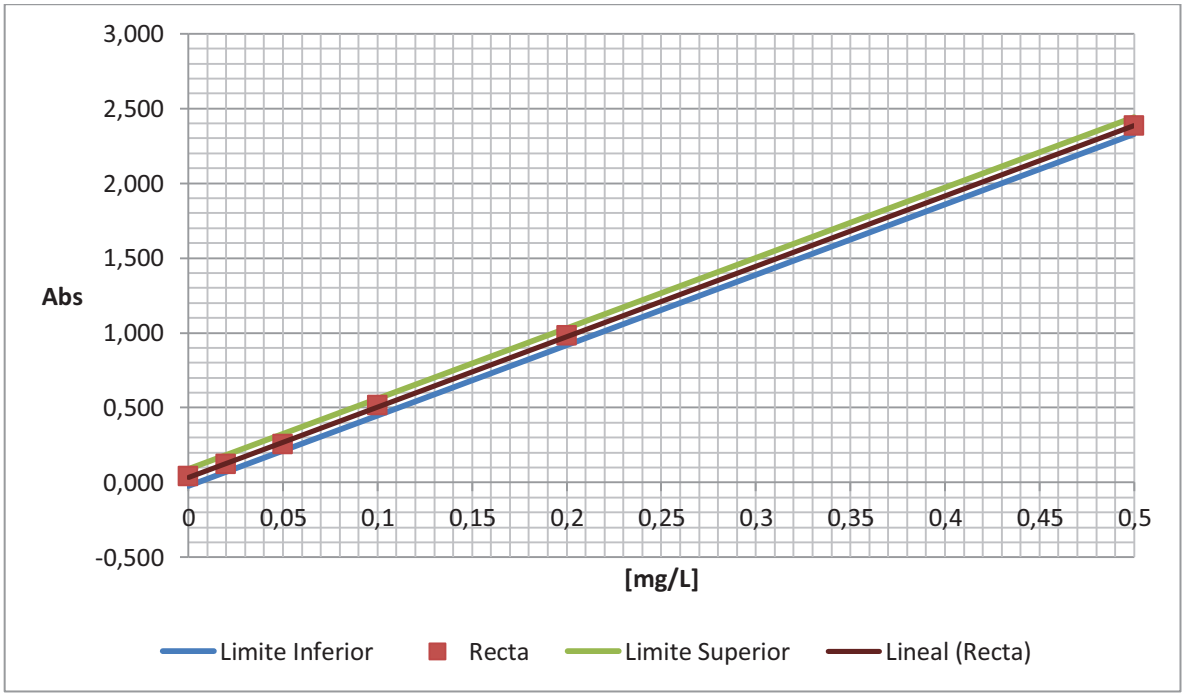


Figura III.4. Límites de confianza para el método de fenoles

ANEXO IV
CÁLCULOS DE ANOVA E INCERTIDUMBRES

Surfactantes aniónicos

Análisis ANOVA

- Rango bajo

Tabla IV.1. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo

.	0,000 mg/l	0,025 mg/l	0,050 mg/l	0,100 mg/l	Muestra Real
Lg	0,0217	0,1092	0,209	0,390	0,275
p	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5
$Smax^2$	3,90E-5	3,63E-5	1,62E-4	2,28E-4	3,25E-4
Gmax calculado	0,339	0,441	0,438	0,389	0,575
Gmax tabla	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831
SDCB	1,25E-4	1,44E-4	4,70E-4	1,54E-3	5,80E-4
DCMB	3,13E-5	3,59E-5	1,17E-4	3,85E-4	1,45E-4
SDCW	2,30E-4	1,65E-4	7,41E-4	1,17E-3	1,13E-3
DCMW	2,30E-5	1,65E-5	7,41E-5	1,17E-4	1,13E-4
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,3623	2,1822	1,5836	3,2850	1,2830
Sr	0,005	0,004	0,009	0,011	0,011
SL^2	2,78E-6	6,49E-6	1,44E-5	8,93E-5	1,07E-5
SDCT	3,55E-4	3,08E-4	1,21E-3	2,71E-3	1,71E-3
DCMT	2,96E-5	2,57E-5	1,01E-4	2,26E-4	1,43E-4
SR	5,08E-3	4,79E-3	9,41E-3	1,44E-2	1,11E-2
CVR	23,43	4,39	4,50	3,68	4,05

- Rango medio

Tabla IV.2. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio

No.	0,00 mg/l	0,10 mg/l	0,15 mg/l	0,20 mg/l	0,25 mg/l	0,50 mg/l	1,00 mg/l	Muestra Real
Lg	0,0335	0,2295	0,3303	0,4227	0,5216	1,0095	1,9853	1,2586
p	3	3	3	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5	5	5	5
$Smax^2$	6,43E-5	1,00E-4	9,70E-5	4,26E-4	9,43E-5	1,97E-3	4,99E-3	1,46E-3
Gmax calculado	0,637	0,486	0,444	0,556	0,399	0,556	0,663	0,520
Gmax tabla	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831	0,6831
SDCB	8,97E-5	4,97E-4	3,46E-4	6,87E-4	5,88E-4	4,68E-3	1,84E-2	3,18E-3
DCMB	2,24E-5	1,24E-4	8,65E-5	1,72E-4	1,47E-4	1,17E-3	4,61E-3	7,96E-4
SDCW	2,02E-4	4,13E-4	4,37E-4	1,53E-3	4,73E-4	7,08E-3	1,51E-2	5,62E-3
DCMW	2,02E-5	4,13E-5	4,37E-5	1,53E-4	4,73E-5	7,08E-4	1,51E-3	5,62E-4
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,1106	3,0113	1,9779	1,1202	3,1070	1,6532	3,0637	1,4172
Sr	0,004	0,006	0,007	0,012	0,007	0,027	0,039	0,024
SL2	7,44E-7	2,77E-5	1,43E-5	6,14E-6	3,32E-5	1,54E-4	1,04E-3	7,81E-5
SDCT	2,92E-4	9,10E-4	7,83E-4	2,22E-3	1,06E-3	1,18E-2	3,35E-2	8,80E-3
DCMT	2,43E-5	7,58E-5	6,53E-5	1,85E-4	8,85E-5	9,80E-4	2,79E-3	7,33E-4
SR	4,58E-3	8,30E-3	7,62E-3	1,26E-2	8,98E-3	2,94E-2	5,04E-2	2,53E-2
CVR	13,67	3,62	2,31	2,99	1,72	2,91	2,54	2,01

- Rango alto

Tabla IV.3. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto

	0,0 mg/l	1,0 mg/l	2,5 mg/l	5,0 mg/l	10,0 mg/l	Muestra Real
Lg	0,0439	0,1874	0,4314	0,8551	1,6213	1,1481
p	3	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5	5
$Smax^2$	1,34E-4	6,53E-5	2,34E-4	4,32E-4	1,68E-3	2,99E-3
Gmax calculado	0,306	0,415	0,386	0,395	0,346	0,669
Gmax tabla	0,6831	0,6831	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	3,54E-4	3,85E-4	1,40E-3	2,51E-3	1,02E-2	6,97E-3
DCMB	8,86E-5	9,62E-5	3,50E-4	6,27E-4	2,55E-3	1,74E-3
SDCW	8,77E-4	3,15E-4	1,21E-3	2,19E-3	9,71E-3	8,94E-3
DCMW	8,77E-5	3,15E-5	1,21E-4	2,19E-4	9,71E-4	8,94E-4
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,0103	3,0583	2,8881	2,8663	2,6308	1,9501
Sr	0,009	0,006	0,011	0,015	0,031	0,030
SL2	3,00E-7	2,16E-5	7,63E-5	1,36E-4	5,28E-4	2,83E-4
SDCT	1,23E-3	7,00E-4	2,61E-3	4,69E-3	1,99E-2	1,59E-2
DCMT	1,03E-4	5,83E-5	2,18E-4	3,91E-4	1,66E-3	1,33E-3
SR	9,38E-3	7,28E-3	1,41E-2	1,88E-2	3,87E-2	3,43E-2
CVR	21,35	3,89	3,26	2,20	2,39	2,99

- Diluciones

Tabla IV.4. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración de diluciones

	50 mg/L	100 mg/L	Muestra real
Lg	0,8053	1,531	0,784
p	3	3	3
q	5	5	5
$Smax^2$	2,91E-3	2,80E-3	1,14E-3
Gmax calculado	0,507	0,534	0,548
Gmax tabla	0,6831	0,6831	0,6831
SDCB	1,07E-2	5,03E-3	3,55E-3
DCMB	2,67E-3	1,26E-3	8,86E-4
SDCW	1,15E-2	1,05E-2	4,18E-3
DCMW	1,15E-3	1,05E-3	4,18E-4
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780
F	2,3205	1,1999	2,1204
Sr	0,034	0,032	0,020
SL2	5,06E-4	6,99E-5	1,56E-4
SDCT	2,22E-2	1,55E-2	7,73E-3
DCMT	1,85E-3	1,29E-3	6,44E-4
SR	4,07E-2	3,35E-2	2,40E-2
%CVR	5,05	2,18	3,06

Incertidumbre de calibración

Incertidumbre para el material de referencia

- Rango bajo

Incertidumbre para el material de referencia

Tabla IV.5. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo

Concentración	0,025	0,050	0,100
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,025	0,05	0,1
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,001	0,001	0,001
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	0,000025	0,00005	0,0001
µCsolMR (mg/l)	3,83E-5	7,65E-5	1,53E-4

Incertidumbre por linealidad

Tabla IV.6. Cálculo de la incertidumbre por linealidad para el rango bajo

Concentración	0,025	0,050	0,100
Exactitud [mg/L]	1,35E-3	1,35E-3	1,35E-3
µDeriva	7,80E-4	7,80E-4	7,80E-4
µResolución	5,77E-4		
µL	9,70E-4	9,70E-4	9,70E-4
µLo	2,68E-18		
µm	4,69E-17		
µFR	9,70E-4	9,70E-4	9,70E-4

Incertidumbre del análisis

Tabla IV.7. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo

Concentración	0,025	0,050	0,100
Volumen de muestra [ml]	400		
µVmuestra	0,030		
µVaforo	0,001		
µAnalisis [mg/L]	1,94E-6	3,88E-6	7,76E-6

Incertidumbre de repetibilidad

Tabla IV.8. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango bajo

Concentración	**0,025**	**0,050**	**0,100**
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	3,27E-4	6,49E-4	9,71E-4

Incertidumbre de calibración

Tabla IV.9. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo

Medida\Concentración	**0,025**	**0,050**	**0,100**
µCalEq [mg/L]	1,02E-3	1,17E-3	1,38E-3
% µCalEq	4,10	2,34	1,38

- Rango medio

Tabla IV.10. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango medio

Concentración	**0,10**	**0,15**	**0,20**	**0,25**	**0,50**	**1,00**
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,1	0,15	0,2	0,25	0,5	0,001
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	1
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	1,00E-4	1,50E-4	4,00E-4	2,50E-4	5,00E-4	-1,00E-3
µCsolMR (mg/l)	1,53E-4	2,31E-4	3,06E-4	3,83E-4	7,65E-4	1,53E-3

Incertidumbre por linealidad

Tabla IV.11. Cálculo de la incertidumbre de linealidad

Concentración	**0,10**	**0,15**	**0,20**	**0,25**	**0,50**	**1,00**
Exactitud [mg/L]	2,56E-3	2,56E-3	2,56E-3	2,67E-3	5,17E-3	1,02E-2
µDeriva	1,48E-3	1,48E-3	1,48E-3	1,54E-3	2,99E-3	5,88E-3
µResolución	5,77E-4					
µL	1,59E-3	1,59E-3	1,59E-3	1,65E-3	3,04E-3	5,90E-3
µLo	8,36E-18					
µm	1,88E-17					
µFR	1,59E-3	1,59E-3	1,59E-3	1,65E-3	3,04E-3	5,90E-3

Incertidumbre de análisis

Tabla IV.12. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio

Concentración	**0,10**	**0,15**	**0,20**	**0,25**	**0,50**	**1,00**
Volumen de muestra [ml]	250					
µVmuestra	0,010					
µVaforo	0,001					
µAnalisis [mg/L]	4,47E-6	6,71E-6	8,94E-6	1,12E-5	2,24E-5	4,47E-5

Incertidumbre de repetibilidad

Tabla IV.13. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango medio

Concentración	**0,10**	**0,15**	**0,20**	**0,25**	**0,50**	**1,00**
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	1,07E-3	9,90E-4	1,67E-3	1,15E-3	3,84E-3	6,47E-3

Incertidumbre de calibración

Tabla IV.14. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango medio

Concentración	**0,10**	**0,15**	**0,20**	**0,25**	**0,50**	**1,00**
µCalEq [mg/L]	1,92E-3	1,89E-3	2,32E-3	2,05E-3	4,96E-3	8,89E-3
% µCalEq	1,92	1,26	1,16	0,82	0,99	0,89

- Rango alto

Incertidumbre para el material de referencia

Tabla IV.15. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango alto

Concentración	1,0	2,5	5,0	10,0	50,0	100,0
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,001	0,25	0,5	0,01	0,1	0,1
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	1	0,1	0,1	10	0,5	1
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	-0,001	0,025	0,05	-0,1	0,01	0,01
µCsolMR (mg/l)	1,53E-3	3,83E-3	7,65E-3	1,53E-2	2,25E-3	1,54E-2

Incertidumbre por linealidad

Tabla IV.16. Cálculo de la incertidumbre por linealidad para el rango alto

Concentración	1,0	2,5	5,0	10,0
Exactitud [mg/L]	3,15E-2	3,15E-2	5,38E-2	1,02E-1
µDeriva	1,82E-2	1,82E-2	3,11E-2	5,89E-2
µResolución	5,77E-4			
µL	1,82E-2	1,82E-2	3,11E-2	5,89E-2
µLo	1,07E-16			
µm	2,09E-17			
µFR	1,82E-2	1,82E-2	3,11E-2	5,89E-2

Incertidumbre de análisis

Tabla IV.17. Cálculo de la incertidumbre de análi**sis** para el rango alto

Concentración	1,0	2,5	5,0	10,0
Volumen de muestra [ml]	100			
µVmuestra	0,001			
µVaforo	0,001			
µAnalisis [mg/L]	2,24E-5	5,59E-5	1,12E-4	2,24E-4

Incertidumbre de repetibilidad

Tabla IV.18. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad para el rango alto

Concentración	**1,0**	**2,5**	**5,0**	**10,0**
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	1,15E-2	2,22E-2	2,97E-2	6,13E-2

Incertidumbre de calibración

Tabla IV.19. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango alto

Concentración	**1,0**	**2,5**	**5,0**	**10,0**	**50,0**	**100,0**
µCalEq [mg/L]	2,16E-2	2,89E-2	4,37E-2	8,64E-2	8,64E-2	8,64E-2
% µCalEq	2,16	1,16	0,87	0,86	2,16	2,16

Incertidumbre del método

Tabla IV.20. Cálculo de la incertidumbre del método

	Rango bajo			**Rango medio**					
Concentración	0,025	0,050	0,100	0,100	0,150	0,200	0,250	0,500	1,000
% µCalEq	4,10	2,34	1,38	1,92	1,26	1,16	0,82	0,99	0,89
% µR [mg/l]	4,99	4,99	4,99	4,25	4,25	4,25	4,25	4,25	4,25
% µm	6,45	5,51	5,17	4,67	4,44	4,41	4,33	4,37	4,35
%U expandida	12,91	11,01	10,35	9,33	8,87	8,82	8,66	8,74	8,69
%Correcciones no realizadas	4,32	1,94	0,22	0,04	1,14	0,48	0,10	0,03	0,01
%Uuso	17,23	12,95	10,57	9,38	10,01	9,30	8,76	8,77	8,70

	Rango alto				Dilución	
Concentración	1,0	2,5	5,0	10,0	50,0	100,0
% µCalEq	2,16	1,16	0,87	0,86	2,16	2,16
% µR [mg/l]	4,93	4,93	4,93	4,93	5,32	5,32
% µm	5,38	5,07	5,01	5,01	5,74	5,74
%U expandida	10,77	10,14	10,02	10,02	11,47	11,47
%Correcciones no realizadas	7,12	1,44	2,60	0,49	3,67	6,17
%Uuso	17,89	11,58	12,63	10,51	15,15	17,64

Fenoles

Análisis ANOVA

Tabla IV.21. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración

	0,000 mg/L	**0,020 mg/L**	**0,050 mg/L**	**0,100 mg/L**	**0,200 mg/L**	**0,500 mg/L**	**Muestra real**
Lg	0,0406	0,1201	0,2531	0,5163	0,981	2,382	0,922
$Smax^2$	5,34E-4	7,23E-5	4,89E-4	6,92E-4	8,68E-4	7,42E-3	2,93E-3
Gmax calculado	0,364	0,439	0,674	0,465	0,494	0,549	0,456
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	1,19E-3	2,30E-4	8,69E-4	3,19E-3	1,70E-3	1,74E-2	6,76E-3
DCMB	2,98E-4	5,76E-5	2,17E-4	7,98E-4	4,26E-4	4,34E-3	1,69E-3
SDCW	2,94E-3	3,29E-4	1,45E-3	2,98E-3	3,51E-3	2,70E-2	1,29E-2
DCMW	2,94E-4	3,29E-5	1,45E-4	2,98E-4	3,51E-4	2,70E-3	1,29E-3
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,0154	1,7490	1,4961	2,6786	1,2141	1,6069	1,3137
Sr	0,017	0,006	0,012	0,017	0,019	0,052	0,036
SL2	1,51E-6	8,22E-6	2,40E-5	1,67E-4	2,51E-5	5,47E-4	1,35E-4
SDCT	4,13E-3	5,60E-4	2,32E-3	6,17E-3	5,22E-3	4,44E-2	1,96E-2
DCMT	3,44E-4	4,66E-5	1,93E-4	5,14E-4	4,35E-4	3,70E-3	1,64E-3
SR	1,72E-2	6,42E-3	1,30E-2	2,16E-2	1,94E-2	5,70E-2	3,77E-2
CVR	42,31	5,34	5,14	4,18	1,98	2,39	4,09

Diluciones

Tabla IV.22. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración de las diluciones

	1 mg/L	2 mg/L	Muestra Real
Lg	0,9645	1,917	0,831
Smax^2	3,95E-3	2,02E-3	6,74E-4
Gmax calculado	0,517	0,624	0,443
Gmax tabla	0,6838	0,684	0,684
SDCB	1,23E-2	7,91E-3	1,73E-3
DCMB	3,08E-3	1,98E-3	4,34E-4
SDCW	1,53E-2	6,49E-3	3,04E-3
DCMW	1,53E-3	6,49E-4	3,04E-4
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780
F	2,0134	3,0470	1,4248
Sr	0,039	0,025	0,017
SL2	5,16E-4	4,43E-4	4,31E-5
SDCT	2,76E-2	1,44E-2	4,78E-3
DCMT	2,30E-3	1,20E-3	3,98E-4
SR	4,52E-2	3,30E-2	1,86E-2
%CVR	4,69	1,72	2,24

Incertidumbre de calibración.

Incertidumbre del material de referencia

Tabla IV.23. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia

Concentración [mg/L]	A (Volalicuota/Vol Aforo)	B [Conc MR/Vol Aforo (mg/l*ml)]	C [Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml)]	µCsolMR (mg/l)
1	0,2	0,01	-0,002	2,70E-3
2	0,2	0,01	-0,002	5,40E-3

Tabla IV.24. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia

	Rango Normal					Dilución	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
Conc Solución de Referencia Usada [ppm]	1	1	1	1	1	5	10
Vol Alícuota Sol ref. [ml]	10	50	100	100	500	100	100
Vol. Aforo [ml]	500	1000	1000	500	1000	500	500
Conc. Sol Preparada [mg/L]	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	1	2
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5	0,2	0,2
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,002	0,001	0,001	0,002	0,001	0,01	0,01
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	4E-5	5r-5	1E-4	4E-4	5E-4	-2E-3	-2E-3
µCsolMR (mg/l)	5,4E-5	1,4E-4	2,7E-4	5,4E-4	1,4E-3	2,7E-3	5,4E-3

Incertidumbre por linealidad

Tabla IV.25. Cálculo de la incertidumbre por linealidad

	Rango normal					**Dilución**	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
Exactitud [mg/L]	1,06E-3	1,06E-3	1,06E-3	1,06E-3	1,06E-3	1,06E-3	1,06E-3
µDeriva	6,14E-4	6,14E-4	6,14E-4	6,14E-4	6,14E-4	6,14E-4	6,14E-4
µResolución	5,77E-4						
µL	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4
µLo	7,28E-18						
µm	3,24E-17						
µFR	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4	8,43E-4

Incertidumbre de análisis

Tabla IV.26. Cálculo de la incertidumbre de análisis

	Rango normal					Dilución	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
V muestra [ml]	300						
µVmuestra	0,030						
µAnalisis [mg/L]	2,00E-6	5,00E-6	1,00E-5	2,00E-5	5,00E-5	1,00E-4	2,00E-4

Incertidumbre de repetibilidad

Tabla IV.27. Cálculo de la incertidumbre de repetibilidad

	Rango normal					Dilución	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
µRepetibilidad [mg/L]	3,47E-4	7,07E-4	1,15E-3	1,06E-3	3,09E-3	2,44E-3	1,76E-3

Incertidumbre de calibración

Tabla IV.28. Cálculo de la incertidumbre de calibración

	Rango normal					Dilución	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
µCalEq [mg/L]	9,13E-4	1,11E-3	1,45E-3	1,46E-3	3,48E-3	3,73E-3	5,75E-3
% µCalEq	4,56	2,22	1,45	0,73	0,70	0,37	0,29

Incertidumbre del método

Tabla IV.29. Cálculo de la incertidumbre del método de análisis de fenoles

	Rango Normal					Dilución	
Concentración	0,02	0,05	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00
% µCalEq	4,56	2,22	1,45	0,73	0,70	0,37	0,29
% µR [mg/l]	7,40	7,40	7,40	7,40	7,40	4,86	4,81
% µm	8,69	7,72	7,54	7,44	7,43	4,87	4,82
%U expandida	17,39	15,45	15,08	14,87	14,86	9,74	9,63
%Correcciones no realizadas	7,85	6,60	2,65	0,68	0,14	1,03	0,09
%Uuso	25,24	22,05	17,73	15,55	15,00	10,77	9,72

Cadmio y plomo

Cadmio

Análisis ANOVA

- Rango bajo

Tabla IV.30. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo

	2,5 ppb	**5,0 ppb**	**10,0 ppb**	**20,0 ppb**	**Muestra real**
Lg	2,54	4,97	9,53	19,04	4,84
p	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5
$Smax^2$	6,74E-2	1,24E-1	7,01E-1	3,20E+00	1,66E-1
Gmax calculado	0,449	0,353	0,442	0,405	0,461
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	2,50E-1	4,15E-1	3,85E+00	1,48E+01	4,40E-1
DCMB	6,24E-2	1,04E-1	9,63E-1	3,71E+00	1,10E-1
SDCW	3,00E-1	7,04E-1	3,17E+00	1,58E+01	7,19E-1
DCMW	3,00E-2	7,04E-2	3,17E-1	1,58E+00	7,19E-2
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	2,0784	1,4749	3,0360	2,3467	1,5313
Sr	0,173	0,265	0,563	1,257	0,268
SL2	1,08E-2	1,11E-2	2,15E-1	7,09E-1	1,27E-2
SDCT	5,50E-1	1,12E+00	7,02E+00	3,06E+01	1,16E+00
DCMT	4,58E-2	9,33E-2	5,85E-1	2,55E+00	9,66E-2
SR	2,02E-1	2,86E-1	7,30E-1	1,51E+00	2,91E-1
CVR	7,94	5,74	7,66	7,95	6,01

- Rango medio

Tabla IV.31. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio

	20 ppb	50 ppb	100 ppb	250 ppb	Muestra real
Lg	18,81	47,86	96,45	243,63	20,117
p	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5
$Smax^2$	3,48E+00	1,01E+01	1,04E+02	6,45E+02	1,80E+00
Gmax calculado	0,455	0,305	0,624	0,678	0,276
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	6,20E+00	4,27E+01	1,96E+02	9,04E+02	1,02E+01
DCMB	1,55E+00	1,07E+01	4,90E+01	2,26E+02	2,55E+00
SDCW	1,53E+01	6,62E+01	3,33E+02	1,90E+03	1,30E+01
DCMW	1,53E+00	6,62E+00	3,33E+01	1,90E+02	1,30E+00
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,0135	1,6123	1,4725	1,1875	1,9516
Sr	1,237	2,573	5,768	13,796	1,142
SL2	6,88E-3	1,35E+00	5,24E+00	1,19E+01	4,14E-1
SDCT	2,15E+01	1,09E+02	5,29E+02	2,81E+03	2,32E+01
DCMT	1,79E+00	9,07E+00	4,41E+01	2,34E+02	1,94E+00
SR	1,24E+00	2,82E+00	6,21E+00	1,42E+01	1,31E+00
CVR	6,59	5,90	6,43	5,84	6,52

- Rango alto

Tabla IV.32. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto

No.	250 ppb	500 ppb	1000 ppb
Lg	242,68	527,94	1054,51
Gmax calculado	0,517	0,450	0,565
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	1,24E+03	6,49E+03	2,19E+04
DCMB	3,09E+02	1,62E+03	5,49E+03
SDCW	1,86E+03	8,87E+03	4,14E+04
DCMW	1,86E+02	8,87E+02	4,14E+03
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,6571	1,8294	1,3236
Sr	13,656	29,785	64,379
SL2	4,08E+01	2,45E+02	4,47E+02
SDCT	3,10E+03	1,54E+04	6,34E+04
DCMT	2,58E+02	1,28E+03	5,28E+03
SR	1,51E+01	3,37E+01	6,78E+01
CVR	6,21	6,37	6,43

Incertidumbre de calibración

Incertidumbre del material de referencia

Tabla IV.33. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia

Concentración [mg/L]	A (Volalicuota/Vol Aforo)	B [Conc MR/Vol Aforo (mg/l*ml)]	C [Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml)]	µCsolMR (mg/l)
1,0	0,001	1	-0,001	1,13E-2
0,5	0,0005	1	-0,0005	2,93E-3

Tabla IV.34. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,005	0,005	0,01	0,02
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,005	0,01	0,01	0,01
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	5,00E-5	5,00E-5	1,00E-4	2,00E-4
µCsolMM (mg/l)	1,73E-5	5,87E-5	1,52E-4	2,49E-4

Tabla IV.35. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para los rangos medio y alto

	Rango medio				Rango alto		
Concentración [mg/L]	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,50	1,00
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,02	0,05	0,1	0,25	0,25	0,5	0,001
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	1
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	2,00E-4	5,00E-4	1,00E-3	2,50E-3	2,50E-3	5,00E-3	-1,00E-3
µCsolMM (mg/l)	2,49E-4	6,02E-4	1,15E-3	2,87E-3	2,87E-3	5,75E-3	1,13E-2

Incertidumbre del estándar de adición

Tabla IV.36. Cálculo de la incertidumbre del estándar de adición

Concentración [mg/L]	**0,1**	**1,0**	**10,0**
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,100	0,001	0,010
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,002	1,000	0,010
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	2,00E-4	-1,00E-3	1,00E-4
µCsolEA (mg/l)	1,13E-3	1,13E-2	5,01E-2

Incertidumbre de análisis

Tabla IV.37. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
u (V ad) [ml]	0,002	0,002	0,002	0,002
V adicion [ml]	0,500	0,500	0,500	0,500
u (V inicial) [ml]	0,021	0,021	0,021	0,021
V inicial [ml]	10	10	10	10
u (V buff/Hg) [ml]	0,010	0,010	0,010	0,010
V buff/Hg [ml]	1,000	1,000	1,000	1,000
u (C stdAdd) [mg/L]	1,13E-3	1,13E-3	1,13E-3	1,13E-3
C (Std Add) [mg/L]	0,100	0,100	0,100	0,100
u (AddStd) [mg/L]	4,71E-5	9,42E-5	1,88E-4	3,77E-4

Tabla IV.38. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio y alto

	Rango medio				Rango alto		
Concentración [mg/L]	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,50	10
u (V ad) [ml]	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
V adicion [ml]	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
u (V inicial) [ml]	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
V inicial [ml]	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000
u (V buff/Hg) [ml]	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
V buff/Hg [ml]	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
u (C stdAdd) [mg/L]	1,13E-2	1,13E-2	1,13E-2	1,13E-2	5,01E-2	5,01E-2	5,01E-2
C (Std Add) [mg/L]	1,000	1,000	1,000	1,000	10	10	10
u (AddStd) [mg/L]	3,77E-4	9,42E-4	1,88E-3	4,71E-3	3,97E-3	7,94E-3	1,59E-2

Incertidumbre de repetibilidad, deriva, e incertidumbre de calibración.

Tabla IV.39. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	5,12E-5	7,30E-5	1,83E-4	3,82E-4
Error maximo	3,90E-4	5,20E-4	6,00E-4	1,66E-3
Incertidumbre por deriva [mg/L]	2,25E-4	3,00E-4	3,46E-4	9,58E-4
µCalEq [mg/L]	2,36E-4	3,28E-4	4,61E-4	1,13E-3
% µCalEq	9,45	6,57	4,61	5,63

Tabla IV.40. Cálculo de la incertidumbre de calibración para los rangos medio y alto

	Rango medio				Rango alto		
Concentración [mg/L]	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,50	1,00
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	3,20E-4	7,20E-4	1,59E-3	3,66E-3	3,84E-3	8,55E-3	1,74E-2
Error maximo	7,10E-4	4,43E-3	1,04E-2	2,25E-2	2,43E-2	6,71E-2	1,16E-1
Incertidumbre por deriva [mg/L]	4,10E-4	2,56E-3	6,01E-3	1,30E-2	1,40E-2	3,87E-2	6,73E-2
µCalEq [mg/L]	6,89E-4	2,88E-3	6,60E-3	1,46E-2	1,53E-2	4,09E-2	7,21E-2
% µCalEq	3,44	5,77	6,60	5,83	6,13	8,17	7,21

Incertidumbre del método

Tabla IV.41. Cálculo de la incertidumbre del método de análisis de cadmio

	Rango bajo				Rango medio				Rango alto		
Concentración	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,5	1,0
% µCalEq	9,45	6,57	4,61	5,63	3,44	5,77	6,60	5,83	6,13	8,17	7,21
% µR [mg/l]	7,95	7,95	7,95	7,95	6,59	6,59	6,59	6,59	6,43	6,43	6,43
% µm	12,35	10,31	9,19	9,74	7,43	8,76	9,32	8,80	8,88	10,40	9,66
%Uexpandida	24,70	20,62	18,37	19,48	14,87	17,51	18,65	17,60	17,76	20,79	19,32

Plomo

Análisis ANOVA

- Rango bajo

Tabla IV.42. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango bajo

	2,5 ppb	**5,0 ppb**	**10,0 ppb**	**20,0 ppb**	**Muestra real**
Lg	2,55	5,06	10,36	19,93	4,56
p	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5
$Smax^2$	5,54E-2	2,35E-1	9,22E-1	2,24E+00	1,46E-1
Gmax calculado	0,267	0,395	0,412	0,372	0,337
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	1,91E-1	8,49E-1	3,41E+00	1,26E+01	6,01E-1
DCMB	4,77E-2	2,12E-1	8,53E-1	3,16E+00	1,50E-1
SDCW	4,16E-1	1,19E+00	4,47E+00	1,21E+01	8,66E-1
DCMW	4,16E-2	1,19E-1	4,47E-1	1,21E+00	8,66E-2
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,1476	1,7822	1,9060	2,6183	1,7336
Sr	0,204	0,345	0,669	1,098	0,294
SL2	2,05E-3	3,11E-2	1,35E-1	6,50E-1	2,12E-2
SDCT	6,07E-1	2,04E+00	7,88E+00	2,47E+01	1,47E+00
DCMT	5,06E-2	1,70E-1	6,57E-1	2,06E+00	1,22E-1
SR	2,09E-1	3,88E-1	7,63E-1	1,36E+00	3,28E-1
CVR	8,18	7,66	7,37	6,83	7,20

- Rango medio

Tabla IV.43. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango medio

	20 ppb	50 ppb	100 ppb	250 ppb	Muestra Real
Lg	20,73	49,27	94,95	239,84	29,542
p	3	3	3	3	3
q	5	5	5	5	5
$Smax^2$	5,31E+00	2,37E+01	6,52E+01	5,35E+02	6,96E+00
Gmax calculado	0,489	0,647	0,625	0,425	0,410
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	1,31E+01	1,01E+02	3,54E+01	1,05E+03	3,18E+01
DCMB	3,27E+00	2,52E+01	8,85E+00	2,61E+02	7,96E+00
SDCW	2,17E+01	7,32E+01	2,09E+02	2,52E+03	3,40E+01
DCMW	2,17E+00	7,32E+00	2,09E+01	2,52E+02	3,40E+00
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,5036	3,4382	0,4238	1,0383	2,3448
Sr	1,474	2,706	4,571	15,869	1,843
SL2	3,65E-1	5,95E+00	4,01E+00	3,21E+00	1,52E+00
SDCT	3,48E+01	1,74E+02	2,44E+02	3,56E+03	6,58E+01
DCMT	2,90E+00	1,45E+01	2,04E+01	2,97E+02	5,48E+00
SR	1,59E+00	3,64E+00	4,99E+00	1,60E+01	2,22E+00
CVR	7,68	7,40	5,26	6,66	7,51

- Rango alto

Tabla IV.44. Análisis de varianza simple para los diferentes niveles de concentración en el rango alto

	250 ppb	500 ppb	1000 ppb
Lg	239,35	474,16	1002,06
Gmax calculado	0,346	0,680	0,285
Gmax tabla	0,6838	0,6838	0,6838
SDCB	9,02E+02	4,16E+03	1,52E+04
DCMB	2,25E+02	1,04E+03	3,79E+03
SDCW	1,58E+03	3,87E+03	3,79E+04
DCMW	1,58E+02	3,87E+02	3,79E+03
F Crítico	3,4780	3,4780	3,4780
F	1,4232	2,6830	1,0010
Sr	12,584	19,683	61,571
SL2	2,23E+01	2,17E+02	1,26E+00
SDCT	2,49E+03	8,03E+03	5,31E+04
DCMT	2,07E+02	6,69E+02	4,42E+03
SR	1,34E+01	2,46E+01	6,16E+01
CVR	5,62	5,19	6,15

Incertidumbre de calibración

Incertidumbre del material de referencia

Tabla IV.45. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia

Concentración [mg/L]	A (Volalicuota/Vol Aforo)	B [Conc MR/Vol Aforo (mg/l*ml)]	C [Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml)]	µCsolMR (mg/l)
1,0	0,001	1	-0,001	1,13E-2
0,5	0,0005	1	-0,0005	2,93E-3

Tabla IV.46. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,005	0,005	0,01	0,02
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,01	0,01	0,01	0,01
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	5,00E-5	5,00E-5	1,00E-4	2,00E-4
µCsolMM (mg/l)	2,16E-5	5,87E-5	1,52E-4	2,49E-4

Tabla IV.47. Cálculo de la incertidumbre del material de referencia para los rangos medio y alto

	Rango medio				Rango alto		
Concentración [mg/L]	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,50	1,00
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,020	0,050	0,100	0,250	0,250	0,500	0,001
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	1,00
C (Conc MR*Valicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	2,00E-4	5,00E-4	1,00E-3	2,50E-3	2,50E-3	5,00E-3	-1,00E-3
µCsolMM (mg/l)	2,49E-4	6,02E-4	1,15E-3	2,87E-3	2,87E-3	5,75E-3	1,13E-2

Incertidumbre del estándar de adición

Tabla IV.48. Cálculo de la incertidumbre del estándar de adición

Concentración [mg/L]	**0,1**	**1,0**	**10,0**
A (VolAlicuota/Vol Aforo)	0,100	0,001	0,010
B (Conc.MR/Vol Aforo (mg/l*ml))	0,002	1,000	0,010
C (Conc MR*Volalicuota/Vol Aforo^2 (mg/l*ml))	2,00E-4	-1,00E-3	1,00E-4
µCsolEA (mg/l)	1,14E-3	1,13E-2	5,01E-2

Incertidumbre de análisis

Tabla IV.49. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
u (V ad) [ml]	0,002	0,002	0,002	0,002
V adicion [ml]	0,500	0,500	0,500	0,500
u (V inicial) [ml]	0,021	0,021	0,021	0,021
V inicial [ml]	10,000	10,000	10,000	10,000
U (V buff/Hg) [ml]	0,010	0,010	0,010	0,010
V buff/Hg [ml]	1,000	1,000	1,000	1,000
U (C stdAdd) [mg/L]	1,14E-3	1,14E-3	1,14E-3	1,14E-3
C (Std Add) [mg/L]	0,100	0,100	0,100	0,100
u (AddStd) [mg/L]	4,72E-5	9,45E-5	1,89E-4	3,78E-4

Tabla IV.50. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango medio

Concentración [mg/L]	**0,02**	**0,05**	**0,10**	**0,25**
u (V ad) [ml]	0,002	0,002	0,002	0,002
V adicion [ml]	0,500	0,500	0,500	0,500
u (V inicial) [ml]	0,021	0,021	0,021	0,021
V inicial [ml]	10,000	10,000	10,000	10,000
U (V buff/Hg) [ml]	0,010	0,010	0,010	0,010
V buff/Hg [ml]	1,000	1,000	1,000	1,000
U (C stdAdd) [mg/L]	1,13E-2	1,13E-2	1,13E-2	1,13E-2
C (Std Add) [mg/L]	1,000	1,000	1,000	1,000
u (AddStd) [mg/L]	3,77E-4	9,42E-4	1,88E-3	4,71E-3

Tabla IV.51. Cálculo de la incertidumbre de análisis para el rango alto

Concentración [mg/L]	0,25	0,50	1,00
u (V ad) [ml]	0,002	0,002	0,002
V adicion [ml]	0,500	0,500	0,500
u (V inicial) [ml]	0,021	0,021	0,021
V inicial [ml]	10,000	10,000	10,000
U (V buff/Hg) [ml]	0,010	0,010	0,010
V buff/Hg [ml]	1,000	1,000	1,000
U (C stdAdd) [mg/L]	5,01E-2	5,01E-2	5,01E-2
C (Std Add) [mg/L]	10	10	10
u (AddStd) [mg/L]	3,97E-3	7,94E-3	1,59E-2

Incertidumbre de repetibilidad, deriva, e incertidumbre de calibración.

Tabla IV.52. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango bajo

	Rango bajo			
Concentración [mg/L]	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200
Desviación Estandar (s) [mg/L]	2,08E-4	3,82E-4	7,50E-4	1,33E-3
n	15	15	15	15
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	5,38E-5	9,86E-5	1,94E-4	3,43E-4
Error maximo	3,90E-4	5,60E-4	1,38E-3	1,71E-3
Incertidumbre por deriva [mg/L]	2,25E-4	3,23E-4	7,97E-4	9,87E-4
µCalEq [mg/L]	2,37E-4	3,56E-4	8,55E-4	1,14E-3
% µCalEq	9,49	7,12	8,55	5,69

Tabla IV.53. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango medio

Concentración [mg/L]	0,02	0,05	0,10	0,25
Desviación Estandar (s) [mg/L]	1,58E-3	3,53E-3	4,18E-3	1,60E-2
n	15	15	15	15
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	4,07E-4	9,10E-4	1,08E-3	4,12E-3
Error maximo	2,72E-3	4,77E-3	4,59E-3	2,09E-2
Incertidumbre por deriva [mg/L]	1,57E-3	2,75E-3	2,65E-3	1,21E-2
µCalEq [mg/L]	1,68E-3	3,11E-3	3,61E-3	1,39E-2
% µCalEq	8,42	6,22	3,61	5,56

Tabla IV.54. Cálculo de la incertidumbre de calibración para el rango alto

Concentración [mg/L]	0,25	0,50	1,00
Desviación Estandar (s) [mg/L]	1,33E-2	2,40E-2	6,16E-2
n	15	15	15
µRepetibilidad (µrMR) [mg/L]	3,44E-3	6,18E-3	1,59E-2
Error maximo	7,30E-3	9,87E-3	1,14E-1
Incertidumbre por deriva [mg/L]	4,21E-3	5,70E-3	6,61E-2
µCalEq [mg/L]	7,32E-3	1,29E-2	7,07E-2
% µCalEq	2,93	2,58	7,07

Incertidumbre del método

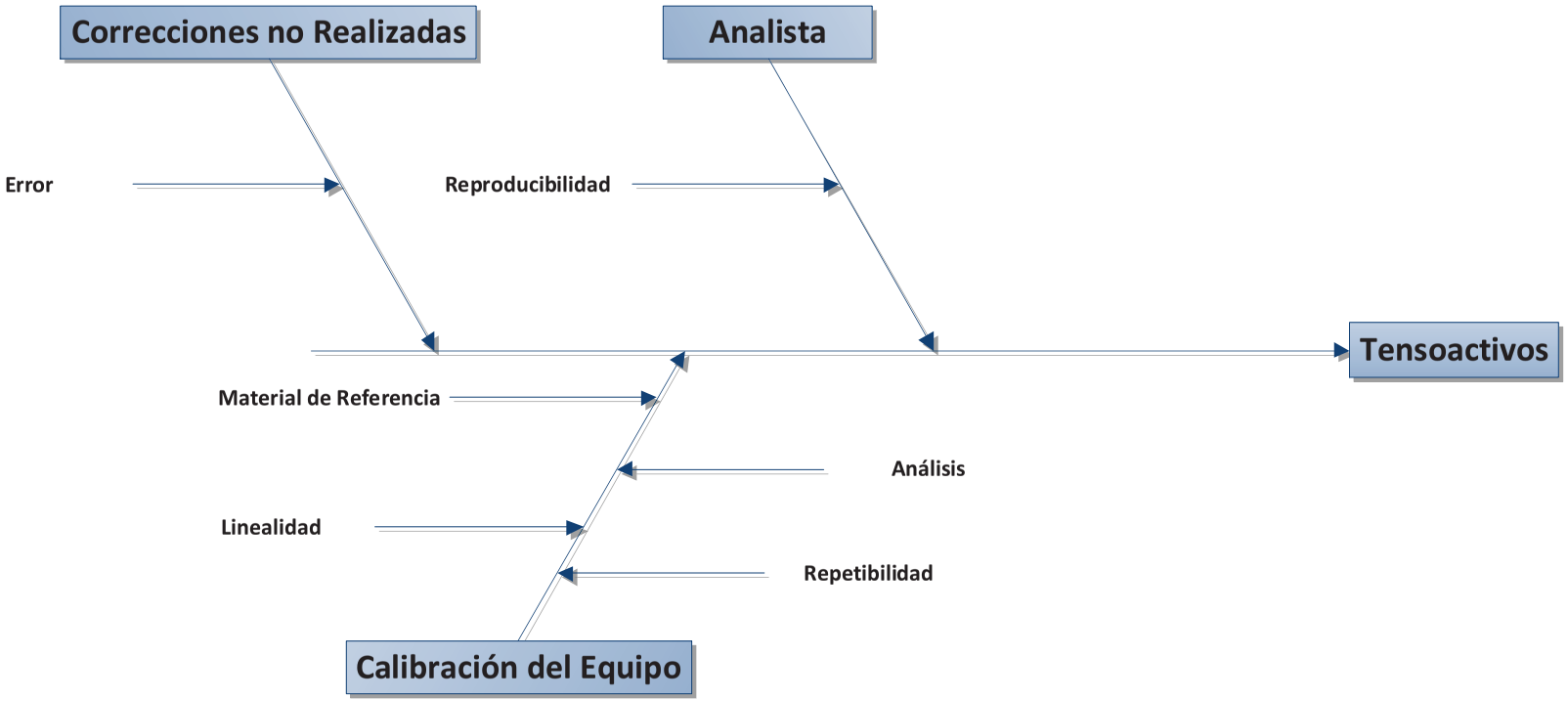
Tabla IV.55. Cálculo de la incertidumbre del método

	Rango bajo				Rango medio				Rango alto		
Concentración	0,0025	0,0050	0,0100	0,0200	0,02	0,05	0,10	0,25	0,25	0,50	1,00
% µCalEq	9,49	7,12	8,55	5,69	8,42	6,22	3,61	5,56	2,93	2,58	7,07
% µR [mg/l]	8,18	8,18	8,18	8,18	7,68	7,68	7,68	7,68	6,15	6,15	6,15
% µm	12,53	10,84	11,83	9,97	11,40	9,88	8,49	9,48	6,81	6,67	9,37
%U expandida	25,06	21,68	23,66	19,93	22,80	19,77	16,98	18,97	13,62	13,33	18,73

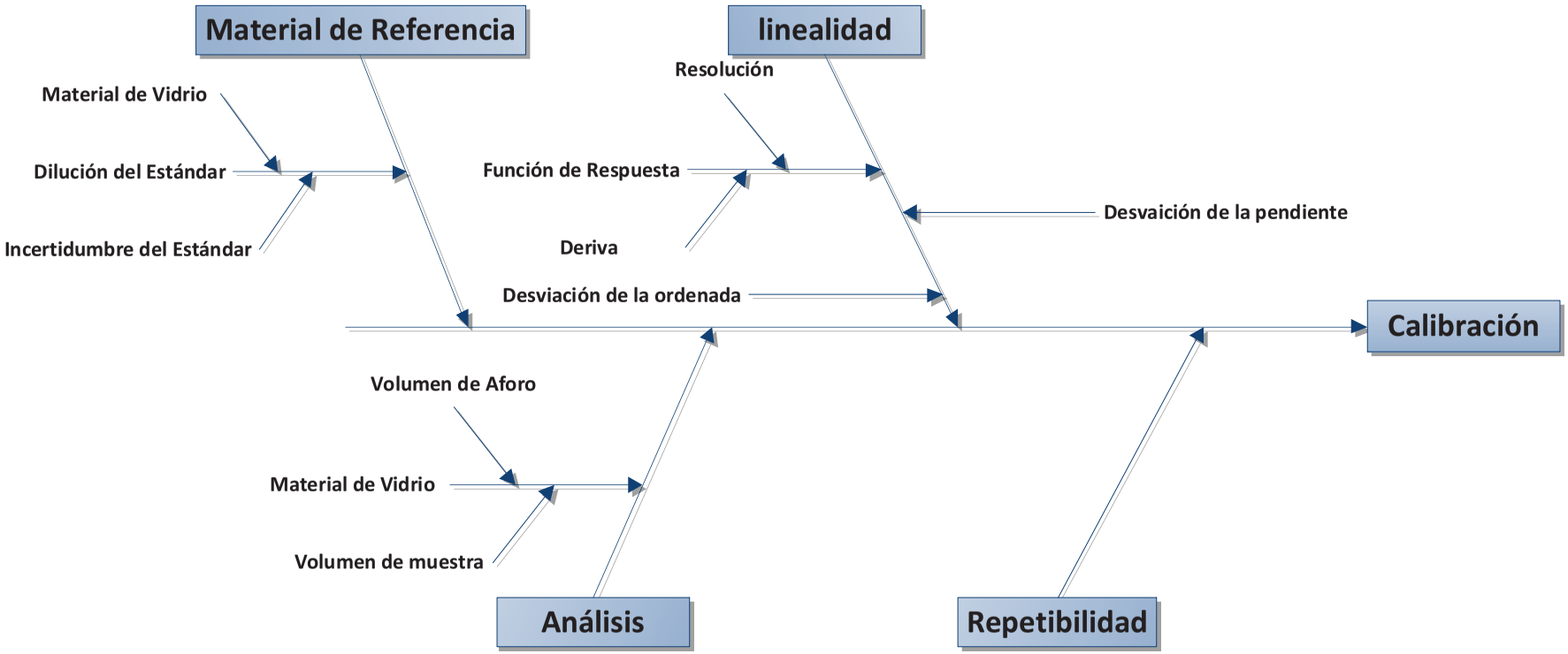
ANEXO V
DIAGRAMAS DE CAUSA EFECTO

Surfactantes aniónicos

Incertidumbre

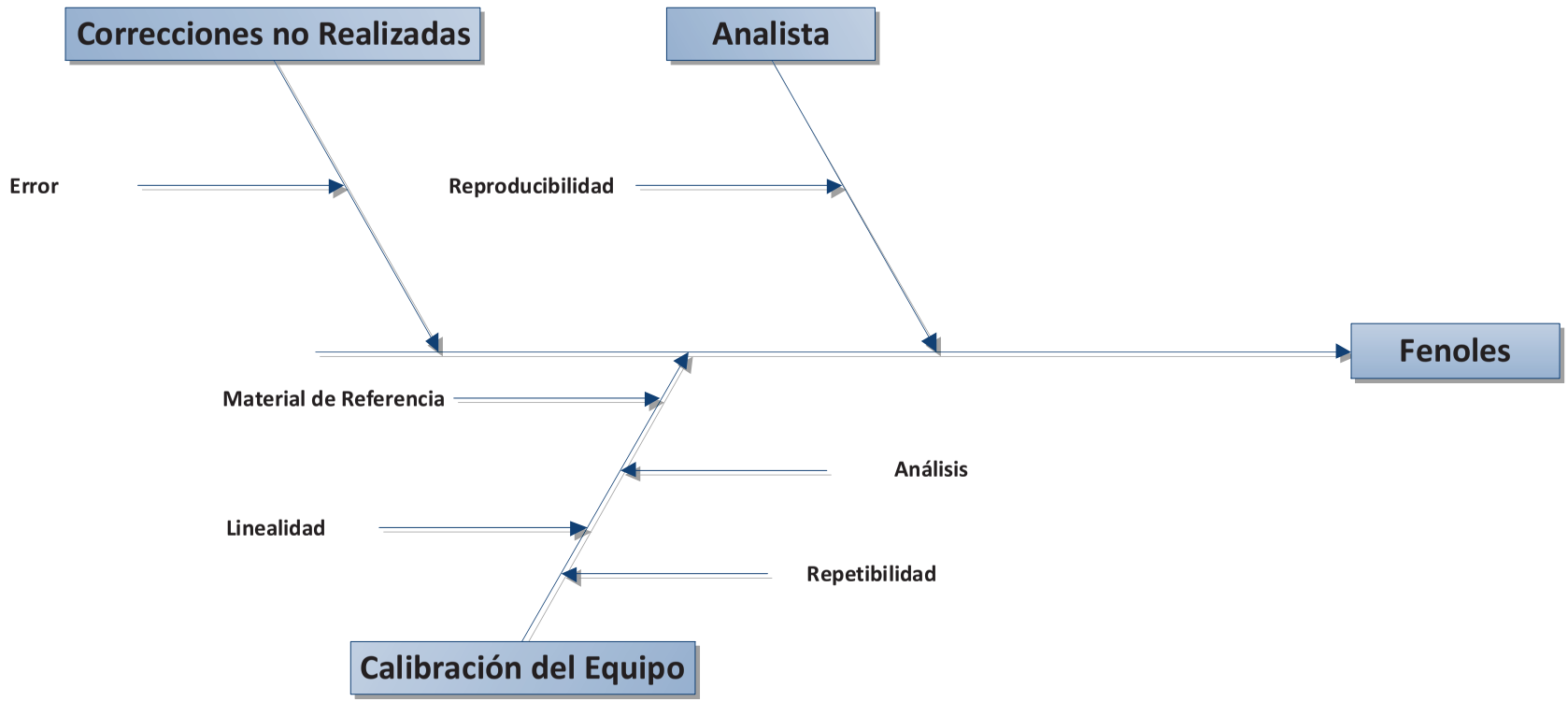


Incertidumbre de calibración

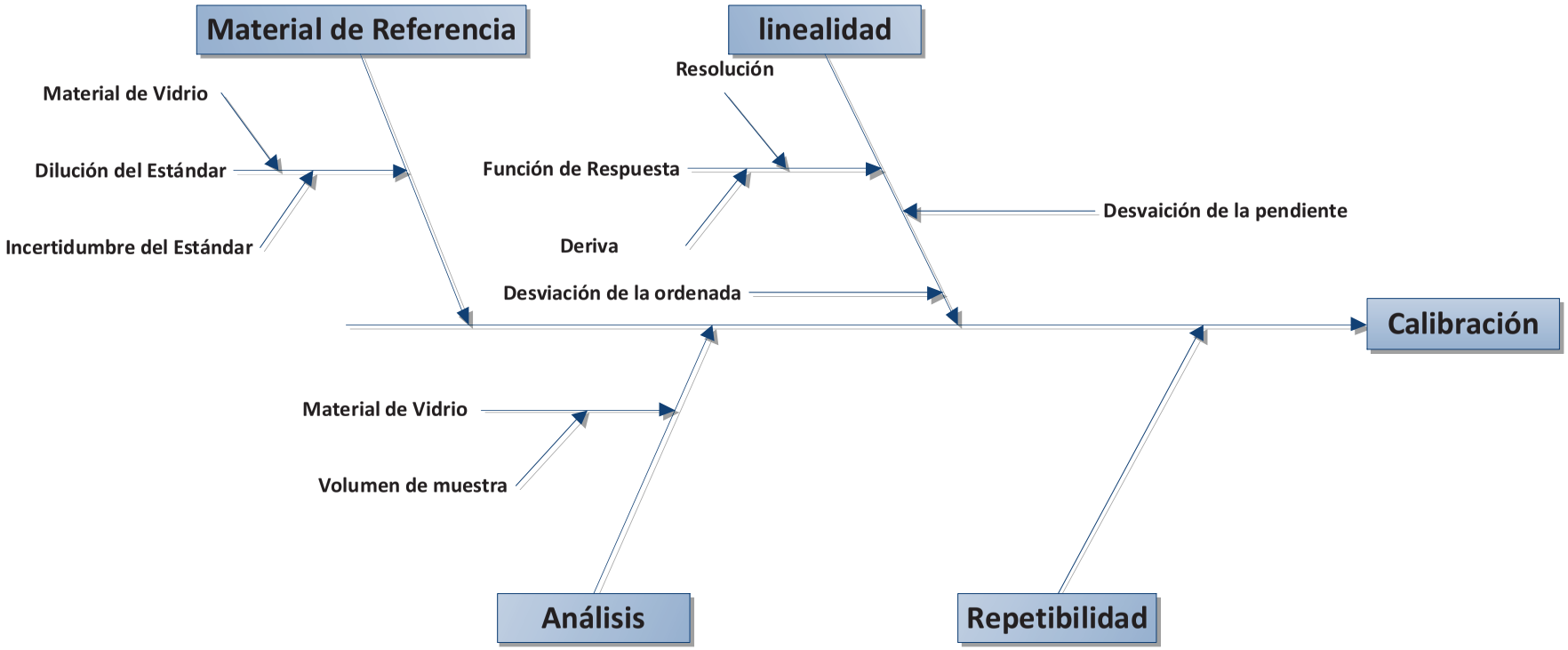


Fenoles

Incertidumbre

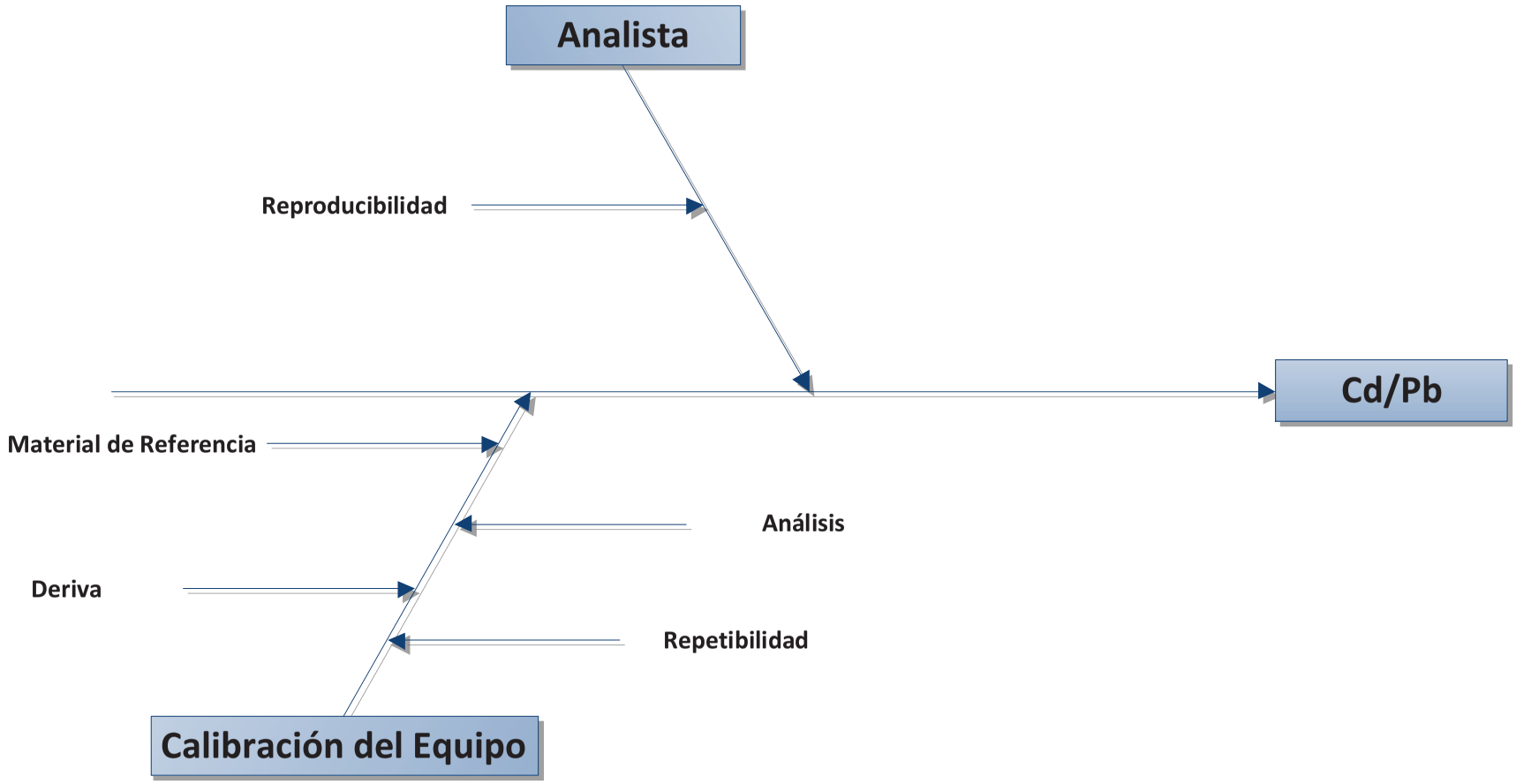


Incertidumbre de calibración

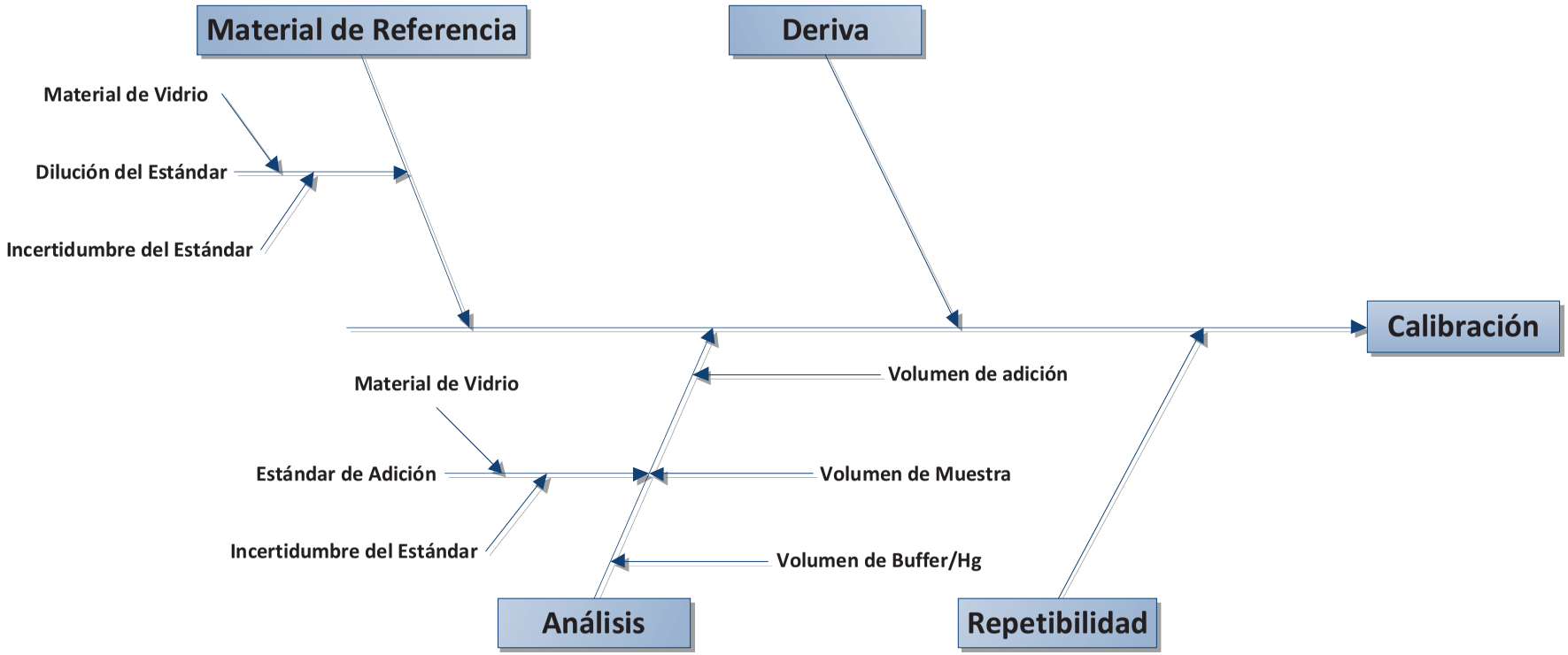


Metales pesados: Cd y Pb

Incertidumbre



Incertidumbre de calibración



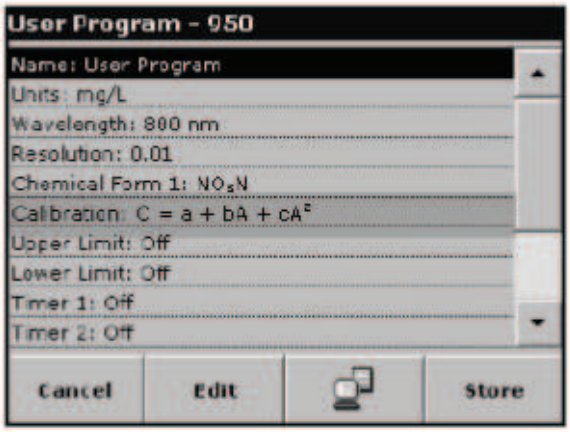
ANEXO VI

PROCEDIMIENTO PARA LA INTRODUCCIÓN DE RECTAS DE CALIBRACIÓN EN EL ESPECTROFOTÓMETRO

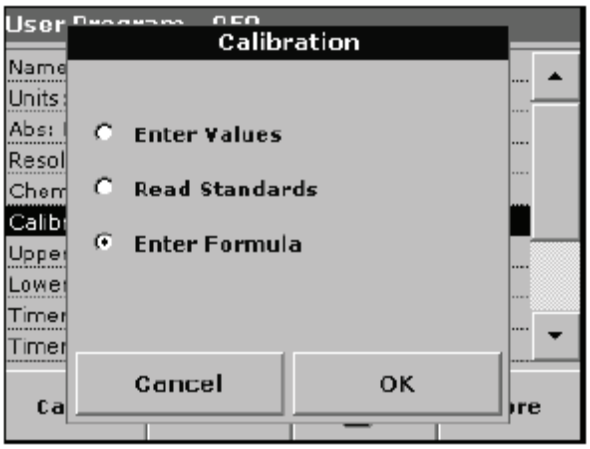
1. Desde el menú de aplicaciones seleccionar el programa al que se desea introducir o editar la recta de calibración.

2. Acceder a opciones del programa y seleccionar edición.

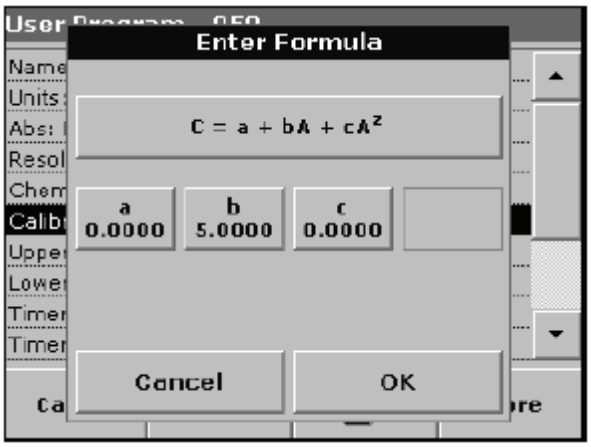
3. A continuación buscar Calibración: C = a + bA y pulsar edición.



4. En el menú, se presenta tres formas de introducir la recta de calibración: introducir los puntos en una tabla, registrar patrones e introducir los datos de la recta. La opción a ser utilizada será introducir recta;



seleccionar esta opción e ingresar los valores correspondientes para la pendiente (b) y el intersecto (a).



5. Presionar aceptar y almacenar el programa.