

# VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD, DUREZA, HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) Y FÓSFORO, EN AGUAS RESIDUALES, EN EL LABORATORIO DE EISMASTER CIA LTDA

*Mayra Alejandra Briones Torres (1)*

*Director: Ing. Oswaldo Patricio Flor García MSc (2)*

Laboratorio de Cerámica, Departamento de Materiales, Escuela Politécnica Nacional, Ladrón de Guevara E11-253, Quito, Ecuador. Teléfono: (005932)2507144(ext.446). E-Mail: (1) [alemavy@hotmail.com](mailto:alemavy@hotmail.com) (2) [patricio.flor@epn.edu.ec](mailto:patricio.flor@epn.edu.ec)

**Recibido:**

**Aceptado:**

## **Resumen**

La finalidad de este proyecto es seleccionar la metodología mas precisa para la determinación de: alcalinidad, dureza, fósforo e hidrocarburos totales de petróleo en aguas residuales, basándose en los métodos estandarizados APHA y EPA aprobados por la empresa EISMASTER CIA. LTDA, bajo el sistema de gestión de calidad de la norma NTE INEN ISO 17025:2005.

Para la validación de los métodos analíticos que ahora se los presenta, se emplearon metodologías probadas, materiales de referencia certificados y reactivos de alta pureza en sus ensayos.

La validación de estos métodos consideró, diferentes actividades que se realizaron a fin de garantizar la calidad de los ensayos, para esto se determinó los valores de incertidumbre requeridos en base al diseño experimental de cada uno de los ensayos, posteriormente se efectivizó el tratamiento estadístico de los datos obtenidos, además de los controles de calidad, del uso y mantenimiento del equipo a emplearse en el método validado en el tiempo.

Para concluir, se declara el método como validado, al llegar a una incertidumbre máxima dentro de los límites aceptables, con ello queda el método listo para ser empleado siempre y cuando se mantengan las condiciones bajo las cuales se realizó el proceso de validación,

además de mantener un control continuo de calidad de cada uno de los ensayos efectivizados.

**Palabras claves:** Validación de métodos; Incertidumbre; Alcalinidad; Dureza; Fósforo; Hidrocarburos Totales de Petróleo.

## **Abstract**

The purpose of this project is to select the most accurate methodology for the determination of: alkalinity, hardness, phosphorus and total petroleum hydrocarbons in wastewater, based on the APHA and EPA standard methods approved by the company EISMASTER CIA. LTDA, under the system of quality management standard ISO 17025:2005 INEN NTE.

For validation of analytical methods now presents, we used proven methodologies, certified reference materials and reagents of high purity in their essays.

The validation of these methods considered, various activities were conducted to ensure the quality of the trials was determined for this required uncertainty values based on the experimental design of each trial, then became effective statistical treatment the data, as well as quality control, use and maintenance of equipment used in the validated method in time.

To conclude, it declares the method as validated, reaching a maximum uncertainty within acceptable limits, thus the method is ready to be used as long as they maintain the conditions under which the validation process carried out in addition to maintain a continuous quality control of each of the trials achieved much..

**Key words:** Validation of methods, uncertainty, alkalinity, hardness, phosphorus and total petroleum hydrocarbons

## 1. Introducción

La necesidad de cumplir con las normativas nacionales e internacionales en todas las áreas de análisis, nos lleva a determinar metodologías fiables, es decir validadas, para garantizar y mantener la calidad de los resultados; las mismas que emplean un conjunto de ensayos que comprueban todas las hipótesis en las que se basa un método analítico, establece y documenta las características de rendimiento de los métodos analíticos como: la aplicabilidad, la selectividad, el calibrado, la veracidad, la fidelidad, la recuperación, el rango de funcionamiento, el límite de cuantificación, el límite de detección, la sensibilidad y la robustez del método.

El propósito del laboratorio EISMASTER es producir resultados de alta calidad y confiabilidad, garantizar que el proceso de medición es exacto, confiable y adecuado y en el caso que nos ocupa, para la determinación de la alcalinidad, dureza, fósforo e hidrocarburos totales de petróleo, en aguas residuales.

El agua es un recurso natural y vital, el mismo que en la actualidad está siendo contaminado, con lo que ha aumentado la demanda de análisis de la misma.

La alcalinidad se refiere a la presencia de sustancias hidrolizables en agua y que como producto de hidrólisis generan el ión hidroxilo ( $\text{OH}^{-1}$ ), como son las bases fuertes, y los hidroxilos de metales alcalinotérreos; contribuyen también en forma importante a la alcalinidad los carbamatos y fosfatos. La

presencia de boratos y silicatos en concentraciones altas también contribuyen a la alcalinidad del medio. (APHA, 2005).

Se entiende por dureza, a la capacidad de los cationes del agua para reemplazar a los iones de sodio o potasio de los jabones y formar cationes poco solubles. La dureza es una característica química del agua que está determinada por la presencia de iones calcio y magnesio, además de otros cationes como el estroncio, hierro y manganeso pero en menor grado, ya que generalmente están contenidos en menores cantidades. (Chávez *et al*, 2006).

El fósforo generalmente se encuentra en aguas naturales y residuales tratadas, como fosfatos. El fósforo presente en las aguas residuales proviene principalmente de los desechos humanos, actividades industriales, detergentes sintéticos y productos de limpieza. La influencia de detergentes es fundamental en el contenido de fósforo en las aguas residuales, por lo que se han aplicado normativas reguladoras del contenido de fósforo en los mismos. (Villaseñor, 2001)

El término hidrocarburos totales de petróleo (TPH), se usa para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados del petróleo crudo.

Los Hidrocarburos totales de petróleo son una mezcla compleja, que típicamente contiene cientos de compuestos, entre los que existen: hidrocarburos alifáticos (de cadena simple, ramificados, cicloalcanos y alcanos) y compuestos aromáticos (benceno, alquilbenceno, naftaleno, PAH, etc.). Además, muchos de los productos del petróleo, contienen aditivos como alcoholes, éteres, metales y otros compuestos que pueden afectar a la toxicidad de la mezcla global.

Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos del petróleo, no es práctico medir cada uno, en forma separada. (ASTDR, 2009)

### Definiciones importantes

**Límite de detección:** Es la mínima concentración del analito que se puede detectar confiablemente cuando se aplica un método

para el análisis de una muestra, con un nivel de confianza determinado.

**Límite de cuantificación:** Es la cantidad más pequeña del análito en una muestra, que puede ser cuantitativamente determinada con un nivel de exactitud y precisión aceptable de repetibilidad y veracidad. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices de muestra. Se expresa como concentración del análito.

**Intervalo de trabajo e intervalo lineal:** El intervalo de trabajo se define como: intervalo de concentraciones de análito dentro del cual se puede aplicar el método; esto se refiere a concentraciones efectivamente medidas y no a las muestras originales.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un rango de respuesta lineal, la linealidad de un método se define como su aptitud para obtener resultados proporcionales a la concentración de análito.

**Exactitud:** Es la cercanía de un resultado a un valor verdadero, se la evalúa por la comparación con los valores de referencia de un material certificado.

**Precisión:** Las dos medidas de precisión, que generalmente se definen en términos de desviación estándar o coeficiente de variación son la repetibilidad y la reproducibilidad.

La repetibilidad, es la precisión más pequeña esperada, da una idea de la variabilidad que se espera cuando un método es aplicado por un solo analista en un equipo durante un periodo corto. La reproducibilidad representa la variabilidad que se obtiene cuando una muestra es analizada por varios laboratorios y se tiene un valor más amplio.

**Sensibilidad:** Es el gradiente de la curva de respuesta, o el cambio en la señal correspondiente a un cambio de concentración del análito, para el intervalo lineal de un método, la sensibilidad corresponde a la pendiente de la recta de calibración.

**Especificidad:** Es la habilidad de evaluar inequívocamente el análito en presencia de interferentes que se puede esperar que estén presentes, y que típicamente, éstos pueden

incluir: impurezas, productos de degradación, la matriz, etc.

**Selectividad:** Describe la habilidad de un procedimiento analítico, para diferenciar entre varias sustancias en la muestra, y es aplicable a métodos en los que dos o más componentes son separados y cuantificados en una matriz compleja.

**Robustez:** Es la cualidad de un método analítico, que mide su capacidad de resistir pequeños cambios en las condiciones operatorias, sin que su funcionamiento se vea alterado.

**Factor de recuperación:** El porcentaje de recuperación es el cociente entre la cantidad de mensurando encontrada y el contenido que presenta el material de referencia.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Materiales

Los reactivos empleados para la validación de los métodos analizados, fueron materiales de referencia certificados, es decir, “material de referencia que tiene certificados uno o varios de sus valores de una o más de sus propiedades por procedimientos técnicamente válidos llevados a cabo por un organismo competente, bien sea que esté acompañado, o pueda obtenerse un certificado, u otra documentación emitida por un ente certificador” (APHA, 2005)

Tanto el material de vidrio como los equipos empleados tienen que ser calibrados para garantizar medidas reproducibles y con el menor error posible.

### 2.2. Métodos

Validación de un método analítico es el proceso mediante el cual se establece por medio de estudios de laboratorio, que las características representativas del método analítico cumplen con las especificaciones para su aplicación. La metodología analizada tomó como referencia los métodos estandarizados APHA y EPA.

### 2.2.1. Alcalinidad total

La determinación de alcalinidad se la realizó mediante análisis volumétrico tomando como referencia el método APHA 2320 B, el cual se basa en una reacción química, en donde el titulante se adiciona por medio de una bureta, hasta llegar al punto final de la titulación con la ayuda de un indicador, el mismo que cambia de color en ese momento.

La solución titulante es ácido sulfúrico 0,02 N la cual se prepara diluyendo 0.28 ml del ácido concentrado al 98% en 500 ml con agua destilada grado reactivo.

La solución indicadora de fenoltaleína se la prepara diluyendo 5 gramos de fenoltaleína en 50ml de etanol al 98%.

La solución indicadora verde de bromocresol se la prepara diluyendo 1 gramo de verde de bromocresol en 10ml de agua grado reactivo.

#### a) Determinación de Alcalinidad con Fenoltaleína

Tomar 10 ml de muestra con una pipeta calibrada y colocarla en un erlenmeyer previamente identificado. Agregar 3 gotas del indicador fenoltaleína. **NOTA:** La muestra cambia a un color rosado, de no ser así añadir una gota más de indicador y si aun no ha cambiado de color, quiere decir que la alcalinidad carbonatada es cero. Titular con el ácido sulfúrico 0.02 N, hasta que se dé el cambio de color de rosado a transparente, anotar el gasto de ácido empleado.

#### b) Determinación de la Alcalinidad Total

Tomar 10 ml de muestra con una pipeta calibrada y colocarla en un erlenmeyer previamente identificado. Agregar 3 gotas de indicador verde de bromocresol cambiando la muestra a azul. Titular con ácido sulfúrico 0.02 N hasta que cambie a verde azulado, anotar el gasto de ácido empleado.

#### c) Cálculos

Una vez obtenido el volumen de ácido consumido en la titulación, y empleando la siguiente ecuación, se obtiene el valor de concentración de la alcalinidad

$$\text{Alcalinidad} \left( \frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{L}} \right) = \frac{V_{\text{ácido}} (\text{ml}) * N_{\text{ácido}} (\text{Eq/L}) * f_{\text{ácido}} * 50000}{V_{\text{muestra}} (\text{ml})}$$

Donde:

$V_{\text{ácido}}$  = Volumen de ácido empleado en la titulación (ml).

$V_{\text{muestra}}$  = Volumen de muestra tomado para la titulación (10 ml).

$N_{\text{ácido}}$  = Normalidad del ácido (Eq/L)

50000 = Factor de conversión de unidades.

$f_{\text{ácido}}$  = Factor de la solución de ácido sulfúrico.

### 2.2.2. Dureza total

La determinación de la dureza total en una muestra de agua residual, se la realizó mediante la titulación con EDTA, tomando como referencia el método APHA 2340 C.

La solución titulante es EDTA 0,01 M, la cual se prepara diluyendo 1.86 gr de EDTA concentrado en 500 ml con agua destilada grado reactivo.

La solución indicadora negro de eriocromo viene en pastillas.

#### a) Determinación de la dureza total

Tomar 10 ml de la muestra con una pipeta volumétrica calibrada y colocarla en un erlenmeyer, previamente identificado. Colocar 1 ml de Buffer dureza de pH 10.1, agregar 1 sobre de indicador negro de eriocromo (NET) al erlenmeyer. La muestra cambia a color violacio, agitar bien hasta que se disuelva totalmente el indicador. Titular con EDTA 0.01M hasta el viraje a color azul. Registrar el volumen gastado.

#### b) Cálculos

Una vez obtenido el volumen consumido en la titulación, y empleando la siguiente ecuación, se obtiene el valor de concentración de dureza:

$$\text{Dureza} \left( \frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{L}} \right) = \frac{A * B}{V_{\text{muestra}} (\text{ml})} * 1000$$

Donde:

A = Volumen de EDTA empleado en la titulación (ml)

B = mg CaCO<sub>3</sub>, equivalentes a 1 ml EDTA

$V_{\text{muestra}}$  = Volumen de muestra tomado (10 ml)

1000 = Factor de conversión de unidades

### 2.2.3. Fósforo total

La determinación de fósforo total en una muestra de agua residual, se la realizó mediante espectrofotometría visible, tomando como referencia el método APHA 4500-P-E.

La espectrofotometría se puede considerar como la extensión de inspección visual, en donde un estudio más detallado de la absorción de la energía radiante por especies químicas, permite una mayor precisión en su caracterización y en su cuantificación.

El término espectrofotometría sugiere, la medición de la energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda determinada. Un espectrofotómetro es un instrumento para medir la transmitancia o la absorbancia de una muestra en función de una longitud de onda determinada.

#### a) Determinación de fósforo total

Preparación de la muestra

Tomar 5 ml de muestra que se encuentra exenta de color y turbidez. En caso de que la muestra presente color y turbidez se debe realizar un filtrado previo al análisis.

Digestión de la muestra

Calentar el termoreactor a 150 °C, una vez alcanzada la temperatura, colocar los viales en el porta tubos del termoreactor y dejar 30 minutos para que se produzca la reacción, el equipo indicará el término del tiempo de reacción, sacar los viales y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Análisis de fósforo total

Colocar en el vial ya frío 2 ml de hidróxido de sodio 1.54N al tubo. Tapar bien y agitar, preparar el equipo HACH DR 2010 e ingresar el número del programa almacenad 535 para el Fósforo, ajustar la longitud de onda girando la perilla del equipo hasta 890 nm.

Colocar el vial de Fósforo dentro del porta celdas, tapar y presionar la tecla ZERO, para encerrar, retirar el vial y colocar con la ayuda

de un embudo una pastilla de polvo de reactivo Phos Ver 3 en el tubo, tapar bien y agitar durante 15 segundos, colocar el tubo de muestreo preparado en el adaptador con el logo hacia el frente del instrumento. Tapar el adaptador. Presione la tecla READ ENTER. La pantalla despliega el mensaje de espera WAIT, y a continuación aparece el resultado en mg/l PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> en la pantalla, leer en absorbancia y anotar el valor.

#### b) Cálculos

Una vez obtenido el valor de absorbancia y empleando la ecuación obtenida en la validación, pasar a concentración de fósforo:

$$\text{Concentración de Fósforo} = \frac{A + 0.016}{0.501}$$

Donde:

A = Absorbancia medida.

0,016 = valor del punto de corte con el eje y

0,501 = valor de la pendiente de la recta

### 2.2.4. Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH)

La determinación de hidrocarburos totales de petróleo en una muestra de agua residual, se la realizó mediante espectrofotometría de infrarrojo, tomando como referencia el método EPA 418.1.

El método de infrarrojo mide la vibración (estiramientos y doblamientos) que ocurre cuando una molécula absorbe energía (calor) en la región de infrarrojo del espectro electromagnético. La cuantificación se lleva a cabo comparando la absorción de la muestra contra una curva de calibración hecha con petróleo de referencia

#### a) Determinación de TPH

Extracción de la muestra

Tomar 250 ml de la muestra y colocarlo en el embudo de separación de 250 ml previamente identificado.

Medir 6 ml de solvente horiba S – 316 y adicionar al embudo de separación, agitar vigorosamente el embudo de separación durante 2 minutos, dejar en reposo en un soporte para embudos por 2 minutos,

permitiendo que las dos fases se separen. Recoger la fase orgánica (que es la que se encuentra en la parte inferior del embudo de separación) en un vial y taponarlo bien el vial.

Repetir la extracción por dos ocasiones más.

Filtrar en un embudo provisto de un papel filtro el cual contiene aproximadamente un gramo de sulfato de sodio anhidro, recoger el filtrado en un vial limpio y rotulado. Filtrar con ayuda de un embudo provisto de un papel filtro el cual contiene aproximadamente un 0.5 gramos de sílica gel activada. Recoger el filtrado en una celda de cuarzo limpia y seca, previamente medida su absorbancia.

#### Determinación de la absorbancia

Una vez encendido el equipo, se procede a ingresar la curva del equipo, para lo cual se lee la absorbancia de los estándares preparados. Con los valores de absorbancia y concentración se realiza una gráfica donde en el eje de abscisas se coloca el valor de concentración preparada y en el eje de las ordenadas se coloca el valor de absorbancia medido. Medir la absorbancia de la muestra analizada.

#### b) Cálculos

Con el valor de absorbancia medido y empleando la ecuación obtenida en la validación, pasar a concentración de hidrocarburos totales de petróleo:

$$\text{Concentración de TPH} = \frac{A + 0.0062}{0.0023}$$

Donde:

A = Absorbancia medida.

0,0062 = valor del punto de corte con el eje y

0,0023 = valor de la pendiente de la recta

#### 2.2.5. Incertidumbre del método

Para poder obtener una medición confiable, hay que controlar varios factores causales del error y conocer el nivel de incertidumbre del sistema de medición.

El error se define como la diferencia entre el valor medido de una cantidad física y el valor “verdadero” de esa cantidad. Es decir, la desviación del valor real contra el valor nominal del objeto medido.

La incertidumbre se define como la cantidad que describe la probable o posible magnitud del error conocido, es decir, se refiere al rango estimado donde se encuentra el valor verdadero medido.

El concepto de incertidumbre refleja duda acerca de la exactitud del resultado obtenido, una vez que se han evaluado todas las posibles fuentes de error y que se han aplicado las correcciones oportunas. Es decir, la incertidumbre proporciona una idea de calidad del resultado, ya que indica cuanto puede alejarse el resultado, del valor verdadero, por esto los resultados siempre deben ir acompañados de su incertidumbre. (Maroto, 2002)

Para cuantificar las fuentes de incertidumbre se distinguen dos métodos, que no significa que exista alguna diferencia en la naturaleza de los componentes que resultan de cada uno de los dos tipos de evaluación, puesto que ambos tipos están basados en distribuciones de probabilidad. La única diferencia es que en una evaluación tipo A, se estima esta distribución basándose en un análisis estadístico de mediciones repetidas obtenidas del mismo proceso de medición; mientras, en el caso de tipo B, se supone una distribución con base en experiencia o información externa al analista u otra, manera de estimar la incertidumbre. (Schmid y Lazos, 2004).

Una incertidumbre estándar de tipo A se puede obtener por cualquier método estadístico que ofrezca un estimado válido de la dispersión de los datos.

En una evaluación tipo B de la incertidumbre de una magnitud de entrada, se usa información externa obtenida por experiencia. Las fuentes de información pueden ser: certificados de calibración, manuales del instrumento de medición, especificaciones del instrumento, normas o literatura, valores de mediciones anteriores, conocimiento sobre las características o el comportamiento del sistema de medición (Schmid y Lazos, 2004).

La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor.

Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son: la normal, la rectangular y la triangular-

### 2.2.6. Validación de métodos

Validar un método consiste en verificar y documentar su validez, esto es, su adecuación a unos determinados requisitos, previamente establecidos por el usuario para poder resolver un problema analítico particular. Estos requisitos son los que definen los parámetros o criterios de calidad que debe poseer un método.

Para la validación de los métodos mencionados se realizaron los ensayos con lo cual se obtuvieron los datos durante cinco días en 4 niveles de concentración, cada día se obtienen diez datos por cada nivel, lográndose obtener 40 datos por nivel y 200 datos por método.

Con los valores promedios de toda la matriz, se procede a la construcción de la curva de calibración, donde: en el eje de las abscisas (X) se coloca el valor verdadero del blanco y los patrones; y en el eje de las ordenadas (Y) las lecturas obtenidas del blanco y de los patrones.

La ecuación de la recta es por lo tanto.

$$L = mP + L_o$$

Donde:

L = Lectura observada

m = Coeficiente de regresión (pendiente de la recta)

P = Concentración estimada del blanco y de los patrones

L<sub>o</sub> = Coeficiente de la ordenada

En base a la ecuación de la recta se determina el coeficiente de regresión (m) y el coeficiente de las ordenas (L<sub>o</sub>); por el método de mínimos cuadrados, el grado de ajuste de la recta o coeficiente de correlación ( $r^2 > 0.995$ ); la desviación estándar de la pendiente S<sub>m</sub>; la desviación estándar de la pendiente S<sub>L<sub>o</sub></sub>; y la desviación estándar de la recta S<sub>LP</sub>, desviación estándar de la concentración P S<sub>PL</sub>

$$S_m = \frac{S_{LP}}{\sqrt{\sum (L - C_{MRC})^2}}$$

$$S_{LP} = \sqrt{\frac{\sum (L-P)^2}{n-2}}$$

$$S_{L_o} = (S_m) \sqrt{\frac{\sum (C_{MRC})^2}{n}}$$

$$S_{PL} = \frac{S_{LP}}{m}$$

Donde:

S<sub>m</sub> = Desviación tipo, del coeficiente de regresión de la recta

S<sub>LP</sub> = Desviación tipo, de la recta

S<sub>L<sub>o</sub></sub> = Desviación tipo, de la ordenada

C<sub>MRC</sub> = Concentración de los materiales de referencia certificados

$\overline{C}_{MRC}$  = Concentración media de los materiales de referencia certificados

n = número de observaciones

S<sub>PL</sub> = Desviación estándar de la concentración P

El límite de detección (LD) y de cuantificación (LC), se los calcula en base al error tipo, de la ecuación de la recta.

$$LD = \frac{(L_o + (t * S_{L_o})) - L_o}{m}$$

$$LC = \frac{(L_o + (t * S_{LP})) - L_o}{m}$$

Donde:

t = t de student (se determina en tablas mediante el valor de g, con un nivel de confianza del 95%).

La exactitud del método se la obtiene aplicando la siguiente relación:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Valor Observado}}{\text{Valor Real}} * 100 \%$$

Donde:

% Recuperación = Porcentaje de Recuperación

Valor Observado = Valor obtenido en el equipo

Valor Real = Valor del material de referencia

La desviación estándar se la obtiene aplicando:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Donde:

S = Desviación estándar de la muestra

X<sub>i</sub> = Valor obtenido de las lecturas obtenidas

$\bar{X}$  = Valor medio de las lecturas obtenidas  
(n - 1) = Grados de libertad

Análisis de varianzas, nos sirve para comparar varias medias en: diferentes condiciones de almacenamiento, métodos, condiciones de tratamiento, varios equipos.

El ANOVA nos permite separar las causas de variación y estimarlas, para determinar cuando las varianzas sean homogéneas. Se emplea la prueba de Cochran, el mismo que verifica la homogeneidad de varianzas en un grupo y se la determina con la siguiente ecuación:

$$G_{m\acute{a}x} = \frac{S_{m\acute{a}x}^2}{S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_q^2}$$

Donde:

$G_{m\acute{a}x}$  = G de Cochran

S = Desviación estándar de cada día

q = Número de días

El valor de  $G_{m\acute{a}x}$  calculado, debe ser mayor al valor de  $G_{m\acute{a}x}$  tabulado, valor que se lo obtiene de la tabla de Cochran.

Cálculo de la media grupal. Se la calcula en base a los datos obtenidos por día:

$$\bar{L}_i = X_m = \frac{\sum_{j=1}^n L_{ij}}{p}$$

Donde:

$\bar{L}_i$  = Media grupal por día

$L_{ij}$  = Lectura observada en el día

p = número de observaciones por día

Cálculo de la media general. Se la determina con los datos obtenidos durante los 5 días:

$$\bar{L} = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n L_{ij}}{n}$$

Donde:

$\bar{L}$  = Media general con los datos de los cinco días

$L_{ij}$  = Lectura observada durante los cinco días

n = número de observaciones totales

Cálculo de la suma de las diferencias cuadráticas Between:

$$SDC_B = \sum_{i=1}^m (p)(\bar{L}_i - \bar{L})^2$$

Donde:

$SDC_B$  = Suma de las diferencias cuadráticas Between

$\bar{L}$  = Media general

$\bar{L}_i$  = Media grupal

p = número de observaciones por día

Cálculo de medias cuadráticas Between:

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{\gamma_n}$$

Donde:

$DCM_B$  = Medias cuadráticas Between

$\gamma_n$  = Grados de libertad entre grupos = q - 1

q = número de días de experimentación

Cálculo de la suma de las diferencias cuadráticas Within:

$$SDC_w = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (L_{ij} - \bar{L}_i)^2$$

Donde:

$SDC_w$  = Suma de las diferencias cuadráticas Within

$L_{ij}$  = Lectura Observada

$\bar{L}_i$  = Media grupal

Cálculo de medias cuadráticas Within:

$$DCM_w = \frac{SDC_w}{\gamma_w}$$

Donde:

$DCM_w$  = Medias cuadráticas Within

$\gamma_w$  = Grados efectivos dentro de grupos =  $n_{total}$

-  $n = (p)(q) - p = (p)(q - 1)$

q = número de días de experimentación

Cálculo de la desviación estándar de repetibilidad:

$$Sr = \sqrt{DCM_w}$$

Donde:

Sr = Desviación estándar de repetibilidad

Cálculo de la desviación de las lecturas:



$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{\rho}$$

Donde:

$S_L$  = Desviación de las lecturas

Cálculo de la desviación estándar de reproducibilidad:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

Para el cálculo de la incertidumbre típica se debe determinar la influencia de cada una de las variables que afectan el ensayo.

$$\mu_{\text{Método}} = \sqrt{\mu_{\text{MR}}^2 + \mu_{\text{repet}}^2 + \mu_{\text{reprod}}^2 + \mu_{\text{deriba}}^2 + \mu_{\text{FR}}^2}$$

Donde:

$\mu_{\text{Método}}$  = Incertidumbre del método

$\mu_{\text{MR}}$  = Incertidumbre debida a la preparación de patrones y materiales

$\mu_{\text{repet}}$  = Incertidumbre de repetibilidad del método

$\mu_{\text{reprod}}$  = Incertidumbre de reproducibilidad del método

$\mu_{\text{deriba}}$  = Incertidumbre debida a la deriva del equipo

$\mu_{\text{FR}}$  = Incertidumbre debida a la función respuesta del equipo

Determinación de la incertidumbre expandida del método

$$U = K * \mu$$

Donde:

$U$  = Incertidumbre Expandida del método

$K$  = Valor de tabla de acuerdo a los grados efectivos de libertad del método

$\mu$  = Incertidumbre Típica del método

### 3. Resultados Obtenidos

Se logró la validación de alcalinidad en el rango de 50 a 200 mg/L obteniéndose una incertidumbre máxima del 5%, con un límite de detección igual a 8 mg/L, el coeficiente de correlación de la linealidad es de 0.9996 y ecuación a ser aplicada es  $y = 0.0153 x - 0.0115$  donde: y es el volumen medido; x es la

concentración obtenida, la recuperación está en el rango del 90 al 110%.

Se logró la validación de dureza en el rango de 60 a 495 mg/L obteniéndose una incertidumbre máxima del 5%, con un límite de detección igual a 48.02 mg/L, el coeficiente de correlación de la linealidad es de 0.9960 y ecuación a ser aplicada es  $y = 0.097 x$  donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida, la recuperación está en el rango del 90 al 110%.

Se logró la validación de fósforo en el rango de 0.50 a 2.00 mg/L obteniéndose una incertidumbre máxima del 14%, con un límite de detección igual a 0.11 mg/L, el coeficiente de correlación de la linealidad es de 0.9988 y ecuación a ser aplicada es  $y = 0.5019 x - 0.0164$  donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida, la recuperación está en el rango del 95 al 115%.

Se logró la validación de hidrocarburos totales de petróleo en el rango de 20 a 125 mg/L obteniéndose una incertidumbre máxima del 24%, con un límite de detección igual a 2.07 mg/L, el coeficiente de correlación de la linealidad es de 0.9996 y ecuación a ser aplicada es  $y = 0.0023 x - 0.0062$  donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida, la recuperación está en el rango del 90 al 110%.

### 4. Conclusiones

La validación de los métodos antes descritos nos permitió desarrollar la metodología mas precisa para la determinación de alcalinidad, dureza, fósforo e hidrocarburo totales de petróleo, basándonos en los métodos estandarizados APHA y EPA, con lo cual se obtuvo los parámetros de calidad, se demostró que los métodos cumplen con los criterios de aceptación propuestos en el protocolo, además se comprobó que los métodos emite resultados confiables.

La metodología desarrollada fue determinada luego de realizar las pruebas previas en cada uno de los métodos desarrollado, con lo que se encontraron las condiciones optimas en las que

el método nos da resultados confiables con las características que se requieren.

## 5. Recomendaciones

Es recomendable realizar los controles de calidad en los periodos establecidos, para lo cual se deberán realizar pruebas de verificación de la repetibilidad y reproducibilidad de cada uno de los ensayos, evitando desvíos con los valores obtenidos en la validación, tomando como referencia los valores obtenidos en la región de confianza para cada uno de los métodos; con lo cual se garantizará la confiabilidad de los resultados.

Se recomienda tomar en cuenta la fecha de vigencia de los certificados de calibración de los equipos empleados, a fin de mantener la calidad del ensayo. Es importante además que los materiales de referencia que se utilicen para realizar los controles de calidad, no deben encontrarse en estado caducado y deben presentar una alta estabilidad.

Se recomienda seguir el método de cada uno de los parámetros validados, considerando cada uno de los pasos, desde la preparación de los estándares para la construcción de la curva, como el mantenimiento de los equipos, precauciones en el momento del ensayo, sobretodo prestar principal atención el procedimiento para la determinación de hidrocarburos totales de petróleo, debido a la complejidad de calibración del equipo, para asegurar resultados confiables.

Se recomienda emplear el material volumétrico empleado en la validación o de similares características, con la finalidad de evitar contribuciones en la incertidumbre del método.

Se recomienda garantizar el lavado del material de vidrio para evitar contaminación cruzada y mantener la validez del ensayo, además se recomienda seguir los procedimientos establecidos en el laboratorio para la limpieza y mantenimiento de los equipos empleados durante el ensayo.

Se recomienda que el factor del ácido empleado en la determinación de alcalinidad este entre 0,95 y 1,05 para mantener las

condiciones de la validación, en caso de no ser así se debe repetir la preparación de la solución de ácido.

## Referencias bibliográficas

1. APHA, AWWA, WPCF, 2005, “Estándar Methods for Examination of Water and Wasterwatter”, 21th. Ed., Díaz de Santos. pp 2-27 a 2-29, 2-37 a 2-39, 4-146 a 4-155.
2. ATSDR Agency for Toxic Sustances and Disease Registry, 2009, “Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) División de Toxicología ToxFAQ’s”, [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfa.cts123.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfa.cts123.pdf), ( Marzo, 2009)
3. Boqué, R. y Maroto, A., 2004, “El Análisis de la Varianza (ANOVA)”, Grupo de Quimiometría y Cualimetría, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/anovacast.pdf>, (Marzo, 2009)
4. Figueroa M.,2006, “ Determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH – Diesel) en la Capa Superficial de la Columna de Agua en el Sector de la Bahía de Corral y Sitios Aledaños”, Proyecto de titulación previo a la obtención del titulo de Biólogo Marino, Universidad Austral de Chile, Chile , <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fc475d/doc/fc475d.pdf>, (Julio, 2009).
5. Maroto A., Boqué, R., , Riu, J. y Rius, F. X., 2001, “Incertidumbre y Precisión”, Grupo de Quimiometría y Cualimetría, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/incert.pdf>, (Marzo, 2009).
6. Maroto A, 2002, “Incertidumbre en Métodos Analíticos de Rutina”, Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Doctor en Química, Universidad Rovira I Virgili - Tarragona, [http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_URV/AV\\_AILABLE/TDX-0602103-133121//tesis\\_Alicia\\_Maroto.PDF](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_URV/AV_AILABLE/TDX-0602103-133121//tesis_Alicia_Maroto.PDF), (Marzo,2009)

7. Schmid, W. A. y Lazos, R. J., 2004, “Guía para estimar la Incertidumbre de la Medición”, Centro Nacional de Metrología (CENAM), México, [http://www.unalmed.edu.co/fisica/paginas/cursos/paginas\\_cursos/metrologia/documentos/GUM\\_CENAM.pdf](http://www.unalmed.edu.co/fisica/paginas/cursos/paginas_cursos/metrologia/documentos/GUM_CENAM.pdf), (Mayo, 2009).
8. Serrano M., Rodríguez J., Chávez J., Ruiz R.; 2006, “Determinación de Alcalinidad y Acidez en Aguas en el Laboratorio de Ingeniería Sanitaria y Ambiental”, [http://www.des\\_ia.umich.mx/~des\\_ia/fades06/C11.pdf](http://www.des_ia.umich.mx/~des_ia/fades06/C11.pdf) (Mayo, 2009).
9. Snoeyink L., Jenkins D., “Química del Agua”, Editorial Limusa S.A de C.V 1990, Primera Edición en 1998. pag 121-123.
10. Valencia M., 2004, “Determinación de la Dureza Total, Cálcica y Magnésica en Aguas Superficiales y de Consumo por Valoración con Acido Etilendiaminotetraacético EDTA”, Proyecto previo a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas Especialidad Química Analítica, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito – Ecuador, pp 5 – 14, 27, 45, 121 – 123.