



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química
Licenciatura en Química



Estudio de Parámetros de Validación en Métodos Normalizados y no Normalizados en Determinación de Hierro Total, Aluminio y Color en Agua.

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito para optar al Título de Licenciada en Química

Autor: Gleidys C. Ruiz Pérez

Tutor Académico: Dr. José Jiménez

Tutor Industrial: Ing. Ledis Díaz

Octubre, 2007



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química
Licenciatura en Química

Estudio de Parámetros de Validación en Métodos Normalizados y no Normalizados en Determinación de Hierro Total, Aluminio y Color en Agua.

Autor: Gleidys C. Ruiz Pérez

RESUMEN

Se realizó el estudio de los parámetros estadísticos de validación de los métodos normalizados y no normalizados: **determinación de hierro total** (*fenantrolina y ferrover*), **aluminio** (*eriocromo cianina R*), en muestras de aguas crudas y tratadas, empleando espectrofotometría de uv-visible y medición del **color** por *comparación visual*, que son utilizados rutinariamente en el laboratorio de análisis fisicoquímicos perteneciente a la gerencia de captación, tratamiento y mantenimiento de Hidrocentro en el estado Aragua. Igualmente se evaluó el efecto de interferencia para cada una de las metodologías y se realizó un estudio de efecto matriz con muestras de agua cruda y tratada de la planta de potabilización Pie de Cerro. Por otro lado, se realizó una comparación entre el método normalizado y no normalizado para la determinación de hierro total, con la finalidad de proponer qué método resulta más ventajoso como aplicación rutinaria y cual ofrece las mejores figuras de méritos de validación.

Se reporta, con un nivel de confianza de 95%, para los métodos evaluados: *límite de detección*, *límite de cuantificación*, *sensibilidad*, *linealidad*, *exactitud* (recuperación), *precisión* (repetibilidad y reproducibilidad) e *incertidumbre*. Se realizaron pruebas de



contrastes (F y *t de Students*) para comparación de pendientes y comparación de métodos por recta de regresión, junto con un estudio de medias y una evaluación económica y de tiempo, para la comparación de los métodos normalizado y no normalizado de determinación de hierro total.

Se encontró, buena precisión para las cuatro metodologías estudiadas, con mejores resultados para el método de determinación de hierro total normalizado. También se obtuvo buena linealidad y comportamiento constante en todo el intervalo de concentraciones trabajado. Los límites de detección y cuantificación obtenidos permiten determinar sin inconvenientes las concentraciones límites establecidas en las gacetas oficiales para aguas crudas y tratadas.

Se encontró un efecto de interferencia significativo en el método de ferover. Observándose solo efecto matriz, en el método de eriocromo cianina R, para determinación de aluminio. Por otro lado, con respecto a la comparación de los métodos normalizado y no normalizado para la determinación de hierro total, se concluyó, de acuerdo a los resultados obtenidos de costo y tiempo, aplicar el método ferover (no normalizado), a pesar de que el método de fenantrolina presentó mejor precisión.



*Con Todo el Amor del mundo:
A Dios y a mi Madre*



Agradecimientos

A Dios, por haberme dado la dicha de existir en este maravilloso mundo, y por ser mi guía en este camino lleno de tropiezos, virtudes y al final de éxito que es lo más importante.

A mi madre, por estar siempre conmigo apoyándome y principalmente por haberme llevado con su lucha hasta lo que ahora soy. Gracias por ser un ser inseparable de mi existencia.

A mi padre, porque a pesar de no estar siempre a mi lado, me ha dado su apoyo y me ha comprendido en los momentos cuando más lo he necesitado. Gracias por estar aquí.

A Gabriel, simplemente por su paciencia y comprensión a lo largo de este camino que hemos llevado juntos.

A mis tíos, que de alguna manera, han sido pilares importantes de mi vida.

A mi tutor y gran amigo, José Jimenez (JJ) que fue mi guía profesional en el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos, Eiling, Jennifer, Julymar, Jorge, Victoria, Yaneth, y Odlanyer y demás compañeros que de una manera u otra han compartido a mi lado este camino y han sido pieza clave de mi triunfo.

Al personal de Hidrocentro, que nombrarlos sería un compromiso, por haberme brindado su apoyo y toda su colaboración; y del cual no solo me llevo conocimientos sino también amigos y buenos consejos. Además gracias por haber dejado en mis manos una responsabilidad tan grande y permitir cumplir con mi último requisito para graduarme como lo es este trabajo especial de grado.

...A todos ustedes simplemente gracias...



ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	
I.1. Planteamiento del problema y justificación.....	14
I.2. Objetivo General.....	17
I.3. Objetivos Específicos.....	17
I.4. Alcance del Estudio.....	18
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES	
II.1. Validación de métodos para la determinación de fósforo y nitrógeno amoniacal.....	22
II.2. Incertidumbres de mediciones químicas.....	22
II.3. Validación de métodos estandarizados aplicados en muestras de aguas servidas.....	23
II.4. Validación del método normalizado para determinar Fe, Mn y Zn por espectrometría de absorción atómica.....	23
II.5. Desarrollo de una nueva metodología para la determinación de quinolonas en alimentos de origen animal.....	24
II.6. Hexacianoferrato (II) como un patrón en la determinación de hierro total en agua potable.....	24
II.7. Determinación de aluminio en muestras de agua.....	25
CAPÍTULO III. HIDROCENTRO Y EL AGUA	
III.1 El Agua.....	27
III.2. Sistema de Tratamiento de Agua Regional del Centro.....	30
III.3. Compromiso con el desarrollo social de Hydrocentro.....	31
III.4. Planta de Potabilización Pie de Cerro.....	32



Contenido	Página
CAPÍTULO IV. ACREDITACIÓN Y VALIDACIÓN	
IV.1. Organización Estándar Internacional (ISO).....	38
IV.2. Norma Internacional de Estandarización ISO 17025.....	39
IV.3. Acreditación.....	41
IV.4. Certificación.....	41
IV.5. Comparación entre las normas ISO 17025 y ISO 9001.....	42
IV.6. Beneficios de la Acreditación de la norma ISO 17025.....	43
IV.7. Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable.....	43
IV.8. Validación de un Método.....	44
IV.9. Proceso de Validación.....	45
IV.9.1 Necesidad Analítica (método).....	46
IV.9.2 Puesta a Punto.....	47
IV.9.3 Elección de parámetros de validación. Fijación de objetivos.....	47
IV.9.4 Diseño Experimental y Estadística.....	48
IV.9.5 Tratamiento Estadístico de Datos Obtenidos.....	51
IV. 10. Método de Adición Estándar.....	62
IV. 11. Complemento de estadística para la validación de métodos analíticos.....	63
CAPÍTULO V. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE LOS PÁRAMETROS FISÍCOQUÍMICOS EN AGUAS	
V. 1. Método Estandarizado Para la Determinación de Aluminio	
3500 – Al B. Método de Eriocromo Cianina R.....	70
V.1.1 Principio.....	70
V.1.2 Interferencias conocidas.....	70
V. 2. Método Estandarizado Para la Determinación de Hierro Total	
3500 – Fe B. Método de Fenantrolina.....	71
V.2.1 Principio.....	72
V.2.2 Interferencias conocidas.....	72



Contenido	Página
V.3. Método no Estandarizado Para la Determinación de Hierro Total	
Método FerroVer.....	73
V.3.1 Interferencias conocidas.....	73
V.4. Método Estandarizado Para la Determinación de Color	
2120 B. Método de Comparación Visual.....	74
V.4.1 Principio.....	75
V.4.2. Interferencias conocidas.....	75

CAPÍTULO VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

VI.1.- Estrategias empleadas y actividades desarrolladas.....	78
VI.2.- Determinación de los Parámetros Estadísticos de Validación.....	79
VI.3.- Análisis de Efecto Matriz.....	80
VI.4.- Análisis de Interferencia.....	80
VI.5.- Comparación de Métodos.....	81
VI.6.- Materiales, reactivos y equipos.....	82

CAPÍTULO VII. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

VII.1. Determinación y evaluación de los parámetros estadísticos de validación en los métodos de determinación de hierro total, aluminio y color en agua.....	86
VII.2. Análisis de Interferencias sobre los Métodos Estandarizados y no Estandarizados para la determinación de Aluminio, Hierro total y Color en Agua.....	99
VII.2.1. Determinación de Hierro total a través del Método de Fenantrolina.....	100
VII.2.2. Determinación de Aluminio a través del Método de Eriocromo Cianina R.....	106
VII.2.3. Determinación de Hierro total a través del Método de Ferrover.....	109
VII.3 Comparación de los parámetros estadísticos de validación entre el método de determinación de hierro total normalizado y el método de determinación de hierro total no normalizado.....	113



Contenido	Página
VII.4 Estudio de Efecto Matriz en las determinaciones de hierro total y Aluminio en aguas.....	125
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	130
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	133
APÉNDICE A.....	136
APÉNDICE B.....	138
ANEXO A.....	139
ANEXO B.....	142



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1.- Máximos aceptables de los parámetros fisicoquímicos	16
Tabla 2.- Rango de concentraciones que marcan el intervalo de trabajo en cada método a estudiar	20
Tabla 3.- Componentes del Sistema Regional del Centro I.....	30
Tabla 4.- Componentes relativos a la calidad organolépticos del agua potable	44
Tabla 5.- Esquema de diseño experimental para la determinación de los parámetros de validación.	50
Tabla 6.- Factor de riesgo	59
Tabla 7.- Modelo para el Análisis Simple de Varianza.....	60
Tabla 8.- Modelos matemáticos para un análisis simple de varianza.....	61
Tabla 9.- valores de los coeficientes de reproducibilidad reportados por el Standard Methods.	91
Tabla 10.- Concentraciones y unidades de color establecidas para el hierro, aluminio y color respectivamente impuestas por la Gaceta Oficial N° 5021 de la República Bolivariana de Venezuela.....	93
Tabla 11.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado de hierro total	94
Tabla 12.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado de aluminio.....	94
Tabla 13.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado del color real.....	94
Tabla 14.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado del color aparente.....	95
Tabla 15.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método no normalizado de hierro total.....	95
Tabla 16.- Incertidumbres expandidas obtenidas en la determinación de cada analito en agua por las diferentes metodologías empleadas.....	96
Tabla 17.- Valores de las incertidumbres requeridas	98
Tabla 18.- Límites de confianza (LC) superior e inferior para la recta de regresión en la comparación del análisis de interferencia de fosfato en la determinación de hierro total estandarizado	103
Tabla 19.- Valores determinados para las pruebas de significación (F y t de students) en la determinación del efecto de interferencia del fosfato sobre el análisis de hierro total	104
Tabla 20.- Parámetros estadísticos de comparación en el efecto de fosfato sobre la determinación de hierro total.....	105
Tabla 21.- Valores Límite recomendados para el contenido de fluoruro en mg/L.....	106



Tabla 22.- Valores determinados para las pruebas de significación (F y t de students) en la determinación del efecto de interferencia del calcio sobre la determinación de hierro total no estandarizado	111
Tabla 23.- Límites de confianza (LC) superior e inferior para la recta de regresión en la comparación del análisis de interferencia del calcio en la determinación de hierro total no normalizado	112
Tabla 24.- Parámetros de funcionamiento empleados para la comparación de los métodos normalizados y no normalizados para la determinación de hierro total en aguas.	114
Tabla 25.- sensibilidad de los métodos de determinación de hierro total normalizado y no normalizado por día de validación	114
Tabla 26.- Comparación de costo por reactivos de los métodos de determinación de hierro tota.	117
Tabla 27.- Costo por cristalería empleando el método de fenantrolina.....	118
Tabla 28.- Costo por cristalería empleando el método ferover.....	119
Tabla 29.- Costo del uso de los equipos por muestra y el tiempo de aplicación.....	121
Tabla 30.- Tiempo mínimo requerido por muestra aplicando los métodos de Fenantrolina y ferover para determinar hierro total.	121
Tabla 31.- Costo por personal por análisis de una muestra.....	122
Tabla 32.- Precio total por muestra analizada empleando cada método evaluado.....	123
Tabla 33.- Valores determinados en la comparación de pendientes en la determinación del efecto matriz	125



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1.- Diagrama de flujo de la Planta de Potabilización Pie de Cerro	36
Figura 2.- Límites de especificación.....	58
Figura 3.- El uso de rectas de regresión para comparar dos métodos analíticos: (a) muestra una concordancia perfecta entre dos métodos para todas las muestras; (b) a (f) ilustran los resultados de varios tipos de errores sistemáticos.....	67
Figura 4.- Valores obtenidos en la determinación del color en la planta de potabilización Pie de Cerro durante el año 2006. Fuente: Hidrocentro, 2006	88
Figura 5.- Valores obtenidos en la determinación de hierro total y aluminio en muestras de agua tratada proveniente de la planta de potabilización Pie de Cerro durante el año 2006. Fuente: Hidrocentro, 2006.....	88
Figura 6.- Curva de Calibración para la Determinación de Hierro Total añadiendo el interferente fosfato a los patrones.....	101
Figura 7.- Curva de calibración externa para el análisis de hierro total.	101
Figura 8.- Recta de regresión para la comparación de las curvas de calibración en el análisis de interferencia en la determinación de hierro total estandarizado.	102
Figura 9.- Curva de corrección para la estimación de aluminio en presencia de fluoruro. Fuente: Standard Methods “For Examination of Water and Wastewater”, 2005.....	107
Figura 10.- curva de calibración para la determinación de hierro total HACH añadiendo el interferente.....	110
Figura 11.- Curva de calibración para la determinación de hierro total HACH sin el interferente.....	110
Figura 12.- Recta de regresión para la comparación del efecto de interferencia en al determinación de hierro total por el método no normalizado.....	112
Figura 13.- Distribución porcentual del costo para un análisis de hierro total.....	124
Figura 14.- Distribución porcentual del costo para un análisis de hierro total empleando el método ferover.	124
Figura 15.-Análisis de efecto matriz en la determinación de hierro total empleando el método normalizado en el agua cruda de la Planta de Potabilización Pie de Cerro...	126
Figura 16.-Análisis de efecto matriz en la determinación de hierro total empleando el método no normalizado en el agua cruda de la Planta de Potabilización Pie de Cerro.	127
Figura 17.-Análisis de efecto matriz en la determinación de aluminio empleando el método normalizado en el agua tratada de la Planta de Potabilización Pie de Cerro.....	127



CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

En este Capítulo se aborda el planteamiento del problema y la justificación del mismo, apoyándose en conceptos fundamentales, como: qué es el agua; la descripción de las necesidades de las de la C.A Hidrológica del Centro con respecto a la acreditación, sus propósitos y la importancia de dicha acreditación; entre otros aspectos que definen la situación que va a ser estudiada y desarrollada. Por otro lado, también se encontraran los objetivos generales y específicos, así como el alcance del problema.



I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El agua es un recurso natural renovable, una sustancia muy sencilla que posee un conjunto de propiedades características que la hacen única lo que unido a su abundancia le otorgan una gran importancia en el ciclo biológico del planeta. El agua esta formada por hidrógeno y oxígeno, sin embargo puede contener otros tipos de materia como el hierro, el aluminio y sustancias que van desde compuestos más simples hasta microorganismos, que no solo son capaces de alterar las propiedades organolépticas del agua, como el color y el olor, sino que además son perjudiciales para la salud. El agua apta para el consumo humano es denominada agua potable.

La C. A. HIDROLOGICA DEL CENTRO (HIDROCENTRO), denominada así luego de cambiar la razón social de la empresa Instituto Nacional de Obras Sanitarias (INOS) el 28 de diciembre de 1990; es la empresa encargada de operar los sistemas de abastecimiento de agua potable, recolección y disposición de aguas servidas de los estados Aragua, Carabobo y Cojedes. A fin de obtener la acreditación en el Laboratorio Estatal Aragua perteneciente a la Gerencia de Captación, Tratamiento y Mantenimiento de dicha empresa, se esta llevando a cabo la validación de los métodos de análisis en aguas, garantizando con ello la calidad y confiabilidad de los resultados, que en los mismos son emitidos, siguiendo los lineamientos contenidos en la norma internacional ISO/IEC 17025:2005, que contienen los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Dicha norma es usada por los laboratorios en el desarrollo de sus sistemas de calidad, administrativo y técnicos que rijan sus operaciones y además su aplicación es independiente del número de personal o la magnitud del alcance de las actividades de ensayo y/o calibración que se realizan.

Es importante destacar que existen muchos factores que determinan la exactitud y confiabilidad de los ensayos y/o calibraciones realizadas por un laboratorio. Estos factores incluyen contribuciones de: factor humano, instalaciones y condiciones ambientales, equipos, trazabilidad de las mediciones que se realicen, muestreo, manejo de ítems y métodos de ensayo y calibración y validación de los métodos empleados; el laboratorio debe tomar en cuenta estos factores en el desarrollo de los métodos y procedimientos de



ensayo y calibración, en la formación y calificación del personal y en la selección y calibración del equipo que se utiliza. La validación de los métodos de análisis en aguas, va a ser la que les permitirá la confirmación por examen y la provisión de evidencias objetivas de que los requisitos particulares para dicho uso específico son cumplidos. Cabe destacar según la norma ISO/IEC 17025:2005, que todos los métodos deben ser validados, tales como:

- Métodos no normalizados.
- Métodos diseñados / desarrollados por el laboratorio.
- Métodos normalizados usados fuera de su alcance proyectado.
- Ampliaciones y modificaciones de métodos normalizados.

Es por ello, que en este trabajo se realizó el estudio de los parámetros estadísticos de validación, para los métodos normalizados de determinación de hierro total, aluminio y color y no normalizado para hierro total, a fin de cumplir con este requisito. Y por otro lado se realizó la comparación de los parámetros determinados, que definieron la precisión del método normalizado con respecto al no normalizado, además se confirmó su ajuste al uso propuesto. El método no normalizado es conocido como método de la HACH, generalmente es empleado en colorimetría y desarrollado con el objeto de simplificar y hacer más práctico el trabajo del analista en el laboratorio, por ello se utiliza con mas frecuencia, lo que se consideró como otra razón mas de peso para ser validado, ya que al igual que con los métodos normalizados, se garantizaría así la calidad de los resultados emitidos por el Laboratorio Estatal Aragua de HIDROCENTRO.

La determinación de aluminio, hierro y color en aguas son de gran importancia, ya que con ello se garantiza la calidad del agua destinada al consumo humano, que es el activo más importante de la empresa. Se conoce que el hierro total, cuando se encuentra en una concentración mayor a 0.3 mg/L, puede producir sales ferrosas insoluble de óxido color rojizo, por otro lado el agua puede presentar un sabor desagradable y manchar la ropa de lavado y artefactos, además el hierro favorece el crecimiento de las bacterias que depositan un revestimiento viscoso en las tuberías. En el caso del aluminio, debido a que las sales de aluminio son empleadas para la remoción del color y turbiedad en el agua, es posible que



queden resto de estas en la misma. Cuando los niveles de aluminio son mayores a 0.3 mg/L suele ser indicativo de fallas en las etapas de coagulación, floculación, sedimentación o filtración en el tratamiento. El color es un indicativo de la presencia de materia en estado de solución que proviene de la descomposición y extracción acuosa de la vegetación; con la determinación del color se tiene una gran idea de la calidad del agua, ya que un color amarillo es indicativo de ácidos orgánicos (cuencas altas, quebradas). La solución del color se recomienda en cada fase del proceso de potabilización del agua, donde la decoloración se consigue por coagulación, por absorción con carbón activado y por oxidación. La tabla que se presenta a continuación contiene los valores máximos permisibles de hierro, aluminio y color en agua potable.

Tabla 1.- Máximos aceptables de los parámetros fisicoquímicos

<i>Parámetro</i>	<i>Máximo aceptable (mg/L)*</i>
Aluminio	0.2
Hierro total	0.3 (1.0)
Color	15 (25)

* Máximos aceptable según gaceta Oficial # 36395 de la República de Venezuela de fecha 13/02/98

En consecuencia, el propósito del presente trabajo se fundamentó en el desarrollo de la validación de los métodos de determinación de hierro, aluminio y color en aguas como parte del cumplimiento de los requisitos de la norma que en el laboratorio se desea implantar y cumplir con la finalidad de obtener el mayor provecho a los diferentes aspectos que caracterizan una acreditación, como son: el reconocimiento formal de la competencia técnica del laboratorio para realizar ensayos o calibraciones, facilitar la cooperación entre laboratorios y otros organismos nacionales e internacionales, promover la confianza entre las empresas, ofrecer confiabilidad a los clientes y consumidores, facilitar la eliminación de barreras arancelarias para el comercio entre países, la aceptación de los resultados de ensayo y calibración entre países y la participación en el intercambio de información y experiencia, así como la armonización de normas y procedimientos.



El compromiso de la C.A. Hidrológica del Centro de obtener la acreditación, va mas allá de ser un organismo al que se le ha otorgado un reconocimiento, que lo caracteriza como competente para llevar a cabo tareas específicas. Si bien es cierto es solo uno de los propósitos que se quiere alcanzar y que se ha venido desarrollando, ya que existen otros tipos de actividades. Acreditarse, significa proceso de mejora continua y ser reconocido como experto dentro de la organización, garantizando así la calidad y excelencia que contribuyen a la rentabilidad social, es decir, agregar valor al proceso de desarrollo social.

Habiendo conocido cada uno de los argumentos que justificaron y le dieron importancia al presente estudio y evaluación, además de las necesidades y alcance del Laboratorio Estatal Aragua, perteneciente a la gerencia de Captación, Tratamiento y mantenimiento de HIDROCENTRO, se plantean a continuación los objetivos general y específicos que se llevaron a cabo durante el estudio que definió la validación de los métodos a analizados y con ello la posibilidad de obtener la acreditación.

I.2. OBJETIVO GENERAL

Estudiar los parámetros de validación de los métodos normalizados y no normalizados para la determinación de hierro, aluminio y color en aguas, bajo requerimientos de la acreditación de la norma ISO/IEC 17025:2005, en la Coordinación del Laboratorio Estatal Aragua perteneciente a la Gerencia de Captación, Tratamiento y Mantenimiento de la C. A. Hidrológica del Centro (Hidrocentro).

I.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

I.3.1. Determinar los parámetros estadísticos de validación: intervalo de trabajo, linealidad, función de respuesta, selectividad, precisión, exactitud, límite de detección y de cuantificación de los datos obtenidos en los métodos normalizados de color, hierro y aluminio, así como también en los métodos HACH aplicados solo para hierro, basándose en



los conocimientos científicos de los principios teóricos de los mismos y en las experiencias prácticas.

I.3.2. Establecer la influencia de las interferencias descritas en los métodos normalizados 3500-Fe B. Método de Fenantrolina, para la determinación de hierro total, 3500-Al B. Método de Erio Cromo Cianina R, para la determinación de aluminio, 2120 B. Método de Comparación Visual, para la determinación de color y no normalizado Método de Ferrover, para la determinación de hierro total, evaluando causas y efectos en cada uno de ellos.

I.3.3. Comparar los parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado para la determinación de hierro, con los obtenidos en el método aplicado a través de los reactivos HACH empleados en análisis colorimétrico en el laboratorio.

I.3.4. Estudiar el efecto de la matriz sobre cada uno de los métodos validados.

I.3.5 Establecer a través del resultado de los parámetros estadísticos de validación, si cada uno de los métodos son adecuados o no para el uso previsto, en el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro.

I.4. ALCANCE DEL ESTUDIO

Tal y como se describió en los objetivos planteados, el trabajo se desarrolló específicamente para estudiar y evaluar los parámetros estadísticos de validación, en los métodos de determinación de aluminio estandarizados, hierro total estandarizado y no estandarizado, y determinación de color estandarizado. Dichos parámetros se conocen como: *intervalo de trabajo, linealidad, función de respuesta, selectividad, especificidad, precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbres*. Todo ello, debido a que los métodos a estudiar se clasifican como un ensayo de determinación cuantitativa de un componente, excepto el método de determinación de color. Los resultados obtenidos emitieron la información necesaria para complementar parte de los requisitos exigidos por la norma venezolana ISO/IEC 17025:2005 para que pueda ser otorgada la acreditación, que es una de las metas más próxima de la C.A. Hidrológica del



Centro. Específicamente los métodos, sobre los que se llevó a cabo el estudio de los parámetros estadísticos de validación en este trabajo, se presentan a continuación:

- ✓ 3500-Fe B. Método de Fenantrolina
- ✓ 3500-Al B. Método de Erio Cromo Cianina R
- ✓ 2120 B. Método de Comparación visual
- ✓ Método de Ferrover

No obstante, se debe tener presente que la validación de un método analítico se considera una actividad continua que se alimenta, fundamentalmente de los datos que se obtienen de las actividades que se realizan en el terreno de la calibración y el control de calidad, por lo que es importante destacar la posibilidad de que ocurran cambios en los métodos y se deba, por ende, realizar un nuevo estudio y evaluación, adaptando dichos cambios a los parámetros estadísticos determinados.

En general, todos los métodos necesitan ser conocidos por el laboratorio que los utilizan y ser validados, para establecer sus límites de aplicación y los parámetros que se van a utilizar para su control.

Por otro lado, también se llevó a cabo análisis de interferencias y efecto matriz, a través de ensayos de adición de los interferentes conocidos, a las concentraciones descritas en el método y a través de la adición estándar de los analitos de interés respectivamente. El estudio de efecto de la matriz se realizó en muestras de aguas provenientes de la planta de potabilización Pie de Cerro de la Victoria en el estado Aragua, específicamente entrada y salida de planta, estas muestras son captadas cada mes y el agua de entrada presentan por lo general una matriz compleja, mas sin embargo hay que destacar que se tomó en cuenta el agua de salida de la planta, para realizar el análisis de determinación de aluminio, debido a que solamente a este tipo de muestras, el Laboratorio Estatal Aragua realiza la determinación de este analito, ya que para efecto de interés de la C. A. Hidrológica del Centro, este parámetro es un indicativo de, si existen o no fallas en el proceso de potabilización, y además aún cuando pueda existir la presencia de aluminio en las aguas superficiales, a criterio del laboratorio y de otro tipo de consideraciones poco relevantes, no es necesario realizar análisis de aluminio porque pueden hasta llegar a ser indetectables por el método. Las muestras que se analizaron, según Decreto N° 883 de la Gaceta de la



República Bolivariana de Venezuela N° 5.021, se clasifican como aguas tipo 1A, ya que son aguas destinadas al uso doméstico y al uso industrial que requiera de agua potable, siempre que ésta forme parte de un producto o sub-producto destinado al consumo humano o que entre en contacto con él. También desde el punto de vista sanitario pueden ser acondicionadas con la sola adición de desinfectante. Los análisis antes mencionados se estarán desarrollando a partir de la culminación de todos los estudios de los parámetros estadísticos de validación.

Los rangos de concentraciones que fueron empleados en cada una de las determinaciones son los siguientes:

Tabla 2.- Rango de concentraciones que marcan el intervalo de trabajo en cada método a estudiar

Método	Rango de Concentración (mg/L)
3500-Fe B. Método de Fenantrolina	0-2
3500-Al B. Método de Erio Cromo Cianina R	0-0.3
2120 B. Método de Comparación Visual	5-70*
Método de Ferrover	0-2.0

* Las medidas de color se realizan en UC (unidades de Color Cobalto-Platino)



CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

Como se ha mencionado anteriormente el agua es un recurso natural de gran importancia para el ser humano, porque representa vida, y de allí la inquietud de evitar su contaminación y de garantizar como lo es para el caso de Hidrocentro y para muchos otros también la calidad de la misma, lo que a su vez trae como consecuencia la elaboración de numerosos estudios e investigaciones al respecto, tanto en Venezuela como en el resto de los países que conforman el mundo. A continuación, se presentan algunas de estos estudios e investigaciones de interés y que están relacionados con el desarrollo de este trabajo especial de grado.



II.1 En el 2005, la Lic. Natalie Lizák¹, realizó un trabajo de investigación donde se enfoca la validación de métodos estandarizados para la determinación de fósforo y nitrógeno amoniacal en el embalse Pao-Cachinche para garantizar la trazabilidad de las mediciones, al analizar y determinar estos elementos en las aguas de dicho embalse; siguiendo los lineamientos de la Norma ISO 17025. Finalmente, este estudio permite concluir que según los parámetros de validación en estudio, los métodos aplicados se encuentran dentro de los lineamientos de validación y por lo tanto son aplicables. Es importante destacar que dicho trabajo de investigación al igual que el que se está presentando, representa el cumplimiento de alguno de los lineamientos dentro de los requisitos técnicos, que hidrocentro debe cumplir para obtener la acreditación por la Norma ISO/IEC 17025:2005, y que además las bases teóricas y estadísticas que han de emplearse están bajo las mismas normas contenidas en la Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Tópicos relacionados.

II.2 En el 2005, el Lic. Kelim Vano², desarrolló una investigación que consistió en el análisis de las fuentes más significativas de incertidumbres en mediciones químicas obtenidas de la aplicación de diferentes métodos analíticos de rutina de un laboratorio de alimentos; identificándose todas las posibles fuentes de incertidumbres y ejecutando ensayos para evaluar la ejecución de cada fuente, a propósito de disminuirlas y controlarlas. Al igual que en el presente trabajo de investigación, se determinaron las incertidumbres expandidas considerando el factor de cobertura K a un nivel de confianza del 95 %. Finalmente, los resultados obtenidos indicaron que la fuente de mayor contribución en métodos gravimétricos es debida a la linealidad de la balanza y es posible reducir la incertidumbre hasta en un 70% por medio de un ajuste diario de la balanza; en métodos volumétricos es debida al material volumétrico en conjunto con la linealidad de la balanza y es posible reducir la incertidumbre hasta en un 25 %, usando material clase A y ajustando a diario la balanza; mientras que en los métodos cromatográficos se redujo la incertidumbre en 72% por ajuste diario de la balanza. Es importante destacar que dicho trabajo de investigación, permitió conocer detalles relevantes acerca de la determinación de las incertidumbres requeridas, cuya



información se empleó para obtener un estimado del comportamiento de los métodos estudiados con respecto a este parámetro.

II.3 En el 2006, la Lic. Marielis Mundarain³, elaboró un trabajo de validación para métodos estandarizados aplicados en muestras de aguas servidas. Específicamente los métodos analíticos nitrógeno Kjeldahl, sólidos totales y demanda bioquímica de oxígeno (DBO), en muestras de aguas servidas provenientes de la planta la mariposa. No sólo se desarrolló el trabajo de validación sino que además se estudio el efecto de las principales variables de cada método, mediante un estudio de robustez, donde la variable que más influyó en el método de nitrógeno Kjeldahl fue la agitación durante la medición de la muestra, para el método de sólidos totales y DBO las variables críticas estudiadas para cada uno de ellos no presentaron un efecto significativo; por otro lado se llevó a cabo un estudio de efecto matriz, para el cual se observó efecto de interferencias sobre los métodos de nitrógeno Kjeldahl y DBO, el método de sólidos totales no se sometió a dicho estudio por no contar con el Material de Referencia requerido para el mismo. Cabe destacar, que el estudio realizado por la licenciada Marielis Mundarain, es también un paso más destinado hacia la acreditación de Hidrocentro por la Norma ISO/IEC 17025:2005.

II.4 En el 2006, la Lic. Aurimar Laurens⁴, desarrolló una validación de métodos estandarizados para la determinación de Hierro, Manganeso y Cinc mediante Espectrometría de Absorción Atómica en el Embalse Guataparo según lineamientos de la norma ISO 17025:2005. En lo que respecta a los resultados se obtuvo una buena precisión para las tres metodologías estudiadas; buena linealidad y comportamiento constante de esta, en todo el intervalo de concentraciones trabajado. Los límites de detección y cuantificación obtenidos, permiten poder determinar sin inconvenientes las concentraciones límites establecidas en gaceta oficial. Por último, el efecto matriz se ve reflejado en los tres metales en estudio, por lo que la determinación de estos metales en el agua del Embalse Guataparo debe realizarse empleando curvas de adición estándar. En el trabajo realizado por la licenciada Aurimar Laurens, se ha de notar que uno de los



métodos trabajado fue el método de determinación de hierro, el cual también se va a desarrollar en el presente estudio, con la diferencia, de que el método aplicado es colorimétrico por espectrofotometría de UV-Visible a otras condiciones de trabajo por lo cual se requiere de que un método sea validado nuevamente.

Además de los trabajos presentados anteriormente, también existen otras investigaciones internacionales, las cuales contienen información específica con respecto a los métodos empleados para la determinación del analito de interés en agua y procesos de validación. Estos son:

II.5 En el 2006, Mohammed Karim Hassouan⁵ desarrolló una nueva metodología analítica para la determinación de quinolonas en alimentos de origen animal. De acuerdo a las propiedades analíticas de dichos compuestos, se seleccionó la cromatografía líquida con detección fluorimétrica como técnica analítica, la cual fue no solo desarrollada sino también optimizada y validada, consiguiendo buenas características (sensibilidad y selectividad). En la evaluación del método seleccionado se realizó un test de comparación de pendientes, que proporcionó conocimientos acerca de herramientas estadísticas, importantes para el cumplimiento de alguno de los objetivos de este trabajo de investigación; como por ejemplo, la evaluación del efecto de interferencia y el efecto matriz en los métodos normalizados y no normalizados para la determinación de hierro total, aluminio y color en agua.

II.6 En el 2006, Jan Jezek , John W. Dilleen, Barry G.D. Haggett, Arnold G. Fogg y Brian J. Birch⁶, desarrollaron una investigación acerca del Hexacianoferrato (II) como un patrón en la determinación de hierro total en agua potable, en forma de complejo con 1,10-fenantrolina, la determinación se realizó empleando un sensor de carbono. Alguno de los aspectos más importantes destacados en este trabajo de investigación, fue la simplificación del uso de reactivos aplicados en el tratamiento y la determinación de hierro total en agua, además de que era mas práctico y fácilmente de aplicar. El aspecto de interés de esta investigación para efectos de desarrollo del presente trabajo,



es el tratamiento químico de la muestra, el cual consiste en la reducción del hierro para complejarse con la 1,10-fenantrolina tal y como se muestra en la reacción 1 (ver página 72)

II.7 En el 2007, Juliette Tria, Edward C.V. Butler, Paul R. Hadad y Andrew R. Bowie⁷, llevaron a cabo la determinación de aluminio en muestras de aguas, a través de diferentes técnicas como: espectroscopia atómica, voltametría, cromatografía de gas, espectrofotometría de UV-Visible y fluorometría empleando varios acomplejantes. Entre estas técnicas empleadas, es de interés, para efectos de este trabajo, la técnica de determinación de aluminio por espectrofotometría de UV-Visible, que es la misma que se emplea en este estudio, la cual trabaja bajo el principio de absorción de luz UV-Visible selectivamente sobre las trazas de iones metálicos, especialmente después de la formación de complejos organometálicos, en este caso específico se emplea el complejo formado entre aluminio y Eriocromo Cianina R.



CAPÍTULO III

HIDROCENTRO Y EL AGUA

En este Capítulo se presenta una breve revisión bibliográfica que expone quién es HIDROCENTRO, que lleva a cabo como empresa, cuales son sus objetivos y propósitos además, los valores que la caracterizan. Por otro lado, se encontrará de manera resumida qué representa el agua en nuestras vida y a través de que procesos y métodos Hidrocentro garantiza la calidad de la misma.



III.1. EL AGUA⁸

El agua como sustancia química está compuesta por dos moléculas de hidrógeno y una de oxígeno, con la fórmula H_2O . Es una sustancia compuesta relativamente abundante en el planeta Tierra. Existe en varias formas y lugares, principalmente en los océanos y las capas polares, pero también en nubes, lluvia y ríos

El agua es la única sustancia que se encuentra en la Tierra de manera natural en los tres estados materiales (gas, líquido y sólido). El agua no tiene color, olor ni sabor. Al agua químicamente pura se le llama agua destilada, y ésta no tiene sustancias disueltas; es nada más que H_2O .

El punto de ebullición del agua a nivel del mar es de $100^{\circ}C$, y su punto de congelación es de $0^{\circ}C$. La densidad máxima del agua líquida es 1 g/ml , alcanzándose este valor a una temperatura de $4^{\circ}C$; la densidad del agua sólida es menor a la del agua líquida, $0,917\text{ g/ml}$.

El agua ocupa tres cuartas partes de la Tierra. El 3% de esta es dulce. De ese 3%, un 1% está en estado líquido, componiendo los ríos y lagos. El 2% restante se encuentra en los polos geográficos de la Tierra.

El agua tiene una tensión superficial muy elevada. El calor específico del agua es de $1\text{ cal/}^{\circ}C\cdot\text{g}$. El agua es considerada un disolvente universal, ya que es el líquido que más sustancias disuelve, lo que tiene que ver con que es una molécula polar. Las moléculas de agua están unidas por lo que se llama puentes de hidrógeno.

El agua por ser una fuente vital de alta demanda mundial, debido a la gran cantidad de funciones industriales y de servicio higiénico del hombre, presenta un cierto grado de contaminación luego de ser utilizada en actividades humanas, trayendo como consecuencia la contaminación de la misma con agentes tóxicos que desestabilizan el equilibrio medio ambiental. Es por eso, que es necesaria la potabilización del agua, la cual consiste en un proceso que consta de varias etapas o tratamientos, con el fin de hacerla apta para el consumo humano. Entre dichas etapas se encuentran:



- **Captación:** La captación de aguas superficiales se realiza por medio de tomas de agua que se hacen en los ríos o diques.

El agua proveniente de ríos está expuesta a la incorporación de materiales y microorganismos requiriendo un proceso más complejo para su tratamiento. La turbiedad, el contenido mineral y el grado de contaminación varían según la época del año (en verano el agua de nuestros ríos es más turbia que en invierno).

La captación de aguas subterráneas se efectúa por medio de pozos de bombeo ó perforaciones.

- ✓ **Conducción:** Desde la toma de agua del río hasta los presedimentadores, el agua se conduce por medio de acueductos ó canales abiertos.
- ✓ **Presedimentación:** Esta etapa se realiza en piletas preparadas para retener los sólidos sedimentables (arenas), los sólidos pesados caen al fondo. En su interior, las piletas pueden contener placas o seditubos para tener un mayor contacto con estas partículas. El agua pasa a otra etapa por desborde.
- ✓ **Agregados de Productos Químicos:** El agregado de productos químicos (coagulantes) se realiza para la desestabilización del coloide o turbiedad del agua.
- ✓ **Floculación:** En los floculadores que pueden ser mecánicos o hidráulicos, el producto químico floculante tiene un puente entre las partículas coloidales aglomeradas para formar flóculos más grandes fácilmente asentables.

Los floculadores mecánicos son paletas de grandes dimensiones, y velocidad de mezcla baja. Son hidráulicos con canales en forma de serpentina en la cual se reduce la velocidad de ingreso del agua produciendo la mezcla.



- ✓ **Sedimentación:** La sedimentación se realiza en decantadores o piletas de capacidad variable, según la Planta Potabilizadora. En ellos se produce la decantación de floculos, que precipitan al fondo del decantador formando lodos. Normalmente, el tiempo de retención del agua en esta zona es de 40 minutos a una hora.

Los decantadores o sedimentadores en su tramo final poseen vertederos en los cuales se capta la capa superior del agua que contiene menor turbiedad, por medio de estos vertederos el agua pasa a la zona de filtración.

- ✓ **Filtración:** Un filtro está compuesto por un manto sostén: piedras, granza y arena. La filtración se realiza ingresando el agua sedimentada o decantada por encima del filtro. Por gravedad el agua pasa a través de la arena la cual retiene las impurezas o turbiedad residual que queda en la etapa de decantación.

Una vez que el filtro colmató su capacidad de limpieza, se lava ingresando agua limpia desde la parte inferior del filtro hacia arriba, esto hace que la suciedad retenida en la arena, se despegue de la misma.

- ✓ **Desinfección:** Una vez que el agua fue filtrada, pasa a la reserva, allí se desinfecta según distintos métodos. El más usado es el agregado de Hipoclorito de sodio o de calcio. Debido a la característica química que tiene el cloro de ser un oxidante, se libera oxígeno capaz de matar los agentes patógenos, como bacterias anaeróbicos. Por otro lado, la cloración también puede incidir sobre bacterias aeróbicas y otros tipos de microorganismos. En algunos casos existen quistes que pueden soportar la cloración.

Durante todo el proceso de potabilización se realizan controles analíticos de calidad.



III.2. SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA REGIONAL DEL CENTRO⁹

C.A Hidrológica del Centro (Hidrocentro), cuenta con sistemas de producción de agua potable distribuidos a lo largo de todo el ámbito geográfico que comprende los estados Carabobo, Aragua y Cojedes. En lo que concierne al estado Carabobo, los embalses Guataparo y Pao-Cachinche están dentro del Sistema Regional del Centro I; el cual fue diseñado con la finalidad de suministrar agua potable a las poblaciones de los tres estados.

El Sistema Regional del Centro II presenta un abastecimiento a las zonas de Aragua mediante dos conexiones con el antiguo Sistema Regional del Centro I, la primera en el sector los Guayos frente al Centro comercial Palmi II y la segunda en el sector peaje de Palo Negro.

La fuente principal de abastecimiento del sistema regional del centro es el **Embalse Pao – Cachinche**, el agua allí captada se envía por gravedad a la Estación de Bombeo Cachinche, para luego ser bombeada hasta la Planta Potabilizadora Alejo Zuloaga, en donde se inicia el proceso de potabilización y posterior distribución.

Como segunda y tercera fuente de abastecimiento se encuentra el **Embalse Guataparo** y Dique Toma Río Torito, los cuales funcionan como auxiliares del Embalse Pao – Cachinche. El agua captada en estas fuentes se envía, por gravedad, directamente a la planta de potabilización Alejo Zuloaga. En general, el Sistema Regional del Centro I comprende lo siguiente

Tabla 3.- Componentes del Sistema Regional del Centro I

Embalses	Capacidad de Almacenamiento
Pao Cachinche	179.000.000 m ³
Guataparo	26.000.000 m ³
Planta de Potabilización	Capacidad de Producción (Actual)
Alejo Zuloaga - Convencional	2.880 lts/seg
Alejo Zuloaga - Degremont	3.446 lts/seg



También, cuenta con las siguientes instalaciones: cinco estaciones de bombeo: Cachinche, Red Media, La Florida, Nueva Valencia, Red Alta; seis estanques: (2) San Luis, Castillito, Tinaquillo, La Pedrera, La Florida con diámetros que van desde 24” hasta 54”, y 114.2 Km. de longitud.

III.3. HIDROCENTRO Y SU COMPROMISO CON EL DESARROLLO SOCIAL⁹

La C. A. Hidrológica de Centro, como parte del desarrollo social realiza diversas actividades entre ellas están: ayudar a la formación de profesionales a través de labores como pasantes y tesis en los estados Aragua, Carabobo y Cojedes; desarrollar la participación comunitaria, cuyo objetivo es permitir a la comunidad organizarse legalmente y participar en la solución de su sistema de abastecimiento de agua, y ser una comunidad ya consolidada. Este comité se forma a través de la voluntad de la comunidad elegida en asamblea comunal y donde puede participar cualquier ciudadano; una vez creada la organización esta deberá encargarse de prestar un buen servicio de agua potable para la comunidad, supervisado por sus propios habitantes, conjuntamente con el respaldo técnico de Hidrocentro. También se encuentran las mesas técnicas de aguas conocidas como asociaciones de suscriptores de los servicios de agua potable y saneamiento que pueden constituirse de conformidad a lo establecido en el código civil y a lo que determina el Artículo 75 de la Ley Orgánica para la Prestación de los Servicios de Agua Potable y Saneamiento. Dentro de los objetivos de las mesas técnicas se encuentran: conocer la gestión de los servicios, opinar sobre las propuestas de inversión ante las autoridades nacionales, estatales y municipales, evaluar y supervisar obras destinadas a la prestación de los servicios. Por otro lado existe el programa educativo “EL AGUA ES NUESTRA VIDA”: desarrollado por todas las empresas hidrológicas a nivel nacional. Hidrocentro lo ejecuta en planteles educativos correspondientes a los estados Aragua, Carabobo y Cojedes.

El programa el agua es nuestra vida, es otra de las actividades desarrolladas y se orienta a la divulgación de conocimientos y la aplicación de estrategias, orientaciones didácticas y estímulos recreativos, que permitan el desarrollo y consolidación de una cultura conservacionista a partir de la valorización, importancia y uso racional del agua potable; su



objetivo es implantar contenidos educacionales relacionados con el recurso del agua, con un enfoque conservacionista aplicable a los proyectos pedagógicos de aula, contemplando la ejecución de actividades complementarias como: plomeritos escolares, el cual se trata de la participación de los niños en cursos de plomería básica, y patrulleros del agua, que son grupos de trabajos que desarrollan los principios que conllevan a un conocimiento y uso adecuado del agua potable.

III.4. PLANTA DE POTABILIZACIÓN PIE DE CERRO ¹⁰

Ubicación

- 1. País:** Venezuela
- 2. Nombre de la planta:** Pie de Cerro
- 2. Localización:**
 - a. Ciudad: La Victoria
 - b. Municipio: José Félix Ribas
 - c. Estado: Aragua
- 4. Dirección de la planta:** Sector Pie de Cerro, vía Colonia Tovar
 - a. Distancia de la capital: 145 Km
 - b. Altitud: 790 m.s.n.m.
- 5. Institución propietaria** C.A. Hidrológica del Centro
o administradora: HIDROCENTRO
- 6. Localidades abastecidas:** Casco central de la ciudad y zona industrial Soco

Fuente de abastecimiento, captación, conducción y acondicionamiento previo

7. Fuente de abastecimiento:

a. Río: Gabante y Curtidor

7.1 Tipo de Toma: Superficial, mediante dique toma captador en cada río.

El 100% del tiempo la planta recibe las aguas de ambos ríos mezcladas, aportando el Río Curtidor el 75% del caudal total y el resto aportado por Río Gabante

7.2 Conducción de agua cruda:

- a. Por gravedad: Río Gabante: A través de tubería de $\phi = 8''$, longitud 1.700 m aprox.



Río Curtidor: A través de tubería de $\phi = 10''$, longitud 700 m aprox.

7.3 Desarenador:

	Gabante	Curtidor
Largo (m):	12.00	16.00
Ancho (m):	1.80	4.00
Profundidad (m):	2.00	1.80
Área (m ²):	21.60	64.00
Carga superficial (m ³ /m ² .d):	240	108

Calidad de la fuente

La turbiedad del agua cruda supera las 200 NTU, sin embargo existen reportes donde la turbiedad supera las 2.000 NTU, en cuyo caso la planta se coloca fuera de servicio ya que, por diseño no está en capacidad de operar bajo los valores de turbiedad antes mencionados; por otro lado, el arrastre de sedimentos de los ríos es tal que las unidades de captación se obstruyen frecuentemente, dando lugar a 600 horas efectivas promedio de producción sobre 720 horas promedio (mensual) durante la época de lluvia.

El color y turbiedad aumentan durante la época de lluvia, manteniéndose constante sólo el pH, mientras que la alcalinidad consigue su máximo valor durante el mes de diciembre, decayendo poco en la época de lluvia. El color durante toda la evaluación supera a la turbiedad en casi el doble de los valores.

Características de la planta

8. Caudal de la planta:

8.1 Caudal de proyecto: 150 l/s

8.2 Caudal de operación: 130 l/s

8.3 Caudal máximo con el que opera la planta: 130 l/s. Ésta condición se presenta durante ambas épocas (lluvia y sequía) y cuando la turbiedad del agua cruda es menor a 50 NTU.

8.4 Caudal mínimo con el que opera la planta: 70 l/s. Dicha condición ocurrió durante los períodos secos de los años anteriores a 2004, debido a las pocas precipitaciones ocurridas.



9. *Tipo de planta:*

- 9.1 Patente: Americana
- 9.2 Modalidad: Modular
- 9.3 Tipo CEIPS/OPS: No
- 9.4 Año en que se diseñó: 1.989
- 9.5 Procesos: Pre y Post-Cloración, Coagulación, Floculación, Decantación y Filtración.

10. *Descripción:*

- 10.1 Medidor de Caudal: Macromedidor
 - a. Tipo: Ultrasonido

- 10.2 Mezcla Rápida:
 - a. Tipo: Hidráulica
 - b. Punto de aplicación: En la tubería de entrada a la unidad de floculación

- 10.3 Floculadores:
 - a. Tipo: Flujo vertical ascendente
 - b. Número de unidades: Uno (1)
 - c. Profundidad útil: 4,80 m
 - d. Largo: 2,30 m
 - e. Ancho: 2,30 m
 - f. Área de cada unidad: 5,29 m²
 - g. Tiempo de retención de operación: 3 min.
 - h. Tiempo de retención teórico: 20 min.

- 10.4 Decantadores:
 - a. Tipo: Flujo vertical ascendente
 - b. Número de unidades: Uno (1)
 - c. Profundidad útil: 4,00 m



-
- d. Largo: 17,50 m
 - e. Ancho: 17,50 m
 - f. Área de cada unidad: 300,96 m²
 - g. Tasa superficial teórica: 35 m³/m².d

10.5 Filtros:

- a. Tipo: Tasa constante
- b. Número de unidades: Cuatro (4)
- c. Tipo de lecho filtrante: Mixto (arena y antracita)
- d. Tipo de fondo: Wheeler
- e. Largo: 3,80 m
- f. Ancho: 3,80 m
- g. Área de cada unidad: 14,44 m²
- h. Tasa de filtración teórica: 234 m³/m².d

10.6 Dosificación:

- a. Desinfección:
 - Sistema: Gas Cloro 2000 lb (pre y postdesinfección)
 - Tipo: Inyección al vacío
 - Cantidad de equipos: Uno (1)

 - Sistema Alterno: Gas Cloro 150 lb (sistema alternativo)
 - Tipo: Descarga libre
 - Cantidad de equipos: Uno (1)
- b. Coagulante: Sulfato de Aluminio Sólido
 - Tipo: Preparación de la solución por carga, con agitación mecánica y dosificación con bomba de desplazamiento positivo.
 - Cantidad de equipos: Uno (1)
- c. Coadyuvante de floculación: Polímero No Iónico (sólido)



- Tipo: Preparación de la solución por carga, con agitación mecánica y dosificación con bomba de desplazamiento positivo
 - Cantidad de equipos: Uno (1)
- d. Modificador de pH: Cal hidratada
- Tipo: Preparación de la solución por carga, con agitación mecánica y dosificación por gravedad (bomba de desplazamiento positivo dañada)
 - Cantidad de equipos: Uno (1)

En la siguiente figura se ilustran el diagrama de flujo que representa el proceso de potabilización en la planta Pie de Cerro.

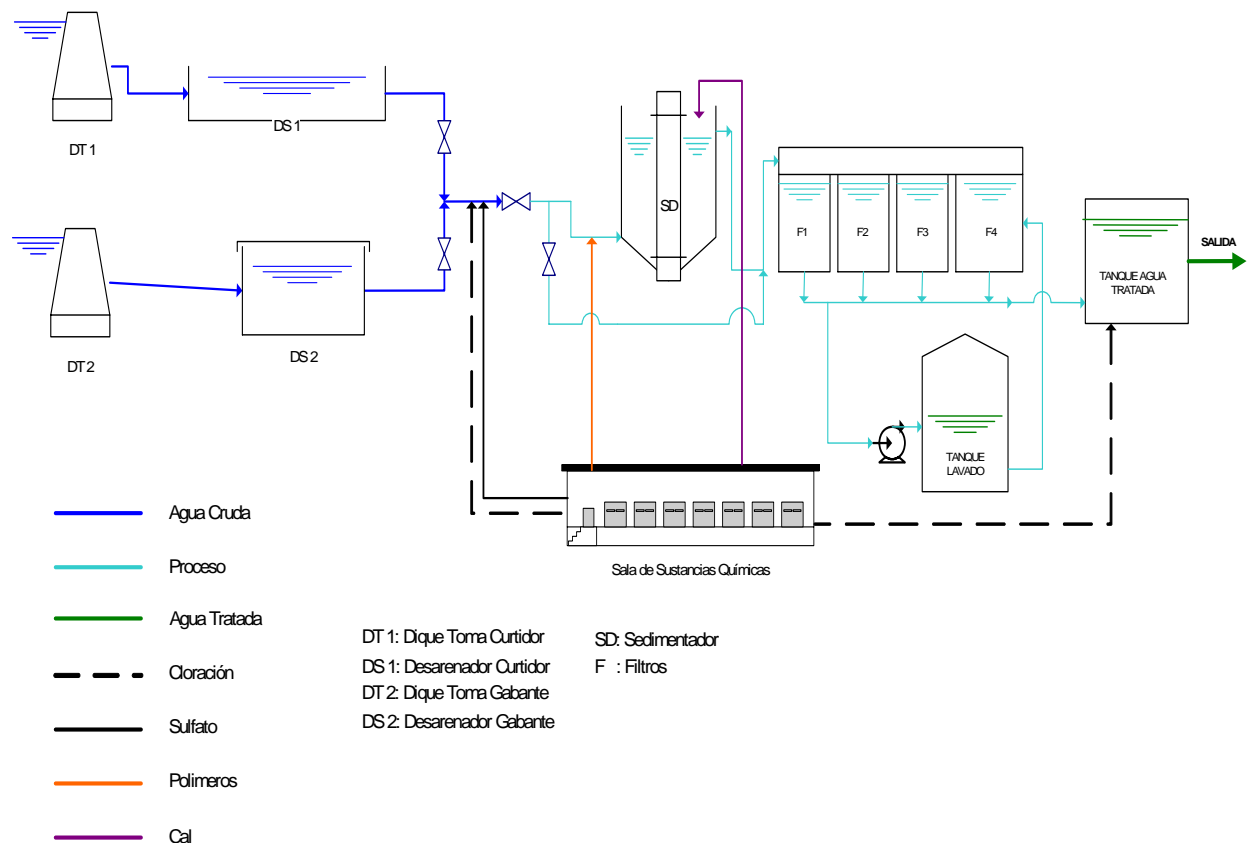


Figura 1.- Diagrama de flujo de la Planta de Potabilización Pie de Cerro



CAPÍTULO IV

ACREDITACIÓN Y VALIDACIÓN

Uno de los requisitos exigidos por la norma venezolana COVENIN 2534:2000 (ISO/IEC 17025:1999) para que el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro obtenga la acreditación, es la validación de métodos de análisis en el laboratorio, la cual para efectos de este trabajo de desarrollo e investigación se presenta como objetivo principal, estudiando cada uno de los parámetros estadísticos de validación . Por ello, en este Capítulo se destaca en que consiste y cual es la importancia de la validación de un método, y con ello una breve revisión bibliográfica de las normas sobre las cuales se basa el funcionamiento de la misma.



IV.1. ORGANIZACIÓN ESTÁNDAR INTERNACIONAL (ISO)¹¹

La ISO (*International Standards Organization*) es la Organización Internacional para la Estandarización. Fue creada en 1946 y está constituida por institutos nacionales de estandarización (normalización) de países grandes y pequeños, industrializados y en desarrollo, de todas las regiones del mundo. La ISO desarrolla voluntariamente normas y recomendaciones que contribuyen a que el desarrollo, la fabricación y el suministro de productos y servicios sean más eficientes, seguros y limpios. Este valor añadido hace que el comercio entre los países sea más fácil y equitativo. Las normas ISO también sirven para salvaguardar los derechos de los consumidores y usuarios.

La ISO desarrolla solamente las normas que son requeridas por el mercado. Este trabajo se lleva a término por expertos de los sectores industriales, técnicos y comerciales que han requerido la normalización para que, seguidamente, la puedan utilizar. Publicadas bajo la designación de “*International Standards*”, las normas ISO representan un acuerdo internacional general para conseguir *el estado de armonía* de una tecnología o servicio determinado.

Llega, pues, la familia de normas ISO 9000, que es el conjunto de normas y recomendaciones internacionales que sirven de base para el establecimiento de sistemas de gestión de calidad. El ISO/TC 176 es el comité técnico responsable de desarrollar y mantener esta familia de normas ISO 9000, procurando para los sistemas de calidad, confianza (convicción de calidad) y tecnologías de apoyo, y dando pautas que sirvan de guía en la selección y uso de estas normas. Las normas hasta hace poco más frecuentemente utilizadas como base para crear sistemas de calidad son las ISO 9001:1994, ISO 9002:1994 e ISO 9003:1994.

ISO 9001:1994: Guía necesaria para demostrar y asegurar el sistema de calidad en proyecto, diseño, desarrollo, instalación, fabricación y mantenimiento, de un producto o servicio.



ISO 9002:1994: Guía necesaria para demostrar la capacidad de producción, instalación de un producto o servicio.

ISO 9003:1994: Guía necesaria para demostrar la capacidad de control de un producto o servicio mediante la inspección y ensayo finales.

Han sido adoptadas en más de 50 países de todo el mundo. Estas normas han sido sustituidas e integradas en la actualidad en una sola norma UNE-EN ISO 9001:2000, orientada más claramente a los requisitos del sistema de gestión de la calidad de una organización que tenga que reflejar mejores y modernos enfoques y prácticas de gestión, y mejorar las prácticas de organización habituales.

IV.2. NORMA INTERNACIONAL DE ESTANDARIZACIÓN ISO 17025¹¹

En la mayoría de casos, para la obtención de altos niveles de calidad dentro de la diversidad de actividades desarrolladas en las empresas es necesaria la realización de medidas sobre el producto. La calidad de estas medidas depende en gran parte de la calidad global de un laboratorio, ya sea exterior o interior a la empresa.

Con la finalidad de promover el aseguramiento de la calidad en los laboratorios dentro de la Unión Europea (UE) se llegó al establecimiento de la norma EN 45001 referente a los criterios técnicos generales para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo. Como indica el primer punto de la norma, es de aplicación a los laboratorios de ensayo incluidos los de calibración, con independencia al sector al que pertenezcan (antiguamente la Guía ISO/CEI 25 era específica para los laboratorios de calibración). Estas dos normas han sido sustituidas hace poco por la nueva norma ISO 17025, fruto de la experiencia extraída de la aplicación de las dos anteriores, y en ella se especifican los criterios generales determinantes de la competencia técnica de los laboratorios y de sus actividades. Las normas EN 45000 (ISO 17025) representan, para los organismos de evaluación de la conformidad u organismos de acreditación, organismos de calibración o ensayos, entidades de inspección, etc., lo que la serie EN 29000 (ISO 9000) representa para empresas.



Cada miembro de la UE tiene una Entidad Nacional responsable para cada tipo de acreditación, (acreditación significa reconocimiento formal por parte de la entidad autorizada de que una organización de nivel inferior es competente para la actividad solicitada). *EAL-Calibration (European co-operation for Accreditation of Laboratories Calibration)*, antes *WECC (Western European Calibration Cooperation)* y en la actualidad EA, es una organización de todos los países miembros de la UE que acredita el cumplimiento de las anteriores normas por parte de éstos. Del contenido de todas estas normas destacaran dos puntos:

1. Los equipos de medida y ensayo utilizados en el laboratorio y que tengan un efecto sobre la exactitud o validez de los ensayos habrán de calibrarse antes de su puesta en servicio y, posteriormente, cuando sea necesario de acuerdo con el programa de calibración establecido, ya que las características de medida de los equipos se degradan con el paso del tiempo y de uso.
2. El programa global de calibración de los equipos ha de concebirse y aplicarse de forma que, cuando sea aplicable, pueda asegurarse la trazabilidad de las medidas efectuadas por el laboratorio en relación con patrones nacionales o internacionales disponibles. Cuando no sea aplicable la trazabilidad en relación con patrones nacionales o internacionales, el laboratorio de ensayos habrá de poner de manifiesto satisfactoriamente la correlación o la exactitud de los resultados de los ensayos.

Así pues, en el caso de que no sea posible encontrar laboratorios que permitan que los patrones de referencia de cualquier laboratorio de metrología tengan una adecuada trazabilidad a patrones nacionales o internacionales, se buscará trazabilidad en laboratorios de reconocida solvencia, con lo que será preciso hacer una validación a través de materiales de referencia, intercomparaciones dentro del propio laboratorio, o por medio de su participación en una comparación de ensayos interlaboratorios .



IV.3 ACREDITACIÓN¹²

Es el procedimiento por el cual un organismo con autoridad otorga un reconocimiento formal de que un organismo, o una persona, es competente para llevar a cabo tareas específicas (Guía ISO/IEC 2: 1996). Tiene como objetivo establecer objetivamente la conformidad de los productos (incluidos servicios) con requisitos especificados, por parte de los OEC (**Organismos Evaluadores de la Conformidad**), evaluados como técnicamente competentes, para establecer de manera objetiva dicho cumplimiento.

IV.4 CERTIFICACIÓN¹²

Es el procedimiento por el cual una tercera parte asegura por escrito que un producto, proceso o servicio está conforme con los requisitos especificados (Guía ISO/ IEC 2: 1996).

La certificación de un producto supone la emisión de un certificado o de una marca para demostrar que un producto específico cumple con los requisitos adecuados que garantizan su calidad.

Las Acreditaciones en el ámbito nacional, son llevadas a cabo por **SENCAMER**. El nombre **SENCAMER** comprende a las siglas del **Servicio Autónomo Nacional de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos**: este es un órgano con autonomía funcional, financiera, administrativa y organizativa, de carácter técnico especial, adscrito al Ministerio de Industrias Ligeras y Comercio (MILCO).

Este organismo tiene como Misión, asegurar el funcionamiento del sistema Venezolano para la calidad como soporte al modelo de desarrollo socioeconómico del país y al mejoramiento de la calidad de vida del venezolano; y tiene como visión, ser el ente reconocido nacional e internacionalmente como coordinador del sistema Venezolano para la calidad en el ámbito político, económico, social y territorial de la nación.

[Se creó el 30 de diciembre de 1998 como producto de la fusión entre el Servicio Autónomo Nacional de Metrología (SANAMET) y el Servicio Autónomo de Normalización y Certificación de Calidad (SENORCA).]



El único ente que puede acreditar en Venezuela es **SENCAMER** a través de la Dirección de Acreditación, la cual se encuentra encargada de evaluar la competencia de los organismos de evaluación de la conformidad (laboratorios, organismos de inspección y organismos certificadores), a través de comprobaciones independientes e imparciales.

IV.5. COMPARACIÓN ENTRE LAS NORMAS ISO 17025 E ISO 9001¹¹

Aunque ISO 17025 incluye muchas de las características y requerimientos ISO 9001, su enfoque es específico en competencia técnica para verificación y calibración. Existen requerimientos para:

- Trazabilidad de las medidas y conocimiento de la incertidumbre de dicha medida
- Estructura y organización de actividades de laboratorio
- Calificación y competencia del personal Identificación del personal clave
- Esquema de aprobación, firmas (y sellado)
- Utilización del equipo de medida, prueba y calibración
- Informe de resultados

ISO 17025 requiere de un mayor grado de competencia técnica que los requisitos impuestos por ISO 9001. La selección de auditores incluirá personal especialista en disciplinas de metrología o prueba.

Las aportaciones de ISO 17025 y que la diferencian de ISO 9001 son:

- Requerimientos más prescriptivos.
- Factores que promuevan independencia en la medida.
- Designar personal técnico y gerencia competente en temas de calidad.
- Aspectos de confidencia y protección de propiedad intelectual.
- Requisitos con mayor alcance específico para evaluar Identificar y definir metodología para asegurar consistencia de la calibración.



- Requisitos de ambiente y plantel físico donde se realizan la medida y la calibración.
- Aspectos de organización, sanidad y limpieza en las premisas de actividades.
- Requisitos específicos para segregar, mantener, manipular y almacenar.
- Medida y trazabilidad a patrones de calibración reconocidos (internacionalmente) y extender a medida, pruebas y ensayos según sea apropiado.
- Metodología consistente para pruebas, ensayos y calibración.
- Datos e información relevante a los requerimientos contractuales (de cliente regulatorio y esquema industrial).
- Controles estrictos sobre procesos y actividades incluidas cuando se contraten las mismas.
- Registros de los aspectos previamente indicados.

IV.6. BENEFICIOS DE LA ACREDITACIÓN DE LA NORMA ISO 17025¹¹

Nuevas oportunidades de mercado, reservado solo para aquellos laboratorios que consiguen demostrar su competencia técnica.

Aumento de la confianza de los clientes en los resultados de los ensayos y calibraciones.

Para obtener la acreditación, el laboratorio debe operar conforme a criterios para la acreditación, los cuales están basados en los requisitos establecidos en la Norma Internacional ISO/IEC 17025.

IV.7. NORMAS SANITARIAS DE CALIDAD DEL AGUA POTABLE¹³

El objetivo de las “Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable” es establecer los valores máximos de aquellos componentes o características del agua que representan un riesgo para la salud de la comunidad, o inconveniente para la preservación de los sistemas de almacenamiento y distribución del líquido, así como la regulación que asegure su cumplimiento. Están sujetos al cumplimiento de estas normas los entes responsables de los



sistemas de abastecimientos de agua potable públicos o privados¹³. A continuación se destaca el Artículo 14 (Capítulo III De los aspectos organolépticos, físicos y químicos), cuyo contenido es de interés:

Artículo 14.- El agua potable deberá cumplir con los requisitos organolépticos, físicos y químicos establecidos en la tabla III que se presenta a continuación:

Tabla 4.- Componentes relativos a la calidad organolépticos del agua potable

Componentes o características	Unidad	Valor deseable menor a	Valor máximo Aceptable (a)
Color	UCV (unidades de color verdadero)	5	15 (25)
Turbiedad	UNT (unidades nefelométrica de turbidez)	1	5 (10)
Olor o sabor	--	Aceptable para la mayoría de los consumidores	
Sólidos disueltos totales	mg/L	600	1000
Dureza total	mg/L CaCO ₃	250	500
pH	--	6.5 – 8.5	9.0
Aluminio	mg/L	0.1	0.2
Cloruro	mg/L	250	300
Cobre	mg/L	1.0	(2.0)
Hierro total	mg/L	0.1	0.3 (1.0)
Manganeso total	mg/L	0.1	0.5
Sodio	mg/L	200	200
Sulfato	mg/L	250	500
Cinc	mg/L	3.0	5.0

(a) Los valores entre paréntesis son aceptados provisionalmente en casos excepcionales, plenamente justificados ante la autoridad sanitaria.

IV.8. VALIDACIÓN DE UN MÉTODO¹⁴

La validación de un método se considera un requisito importante en la práctica de análisis químico; consiste en el proceso de definición de las necesidades analíticas y la confirmación de que el método en cuestión ha considerado capacidades consistentes con la aplicación que requiere. Está implícito que será necesario evaluar las capacidades de desempeño del método. Esto concuerda con las interpretaciones de la definición de acuerdo



a la norma ISO. El juicio de la aptitud del método es importante; en el paso de evaluación de los parámetros de desempeño.

La validación del método generalmente se considera que esta relacionada estrechamente con el desarrollo del método, de hecho, no es posible determinar exactamente donde termina el desarrollo del método y cuando empieza la validación. Mucho de los parámetros de desempeño del método que están asociados a su validación y por lo general son evaluados, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método.

Los métodos deben ser validados cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico en particular, por ello se considera la validación como un proceso continuo. Por ejemplo:

- Un nuevo método desarrollado para un problema en particular.
- Un método establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema.
- Cuando el control de calidad indica que un método establecido está cambiando con el tiempo.
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferentes instrumentaciones.
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos: un método nuevo y un método de referencia.

El alcance de la validación o la revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar nuevamente un método a diferentes laboratorios, en la instrumentación, en los operadores y en las circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Algún grado de validación siempre es apropiado aun cuando se usan métodos de referencias publicados o aparentemente bien caracterizados.

IV.9. PROCESO DE VALIDACIÓN¹⁴

Para la realización de la validación de un método se debe aplicar los siguientes pasos:



IV.9.1 Necesidad Analítica (método): Una vez establecida, por la autoridad responsable, la necesidad de tener a disposición del laboratorio un procedimiento analítico que satisfaga una determinada demanda, deberá procederse a la elección del método mas adecuado, para lo que se puede acudir a la bibliografía mas especificada.

Aun en el caso de que el método elegido este publicado como norma internacional, nacional o regional, y con el objeto de atender los requisitos de la norma ISO 17025, es conveniente (en muchos casos preciso, cuando es necesario complementar la norma con información adicional para asegurar su correcta aplicación) proceder a la elaboración de un procedimiento interno que recoja, por un lado todos los aspectos técnicos del método y por otro los aspectos formales y de calidad de la norma ISO 17025. Dicho procedimiento interno (borrador, mientras no sea valido) deberá realizarse teniendo en cuenta lo que se especifique en el sistema de la calidad del laboratorio.

El contenido mínimo de un método que la norma ISO 17025 especifica es:

- ✓ Identificación apropiada
- ✓ Campo de la aplicación
- ✓ Descripción del tipo de objeto sometido a ensayo o calibración
- ✓ Parámetros o magnitudes y rangos por determinar
- ✓ Aparatos, equipos y reactivos, incluyendo las especificaciones técnicas
- ✓ Patrones de referencias y materiales de referencias necesarios
- ✓ Condiciones ambientales requeridas
- ✓ Descripción del procedimiento
- ✓ Criterio de aceptación y rechazos
- ✓ Datos que deban registrarse y método de cálculo y presentación
- ✓ Incertidumbre

Así mismo, si no esta ya incluida en el borrador de procedimiento, se detallará una relación de todos los documentos que han sido necesarios para llevar a cabo la validación del método analítico y de los documentos que deben utilizarse para llevar a cabo la validación.



IV.9.2 Puesta a Punto: La puesta a punto de un método es una actividad previa a la validación que debe realizar el laboratorio para llegar a tener un conocimiento general del mismo. Con esta actividad se consigue que el método “funcione” dando unas respuestas razonables, aceptables y consistentes.

Para ello, es necesario afinar el proceso del método en todos sus apartados, prestando una especial consideración a los diversos parámetros instrumentales de aplicación.

IV.9.3 Elección de parámetros de validación. Fijación de objetivos: De acuerdo al siguiente apartado de la norma ISO 17025; *“La validación incluye la especificación de los requisitos, la determinación de las características de los métodos, una comprobación de que pueden satisfacer los requisitos utilizando el método, y una declaración de la validez del método”*, los requisitos que deben cumplir los métodos deben ser especificados previamente a la validación y son conocidos como objetivos de validación. En algunos casos, la fijación de estos objetivos está establecido por la propia demanda que ha originado la necesidad analítica (la demanda está reglamentada y tiene establecido el método a utilizar y por ejemplo el límite de cuantificación máximo, y las exactitudes y precisiones mínimas aceptables). En otros casos no se dispone de requisitos de obligado cumplimiento y nos resulta más complicado establecer los objetivos de validación. En estos casos, la fuente de información debe ser, además de las diferentes referencias bibliográficas, la propia experiencia adquirida en la puesta a punto del método o la experiencia del mercado.

**Cuadro 1.- Parámetros necesario para la validación de un método**

PARÁMETROS
Selectividad
Linealidad
Límite de detección
Límite de cuantificación
Precisión (repetibilidad y reproducibilidad)
Exactitud
Incertidumbre
Intervalos de trabajo

IV.9.4 Diseño Experimental y Estadística: Es necesario resaltar que a la hora de determinar los parámetros que se hayan seleccionado, estos no se obtendrán, normalmente de un modo secuencial, sino que se obtendrán como resultado final de un diseño experimental adecuado que contemplará los objetivos que se persigue conseguir, y en el que algunos de los elementos que se emplean pueden servir, simultáneamente, para la determinación de mas de un parámetro. El siguiente proceso pretende ser representativo de un método analítico y se compone de las fases¹⁵:

- ✓ Selección de los tipos de muestras a ensayar
- ✓ Determinación del número de submuestras por muestras a procesar
- ✓ Procesamiento de todas las submuestras simultáneamente (en condiciones de repetibilidad) siguiendo el método analítico, junto con el blanco (es una muestra que tiene todos los componentes de la muestra problema excepto el analito problema, y que ante las dificultades que normalmente se tiene para conseguir una matriz limpia del analito problema, suele aproximarse con un blanco reactivo).
- ✓ Lectura (normalmente instrumental) de una señal que produce cada una de las submuestras y el blanco (el numero de lecturas que se debe obtener de cada submuestras y el blanco depende normalmente del instrumento o



sistema de medida de su estabilidad a corto plazo, tiempo de respuesta y es recomendable que sea siempre posible mayor de una).

- ✓ Interpolación, contra una recta de calibrado del instrumento o sistema de medida, de la lectura obtenida para convertirla en resultado; la recta de calibrado mencionada, que mas adelante se definirá como función de respuesta instrumental, se obtiene generalmente por la lectura de la señal que producen una serie de patrones de trabajo limpios (no tienen en cuenta la matriz de la muestra problema que se preparan en el laboratorio a partir de patrones trazables o productos químicos normalizados o que se han adquirido como tales), tras la realización de diversos cálculos en los que se tienen en cuenta la sustracción de la aportación debida al blanco.
- ✓ Cálculos a partir de los resultados anteriores para obtener el resultado final atribuible a la muestra y su incertidumbre asociada, incluyendo todas las etapas del procesamiento.

A continuación, se presenta, a modo de ejemplos un esquema de diseño experimental y una serie de criterios elementales para la determinación de los diversos parámetros de validación:



Tabla 5.- Esquema de diseño experimental para la determinación de los parámetros de validación.

Diseño Experimental	Obtención de la función de respuesta instrumental con 6 niveles de concentración (5 patrones más blanco), por quintuplicado en cada nivel, en condiciones de repetibilidad. Determinación de la exactitud de materiales de referencias a tres niveles por quintuplicado.
Muestras de la que se disponen para la validación	Patrones de trabajo limpios a cinco niveles de concentración. Blanco Materiales de referencias a tres niveles de concentración: <ul style="list-style-type: none">➤ Bajo, cercano al límite de cuantificación.➤ Medio, próximo a los valores mas esperados.➤ Alto, cercano al mayor valor de intervalo de trabajo.
Submuestras	Cinco de cada uno, preparadas cada día en condiciones de repetibilidad, lo que se supone un total de 45 unidades por día. Para cinco días se presentaran 225 unidades.
Procesamiento	Simultáneo de las 45 unidades cada día (en condiciones de repetibilidad) Las submuestras deberán seguir el método completo (al menos los materiales de referencias)
Lectura	Que produce cada submuestra en el sistema de medidas (por ejemplo en miliabsorbancia)
Función de respuestas	Obtenida, cada día, por regresión lineal con las 30 parejas de valores asignados y lecturas obtenidas, de patrones y blancos. Determinación, cada día, del grado de ajuste y de los intervalos de confianza de los coeficientes de regresión y de la función de respuesta.
Interpolación y cálculos	Cada día de las lecturas obtenidas de los materiales de referencia. Determinación de la exactitud en cada nivel.
Tratamiento estadístico	Análisis de varianza simple de los resultados obtenidos para la obtención de la precisión por niveles. Obtención de los límites de detección y cuantificación del intervalo de trabajo y la incertidumbre asociada a cada nivel.



IV.9.5 Tratamiento Estadístico de Datos Obtenidos ¹⁴: Los patrones y blancos se preparan cada día para recoger la variabilidad que provienen de dicha preparación. Si se parte de una solución madre no es necesario preparar dicha solución cada día, siempre y cuando este controlado su deriva (e incluida en su incertidumbre).

Los materiales de referencias serán procesados siguiendo el método completo, para poder dar trazabilidad al resultado final (la función de respuesta realizada con patrones limpios, si no han seguido el método completo, puede dar trazabilidad a los resultados de los procesados pero no al procesamiento seguido). Aunque los patrones limpios hayan seguido el método completo, el procesamiento de los materiales de referencia es necesario para la determinación del efecto matriz.

Entre los parámetros estadísticos de validación a determinar están:

Selectividad/ especificidad: Son mediciones que garantizan la confiabilidad de las mediciones en la presencia de interferencias. La específica se considera generalmente que es el 100 % de la selectividad pero el acuerdo no es universal. Cuando la etapa de la medición no es específica, es posible establecer que ciertos analitos no interfieren, habiendo primero revisado que este es el caso. Es bastante difícil establecer que nada interfiere ya que siempre existe la posibilidad de encontrar algunas interferencias no reconocidas hasta el momento del análisis. Habrá casos donde las interferencias químicas puedan ser identificadas para un método en particular pero que sean improbables las oportunidades de encontrarlas en la vida real.

Sensibilidad: Esto es efectivamente el gradiente de la respuesta de la curva de calibración. El cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio de concentración del analito. La sensibilidad algunas veces se usa para referirse al límite de detección pero este uso no está aprobado generalmente¹⁵.

Límite de Detección: El límite de detección (LD) se calcula a partir de los resultados obtenidos del blanco, convertidos a resultados final, según la ecuación:



$$LD: B + U_b \quad \text{Ec (1)}$$

Donde U_b es la incertidumbre expandida ($k = 2$ o el valor necesario que asegure una probabilidad de cobertura del 95 %) asociada a la medida de B que es la media general en condiciones de reproducibilidad, de los resultados de la submuestras de blanco convertida a resultado final sobre muestras.

Límite de Cuantificación: es el valor, superior al LD, a partir del cual los resultados que se obtienen cumplen unos condicionantes de precisión y de exactitud predeterminados por exigencias de norma, cliente (por ejemplo la determinaciones con un nivel de incertidumbre (U con $k = 2$ o el valor necesario que asegure una probabilidad de cobertura del 95 %) inferior al 3% del resultado).

Función de Respuesta Instrumental: Cada día se establece la función de respuesta ($L = F(P)$) con los treinta pares de valores formados por las cinco replicas del blanco (B_p) y de los cinco patrones de trabajos limpios de valor teórico conocidos, que cubran el intervalo de trabajo para el que se quiera desarrollar el método analítico. Si los datos se ajustan a una recta (respuesta lineal), la ecuación de la función será del tipo:

$$L = mP + L_b \quad \text{Ec (2)}$$

Se calcula el coeficiente de regresión (m) de la misma y el coeficiente, L_b (valor de la ordenada en el origen), por el método de los mínimos cuadrados. Se debe también estimar el grado de ajuste de la recta estimada a los valores de L observados, calculando el grado de determinación, r^2 , que no deba superar a 0.99, para considerar que la función es lineal en el intervalo de concentraciones de estudio además del error tipo en la desviación de la pendiente y el punto de corte, que se necesita para determinar los respectivos intervalos de confianza.

Para la determinación de la pendiente m y punto de corte L_b es necesario conocer los siguientes parámetros de regresión lineal:



$$S_{P,P}: \Sigma (P_i - \bar{P})^2 \quad \text{Ec (3)}$$

$$S_{LB,LB} : \Sigma (L_{obs} - \bar{L})^2 \quad \text{Ec (4)}$$

$$S_{P,LB} : \Sigma (P_i - \bar{P})(L_{obs} - \bar{L}) \quad \text{Ec (5)}$$

$$m: S_{P,LB}/S_{P,P} \quad \text{Ec (6)}$$

$$b: \bar{L} - m\bar{P} \quad \text{Ec (7)}$$

Las ecuaciones que calculan las desviaciones de la pendiente y punto de corte son:

$$Sm = S_{L,p} / \sqrt{\Sigma (P_i - P)^2} \quad \text{Ec (8)}$$

$$SL_b = Sm \sqrt{(\Sigma P_i^2 / n)} \quad \text{Ec (9)}$$

$$S_{L,p} = \sqrt{\Sigma (L_{obs} - L_{est})^2 / n-2} \quad \text{Ec (10)}$$

Donde: L_{ob} : son las lecturas observadas.

L_{est} : las estimaciones con la recta de regresión

n : el número de pares de valores

P_i : los valores asignados a los patrones

Función de Respuesta del método: Es la que se determina cuando se calcula la recuperación del método y puede coincidir exactamente con la instrumental cuando la recuperación es 100 %. Si la función de respuesta no coincide con la instrumental, los datos pueden presentarse corregidos con el factor de recuperación encontrado o sin corregir.

Intervalo de Trabajo Validado: El intervalo de trabajo puede coincidir con el que se utiliza al principio, en el estudio de la función de respuesta, como intervalo de trabajo deseable, pero pueden haber disminuido como resultado del proceso de validación. Normalmente,



estará comprendido entre el límite de cuantificación y el valor asignado al mayor patrón utilizado.

Exactitud¹⁵: La exactitud expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. Normalmente la exactitud se estudia como dos componentes: la veracidad y la precisión. La veracidad es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados del valor real. La veracidad se expresa en términos de sesgo.

La exactitud del método puede establecerse por la comparación de los resultados, obtenidos en el diseño experimental, de los materiales de referencia (MR) con los valores teóricos de los mismos, observando el grado de concordia entre el valor obtenido y valor esperado.

La recuperación en cada punto se calcula mediante la siguiente expresión (conocida también como porcentaje de recuperación):

$$\% \text{ Recuperación} = (X_{\text{obtenido}} / X_{\text{esperado}}) * 100 \quad \text{Ec (11)}$$

Donde: X_{obtenido} : Es el resultado obtenido del análisis del material de referencia.

X_{esperado} : Es el valor teórico del mismo.

La recuperación global del método se calcula a partir de la media de las individuales en cada punto, cuando las recuperaciones en los diversos niveles son similares.

La presentación de los resultados finales sobre muestra (incluye su incertidumbre asociada) siempre deberán tener en cuenta el factor de recuperación. Este factor puede o no aplicarse. Si se aplica, la incertidumbre del resultado final deberá tener en cuenta la contribución de dicho factor. Si no se aplica, la incertidumbre del resultado final deberá tener en cuenta la contribución de no corregir.

Incertidumbre¹⁶: La incertidumbre de la medición es una forma de expresar el hecho de que, para un mensurado y resultado de medición dados, no hay un solo valor, sino un número infinito de valores dispersos alrededor del resultado, que son consistentes con todas



las observaciones datos y conocimiento que se tengan del mundo físico, y que con distintos grados de credibilidad pueden ser atribuidos al mensurado.

La definición del término incertidumbre de acuerdo a las normas **COVENIN 2552:1999** es la siguiente:

“Parámetro, asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser razonablemente atribuidos al mensurado”

La definición de incertidumbre dada anteriormente se enfoca en el rango de valores que el observador cree que podría ser razonablemente atribuido al mensurado.

En general, el uso de la palabra incertidumbre se relaciona con el concepto de duda. La palabra incertidumbre sin adjetivo se refiere a un parámetro asociado con la definición anterior o al conocimiento limitado acerca de un valor particular. La incertidumbre de la medición no implica duda acerca de la validez de un mensurado; por el contrario, el conocimiento de la incertidumbre implica el incremento de la confianza en la validez del resultado de una medición.

En la práctica la incertidumbre del resultado puede originarse de muchas fuentes posibles, entre ellas se pueden mencionar:

1. Definición incompleta del mensurado.
2. realización imperfecta de la definición del mensurado.
3. Muestreo.
4. Conocimiento inadecuado de los efectos de las condiciones ambientales sobre las mediciones.
5. Errores de apreciación del operador en la lectura de instrumentos analógicos.
6. Valores inexactos de patrones de medición y materiales de referencia.
7. aproximaciones y suposiciones incorporadas en los métodos y procedimientos de medición.



“El resultado de una medición esta completo únicamente cuando está acompañado por una declaración cuantitativa de la incertidumbre, que expresa la calidad del mismo y permite valorar la confiabilidad en este resultado”.

Para la estimación de la incertidumbre total puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarlas separadamente para obtener la contribución de cada fuente. Cada una de las contribuciones separadas a la incertidumbre es referida como una componente de incertidumbre. Cuando es expresada como una desviación estándar una componente de incertidumbre es conocida como una incertidumbre estándar. Sin embargo, es posible frecuentemente evaluar el efecto combinado de varias componentes. Esto puede disminuir todo el esfuerzo envuelto y, cuando las componentes cuya contribución es evaluada en común están correlacionadas, puede no haber necesidad adicional de tomar en cuenta la correlación.

Para un resultado de una medición y , la incertidumbre total, denominada incertidumbre estándar combinada y denotada por $U_c(y)$, es una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por la combinación de todas las componentes de la incertidumbre, evaluada por lo tanto, utilizando la ley de propagación de incertidumbre.

$$U_c^2(y) = \sum c_i^2 \cdot u^2(x_i) + 2 \sum \sum c_i \cdot c_j \cdot u(x_i, x_j) \quad \text{Ec (12)}$$

Donde:

$Y(x_1, x_2, \dots)$ es una función de varias magnitudes de entrada x_1, x_2, \dots

C_i y C_j son los coeficientes de sensibilidad evaluado como $C = dy/dx$ es decir son las derivadas parciales de y respecto a x_i y x_j .

$U(x_i)$ denota la incertidumbre en x_i .

$U(x_i, x_j)$ es la covarianza entre x_i y x_j .

La covarianza se refiere a una medida de la naturaleza de asociación entre variables.



En análisis químico, un método analítico está calibrado frecuentemente por las observaciones de las respuestas, y (por ejemplo absorbancia), para diferentes niveles conocidos del analito, x (por ejemplo concentración). La relación puede tomarse como lineal, obteniéndose así la ecuación de calibración a través de una regresión lineal.

De esta forma, mediante la respuesta observada (y_{obs} = absorbancia) puede conocerse el valor estimado de x_{pred} (una concentración desconocida que provocó la respuesta de y_{obs}) utilizando la relación establecida entre x y y .

Hay cuatro fuentes de incertidumbre principales a considerar en originar una incertidumbre en la concentración estimada x_{pred} :

- a) Las variaciones aleatorias en la medición de y afectan las respuestas de y_i y la respuesta medida y_{obs}
- b) Los efectos aleatorios resultan en errores en los valores de referencia asignados x_i
- c) Los valores de x_i e y_i pueden estar sujeto a un corrimiento constante desconocido
- d) La suposición de linealidad puede no ser válido

De todas ellas, la más significativa para la práctica normal son las variaciones aleatorias en y .

La incertidumbre estándar para la regresión lineal puede ser calculada de la siguiente manera:

$$(U(x_{obs}, y)) = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{m^2 (n - 2)} * \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_{obs} - \bar{y})^2}{m^2 * \left(\frac{\sum (x_i^2) - (\sum x_i)^2}{n} \right)} \right]} \quad \text{Ec (13)}$$



Donde:

$(y_i - \bar{y})$ es el residual del i^{esimo} punto, n es el número de puntos, m es la pendiente de la mejor recta ajustada y $(y_{obs} - \bar{y})$ es la diferencia entre la y_{obs} y la media de los y_i valores.

El residual es calculado por la siguiente formula:

$$w_{11} = \sum_i (y_i - \bar{y})^2 = \sum ni * xi^2 - \frac{(\sum ni * xi)^2}{n} \quad \text{Ec (14)}$$

Para la mayoría de los propósitos en las mediciones, puede ser utilizada una incertidumbre expandida $U(y)$. La incertidumbre expandida suministra un intervalo dentro del cual el valor del mensurado pudiera caer con un alto nivel de confianza. $U(y)$ es obtenida por la multiplicación de $U_c(y)$, la incertidumbre estándar combinada, por un factor de cobertura k .

La elección del factor de cobertura esta basada en el nivel de confianza deseado¹⁶. Para un nivel de confianza aproximado de 95%, el factor de cobertura (k) es 2.

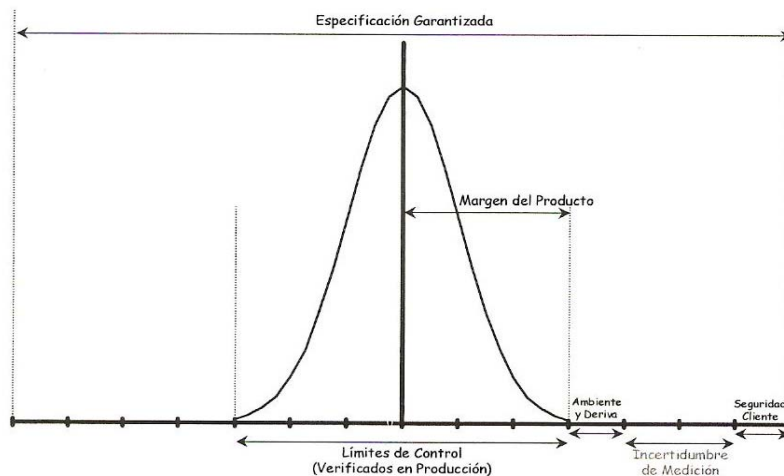


Figura 2.- Límites de especificación.
Fuente: METAS, 2002.



Incertidumbre requerida²³: también llamada requerimiento de medición de un proceso está relacionada con la estabilidad que es posible lograr del mismo, esta estabilidad depende entre otros factores de la homogeneidad de los insumos, sintonización de los dispositivos de control automático del método y de la habilidad del usuario u operador para mantenerlos dentro de ciertos límites. En la Figura 2 se representa a estos límites como margen del producto. El margen del producto, es la diferencia entre la característica promedio del producto, y los límites de control de las pruebas, que usualmente son límites pasa/ no pasa utilizados en las pruebas finales de la línea de producción bajo condiciones normalizadas. Mediante el margen del producto, también llamado límite de especificación, que representa la variabilidad el proceso con los límites superior e inferior (LSE y LIE), se obtiene la incertidumbre requerida en la medición del proceso.

$$U_{requerida} = 1/3 * LE/f_r \quad \text{Ec (15)}$$

El factor de riesgo como se indica en la **Tabla 6**, es un parámetro que nos permite ponderar el grado de atención que se debe tener en el control metrológico de los instrumentos de medición relacionados con las diferentes variables del proceso (habrá que reconocer que el uso de este factor de riesgo puede provocar requerimientos mayores “más exigentes” a los prácticamente convenientes de la incertidumbre requerida. Es importante destacar para efectos de este estudio que el proceso es el método analizado y la concentración del analito el producto.

Tabla 6.- Factor de riesgo

Riesgo	Factor de Riesgo f_r
Pone en peligro la vida	10
Pone en peligro la salud Viola disposiciones legales Causa pérdidas de clientes	8
Causa pérdidas mayores Causa reclamaciones serias de clientes	6
Causa pérdidas moderadas Causa reclamaciones de clientes	4
Causa pérdidas leves	2



Precisión¹⁵: es la proximidad entre resultados de análisis independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas. Depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o valor especificado. Se computa como desviación estándar de los resultados de los análisis. El estudio de la precisión se realiza calculando, a través del análisis simple de varianza (ANOVA), las desviaciones estándar de repetibilidad y de reproducibilidad para cada uno de los niveles de trabajo.

a) Repetibilidad: La repetibilidad viene dada por la obtención de resultados independientes de una prueba con el mismo método, con los mismos accesorios de laboratorio, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo en intervalos de tiempo. Puede determinarse de una manera para un Laboratorio. Es necesario tener en cuenta que:

- Deben obtenerse suficientes datos o mediciones.
- Todos los pasos del método (incluidos la toma y preparación de la muestra, así como la calibración) deben realizarse n-veces.

b) Reproducibilidad. Su determinación es posible por ensayo de intercomparación, cuando se cuenta con distintos analistas, distintos equipos, etc; o como en este caso en donde la reproducibilidad va a estar determinada por la variación de las mediciones dentro de un grupo entre los diferentes días del estudio. En los siguientes cuadros se ejemplifica el análisis de precisión a partir de la repetibilidad y reproducibilidad:

Tabla 7.- Modelo para el Análisis Simple de Varianza

Cada Nivel	Día				
Observaciones	1	2	3	4	5
1	L11	L21	L31	L41	L51
2	L12	L22	L32	L42	L52
3	L13	L23	L33	L43	L53
4	L14	L24	L34	L44	L54
5	L15	L25	L35	L45	L55



Las medidas de cada día están definidas por:

$$\bar{L}_i = \frac{\sum_{j=1}^5 L_{ij}}{5} \quad (\text{Ec 16})$$

La media general es:

$$\bar{L} = \frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 L_{ij}}{25} = \frac{\sum_{i=1}^5 5\bar{L}_i}{25} = \frac{\sum_{i=1}^5 \bar{L}_i}{5} \quad (\text{Ec 17})$$

Tabla 8.- Modelos matemáticos para un análisis simple de varianza

Origen de la Varianza	Grados de Libertad (v)	Sumas de la Diferencias Cuadráticas (SDC)	Diferencias Cuadráticas medias (DCM = SDC/v)
Entre Grupos (Between)	$V_1 = 5-1 = 4$	$SDC_b = \sum_{i=1}^5 5(\bar{L}_i - \bar{L})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{4}$
Dentro del Grupo (Withing)	$v_2 = 25-5=20$	$SDC_w = \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 (\bar{L}_{ij} - \bar{L}_i)^2$	$DCM_w = \frac{SDC_w}{20}$
Total	$v = 25-1=24$ (= 4+20)	$SDC_T = \sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^5 (\bar{L}_{ij} - \bar{L})^2$ (= $SDC_B + SDC_w$)	$DCM_T = \frac{SDC_T}{24}$

La desviación estándar de repetibilidad (s_r) es:

$$s_r = \sqrt{DCM_B} \quad (\text{Ec 18})$$

La desviación estándar de reproducibilidad (s_R) es:

$$s_R = \sqrt{DCM_w + DCM_B} \quad (\text{Ec 19})$$



Si el intervalo del trabajo del método es muy amplio, es razonable esperar que las s sean significativamente diferentes para cada punto de la función de respuesta del método, lo que obligaría a tomar decisiones relativas a la definición de uso por tramos.

Declaración del Método Validado. Registro¹⁴: La declaración, formal, en la que se recogen las características del método se debe presentar de una forma ordenada y bien especificada con respecto a los parámetros estadísticos que se deben analizar para especificar si el método es adecuado para su empleo.

Se deben guardar todos los registros que justifican el proceso seguido de acuerdo con el sistema de la calidad instaurado. A saber:

- ✓ Origen de la necesidad analítica.
- ✓ Borrador del método con todos sus documentos anexos y relacionados.
- ✓ Parámetros de validaciones seleccionadas y objetivos preestablecidos.
- ✓ Diseños experimentales y estadísticos realizados.
- ✓ Registro de ensayo realizados.
- ✓ Tratamiento de los datos obtenidos.
- ✓ Declaración de método validado.

IV. 10. MÉTODO DE ADICIÓN ESTÁNDAR¹⁷

El método de adición estándar es especialmente útil para analizar muestras complejas en las que la probabilidad de que se produzcan efectos debido a la matriz es considerable. Este método puede aplicarse de diferentes formas. Una de las habituales implica la adición de diferentes volúmenes de una disolución patrón a varias alícuotas de la muestra del mismo tamaño. Este proceso se conoce como adición de muestra (*spiking*). Después de cada disolución se diluye a un volumen fijo antes de efectuar la medida. Hay que tener en cuenta que cuando la cantidad de muestra es limitada, las adiciones estándar se pueden llevar a cabo por adiciones sucesivas de volúmenes del patrón a un único volumen del problema exactamente medido. Las medidas, se van haciendo en la muestra original y después de



cada adición del patrón de la muestra. En la mayoría de las versiones del método de la adición estándar, la matriz de la muestra es casi idéntica después de cada adición y la única diferencia es la concentración del analito o la concentración del reactivo en el caso que se añada un exceso de reactivo analítico. Como los patrones se preparan en alícuotas de la muestra, todos los demás componentes de la mezcla de la reacción serán iguales.

IV. 11. COMPLEMENTO DE ESTADÍSTICA PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS¹⁸

IV. 11.1. Límite de confianza de la media para muestras grandes: el intervalo de confianza, se define como el intervalo dentro del cual se pueda suponer de manera razonable que se encuentra el valor verdadero, en tanto, que los valores de dicho intervalo son llamados límites de confianza. El término “confianza” implica que se puede afirmar con un grado de confianza dado, es decir, con una cierta probabilidad, que el intervalo de confianza sí incluye el valor verdadero. El tamaño del intervalo de confianza dependerá obviamente de la certeza que se quiera tener de que incluya el valor verdadero: cuánto más grande sea la certeza, más grande será el intervalo requerido:

$$X \pm z s / \sqrt{n} \quad E_c (20)$$

Donde :

X: es la media experimental

s: la desviación estándar

n: número de muestra

z: valor estadístico que depende del intervalo de confianza requerido

Para límites de confianza del 95%, $z = 1.96$

Para límites de confianza del 99 %, $z = 2.58$

Para límites de confianza del 99.7%, $z = 2.97$

IV. 11.2. Comparación de dos medias experimentales:

Los resultados de un método analítico nuevo se pueden contrastar mediante comparación



con los obtenidos utilizando un segundo método (quizá uno de referencia). En este caso, se tiene dos medias muestrales \bar{x}_1 y \bar{x}_2 . Tomando como hipótesis nula que los dos métodos proporcionan el mismo resultado es decir $H_0: \mu_1 = \mu_2$, se necesita probar si la media 1 y la media 2 difieren significativamente de cero. Si las dos muestras tienen desviaciones estándar que no son significativamente diferentes, se puede calcular una estimación conjunta de la desviación estándar, s , a partir de las dos desviaciones estándar individuales s_1 y s_2 .

Para decidir si la diferencia entre las medias muestrales es significativa, es decir, para contrastar la hipótesis nula, se calcula el estadístico t :

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) / s \sqrt{(1/n_1 + 1/n_2)} \quad \text{Ec (21)}$$

Donde s se calcula a partir de:

$$S^2 = (n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2 / (n_1 + n_2 - 2) \quad \text{Ec (22)}$$

y t tiene $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad.

Este método supone que las muestras se extraen de poblaciones con desviaciones estándar iguales.

Cuando sea poco probable que las desviaciones estándar de las poblaciones sean iguales, no es muy apropiado mezclar las desviaciones estándar muestrales para dar una estimación global o conjunto de la desviación estándar. Un método aproximado en estas circunstancias se propone a continuación:

Para contrastar $H_0: \mu_1 = \mu_2$ cuando no puede suponerse que las dos muestras proceden de poblaciones con desviaciones estándar iguales, se calcula el estadístico donde:

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) / \sqrt{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)} \quad \text{Ec (23)}$$

$$\text{Con grados de libertad} = (s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2 / ((s_1^4/n_1^2(n_1 - 1)) + (s_2^4/n_2^2(n_2 - 1))) \quad \text{Ec (24)}$$



IV. 11.3. El contraste F para la comparación de desviaciones estándar:

El contraste de significación descrito hasta ahora se utiliza para comparar medias y, por tanto, para destacar errores sistemáticos. En muchos casos es también importante comparar las desviaciones estándar, es decir los errores aleatorios de dos conjuntos de datos. Esta comparación, como en el caso de los contrastes de medias, pueden tomar dos formas. Se puede pretender probar si el método A es más preciso que el método B (es decir, un contraste de una cola) o si los métodos A y B difieren en su precisión (es decir, un contraste de dos colas). Por ejemplo, si se quisiera contrastar si un método analítico nuevo es más preciso que un método patrón se deberá utilizar el contraste de una cola: si se quisiera contrastar si dos desviaciones estándar difieren significativamente (por ejemplo antes de aplicar el contraste t) será adecuado un contraste de dos colas.

El contraste F considera la razón de las dos varianzas muestrales, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar, s_1^2 / s_2^2 .

Para probar si es significativa la diferencia entre dos varianzas muestrales, esto es, para probar $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$, se calcula estándar el estadístico F:

$$F = s_1^2 / s_2^2 \quad \text{Ec (25)}$$

donde 1 y 2 se disponen en la ecuación de modo que F sea siempre ≥ 1 .

El número de grados de libertad del numerador y denominador son $n_1 - 1$ y $n_2 - 2$, respectivamente.

El contraste supone que las poblaciones de donde se extraen las muestras son normales.

Si la hipótesis es verdadera entonces la relación de varianzas debería ser próxima a 1. Las diferencias respecto a 1 se deben a variaciones aleatorias pero si la diferencia es demasiado grande no se podrá achacar a esta causa. Si el valor de F supera un cierto valor crítico (obtenido de las tablas) entonces se rechaza la hipótesis nula. Este valor crítico de F depende del tamaño de las dos muestras, del nivel de significación y del tipo de contraste realizado.



IV. 11.4. El contraste G para datos anómalos:

El contraste G o de Grubbs, compara la desviación entre valor sospechoso y la media muestral, con la desviación estándar de la muestra. Este contraste lo recomienda ISO.

Para usar el contraste de Grubbs para un valor anómalo, esto es, para probar H_0 : todas las medidas proceden de la misma población, se calcula el estadístico G:

$$G = \text{valor sospechoso} - \text{media} / s \quad \text{Ec (26)}$$

donde s se calcula incluyendo el valor sospechoso.

El contraste supone que la población es normal.

Si el valor G calculado supera al valor crítico, se rechaza la hipótesis de que el dato sospechoso no es anómalo.

IV. 11.5. Uso de rectas de regresión para comparar métodos analíticos

Cuando se realiza comparación de rectas de regresión es porque se quiere determinar o identificar errores sistemáticos: ¿proporciona el nuevo método resultados significativamente más altos o más bajos que el procedimiento establecido? En los casos donde un análisis se repite varias veces sobre un intervalo de concentración muy limitado, tal comparación puede ser hecha usando los contrastes estadísticos 11.2 de este capítulo y el contraste t para datos emparejados. Tales procedimientos no son adecuados en análisis instrumental, los cuales son utilizados a menudo en un gran intervalo de concentraciones.

Cuando dos métodos se comparan a diferentes concentraciones de analito, se adopta normalmente el procedimiento que ilustra la *Figura 3*.

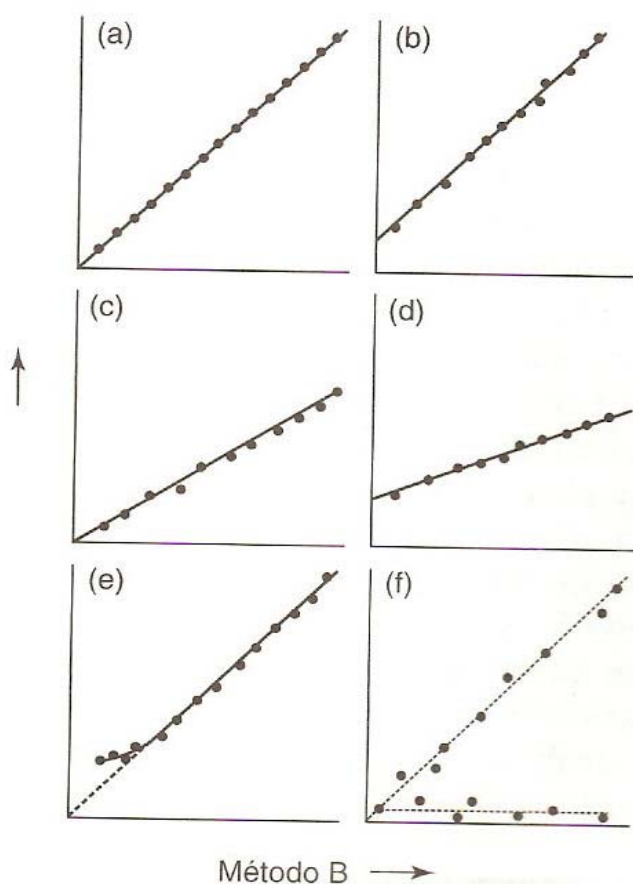


Figura 3.- El uso de rectas de regresión para comparar dos métodos analíticos: (a) muestra una concordancia perfecta entre dos métodos para todas las muestras; (b) a (f) ilustran los resultados de varios tipos de errores sistemáticos.

Fuente: Miller y Miller, 2002

Uno de los ejes de los gráficos de regresión se usa para los resultados obtenidos por un nuevo método, y el otro para los resultados obtenidos aplicando a las mismas muestras o el de comparación o el de referencia. En estas circunstancias, cada punto del gráfico representa una muestra única analizada por dos métodos distintos. (A veces cada método se aplica solamente una vez, mientras que en otros casos se usan medidas repetidas en las comparaciones.) Cuando se aplica un método generalmente se determina la pendiente (m), la ordenada en el origen (b) y el coeficiente de correlación (r) de la recta de regresión. Queda claro que si cada muestra conduce a un resultado idéntico con ambos métodos



analíticos, la recta de regresión tendrá una ordenada en el origen cero, una pendiente y coeficiente de correlación de 1 (figura 2.a). En la práctica por supuesto, esto nunca ocurre: incluso estando completamente ausentes, los errores sistemáticos, los errores aleatorios aseguran que los dos procedimientos analíticos no darán resultados en exacta concordancia para todas las muestras.

Desviaciones de la situación “ideal” ($b = 0$, $m = r = 1$) pueden ocurrir en serie de situaciones diferentes. En primer lugar, es posible que la recta de regresión tenga una pendiente de 1, pero no una ordenada en el origen de 0. Esto es, un método de análisis puede conducir a un resultado más alto o más bajo que el otro en una cantidad fija. Tal error podría ocurrir si la señal de fondo de uno de los métodos se hubiera calculado erróneamente (figura 3.b). Una segunda posibilidad es que la pendiente de la recta de regresión se > 1 ó < 1 , indicando que puede darse un error sistemático en la pendiente de una de las gráficas de calibrado individuales (figura 3.c). Estos dos errores pueden darse simultáneamente (figura 3.d). Otros tipos de posibles errores sistemáticos se ponen en manifiesto si la representación gráfica es curva (figura 3.e). Problemas de especificaciones pueden proporcionar resultados sorprendentes (figura 3.f). Este tipo de representación gráfica podría surgir si un analito se encuentra en dos formas químicas distintas, en proporciones que varían de muestra a muestra. Uno de los dos métodos en estudio podría detectar sólo una forma del analito, mientras que el segundo método detecta ambas formas. En la práctica, el analista desea muy a menudo realizar una prueba para contrastar una ordenada en el origen significativamente diferente de cero, y una pendiente significativamente diferente de 1. Tales contrastes se realizan determinando los límites de confianza para a y b , generalmente al 95% de nivel de significación.



CAPÍTULO V

MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISÍCOQUÍMICOS EN AGUAS

En este Capítulo se describe cada uno de los métodos sobre los cuales se realizará el estudio y evaluación de los parámetros estadísticos de validación, basándose fundamentalmente en el principio, las interferencias y algunos otros aspectos importantes, como por ejemplo, a qué se debe la presencia del analito que se va a determinar en el agua y cuál es la concentración mínima detectable del mismo que va ser analizado en cada uno de ellos.



V. 1. DETERMINACIÓN DE ALUMINIO MÉTODO ESTANDARIZADO

Código 3500 – Al B. MÉTODO DE ERIOCROMO CIANINA R¹⁹.

El aluminio ocupa el tercer lugar en orden de abundancia entre los elementos de la corteza terrestre, formando parte de minerales, rocas y arcilla. Esta amplia distribución es la causa de la presencia de aluminio en casi todas las aguas naturales como sal soluble, coloides o compuestos solubles. El aluminio soluble, coloidal e insoluble puede encontrarse también en aguas tratadas o en aguas residuales como producto de la coagulación con material que contiene aluminio, por ejemplo: Sulfato de Aluminio. El agua filtrada en una moderna instalación de filtración rápida con arena no tendrá una concentración de aluminio inferior a 50 µg/L.

V.1.1 Principio: el método de determinación de aluminio se fundamenta en que las soluciones diluidas de dicho metal tamponadas a pH 6.0 producen con la tinción de eriocromo cianina R un complejo de color rojo a rosado que presenta un máximo de absorción a 535 nm. La intensidad de color desarrollado depende de la concentración del aluminio, el tiempo de reacción, la temperatura, el pH, alcalinidad y concentración de otros iones en la muestra. Para compensar el color y la turbidez, se forma un complejo del aluminio con EDTA para obtener un blanco. Las interferencias de hierro y manganeso que se encuentran frecuentemente en el agua, pueden ser eliminadas por adición de ácido ascórbico. El intervalo óptimo de aluminio oscila entre 20 y 300 µg/L, sin embargo puede extenderse mediante dilución de la muestra a ser analizada.

V.1.2 Interferencias conocidas: tanto el fluoruro como los polifosfatos dan lugar a errores negativos. Cuando la concentración de fluoruro es constante, el porcentaje de error disminuye al aumentar las cantidades de aluminio. Como la concentración de fluoruro muchas veces se conoce o se puede determinar fácilmente, es posible obtener resultados bastantes precisos añadiendo la cantidad conocida de fluoruro a un grupo de patrones. Por otro lado existe un procedimiento para eliminar los fosfatos complejos. Los ortofosfato a concentraciones por debajo de 10 mg/L no interfieren. La interferencia causada por incluso



una pequeña alcalinidad se elimina acidulando la muestra justo detrás del punto de neutralización con naranja de metilo. El sulfato no se considera una interferencia hasta una concentración de 2.000 mg/L.

La concentración mínima detectable por este método, en ausencia de fluoruros y fosfatos complejos, es de aproximadamente $6 \mu\text{g/L} = 0.006 \text{ mg/L}$ ¹⁹.

V. 2. DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL MÉTODO ESTANDARIZADO

Código 3500 – Fe B. MÉTODO DE FENANTROLINA ¹⁹

En las muestras filtradas de aguas superficiales oxigenadas, el hierro raramente alcanza concentraciones de 1 mg/L. Algunas aguas subterráneas y drenajes superficiales ácidos pueden contener una concentración de hierro bastante mayor. El hierro del agua puede ocasionar manchas en la ropa de lavado y en la porcelana. Algunas personas son capaces de detectar el gusto astringente dulce-amargo a niveles por encima de 1mg/L.

En condiciones reductoras, el hierro existe en estado ferroso. En ausencia de iones que forman complejos, el hierro férrico no es significativamente soluble a menos que el pH sea muy bajo. Al exponerse al aire o al añadir oxidantes, el hierro ferroso se oxida al estado férrico y puede hidrolizarse para formar óxido férrico hidratado insoluble.

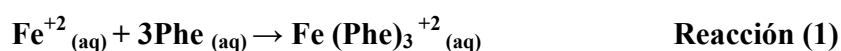
En muestras de agua, el hierro puede estar en forma de solución auténtica, en estado coloidal que pueda ser peptizado por materia orgánica, en complejos inorgánicos u orgánicos de hierro o en partículas suspendidas relativamente gruesas. Puede encontrarse en forma ferrosa o férrica suspendida o disuelta.

El cieno y la arcilla en suspensión pueden contener hierro soluble en ácido. Algunas veces se toman partículas de óxido de hierro con las muestras de agua por el desprendimiento de



herrumbre desde las tuberías. El hierro también puede provenir del tapón metálico utilizado para cerrar la botella de la muestra.

V.2.1 Principio: Se disuelve el hierro y se reduce hasta hierro ferroso por ebullición con ácido e hidroxilamina y se trata con 1,10 fenantrolina (Phe) a pH de 3.2 a 3.3. Se basa en la formación de un complejo rojo-naranja el cual consiste en un quelato de tres moléculas de fenantrolina por cada átomo de hierro ferroso.



La solución coloreada obedece a la ley de Beer y su intensidad es independiente a un pH entre 3 y 9. Un pH entre 2.9 y 3.5 asegura un rápido desarrollo del color en presencia de un exceso de fenantrolina. Es importante destacar que los patrones de color son estables durante al menos 6 meses.

V.2.2 Interferencias conocidas: entre las sustancias que interfieren están los oxidantes fuertes como: cianuro, nitrito, fosfato (mas los polifosfato que el ortofosfato), cromo, zinc en concentraciones 10 veces superior a la del hierro; cobalto y cobre por encima de 5 mg/L y níquel por encima de 2 mg/L. El bismuto, cadmio, mercurio, molibdato, y la plata precipitan la fenantrolina. La ebullición con ácido convierte los polifosfato en ortofosfato y elimina el cianuro y el nitrito, que, por otra parte podrían interferir. La adición de un exceso de hidroxilamina elimina los errores causados por concentraciones excesivas de reactivos fuertemente oxidantes. En la presencia de iones metálicos que interfieran, puede ser utilizado en exceso la fenantrolina para sustituir a la complejada por los metales que interfieren o bien puede emplearse el método de extracción.

En los casos donde existan cantidades apreciables de materia colorante u orgánica, puede ser necesario evaporar la muestra, llevar el residuo a combustión seca suave y volver a disolver con ácido. La combustión seca se puede realizar en crisoles de sílice, porcelana o platino que hayan sido hervido durante horas en HCl 1:1. La presencia de cantidades excesivas de materia orgánica puede hacer necesario un proceso de digestión antes de llevar al procedimiento de extracción.



Teóricamente, se ha encontrado que el cromo y el cianuro que son elementos altamente tóxicos, pueden estar en las aguas a nivel de trazas, y la mayor parte de estos componentes pueden ser introducidos mediante las descargas de desechos industriales y por lo general se encuentran en las aguas superficiales en vez de las aguas de pozos. Químicamente el cromo como CrO_4^{+2} , se comporta como un agente oxidante; puede reducirse con SO_2 hasta Cr^{+3} o eliminarse mediante intercambio aniónico y como Cr^{+3} , óxido hidrato coloidal a pH neutro es filtrable. En el caso del cianuro este es muy soluble y puede oxidarse con Cl_2 hasta CNO^- y $\text{N}_2 + \text{CO}_2$. es capaz de reducirse mediante la biodigestión de lodos activados y es eliminable mediante intercambio aniónico. Forma complejos con Cd y Fe ⁽²¹⁾.

La concentración mínima detectable de hierro total a través de este método es de 10 $\mu\text{g/L}$ y puede ser determinada con un espectrofotómetro provisto de células con un trayecto luminoso de 5 cm o más largo, a una longitud de onda igual a 510 nm.

V.3. DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL MÉTODO NO ESTANDARIZADO

Método Ferrover²⁰

El presente método es conocido mayormente como el método de la HACH para la determinación de hierro, se emplea mediante el uso de paquetes de reactivos cuyo nombre es reactivo FerroVer; el mismo es capaz de reaccionar con todo el hierro soluble y con la mayoría de las formas insolubles de hierro en las muestras, para producir hierro ferroso soluble. Este reacciona con la 1,10-fenantrolina en el reactivo para formar un color naranja en proporción a la concentración de hierro.

V.3.1 Interferencias conocidas :

Lo siguiente no causará interferencia por debajo de los niveles mostrados:

Cloruros	185,000 mg/L
Calcio	10,0000 mg/L
Magnesio	100,000 mg/L



Un gran exceso de hierro inhibirá la evolución del color. Debe analizarse una muestra diluida si existiera alguna duda acerca de la validez de un resultado.

El reactivo polvo Hierro FerroVer contiene un agente enmascarante que elimina las potenciales interferencias del cobre.

Las muestras que contienen algunas formas de óxido de hierro requieren digestión suave, fuerte o Digesdahl. Después de la digestión se debe ajustar el pH entre 2,5 y 5 con hidrato amónico.

Las muestras que contienen grandes cantidades de sulfuro deben ser tratadas de la forma siguiente, bajo una pureza de gases, o en una zona bien ventilada: añadir 5 mL de ácido clorhídrico a 100 mL de la muestra y hierva durante 20 min. Ajustar el pH ente 2,5 y 5 con hidróxido de sodio 5N y volver a ajustar el volumen hasta 100 mL con agua desionizada. Las muestras altamente tamponadas o con pH alto pueden exceder la capacidad tampón de los reactivos y necesitar un tratamiento previo.

Es importante destacar que para ambos métodos de determinación de hierro se requiere un proceso de digestión de la muestra, la razón de ello es la siguiente:

La digestión se refiere al uso de ácido y calor para descomponer una sustancia en componentes que puedan ser analizados⁽²⁰⁾.

V.4. DETERMINACIÓN DE COLOR MÉTODO ESTANDARIZADO

Código 2120 B. MÉTODO DE COMPARACIÓN VISUAL¹⁹

El color es una medida aproximada del tanino, lignina y otros materiales del humus en las aguas superficiales y algunas de desecho, como por ejemplo el desecho de despulpadoras. Reportadas en unidades de APHA, relacionadas con el estándar de platino²¹.



Por otro lado, el color del agua también puede estar condicionado por la presencia de iones metálicos naturales (hierro y manganeso), de turba, plancton, restos vegetales y otros residuos industriales. Las aguas residuales industriales coloreadas suelen requerir la supresión del color antes de su desagüe.

En este caso, el término color se asocia al concepto de color puro, esto es el color del agua cuya turbidez ha sido eliminada. El término “color aparente” engloba no solo el color debido a las sustancias disueltas, sino también a las materias en suspensión. Tal color aparente se determina en la muestra original sin filtrado ni centrifugado que son algunas de las técnicas de tratamiento previo para eliminar la turbidez. En algunas aguas industriales muy coloreadas, el color se debe principalmente a materiales coloidales o en suspensión. En este caso deberían determinarse ambos colores, el real y el aparente.

V.4.1 Principio: el color se determina mediante comparación visual de las muestras con concentraciones conocidas de soluciones coloreadas. La comparación también puede realizarse con discos especiales de cristal de color, adecuadamente calibrados. El método patrón de medida de color es el de cobalto-platino, siendo la unidad de color el producido por 1 mg/L de platino en forma de cloroplatinato. El índice cobalto-platino puede variarse para equiparar tonalidades en casos especiales; la proporción que se menciona más adelante es satisfactoria por lo general para igualar el color de las aguas naturales.

V.4.2 Interferencias conocidas: la turbidez, incluso cuando es ligera, hace que el color aparente sea más llamativo que el color real; por tanto ha de eliminarse la turbidez antes de aproximarse al valor real, bien mediante lectura diferencial con filtros de color distintos o por medidas de dispersión diferencial. Sin embargo, ninguna técnica ha conseguido la calificación de método estándar. Se debe eliminar la turbidez mediante centrifugado o por filtrado. En caso de ser una centrifugación esta se realiza durante 1 hora, a menos que se haya demostrado que la centrifugación en otras condiciones pueda dar lugar a una satisfactoria eliminación de la turbidez.



El valor de color del agua depende en buena medida y se incrementa invariablemente al aumentar el pH del agua, por ello, cuando se informa sobre un registro numérico debido al color se debe especificar el pH al que fue determinado. Con fines de investigación o cuando se compare valores de color entre laboratorios, se debe determinar la respuesta de color de un agua dada sobre un amplio margen de cifras de pH.



CAPÍTULO VI

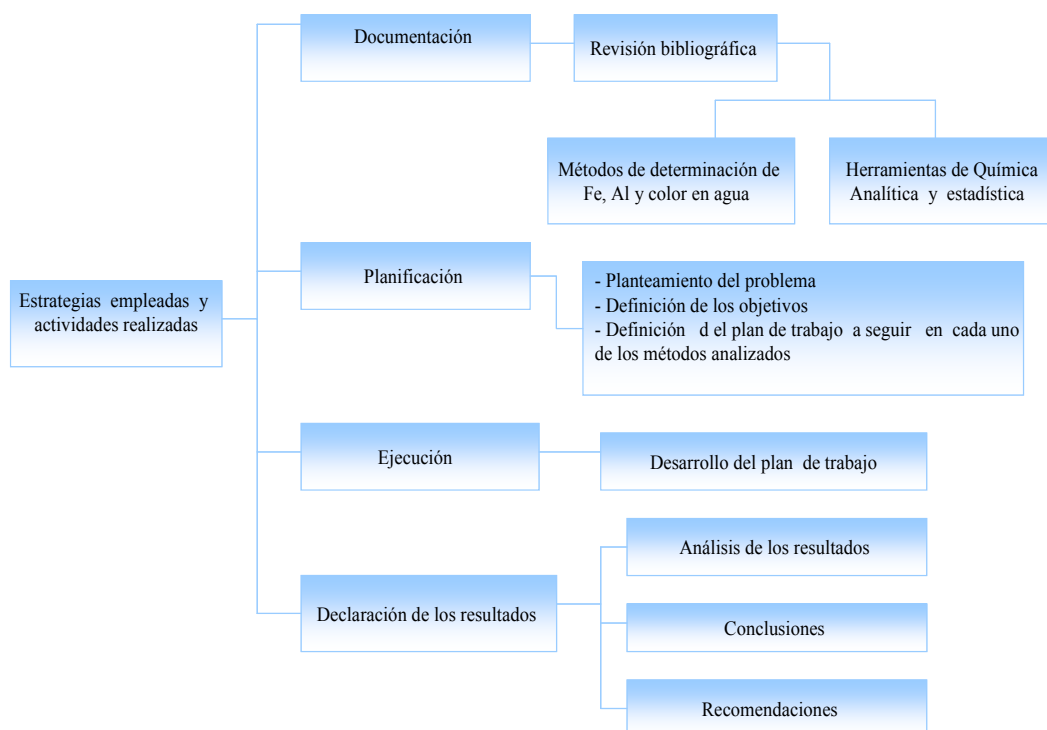
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En este capítulo se muestra de manera esquematizada cada una de las actividades que se llevarán a cabo y que son necesarias para la obtención de los resultados requeridos en el Laboratorio Estatal Aragua de HIDROCENTRO. El esquema esta estructurado de la siguiente manera: Estudio y evaluación de los parámetros estadísticos de validación, Análisis de efecto matriz y Análisis de Interferencia de cada uno de los métodos de determinación de los diferentes parámetros en agua.



VI.1.- Estrategias empleadas y Actividades desarrolladas

De acuerdo al período de tiempo establecido por la C.A Hidrológica del Centro para desarrollar el presente trabajo de investigación, se diseñó una serie de estrategias que permitieron realizar las actividades teóricas y experimentales, a propósito de cumplir con todos los objetivos planteados en el capítulo I, tomando en cuenta un tiempo de 6 meses (27 semanas) así como también el alcance de reactivos y materiales necesarios para la elaboración del mismo. Para ello se tomaron, en cuenta cuatro etapas importantes: *documentación (pre y post- documentación)*, que comprendió la revisión bibliográfica, tanto de los métodos trabajados como las herramientas de química analítica y estadísticas; *la planificación*, etapa en la que se planteó bajo la documentación, las actividades realizadas durante el desarrollo experimental; *la ejecución*, que consistió en la aplicación de lo planificado y finalmente *la declaración* de los resultados obtenidos, donde se analizaron los mismos y se establecieron conclusiones y recomendaciones. A continuación se presenta de manera esquematizada lo anteriormente descrito.





VI.2.- Determinación de los Parámetros Estadísticos de Validación

La determinación de los parámetros estadísticos de validación se ejecutó llevando a cabo el siguiente diseño experimental, el cual se fundamenta en la obtención de la función de respuesta instrumental con seis niveles de concentración (cinco patrones más el blanco), por quintuplicado en cada nivel, en condiciones de repetibilidad. Determinación de la exactitud (porcentaje de recuperación) de materiales de referencia a tres niveles de concentración por quintuplicado, que corresponden a:

Nivel bajo: cercano al límite de cuantificación

Nivel medio: próximo a los valores mas esperados

Nivel alto: cercano al mayor valor del intervalo de trabajo

El tamaño de muestra por método es de 225 que se dividen de la siguiente manera:

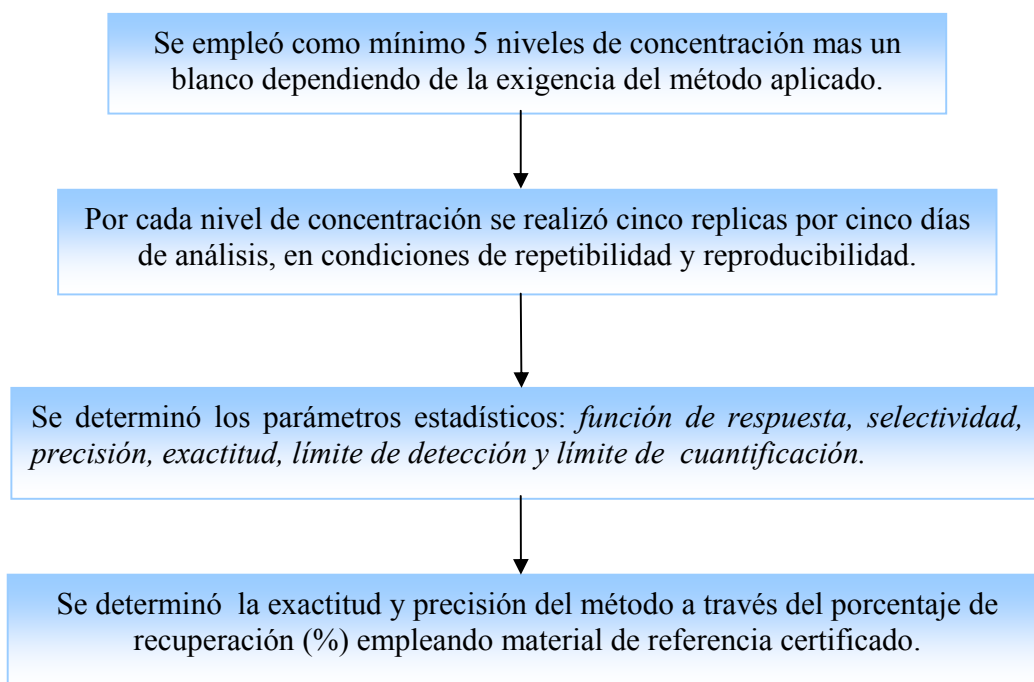
Cinco de cada una, preparadas cada día en condiciones de repetibilidad, lo que supone un total de unidades de 45 por día:

1*5 → cinco blancos

5*5 → veinticinco patrones

3*5 → quince materiales de referencia

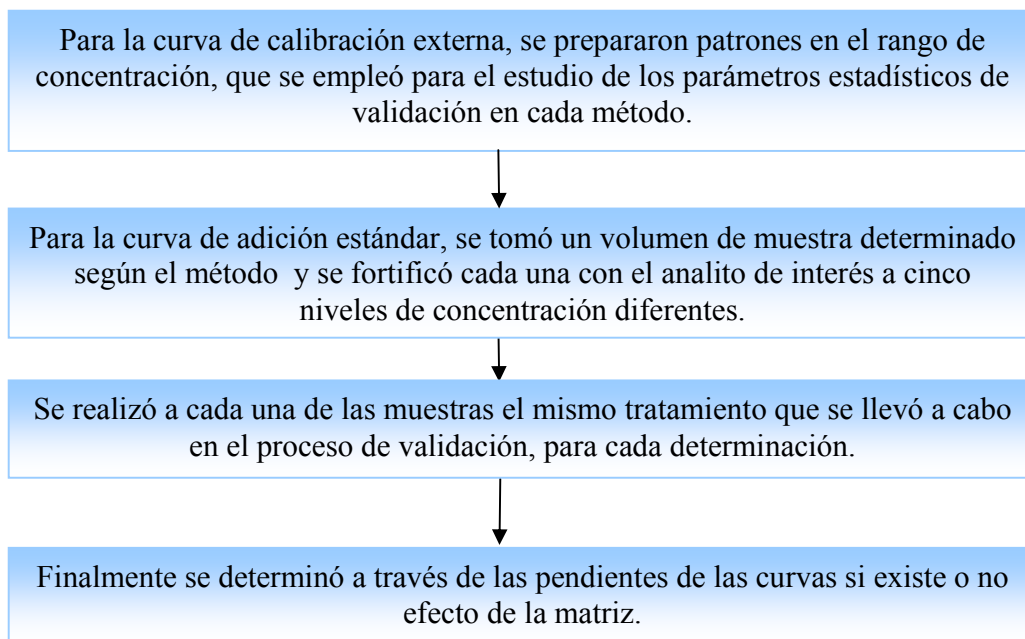
Todo ello multiplicado por cinco días hace un total de 225 muestra.



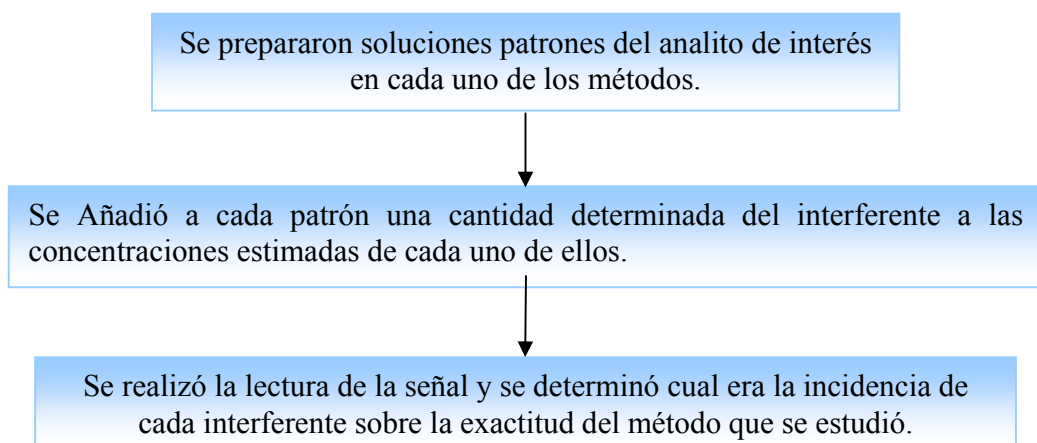


VI.3.- Análisis de Efecto Matriz

El análisis de efecto matriz se realizó sobre muestras de aguas natural y agua potable, provenientes de las fuentes superficiales de entrada y salida respectivamente de la Planta de Potabilización Pie de Cerro, para las cuales se realizó una curva de calibración externa y una curva de adición estándar en la determinación de cada analito.

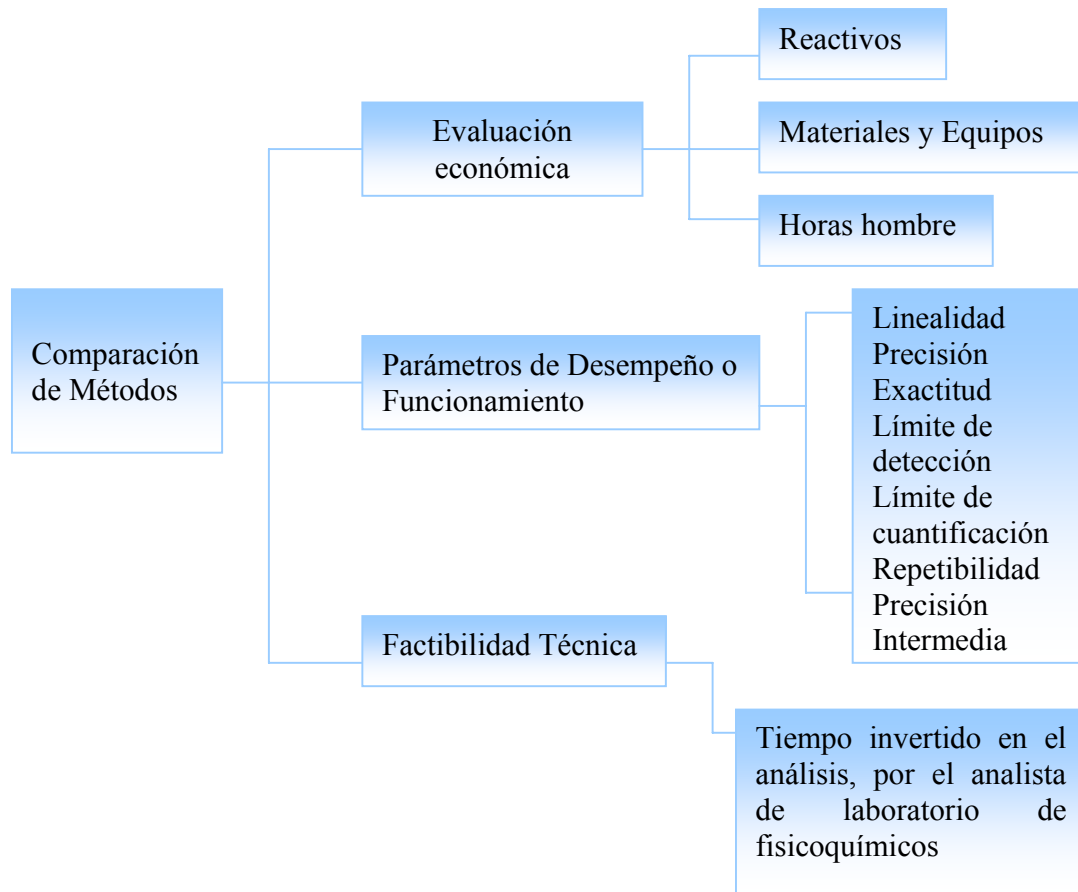


VI.4.- Análisis de Interferencia





VI.5.- Comparación de Métodos



El análisis de costo que se presenta en el esquema, se llevó a cabo a partir de datos suministrados por la administración de la C. A. Hidrológica del Centro, en los cuales se describen los precios de los reactivos, materiales y equipos, tomando en cuenta que estos valores se encuentran sujetos a cambios. Específicamente los precios de reactivos y algunos materiales se encuentran en la requisición del pedido año 2006 para el Laboratorio Estatal Aragua. La comparación en función de los parámetros de desempeño o parámetros de funcionamiento, se realizó tomando en cuenta los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros estadísticos de validación. Mientras que la comparación bajo el criterio de factibilidad técnica, se desarrolló tomando en cuenta el tiempo invertido por el analista durante el proceso de validación, por el cual se puede determinar una medida aproximada del tiempo requerido para el análisis en cuestión.



VI.6.- Materiales, reactivos y equipos empleados

En el estudio de los parámetros estadístico de validación, es de importancia conocer todos los insumos que se utilizan, debido a que son estos los que se están validando, ya que en caso de realizar el trabajo con reactivos o materiales de otras especificaciones, se deberá realizar un nuevo estudio de validación; por ello se presentan a continuación cada uno de los reactivos, materiales de vidrio y equipos empleados, con sus características, tales como: marca comercial y grado de pureza del reactivo, así como también capacidad, clase y marca de la cristalería y los equipos.

VI.6.1 Reactivos:

- Ácido clorhídrico, 37 % (Scharlau)
- Hidroxilamina, 99 % (Scharlau)
- Acetato de amonio, 98 % (Scharlau)
- Acetato de sodio Anhidro, 98 % (Productos Químicos Cris Quim)
- Fenantrolina, 99.50 (Merck)
- Ácido Sulfúrico, 95-97% (Fluka)
- Sulfato de amonio ferroso hexahidratado, 99%, (Riedel-de Haën)
- Permanganato de potasio, 99 % (Riedel-de Haën)
- Ácido ascórbico, 99.7 % (Riedel-de Haën)
- Eriocromo cianina R, (Riedel-de Haën)
- Sulfato de aluminio y potasio, 99.5 % (Merck)
- Cloruro de cobalto hexahidratado, 99-102 % (Merck)
- Cloroplatinato de potasio, 99.6 % (Riedel-de Haën)
- Hidróxido de sodio, 99 % (Riedel-de Haën)
- Solución de referencia de color certificada, (Fisher Scientific)
- Solución de referencia de aluminio certificada, (Hach)
- Reactivo Ferrover, (Hach)
- Agua destilada. Obtenida en el equipo destilador AUTOSTILL modelo 400x



VI.6.2 Material de vidrio:

Material de vidrio	Cantidad	Capacidad (mL)	Error asociado (\pm mL)	Clase
Matraces volumétricos	45	50	0.05	A
	52	100	0.08	
	5	250	0.12	
	3	500	0.2	
	6	1000	0.3	
Matraces erlenmeyer	45	125		
	45	250		
Cilindro graduado	1	50	0.1	
	2	1000	10	
Pipetas graduadas	10	10	0.06	
Pipeta volumétrica	4	0.5	0.006	
	4	1	0.006	
	7	2	0.01	
	5	3	0.01	
	3	4	0.015	
	4	5	0.015	
	2	6	0.015	
	2	7	0.01	
	3	10	0.02	
Beackers	24	250	--	
Varilla de vidrio	5	--	--	--
Embudo de gravedad	15	--	--	--
Tubo Nessler	3	50	--	--
Celdas de cuarzo	45	25 (2 cm)	--	--



VI.6.3 Equipos:

- Balanza digital ($\pm 0.0001\text{g}$), que debe ser ajustada a cero antes de cada pesada.
- Espectrofotómetro HACH DR 2000.
- Plancha de calentamiento.
- Comparador de color CC-C-26-01 marca ORBECO-HELLIGE, modelo AQUA TESTER.
- Disco de cobalto-platino desde 0-70 unidades de color.



CAPÍTULO VII

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En el presente capítulo se desarrollará la discusión de los resultados obtenidos en el trabajo experimental en el Laboratorio Estatal Aragua, basando dicha discusión en los aspectos teóricos expuestos en los capítulos anteriores y según los lineamientos metodológicos que fueron descritos en el capítulo VI.

La discusión se llevará a cabo analizando de manera particular cada uno de los métodos estudiados, los resultados de la determinación de los parámetros estadísticos de validación, el estudio de interferencias, la comparación entre los métodos normalizado y no normalizado para la determinación de hierro total y finalmente la evaluación del efecto matriz, que luego serán aunados a propósito de establecer si los métodos están aptos o no para el uso propuesto; esto es declaración de la validación.



VII.1.- Determinación y evaluación de los parámetros estadísticos de validación en los métodos de determinación de hierro total, aluminio y color en agua.

Los métodos de determinación de hierro total, aluminio y color en agua mediante técnicas colorimétricas y de comparación visual, están basados en las metodologías normalizadas y no normalizadas 3500 – Fe B, 3500– Al B, 2120 B y FerroVer reportados en el Standard Methods “For Examination of Water and Wastewater” y en el manual de HACH respectivamente.

El Laboratorio Estatal Aragua de HIDROCENTRO, como se mencionó en el capítulo I, está en la búsqueda de la acreditación en marco de la ISO 17025:2005, con el objetivo de garantizar un buen control de calidad y resultados confiables siguiendo los lineamientos de dicha norma, debido a esto se procedió al estudio de los parámetros estadísticos de validación de dichas metodologías, a fin de cumplir con uno de los requisitos establecidos en la misma. Es importante conocer, que se emplea la frase estudio de los parámetros estadísticos de validación, debido a que la validación de un método se considera una actividad continua que se alimenta, fundamentalmente de los datos que se obtienen de las actividades que se realizan en el terreno del control de calidad, y este trabajo es solo una de esas actividades.

Los parámetros estadísticos de validación, también denominados parámetro de calidad o de funcionamiento que se determinaron y corroboraron el adecuado desempeño o no del método considerado; fueron los siguientes:

- ✓ Exactitud: Porcentaje de recuperación, Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)
- ✓ Linealidad
- ✓ Límite de detección
- ✓ Límite de cuantificación
- ✓ Incertidumbre



Para la determinación de cada uno de estos parámetros de validación se realizaron cinco corridas en cinco días diferentes, por cada método, de donde se obtuvieron las absorbancias y otro tipo de señal (unidades de color $UC_{\text{cobalto/platino}}$) como lo es para el caso del color, de una serie de patrones y materiales de referencia; y mediante un estudio estadístico se realizó la estimación lineal partiendo de las absorbancias media y de $UC_{\text{cobalto/platino}}$, según el caso de cada grupo de patrones trabajados, y se determinaron los valores de porcentaje de recuperación, linealidad, sensibilidad, límite de cuantificación, límite de detección e incertidumbre, para un intervalo de confianza del 95%. Posteriormente, se determinó la precisión entre las cinco corridas, reportada como los coeficientes de variación de repetibilidad y reproducibilidad para cada nivel de concentración trabajado, partiendo de las desviaciones cuadráticas medias dentro del grupo y entre los grupos (ver apéndice B); la repetibilidad y la reproducibilidad, entre los días, reflejada en las tablas de resultados corresponden a los valores promedios de las cinco corridas.

Cabe destacar que en el Laboratorio estatal Aragua de Hidrocentro, la situación regular ordinaria de las mediciones rutinarias en los análisis de hierro total, aluminio y color en muestras de agua abarcan el rango de trabajo mostrada en la **Tabla 2** del capítulo I; una de las situaciones reales que se puede observar, son los análisis que se realizan en la planta de potabilización Pie de Cerro con respecto a estos tres parámetros, y para ello, se presentan los siguientes gráficos de control, que ilustran la situación de dicha planta durante el año 2006.

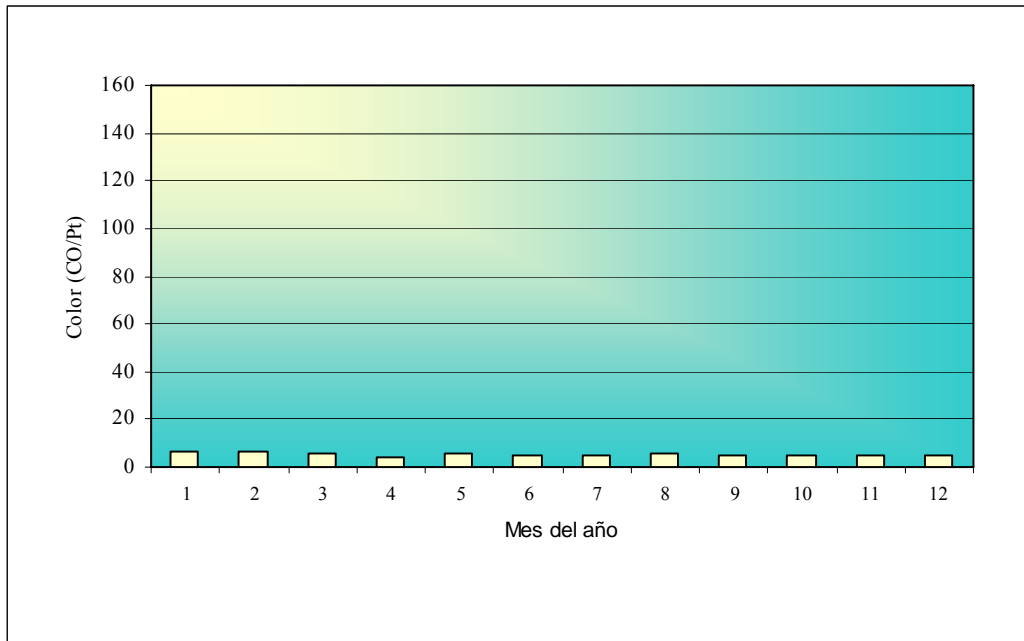


Figura 4.- Valores obtenidos en la determinación del color en muestras de agua tratada proveniente de la planta de potabilización Pie de Cerro durante el año 2006. Fuente: Hidrocentro, 2006

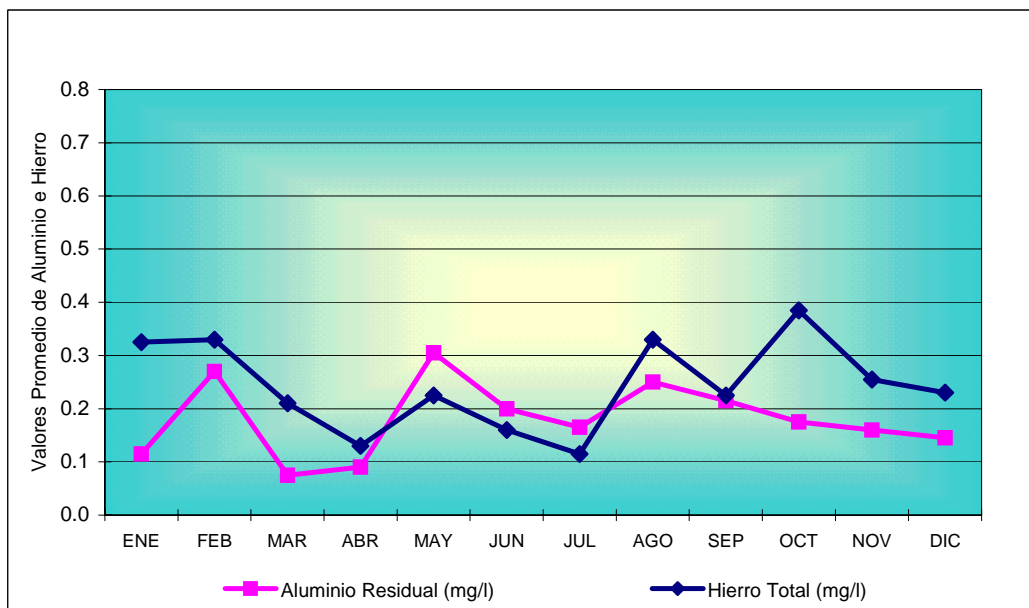


Figura 5.- Valores obtenidos en la determinación de hierro total y aluminio en muestras de agua tratada proveniente de la planta de potabilización Pie de Cerro durante el año 2006. Fuente: Hidrocentro, 2006



Por otro lado, también los métodos normalizados para la determinación de hierro total, aluminio y color en agua establecen el rango de trabajo sobre el cual se debe realizar el análisis, lo que se consideró como otra razón para establecer el rango de trabajo empleado en este estudio de los parámetros estadísticos de validación, cuyos valores se presentan a en las *Tablas 11, 12, 13, 14 y 15*.

Teóricamente, se conoce que la *exactitud* en una validación se refiere a la proximidad de la concordancia entre el valor verdadero y el resultado promedio que serían obtenidos aplicando el procedimiento experimental a un número muy grande de experimentos. Para un número muy grande de experimentos, la exactitud se acerca al error sistemático²². Este parámetro de calidad puede determinarse a través de la veracidad o sesgo, la recuperación y la precisión, y además la información aportada por el mismo, transmite una idea de si el método en estudio es malo o es bueno. En los casos estudiados se determinó el porcentaje de recuperación, el cual simplemente estará indicando la capacidad que tiene el método de determinar todo el analito presente en la muestra. En los resultados expuestos en las *Tablas 11, 12, 13, 14 y 15* se puede observar que el valor más alto se obtuvo en el método de determinación del color real en una muestra de agua (102 ± 6 %). Aunque esto pudiera reflejar errores sistemáticos en el ensayo, se puede decir, bajo el criterio de aceptabilidad de $\pm 10\%$ sobre 100, este valor es aceptable. De igual manera, para el valor más bajo del porcentaje de recuperación de 98.0 ± 0.6 %, para el método de determinación de hierro total empleando FerroVer, también está dentro de los límites definidos al igual que el resto de los métodos analizados. Aunque, unos más bajos que otros, todos son aceptables, y a pesar de que la regla es, que una buena recuperación no constituye una garantía de veracidad, pero una recuperación pobre indica claramente una falta de veracidad, en general son métodos buenos según este resultado, cuyos tratamientos aplicados a las muestras según la metodología de cada uno de estos, no proporcionarían pérdidas significativas del analito en la misma, de forma que los resultados arrojados son muy cercanos al resultado real en el determinado análisis. Sin embargo, para corroborar la presencia de errores sistemáticos y verificar la veracidad en el método de determinación de aluminio (*Eriocromo Cianina R*), donde el porcentaje de recuperación fue de (102 ± 6) % mostrando



mayor diferencia el nivel de concentración media del material de referencia con respecto al valor de concentración teórica, se determinó el sesgo global, cuyo valor obtenido fue de 6%, el cual se encuentra fuera de los límites legales, ya que un sesgo se considera aceptable de un 2 a 5 %. Con este resultado, se demostró que un buen porcentaje de recuperación no garantiza una buena veracidad.

Por otro lado la *precisión*, que es un parámetro que mide la concordancia entre los resultados obtenidos de un procedimiento experimental varias veces bajo condiciones que cubren repetibilidad (CV_r) y reproducibilidad intermedia (CV_R) en este caso, revelan, en términos generales una buena precisión en las metodologías. En el caso del método para la determinación de hierro total normalizado y aluminio, se obtuvo valores de CV_R que están dentro de los usualmente reportados para este tipo de metodologías expuestos en el Standard Methods (*ver Tabla 9*). Cabe destacar el hecho que en el Standard Methods los resultados provienen de ensayos interlaboratorios, en donde el número de participantes es alto y se desconoce el número de réplicas y corridas realizadas. Por tanto, no es posible hacer una comparación exhaustiva con dichos valores en relación a la repetibilidad.

Sin embargo, existe una teoría llamada la teoría de Horwitz, que expresa que el coeficiente de variación aumenta con la disminución de la concentración en que se encuentre el analito en la muestra. Si se observan los valores de CV_r obtenidos en cada uno de los métodos, para los diferentes analitos, se encuentra que en la determinación de aluminio, hierro total normalizado y color real se cumple dicha teoría; mientras que en los métodos de determinación de color aparente y hierro total no normalizado existe una diferencia significativa en cuanto al segundo y tercer nivel de unidades de color cobalto/platino y concentración del material de referencia respectivamente, lo que indica claramente la presencia de errores sistemáticos, donde se incluyen errores instrumentales y personales, siendo estos últimos, los se introducen en una medida como consecuencia de los criterios que adopta el analista. Cabe destacar, según disposiciones legales, que un valor de CV_r se considera aceptable, en general, igual o por debajo de un 2 %, bajo este criterio de aceptación o rechazo, el método que más se ajusta a este límite es el método de



determinación de hierro total normalizado, cuya variación se encuentra entre 0.92 – 4.74 %; si se observa la **Tabla 12**, el nivel de concentración media y alta del material de referencia de aluminio también están cerca del límite establecido, sin embargo, existe una gran diferencia con respecto al valor bajo de concentración, lo cual puede ser indicativo de un error sistemático, lo que no garantiza la confiabilidad de los resultados emitidos por el método de *eriocromo cianina R* a esta concentración. El resto de los métodos estudiados presentaron valores por encima del tabulado (ver **Tablas 13, 14 y 15**), lo que significa o más bien refleja la presencia de errores aleatorios considerables.

Es cierto que una menor precisión es reflejada por una mayor desviación estándar, en este caso se puede alegar, que el método mas preciso entre todos los estudiados fue el método de fenantrolina para hierro total normalizado.

Tabla 9.- valores de los coeficientes de reproducibilidad reportados por el Standard Methods.

Analito	Concentración, mg/L	CV_R (%)	Nº de participantes Interlaboratorios
Hierro	0,3	25.5	44
Aluminio	0.52	34.4	27
	0.05	38.5	16
	0.50	28.8	26
	0.54	44.3	16
	0.48	25.5	16

Teóricamente, la **linealidad**, se conoce como la habilidad de un procedimiento analítico de obtener resultados de pruebas que sean directamente proporcionales a la concentración del analito²². En este caso se observa en todos los métodos estudiados valores de linealidad aceptable, debido a que un valor aceptable debe ser mayor a 0.995; en las tablas mostradas anteriormente se observa que el método de determinación de aluminio tiene una linealidad promedio muy cercana a dicho valor, por lo que se le realizó una prueba de contraste *t*, cuya hipótesis nula¹⁸ establece que no existe correlación entre *x* e *y*. En este caso el valor obtenido para un nivel de confianza del 95% fue de 79.99, al compararlo con el valor de *t*



tabulado ($t_{critico}2.05$) a $n-2$ grados de libertad se verifica que dicho valor es mayor, lo que permite rechazar la hipótesis nula concluyendo de tal manera que existe una correlación significativa.

Los métodos para la determinación de hierro total normalizado y no normalizado, aluminio y color son generalmente aplicados a concentraciones moderadas, en el rango de concentraciones mostrados en la **Tabla 2** del capítulo I, en muestras de aguas naturales, potables y residuales. En la determinación del **Límite de Detección**, que es la cantidad mínima de analito detectable, y el **Límite de Cuantificación**, que es la concentración más baja de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión; se encontró que estos valores se ubican dentro del rango de concentraciones trabajado y exigido por las Gacetas Oficiales de la República Bolivariana de Venezuela N° 36395 del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social en la que se dicta las “Normativas Sanitarias de Calidad del Agua Potable” (*ver Tabla 4*) y la N° 5021 del decreto N° 883, en la cual se dictan las normas para la clasificación y el control de calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. Como se puede observar, al comparar los valores ilustrados en las **Tablas 11, 12, 13, 14 y 15** con los límites establecidos en las gacetas oficiales (*ver Tabla 4 y 10*), se podría llevar a cabo la determinación de hierro, aluminio y color en aguas por las técnicas descritas en cada uno de los métodos estudiados; ya que por ejemplo, para el hierro total el cual presentó LD igual a 0.035 y 0.055 mg/L LQ igual 0.113 y 0.159 mg/L, empleando el método de fenantrolina y ferover respectivamente, se puede determinar sin inconveniente el valor de 0.3 mg/L de Fe, el cual es el valor máximo aceptable en el agua potable, así como también el de 1.00 mg/L de Fe en las aguas destinadas a ser tratadas por tratamiento convencional. De igual manera se cumple para las aguas a ser vertidas o descargadas de forma directa o indirecta. De forma análoga, el aluminio mostró un valor de LD igual a 0.002 mg/L de Al y un LQ de 0.003 mg/L de Al con lo cual se puede hacer la determinación de esta especie para así poder detectar los 0.1 mg/L como valor deseable y límite establecido para las aguas potables y aguas a ser tratadas por un sistema convencional respectivamente; así como también los valores para las aguas a ser vertidas.



En algunos casos la fijación de los objetivos o de los parámetros estadísticos de validación se establece de acuerdo a la propia demanda que ha originado la necesidad analítica o bien el principio del método que se valida, en el caso de la determinación del color en agua, la metodología aplicada es del tipo cualitativa, por tanto los parámetros definidos para este análisis no fueron los mismos que se definieron para los análisis colorimétricos. Debido a esto, el límite de detección no se determina empleando la fórmula descrita en el capítulo IV, sino más bien ha sido considerado, como la menor lectura que el analista sea capaz de observar, al momento de determinar el color empleando los discos de comparación visual cobalto/platino. Sin embargo, un resultado confiable para cuantificar las unidades de color empleando el método de comparación visual, según los datos de precisión que se muestran en las **Tablas 13 y 14**, no debe ser por debajo de 30 unidades de color cobalto/platino, en consecuencia, se tiene que dicho método no es aplicable en análisis de agua potable, pero sí en análisis de muestras de agua cruda, ya que el máximo de color aceptable para este tipo de muestras establecido en la Gaceta Oficial N° 5021 de la República Bolivariana de Venezuela es $<50 \text{ UC}_{\text{cobalto/platino}}$, valor que puede ser cuantificado con un cierto grado de confianza.

Tabla 10.- Concentraciones y unidades de color establecidas para el hierro, aluminio y color respectivamente impuestas por la Gaceta Oficial N° 5021 de la República Bolivariana de Venezuela.

Gaceta Oficial N° 5021 de la República Bolivariana de Venezuela "Aguas a ser tratadas por tratamiento convencional"	
Parámetro	Límite establecido (mg/L)
Hierro Total	1.0
Aluminio	0.2
Color	$< 50 \text{ U Pt-Co}$



Tabla 11.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado de hierro total

Concentración (mg Fe/L)	%CV_r	%CV_R	% Recuperación	LD (mg/L)	LQ (mg/L)	Sensibilidad Promedio (Abs/(mg/L))	Linealidad
0.5	4.74	8.56	98.4 ± 0.2	0.035	0.113	0.4717	0.99998
1.0	4.51	8.86					
2.0	0.92	2.49					

Tabla 12.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado de aluminio

Concentración (mg Al/L)	%CV_r	%CV_R	% Recuperación	LD (mg/L)	LQ (mg/L)	Sensibilidad Promedio (Abs/(mg/L))	Linealidad
0.05	13.69	30.99	94 ± 6	0.002	0.003	5.0544	0.9953
0.2	2.95	9.31					
0.3	2.83	7.04					

Tabla 13.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado del color real

Unidades de color real (UC Co/Pt)	%CV_r	%CV_R	% Recuperación	LQ (UC Co/Pt)	Sensibilidad promedio (UC Co/Pt)	Linealidad
10	20.01	31.28	102 ± 2	30	0.9500	0.9963
30	9.18	12.14				
60	7.40	16.05				



Tabla 14.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método normalizado del color aparente

<i>Unidades de color aparente (UC Co/Pt)</i>	<i>%CV_r</i>	<i>%CV_R</i>	<i>% Recuperación</i>	<i>LQ (UC Co/Pt)</i>	<i>Sensibilidad promedio (UC Co/Pt)</i>	<i>Linealidad</i>
10	17.99	30.41	100 ± 2	30	0.9689	0.9992
30	8.39	16.03				
60	8.61	10.95				

Tabla 15.- Parámetros estadísticos de validación determinados en el método no normalizado de hierro total

<i>Concentración (mg Al/L)</i>	<i>%CV_r</i>	<i>%CV_R</i>	<i>% Recuperación</i>	<i>LD (mg/L)</i>	<i>LQ (mg/L)</i>	<i>Sensibilidad (mg/L)/(mg/L) *</i>	<i>Linealidad</i>
0,5	8.58	22.68	98.0 ± 0.6	0.055	0.159	0.9518	0.9990
1.0	23.16	50.35					
2.0	9.63	21.35					

* La sensibilidad está expresada en función de los mg/L de Fe teóricos versus los mg/L Fe experimentales.

Finalmente la **incertidumbre** es uno de los parámetros más importante en el estudio de validación y en el campo de las mediciones, se define como un parámetro asociado a una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando o razonablemente verosímil que se encuentre la verdadera concentración. Toda medición instrumental de análisis implica varias medidas experimentales, cada una de las cuales está sujeta a una incertidumbre indeterminada y cada una contribuye al error indeterminado neto del resultado final. A fin de demostrar como dichas incertidumbres afectan el resultado del análisis y teniendo en cuenta que la fuente principal de esta en la determinación de las medidas experimentales hechas por un equipo de espectrofotometría de uv-visible, es la variación aleatoria en la asignación de la



concentración de los patrones empleados; el cálculo de la incertidumbre se realizó por cada día de la validación, así como para el promedio de ellos, en todos los métodos estudiados.

En la tabla que se muestra a continuación se observan los valores de incertidumbre que se obtuvo para cada una de las señales promedios en los distintos métodos analizados.

Tabla 16.- Incertidumbres expandidas obtenidas en la determinación de cada analito en agua por las diferentes metodologías empleadas.

Método	Parámetro	Valores					Incertidumbre Promedio
Fenantrolina	Concentración de Fe (mg/L)	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00	0.01
	Incertidumbre (\pm)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
Ferrover	Concentración de Fe (mg/L)	0.40	0.60	1.00	1.4	2.0	0.2
	Incertidumbre (\pm)	0.07	0.07	0.08	0.9	0.1	
Eriocromo Cianina R	Concentración de Al (mg/L)	0.05	0.10	0.20	0.25	0.3	0.04
	Incertidumbre (\pm)	0.02	0.03	0.03	0.03	0.1	
Comparación visual	Unidades de Color Co/Pt	5	20	50	60	70	6
	Incertidumbre (\pm)	5	5	6	7	7	

Este parámetro más que ser definido como un parámetro de desempeño, por que la medición lo requiere, también se precisa como un parámetro de calidad, de hecho, para efectos del presente trabajo, donde algunos de los objetivos están basados en los lineamientos de la norma ISO/IEC 17025:2005, la incertidumbre es un parámetro de calidad; sin embargo, debemos recordar que es importante que toda medición este sujeta a una incertidumbre, debido a que todos los procedimientos de medición tienen imperfecciones que dan lugar a un error en el resultado de la misma, lo que provoca que el resultado sea sólo una aproximación o estimado del valor del mensurando, por ello obtener un estimado acerca del comportamiento de cada uno de los métodos estudiados con



respecto a este parámetro, no sería un desarrollo nulo del estudio, sino más bien contribuye, de acuerdo a los resultados, una fuente más de investigación que aportará beneficios al objetivo que se ha planteado la empresa para obtener la acreditación. Por dicha razón, las incertidumbres promedios de cada método, reportadas en la **Tabla 16**, fueron comparadas con la incertidumbre requerida ²³ tomando en cuenta los niveles máximos permisibles de concentraciones de hierro y aluminio y unidades de color cobalto/platino para agua tratada y agua cruda respectivamente.

La incertidumbre requerida también es conocida como requerimiento de medición y está directamente relacionada con los límites de especificación y un factor de riesgo, que es un parámetro que nos permite ponderar el grado de atención que se debe tener en el control metrológico de los instrumentos de medición relacionados con las diferentes variables del proceso. En este estudio, el factor de riesgo tiene un valor de 8, debido a que la comparación se realizó en base a la violación de disposiciones legales y al peligro de salud (**ver Tabla 6**), que puedan representar ciertos niveles de aluminio, hierro y color, en el agua destinada al consumo humano.

En Los resultados obtenidos (**ver Tabla 17**) se puede observar de acuerdo a los límites establecidos en gaceta oficial, que para la determinación de aluminio (*eriocromo cianina R*) a una concentración aceptable de 0.2 mg/L el límite de especificación dentro de lo que exige la norma es de ± 0.1 mg/L, para el cual la incertidumbre requerida por dicho método es de ± 0.004 mg Al/L; al comparar este valor con la incertidumbre expandida promedio obtenida en el análisis de los parámetros estadísticos de validación se evidencia que la determinación del aluminio empleando la metodología de eriocromo cianina R esta por debajo del nivel de calidad exigido al ser 10 veces lo requerido para el límite expuesto en gaceta oficial. Por otro lado, para la determinación de hierro total donde la concentración aceptable es de 0.3 mg/L y el límite de especificación dentro de lo que exige la norma es de ± 0.15 mg/L, la incertidumbre requerida por dicho método tiene un valor de ± 0.006 mg Fe/L; al comparar este valor con las incertidumbres expandidas promedios que se obtuvo tanto para el método de determinación de hierro total normalizado (*fenantrolina*)



como para el no normalizado (*ferrover*), también se evidencia que tanto el método de fenantrolina así como el de ferrover están por debajo del nivel de calidad exigido, debido a que en el método de fenantrolina se obtuvo una incertidumbre expandida promedio de 0.01 y en el método de ferrover de 0.2, las cuales son aproximadamente 1.66 y 33 veces mayores a la incertidumbre requerida para la determinación de hierro total. De la misma manera, también se analizó el método de determinación del color, para el cual se observó un comportamiento similar a los métodos analizados anteriormente, presentando como resultado que la incertidumbre expandida promedio para el método de comparación visual es 6 veces mayor a la incertidumbre requerida con respecto al nivel máximo permisible de unidades de color cobalto/platino exigido por la gaceta oficial para aguas crudas, ya que dicho valor de incertidumbre requerida tomando en cuenta un límite de especificación igual a 25 UC_{cobalto/platino} es de ± 1 UC_{cobalto/platino}. A pesar de solo ser una estimación estos resultados sugieren un estudio para minimizar las fuentes de incertidumbre.

Tabla 17.- Valores de las incertidumbres requeridas

<i>Analito</i>	<i>Máximo aceptable</i>	<i>Límite de especificación ($\pm LE$)</i>	<i>Incertidumbre Requerida</i>
<i>Aluminio</i>	0.2 mg/L	0.1 mg/L	0.004
<i>Hierro total</i>	0.3 mg/L	0.15 mg/L	0.006
<i>Color</i>	<50 UC _{cobalto/platino}	25 UC _{cobalto/platino}	1

Observación: Los niveles máximos aceptables que se reportan, corresponden en el caso del aluminio y hierro total a el agua tratada mientras que en el caso del color corresponde al agua cruda

Por otro lado, se observó, que los resultados de incertidumbre expandida para cada método presentan un comportamiento proporcional a la concentración establecida, lo cual no era de esperarse, ya que a mayor concentración se deberá obtener menor incertidumbre. Sin embargo, el método de determinación de hierro total normalizado presentó la misma incertidumbre expandida en cada nivel de concentración, situación que otorga mayor confiabilidad a la afirmación que se realizó anteriormente, acerca de que el método con mejor desempeño es el método de fenantrolina para la determinación de hierro total en



muestras de agua. En el caso de la determinación de aluminio por el método de eriocromo cianina R, se presentó una situación donde el valor de la incertidumbre expandida en el último nivel de concentración es bastante diferente con respecto a los otros niveles, resultado el cual evidencia que existe algún tipo de error sistemático que es importante controlar en la aplicación de este método para la determinación de aluminio

VII.2.-Análisis de Interferencias sobre los Métodos Estandarizados y no Estandarizados para la determinación de Aluminio, Hierro total y Color en Agua.

Las interferencias causan un error sistemático constantes manifestándose con iguales valores de las pendientes de los calibrados en ausencia o presencia de la muestra y señales más altas (error por exceso) o más bajas (error por defecto) que las esperadas, razón por la cual se han evaluado en el presente estudio ²⁴.

En los métodos de determinación de aluminio, hierro total y color en agua, estandarizados y no estandarizados, como se mostró en capítulo V, se encuentran planteados cada uno de los interferentes y el nivel al cual pueden interferir cada uno de estos durante el desempeño del método. Por esta razón, han sido consideradas a fin de evaluar su incidencia y establecer a través de esto, si los métodos se encuentran en condiciones de ser aplicado o no para el uso propuesto. Este aspecto se desarrolló como un estudio estadístico, que aunque parcial, deja abierta una puerta de investigación dirigida a futuras evaluaciones en las que se pudiera establecer relaciones entre variables, tomando en cuenta las características de las muestras que llegan a diario en el laboratorio.

VII.2.1.- Determinación de Hierro total a través del Método de Fenantrolina

En la determinación de hierro total se analizó el caso del interferente fosfato, que se conoce teóricamente que a una concentración 10 veces por encima de la concentración de hierro, puede hacer que el resultado determinado al llevar a cabo un análisis de este analito, sea erróneo. Según lo descrito en el método estandarizado para la determinación de hierro total (ver capítulo V), los polifosfato pueden convertirse en ortofosfato, durante la ebullición del



proceso de digestión de la muestra. Siendo estos últimos menos influyentes en la respuesta instrumental o en la señal esperada en la determinación de hierro total, es de esperarse una neutralización de este efecto.

Con el fin de validar esta afirmación descrita en el método estandarizado, se efectuó una corrida en blanco (agua destilada) de patrones de hierro total, variando la cantidad de solución estándar de fosfato en cada uno de ellos, en niveles de concentración a la cual se espera interferencia posible (ver capítulo V), siguiendo el método 3500 – Fe B. Método de Fenantrolina, para este análisis.

Además de validar lo expuesto en dicho método, el análisis de interferencia se llevó a cabo también porque en la revisión estadística que se realizó sobre los datos, de los análisis de los distintos parámetros durante el período junio 2006 – agosto 2007. (Ver apéndice A), se encontró que el fosfato en algunos casos se localizaba a concentraciones 10 veces mayor a la concentración de hierro total, como por ejemplo en el Pozo Calichal I del Acueducto la Victoria, donde para la fecha 13/03/2007, la concentración de hierro era de 0.03 mg/L y la concentración de fosfato era 0.48 mg/L.

En el método evaluado, se listan otros tipos de interferentes, como son: cianuro, nitrito, cromo, zinc, cobalto y cobre. Debido a que las estadísticas no muestran valores de concentraciones para ser considerada su influencia negativa sobre los resultados de hierro total en las muestras que en el Laboratorio Estatal Aragua se analizan, su estudio no fue realizado. A esto, debe agregarse la toxicidad y el nivel de riesgos que implica trabajar con algunos de estos elementos (caso del cromo, cianuro, cobalto), además de la baja concentración en que estos elementos se encuentran en aguas subterráneas. A continuación se presentan las figuras que ilustran los resultados del análisis de interferencia del fosfato en la determinación de hierro total, a partir del método estandarizado.

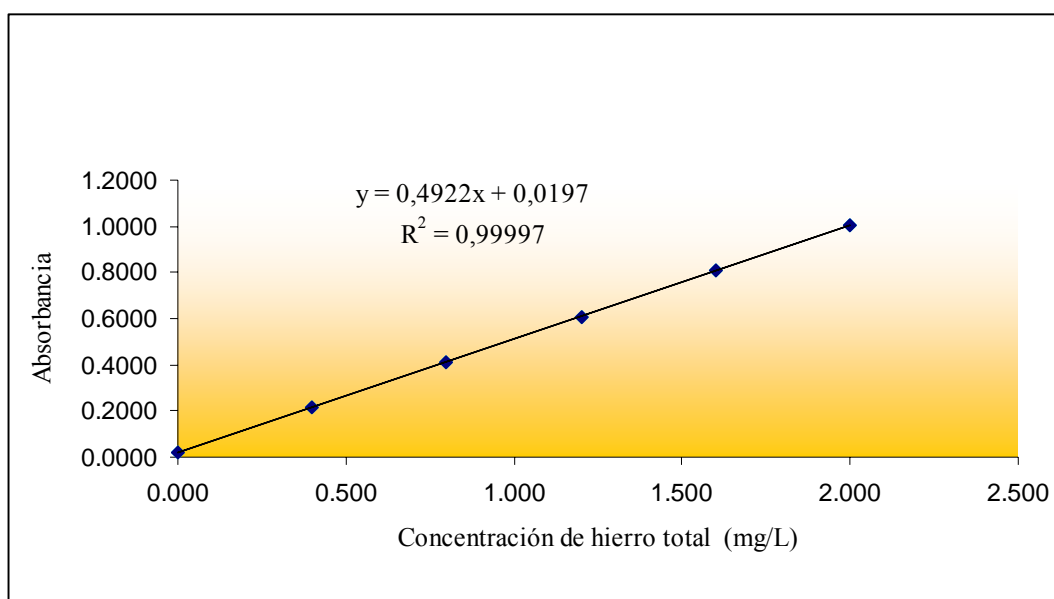


Figura 6.- Curva de Calibración para la Determinación de Hierro Total añadiendo el interferente fosfato a los patrones.

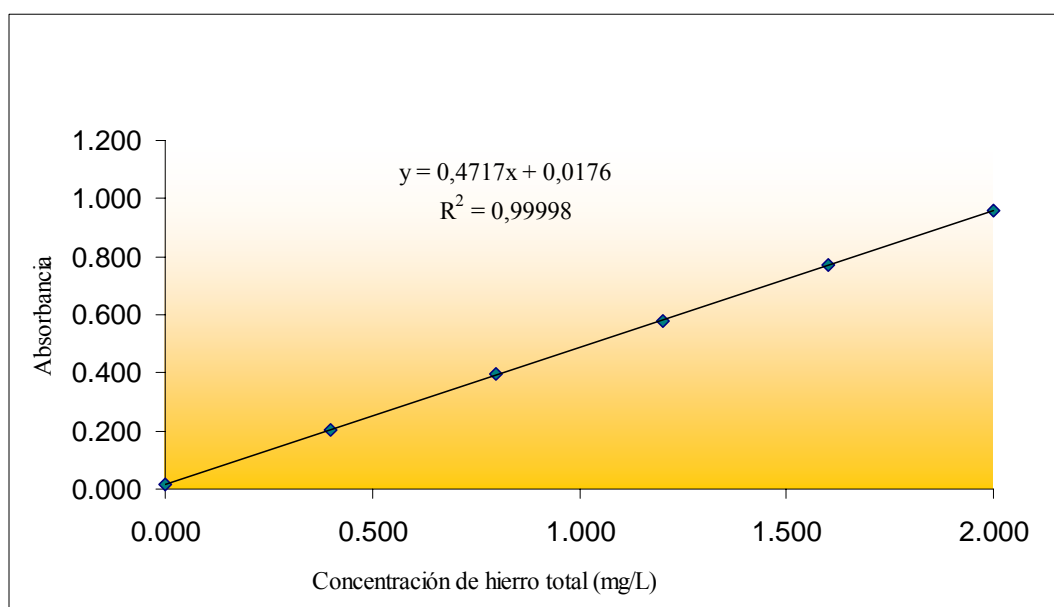


Figura 7.- Curva de calibración externa para el análisis de hierro total.



Ahora bien, aunado a lo descrito anteriormente, los resultados observados a través de la **figura 6**, demuestran, en comparación con la **figura 7**, ciertas diferencias estadísticas. En estos gráficos cada punto de la curva de calibración representa una muestra única analizada aplicando la misma técnica, pero, empleando en una el fosfato como interferente y en la otra no. Si se esperara que cada muestra condujera al mismo resultado en ambos gráfico, al realizar una recta de regresión donde se represente en el eje “y” el método agregando el interferente y en el “x” el método establecido normalmente, esta recta tendría una ordenada en el origen (b) igual a cero, y una pendiente (m) y un coeficiente de correlación (r) igual a uno. Sin embargo, en la práctica esto nunca ocurre, aun estando completamente ausentes los errores sistemáticos y los errores aleatorios. Las desviaciones de la idealidad ($b = 0$, $m = 1$, $r = 1$) se presentan en distintos casos. Véase ahora la recta de regresión para el presente análisis.

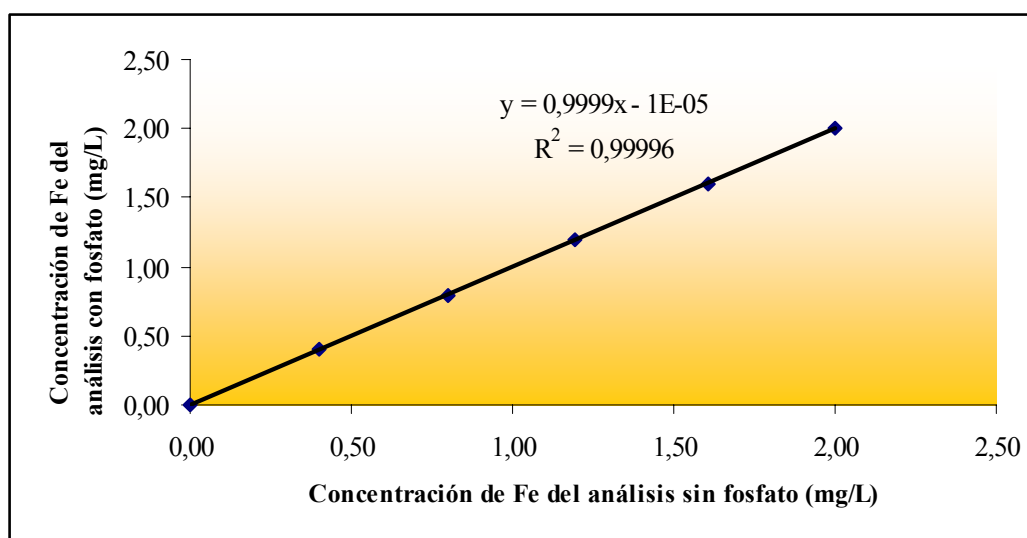


Figura 8.- Recta de regresión para la comparación de las curvas de calibración en el análisis de interferencia en la determinación de hierro total estandarizado.



Si se observan los valores de la pendiente y la ordenada en el origen notamos que existe una cercanía a 1 y a 0 correspondientemente, sin embargo, para establecer si existe una diferencia significativamente de 1 para la pendiente y de 0 para la ordenada en el origen podemos contrastar determinando los límites de confianza a un grado del 95 % de nivel de significación, para ellos se emplearon los parámetros estadísticos presentados en la **Tabla 18**.

Tabla 18.- Límites de confianza (LC) superior e inferior para la recta de regresión en la comparación del análisis de interferencia de fosfato en la determinación de hierro total estandarizado

<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Nivel de confianza, (%)</i>	<i>LC inferior</i>	<i>LC superior</i>
<i>Pendiente (m)</i>	0.9999	0.0029	90	0.9948	1.0049
				-0.0061	0.0061
<i>Ordenada en el origen (b)</i>	-0.00001	0.0036	95	0.9938	1.0060
				-0.0074	0.0073
			99	0.9917	1.0081
				-0.0099	0.0099

La pendiente es de 0.9999 con límites de confianza inferior y superior de 0.9938 y 1.0060 este intervalo incluye el valor ideal de 1. Por su parte el valor de la ordenada en el origen es de -0.00001 y el intervalo de confianza va desde -0.0074 a 0.0073, el cual también incluye el valor ideal de cero. Estos resultados reflejan que no existe error sistemático en alguna de las pendientes de las curvas de calibrado, debido a que los límites de confianza tanto para la pendiente como para la ordenada en el origen incluyen los valores ideales de 1 y 0 respectivamente.

En algunos casos, los límites de confianza no incluyen el valor de 1 para la pendiente y el valor de 0 para la ordenada en el origen a un nivel de significancia dado, por esto se determinó los límites de confianza para cada uno de ellos, a un nivel de confianza superior e inferior del 95 %. Al realizar dicha determinación se observó (ver **Tabla 18**) que de igual



manera para un nivel de confianza del 90 y 99 % el valor ideal de la pendiente y la ordenada en el origen caen dentro de estos límites, por lo que se corrobora la ausencia de errores sistemáticos, en una de las curvas de calibración analizada.

Al realizar comparación de pendientes entre ambas corridas empleando los estadísticos F y t se obtuvo que existe diferencia significativa entre las varianzas, de igual forma al determinar el estadístico t , se demuestra que existe diferencia significativa (ver **Tabla 19**) entre las pendientes de ambas curvas de calibrado. Sin embargo, estos resultados solo demuestran que fuera del rango de concentraciones trabajado pudiera existir diferencia significativa, demostrándose el efecto de interferencia del fosfato sobre la determinación de hierro total. Tomando en cuenta, el resultado obtenido en la comparación empleando la recta de regresión, se concluye que no existe error sistemático sobre alguna de las curvas de calibrado, por tanto, no existe efecto del interferente fosfato sobre la determinación de hierro total, empleando el método normalizado en el rango de concentraciones estudiado.

Tabla 19.- Valores determinados para las pruebas de significación (F y t de students) en la determinación del efecto de interferencia del fosfato sobre el análisis de hierro total

Método	Pendiente	Error estándar	F		t	
			calculado	crítico	calculado	tabulado
Con fosfato	0.4922	0.0013	2.445	2.201	21.66	2.07
Sin fosfato	0.4717	0.0009				

Observación: Estos valores son contrastados contra el valor F para dos colas calculado con el programa estadístico Excel y la tabla (ver anexo A) al 95% del nivel de significación.



Si se observan los parámetros de validación determinados en cada caso (ver **Tabla 20**) la única diferencia significativa observada, es en el porcentaje de recuperación, que a pesar de encontrarse ambos dentro de las disposiciones legales, la determinación de hierro total en donde se empleó el fosfato como interferente presentó mayor desviación estándar con respecto a este parámetro, evidenciando la variabilidad de las mediciones o determinaciones de hierro total a través del método normalizado (*fenantrolina*).

Tabla 20.- Parámetros estadísticos de comparación en el efecto de fosfato sobre la determinación de hierro total

Determinación	Linealidad	Límite de detección	Límite de cuantificación	% de Recuperación
Con fosfato	0.99997	0.015	0.046	101 ± 1
Sin fosfato	0.99998	0.035	0.113	98.4 ± 0.2

Químicamente, durante el proceso de digestión del hierro total, en caso de existir interferencia por fosfato, la hidrólisis ácida a la temperatura de ebullición del agua transforma los fosfatos condensados, disueltos y en partículas, en ortofosfato disuelto. La hidrólisis libera inevitablemente algo de fosfato a partir de los compuestos orgánicos; sin embargo puede reducirse al mínimo eligiendo cuidadosamente la fuerza del ácido y el tiempo y temperatura de hidrólisis¹⁹.



VII.2.2- Determinación de Aluminio a través del Método de Eriocromo Cianina R

En el caso de la determinación de Aluminio, existe como interferente el elemento fluoruro, que por lo general en agua crudas no debe ser mayor a los 1.7 mg/L y para agua tratada según la gaceta N° 36395, el contenido del mismo se fija de acuerdo al promedio anual de temperatura máxima del aire en °C según el siguiente cuadro:

Tabla 21.- Valores Límite recomendados para el contenido de fluoruro en mg/L

Promedio anual de Temperatura Máxima del aire (°C)	Límite Inferior	Límite Óptimo	Límite Superior
10.0 – 14.0	0.8	1.1	1.5
14.0 – 17.6	0.8	1.0	1.3
17.7 – 21.4	0.7	0.9	1.2
21.5 – 26.2	0.7	0.8	1.0
26.3 – 32.6	0.6	0.7	0.8

Para efecto de este estudio no se llevó a cabo el análisis de este determinado interferente, debido a que el método de determinación de aluminio presenta un gráfico de corrección que puede ser empleado cuando se realiza este tipo de determinación en el laboratorio, y se conoce que la cantidad de fluoruro puede estar interfiriendo, de manera que el resultado de aluminio en la muestra, sea erróneo. A continuación se presenta dicho gráfico de corrección.

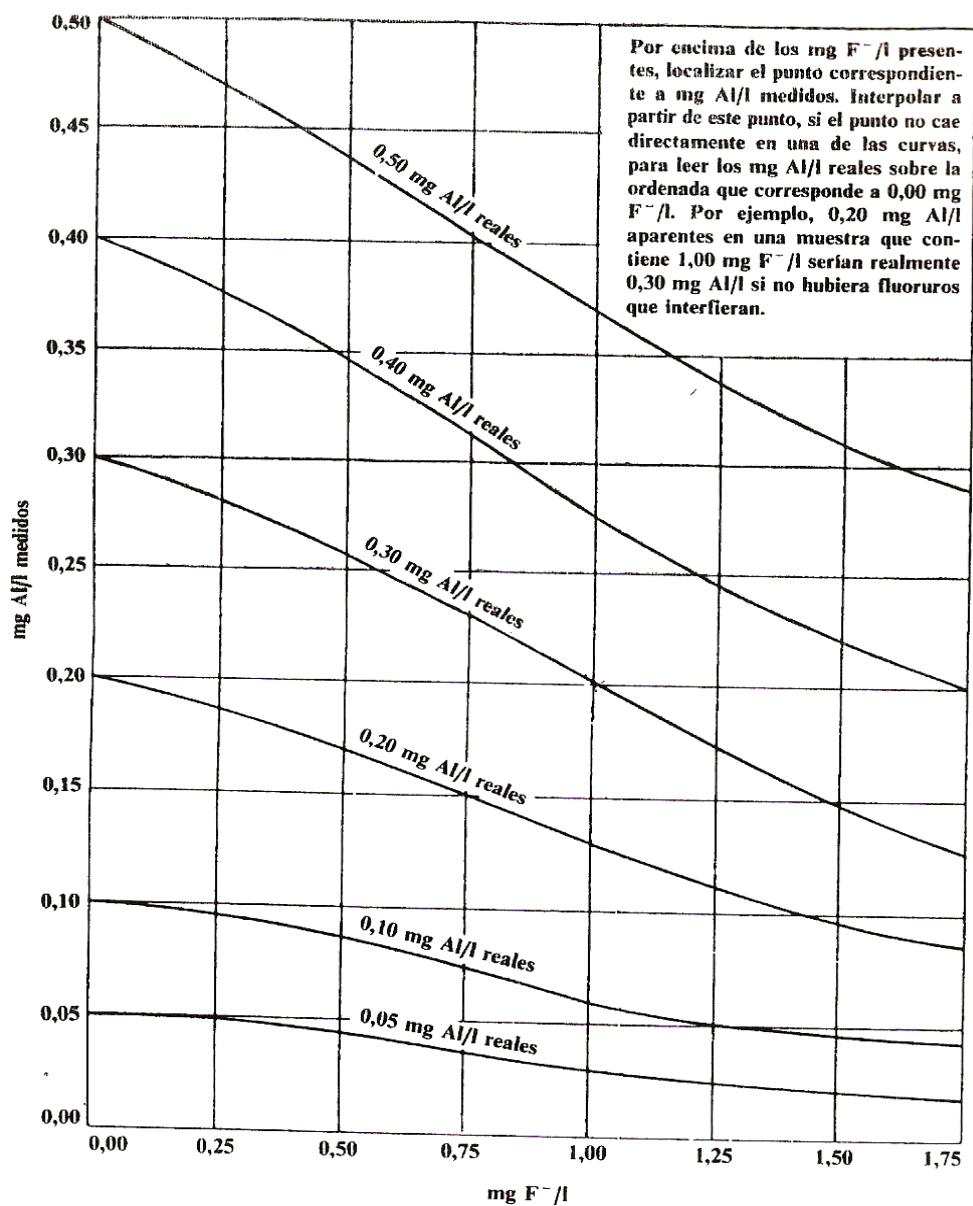


Figura 9.- Curva de corrección para la estimación de aluminio en presencia de fluoruro. Fuente: Standard Methods "For Examination of Water and Wastewater", 2005

El gráfico mostrado anteriormente es de gran utilidad en los ensayos del laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro, ya que las estadísticas mostradas (ver apéndice A), para las plantas pertenecientes a este territorio estatal, muestran valores de fluor por encima de los 0.25



mg/L, lo cual indica que esta cantidad podrá influir en los resultados de determinación de aluminio, que es tan importante en el proceso de potabilización, debido a que es uno de los parámetros que indica si existe fallas o no durante el mismo, recordando que el tratamiento de las aguas en las plantas pertenecientes al estado Aragua como, Pie de Cerro, Camatagua, Colonia Tovar y Zuata, son dosificadas con Sulfato de Aluminio para las etapas de coagulación y floculación. A pesar que el fluoruro es un componente común de muchos minerales, que pueden estar contenidos en el agua cruda, y que además se puede encontrar en aguas municipales proporcionando un residuo de 1.5 – 2.5 mg/L, el cual es beneficioso para el control de las caries, no es de interés la curva de corrección cuando se analiza aguas de este tipo, ya que el objetivo del Laboratorio Estatal Aragua, es solo determinar aluminio a las aguas tratadas provenientes de las plantas de potabilización a fin de controlar el proceso en las mismas y no de las aguas crudas que en estas se alimentan .

Otro de los elementos interferentes es el polifosfato, para el cual no se llevó a cabo tampoco ningún tipo de ensayo, debido a que la concentración a la que interfiere dicho componente es mayor a los 10 mg/L, y según los datos estadísticos promedios (ver apéndice A) mostrados para los análisis de las plantas en donde se llevan a cabo determinaciones de aluminio, durante el período junio 2006 – agosto 2007, no se encontraron concentraciones de los polifosfatos mayores a 10 mg/L. Sin embargo, por la naturaleza del fósforo en el agua, el cual puede estar por encima de esta concentración, debido a diferentes causas como: que los compuestos fosfatados se emplean ampliamente como fertilizantes y detergentes, pudo haber sido esta causa, un impulso para llevar a cabo un ensayo de aluminio contaminado con fosfato, y observar el efecto del mismo sobre su determinación, que no fue así, simplemente por que el objetivo fue enfocado hacia el entorno de lo que las aguas del estado Aragua reportaban con respecto a los parámetros que en el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro se analizan para definir, si el agua esta apta o no para el consumo humano, evitando de esta manera además el gasto de reactivos y tiempo invertidos innecesariamente.



VII.2.3.- Determinación de Hierro total a través del Método de Ferover

Además de haber llevado a cabo un análisis de determinación de hierro total por el método HACH a propósito de una comparación de los resultados de los parámetros estadísticos de validación obtenidos, con respecto a los que arroja el método normalizado, también se colocó en práctica un estudio de interferencias para el mismo, en el cual se estimó la influencia del calcio como carbonato de calcio (CaCO_3) sobre el resultado de hierro total en agua, que teóricamente se conoce puede interferir a una concentración de 10 mg/L, estadísticamente, al igual que en los casos anteriores se realizó la determinación de los diferentes parámetros de acuerdo al principio del método, se realizó una comparación de ambas corridas a través de una recta de regresión y se realizó también las pruebas de significancia aplicadas en los métodos anteriormente analizados.

Generalmente como se hizo referencia en el capítulo I el método de determinación de hierro total no normalizado se aplica en el Laboratorio Estatal Aragua, con la finalidad de ahorrar tiempo en el trabajo de los analistas, ya que dicho método requiere de menos tiempo en su aplicación que el método normalizado, la respuesta dada por el equipo, es la concentración del analito en la muestra, por lo que este análisis se realizó en función de la concentración experimental versus la concentración teórica. Al igual que el método normalizado para la determinación de hierro total, este análisis se llevó a cabo, debido no solo al propósito de cumplir con el objetivo planteado en capítulo I, sino también porque en la revisión estadística que se realizó sobre los datos de los análisis de los distintos parámetros durante el período junio 2006 – agosto 2007 (ver apéndice A), se encontró que el calcio como carbonato de calcio en algunos casos se localizaba a concentraciones superiores a 10 mg/L. Veáanse los resultados en los gráficos y las tablas que se presentan a continuación:

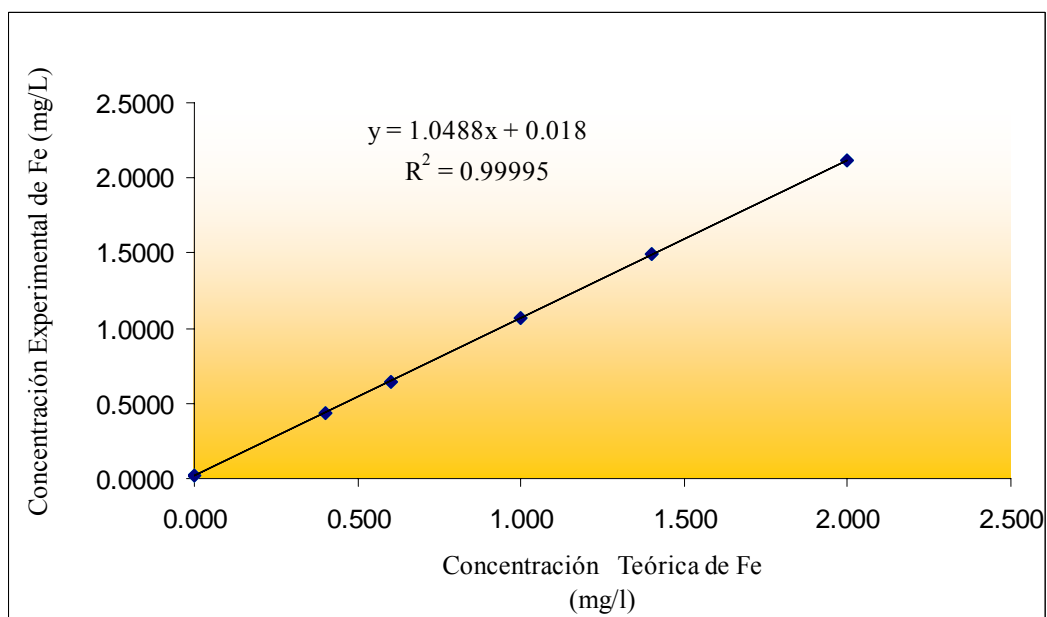


Figura 10.- curva de calibración para la determinación de hierro total HACH añadiendo el interferente

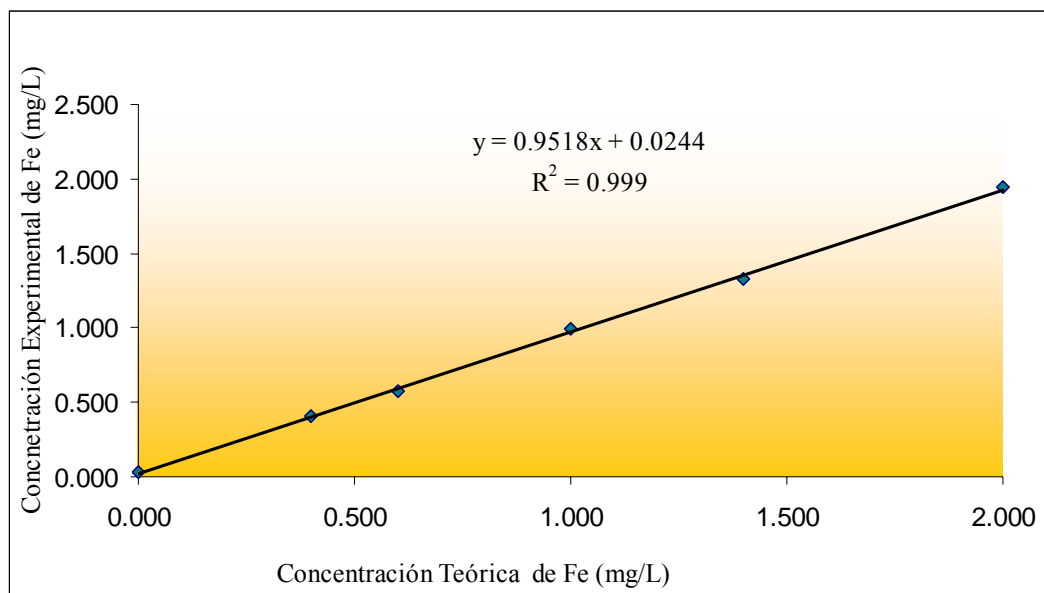


Figura 11.- Curva de calibración para la determinación de hierro total HACH sin el interferente.



Tabla 22.- Valores determinados para las pruebas de significación (F y t de students) en la determinación del efecto de interferencia del calcio sobre la determinación de hierro total no estandarizado

<i>Método</i>	<i>Pendiente</i>	<i>Error estándar</i>	F crítico	F tabulado	t calculado	t tabulado
<i>Con Calcio</i>	1.0488	0.0035	3.536	2.201	10.267	2.055
<i>Sin Calcio</i>	0.9518	0.0149				

Observación: Estos valores son contrastados contra el valor F para dos colas calculado con el programa estadístico Excel y el valor t encontrado en la tabla (ver anexo A) al 95% del nivel de significación.

En este análisis los resultados obtenidos muestran que el valor del estadístico F calculado es mayor al F crítico, lo que indica, que existe diferencia significativa entre la varianzas de las corridas realizadas, es decir, la concordancia entre los valores con respecto al valor promedio de las mediciones realizadas en ambos métodos, son diferentes; por su parte el estadístico t arrojó diferencia significativa entre las pendientes de ambas curvas de calibración. Para complementar estos resultados y entender el porque de los mismos, se llevo a cabo el análisis por recta de regresión, cuyos resultados se ilustran en la figura y la tabla que se presentan a continuación:

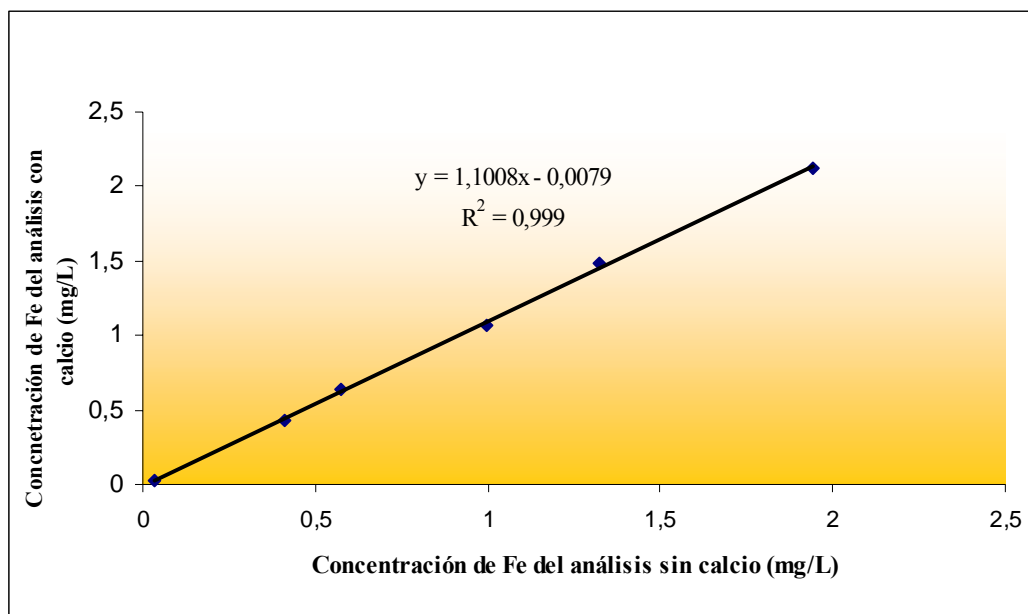


Figura 12.- Recta de regresión para la comparación del efecto de interferencia en al determinación de hierro total por el método no normalizado.

Tabla 23.- Límites de confianza (LC) superior e inferior para la recta de regresión en la comparación del análisis de interferencia del calcio en la determinación de hierro total no normalizado

Parámetro	Valor	Error estándar	Nivel de confianza (%)	LC inferior	LC superior l
Pendiente (m)	1.1008	0.0172	90	1.0715	1.1302
				-0.0396	0.0238
Ordenada en el origen (b)	-0.0079	0.0186	95	1.0656	1.1361
				-0.0461	0.0303
			99	1.0532	1.1485
				-0.0595	0.0437

Tal y como se observa en la **Tabla 23**, el valor de la pendiente de la recta de regresión es de 1.1008 con límites de confianza superior e inferior de 1.0656 y 1.1361, cuyo intervalo no incluye el valor ideal de 1; y una ordenada en el origen de -0.0079 con un intervalo de



confianza que va desde -0.0461 a 0.0303, cuyo valor si incluye el valor del modelo ideal de cero. La misma relación se presenta a los niveles de confianza del 90 y 99% con intervalos aproximadamente iguales. Aunado a los resultados obtenidos a través de las pruebas de significancia, se puede concluir que existe un efecto del calcio a la concentración de 10 mg/L, sobre la determinación del hierro total empleando el método FerroVer, ya que de cierta manera afecta la sensibilidad del método, haciendo que el resultado obtenido este por encima o por debajo de la medida real.

VII.3.- Comparación de los parámetros estadísticos de validación entre el método de determinación de hierro total normalizado y el método de determinación de hierro total no normalizado

Durante la evaluación de los parámetros estadísticos de validación, se realizó la práctica tanto para el método de determinación de hierro total normalizado como para el método de determinación de hierro total no normalizado. Ambos tienen el mismo objetivo, sin embargo, difieren en cuanto a sus metodologías. En el Laboratorio Estatal Aragua se emplea con mayor frecuencia el método FerroVer (no normalizado), debido a que es más rápido y fácil de aplicar, el de la fenantrolina (normalizado) es empleado en situaciones especiales, como por ejemplo, cuando no se cuentan con los reactivos empaquetados de marca comercial HACH, o bien cuando el laboratorio participa en eventos interlaboratorios como los que realiza el CIEPE. La razón de emplear el método normalizado en análisis especiales, ha sido establecida porque el método de fenantrolina según datos reportados en las referencias bibliográficas presenta mejor trazabilidad y quizás mejores parámetros de funcionamiento que el método FerroVer. Para comprobar y verificar lo expuesto se ha de realizar esta comparación, a fin de determinar cual método es más preciso, adaptado a las condiciones del Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro. Para ello se tomó en cuenta todos los parámetros determinados en la validación según el principio de los métodos y las pruebas de comparación complementos de la validación. A continuación se presentan en la siguiente tabla anexa, los resultados de los parámetros estadísticos de validación, obtenidos para ambos métodos.



Tabla 24.- Parámetros de funcionamiento empleados para la comparación de los métodos normalizados y no normalizados para la determinación de hierro total en aguas.

<i>Método</i>	<i>Sensibilidad</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Límite de detección (mg/L)</i>	<i>Límite de cuantificación (mg/L)</i>	<i>% de Recuperación</i>
Fenantrolina	0.4717	1.000	0.035	0.113	98.4 ± 0.2
FerroVer	0.9518	0.9990	0.055	0.159	98.0 ± 0.6

Sensibilidad: como se mencionó en el análisis de validación, este parámetro justifica el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito. En este caso, se presenta que la sensibilidad promedio del método FerroVer es mayor a la sensibilidad promedio del método de fenantrolina, sin embargo, con esto no podemos definir que método es más sensible y para ello se presenta en la siguiente tabla las sensibilidades por días de validación.

Tabla 25.- sensibilidad de los métodos de determinación de hierro total normalizado y no normalizado por día de validación

Día de análisis	Sensibilidad Método de Fenantrolina	Sensibilidad Método FerroVer
1	0.4846	0.9797
2	0.4509	0.9515
3	0.4806	0.9673
4	0.4588	0.9422
5	0.4836	0.9184

Vease que la sensibilidad determinada por las pendientes de las curvas de calibración para el método de fenantrolina varía en pequeñas magnitudes, a diferencia de las variaciones que se presentan en el método FerroVer en donde las magnitudes de variación son más apreciables. En este caso, se podría tomar en cuenta el siguiente corolario, y es que el método más sensible es aquel cuya curva de calibrado tenga la mayor pendiente, no obstante, en este caso no sería aplicable, debido a que la señal no es la misma, es decir, el método normalizado da como respuesta la absorbancia de la muestra, que luego es llevada a concentración, mientras que el no normalizado da como respuesta directamente la



concentración. Aun así, con los datos presentados en la **Tabla 25**, se puede concluir que el método de fenantrolina es menos sensible que el método FerroVer. De cualquier forma a pesar de tomar este parámetro en cuenta, se conoce que la sensibilidad de calibrado como parámetro de calidad tiene el inconveniente de no tener en cuenta la precisión de las medidas individuales.

Linealidad: este parámetro mide la habilidad (dentro de un ámbito) dado del procedimiento analítico de obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra. Sobre este parámetro se presenta que el método de fenantrolina tiene mejor linealidad promedio, que el método FerroVer. Esta diferencia puede ser atribuida, al hecho, de que a pesar de haber empleado para ambos métodos la misma matriz, las condiciones ambientales son factores no controlables que pueden de alguna manera afectar y hacer que cambie la correlación momento-producto de acuerdo con el efecto de las interferencias que aparezcan.

Límite de detección: como se mencionó en el primer análisis de datos realizado teóricamente, este parámetro define la mínima concentración o la mínima masa de analito que se puede detectar para un nivel de confianza dado, y que depende de la relación entre la magnitud de la señal analítica y el valor de las fluctuaciones estadísticas de la señal del blanco, en este caso el límite de detección para el método normalizado es de 0.035 mg/L de Fe, mientras que para el método no normalizado es de 0.055 mg/L de Fe, ambos cumplen con la necesidad analítica prevista para los análisis de los diferentes tipos de agua, es decir, con la cantidad de hierro total promedio que son ensayadas en el laboratorio Estatal Aragua. Ahora bien, el límite de detección más bajo indica que la probabilidad de no poder distinguir ante la señal del blanco y una muestra cuya concentración sea muy pequeña, es mayor.

Límite de cuantificación: este parámetro define la concentración más baja de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y de veracidad. En este caso, el límite de cuantificación para el método normalizado es de 0.113 mg/L de



Fe, mientras que para el método no normalizado es de 0.159 mg/L de Fe. El límite de cuantificación, solo es un valor indicador y no es usado para decidir, si un método es más adecuado que el otro, es decir, no es un parámetro de calidad.

Recuperación: este parámetro es sumamente importante, para la definición de cual método es más adecuado, ya que mide la relación entre cantidad de analito medido y el contenido en la muestra, generalmente se aplica en métodos donde la muestra es sometida a un tratamiento, como lo es para ambos métodos de determinación de hierro en este estudio. Su objetivo es evaluar la capacidad para determinar todo el analito presente en la muestra, según el alcance del método. Como se conoce teóricamente este valor puede tener una incertidumbre asociada de ± 10 . Por otro lado, es importante conocer, que es, lo que su valor puede indicar, y es que un buen porcentaje no constituye una garantía de veracidad, pero un porcentaje pobre si indica claramente una falta de veracidad. En los resultados (ver **Tabla 24**) se puede observar que el porcentaje de recuperación del método normalizado es mayor al método no normalizado, lo que quiere decir que la cantidad de muestra que se pierde durante el tratamiento aplicado en la determinación de hierro total con este último, es mayor, y esto se debe a la complejidad del tratamiento (ver capítulo V). Finalmente para **la precisión**, se tomó en cuenta los análisis de repetibilidad y reproducibilidad, los cuales como se expuso y se discutió en la sección 1 de este capítulo, el método que mejor se ajusta con respecto a dichos parámetros es el de la fenantrolina. Más sin embargo, se aplicó el estadístico F de una cola para ratificar dicho resultado y de esta manera determinar cual de los dos métodos es más preciso. Aplicado lo antes expuesto, se obtuvo un valor F igual a 1.952, que al contrastarlo con el valor de F crítico igual a 1.875, se puede determinar que existe diferencia significativa entre las varianzas a un nivel de probabilidad del 5%, para 28 grados de libertad en el numerador (varianza método no normalizado) y 28 para el denominador (varianza método normalizado). Esta relación entre las varianzas, indica que el método normalizado es más preciso que el no normalizado, porque la precisión de este último es significativamente más grande que la del normalizado. Es importante destacar que, en este caso se utiliza un contraste de una cola, debido a que se estima de antemano, que la diferencia entre las varianzas, es significativa y solo basta con tener un contraste de



una cola con una probabilidad de 0.05, ya que se espera que la F calculada sea mayor que 1 y supere al valor crítico.

Con el propósito de complementar este análisis, se elaboró una evaluación económica: gastos por *reactivos*, por *crystalería*, por *equipos* y por *personal requeridos*, así como también una evaluación del tiempo invertido por el analista en el laboratorio para realizar un análisis de hierro total aplicando los distintos métodos. En la tabla que se ilustra a continuación, se encuentran los costos que determinan el ensayo de una muestra por el método de fenantrolina y por el método ferrover.

Tabla 26.- Comparación de costo por reactivos de los métodos de determinación de hierro total.

Método	Reactivo	Cantidad (es)	Costo (Bs.)
No normalizado (Ferrover)	HCl 1:1	5 mL	50
	HCl 0.1 N	10 mL	1.6
	NaOH 5N	5.5 mL	87.51
	NaOH 0.1 N	10 mL	1.75
	Ferrover	1 sobre	1672
	Total		
Normalizado (3500 Fe B) Fenantrolina	HCl 37%	14 mL	280
	NH ₂ OH. HCl	10 g	6290
	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	1,404 g	161.46
	C ₁₂ H ₈ N ₂ H ₂ O	0,1 g	54.8
	KMnO ₄	0,3192 g	95.76
	CH ₃ COOH (conc)	700 mL	13300
	H ₂ SO ₄	200 mL	559
	CH ₃ COONH ₄	250 g	7750
Total			28,491.02

Como se puede observar, el costo por reactivos al ensayar una muestra aplicando el método ferrover es menor, que al realizar el ensayo por la metodología de la fenantrolina.



Tabla 27.- Costo por cristalería empleando el método de fenantrolina.

<i>Cristalería</i>	<i>Marca</i>	<i>Costo de cristalería utilizada en la aplicación de cada muestra(Bs.)</i>
Matraz Volumétrico 1000 mL	Pyrex	4.67
Matraz Volumétrico 250 mL	Pyrex	3.16
Matraz Volumétrico 100 mL	Pyrex	1.96
Matraz Volumétrico 50 mL	Pyrex	4.52
Cilindro graduado de 1000 mL	Pyrex	14.45
Pipeta volumétrica de 1 mL	Fisherbrand	0.01
Pipeta volumétrica de 2 mL	Fisherbrand	0.02
Pipeta volumétrica de 3 mL	Fisherbrand	0.02
Pipeta volumétrica de 4 mL	Fisherbrand	0.02
Pipeta volumétrica de 5 mL	Fisherbrand	0.01
Pipetas graduadas de 10 mL	Pyrex	0.02
Beacker	Pyrex	0.89
Varilla de vidrio	--	0.11
Embudo	Pyrex	0.01
Matraz erlenmeyer	Pyrex	11.00
Celdas	--	8.33
Gotero	--	0.45
Total		49.65

Observación: El tiempo de vida útil del material de vidrio es de 730 días, los precios están reportados en función de la moneda nacional de la República Bolivariana de Venezuela El Bolívar y los resultados están en función del costo del material de vidrio por tiempo de aplicación en la muestra y el tiempo de vida media del material.



Tabla 28.- Costo por cristalería empleando el método ferover.

<i>Cristalería</i>	<i>Marca</i>	<i>Costo de cristalería utilizada en la aplicación de cada muestra(Bs.)</i>
Matraz Volumétrico 1000 mL	Pyrex	2.34
Matraz Volumétrico 500 mL	Pyrex	4.97
Matraz Volumétrico 250 mL	Pyrex	0.70
Matraz Volumétrico 100 mL	Pyrex	0.65
Cilindro graduado de 1000 mL	Pyrex	14.45
Cilindro graduado de 100 mL	Pyrex	0.65
Pipetas graduadas de 10 mL	Pyrex	0.02
Beacker	Pyrex	0.54
Varilla de vidrio	--	0.11
Matraz erlenmeyer 250 mL	Pyrex	2.70
Celdas	--	1.19
Total		28.33

Observación: El tiempo de vida útil del material de vidrio es de 730 días, los precios están reportados en función de la moneda nacional de la República Bolivariana de Venezuela El Bolívar y los resultados están en función del costo del material de vidrio por tiempo de aplicación en la muestra y el tiempo de vida media del material.



Si se comparan los resultados de las tablas 27, 28 y 29, el comportamiento persiste de acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de costo de los reactivos, situación que era de esperarse, ya que la cantidad de cristalería empleada en el análisis de hierro total por muestra en el método normalizado (*fenantrolina*) es mayor que en el no normalizado (*ferrover*); esto es debido, a que para un análisis empleando este último método no requiere de una curva de calibración, mientras que el otro si, de hecho, el objetivo de trabajar con los reactivos y equipos de marca comercial HACH, es minimizar tiempo y hasta costo, ganando rendimiento laboral. Además si se observan los datos de la **Tabla 30**, se puede corroborar lo anteriormente mencionado, ya que el tiempo que se requiere para analizar hierro total por el método normalizado es 2 veces el tiempo que el analista puede invertir en analizar la muestra empleando el método no normalizado.



Tabla 29.- Costo del uso de los equipos por muestra y el tiempo de aplicación.

<i>Método</i>	<i>Equipo empleado</i>	<i>Tiempo estimado de uso del equipo (día)</i>	<i>Costo del equipo utilizado en la aplicación de cada muestra (Bs.)</i>
<i>Ferrover</i>	Espectrofotómetro	2555	9,93
	Balanza analítica	3650	2,09
	Destilador	2555	4,30
	Plancha de calentamiento	730	70,97
	Campana extractora	365	374,70
	<i>Total</i>		461,99
<i>Fenantrolina</i>	Espectrofotómetro	2555	298,02
	Balanza analítica	3650	62,76
	Destilador	2555	129,20
	Plancha de calentamiento	2950	70,97
	Campana extractora	3650	374,70
	<i>Total</i>		935,65

Tabla 30.- Tiempo mínimo requerido por muestra aplicando los métodos de Fenantrolina y ferrover para determinar hierro total.

<i>Método</i>	<i>Tiempo promedio requerido en la aplicación (minuto)</i>	<i>Relación de tiempo</i>
<i>Fenantrolina</i>	420	2
<i>Ferrover</i>	120	



Tabla 31.- Costo por personal por análisis de una muestra.

Método	Descripción del personal requerido	Tiempo promedio requerido en la aplicación del método (min.)	Salario por tiempo de aplicación del método (Bs.)
Fenantrolina	Técnico superior en química	420	28125
	Captador de muestra	480	17070,05
	Subtotal A		45195,05
	Prestaciones sociales (60%)		27117,03
	Total		72312,08
Ferover	Técnico superior en química	210	8036
	Captador de muestra	480	17070,05
	Subtotal A		25105.76
	Prestaciones sociales (60%)		15063.45
	Total		40169.21

Observación 1: El valor del salario del captador incluye transporte y mano de obra del mismo y el valor del salario del analista esta en función de la mano de obra aplicada en el intervalo promedio de tiempo necesario para analizar una muestra con el respectivo método de interés.

Observación 2: Los precios están reportados en función de la moneda nacional de la República Bolivariana de Venezuela, El Bolívar.



Tabla 32.- Precio total por muestra analizada empleando cada método evaluado.

Método	Costo total directo por unidad (Bs.)	Porcentaje de administración y gasto generales (Bs.)*	Impuesto al valor agregado (Bs.)**	Total (Bs.)
Fenantrolina	102788.40	13354.33	9245.30	125388.03
Ferover	42472.39	5521.41	3822.52	51816.32

* El porcentaje establecido por la empresa hidrológica que incluye gasto y administración es de un 13% del costo total directo por unidad.

** El impuesto al valor agregado es del 9% del costo final por unidad, más el porcentaje atribuido a gastos generales.

Finalmente habiendo determinado el costo total, a través de los diferentes costos parciales mostrados anteriormente y que dan una información bastante clara acerca de las diferencias de una metodología con respecto a otra, se puede decir, que el método con mas factibilidad técnica y económica, es el método de ferover, y a pesar de que el método de fenantrolina presentó mejor precisión, el método no normalizado favorece la actividad rutinaria de la empresa y sus parámetros de desempeños no están totalmente fuera de normas legales. Además, de manera precisa, en el laboratorio Estatal Aragua generalmente la demanda de análisis es alta, y un análisis total para una muestra implica la determinación de 20 parámetros distintos, lo cual también requiere tiempo, que es un factor decisivo en el rendimiento de una producción en específico, que puede afectar (de forma positiva o negativa) en el costo final de un producto, y el gasto implicado por la empresa para elaborarlo.

Por otro lado, se conoce que aproximadamente al año se analizan 1500 determinaciones de hierro total, para las cuales se estima un total de 4 determinaciones por día. A continuación



se muestra gráficamente la distribución porcentual de los costos parciales requeridos por muestras para el análisis de hierro total empleando cada uno de los métodos:

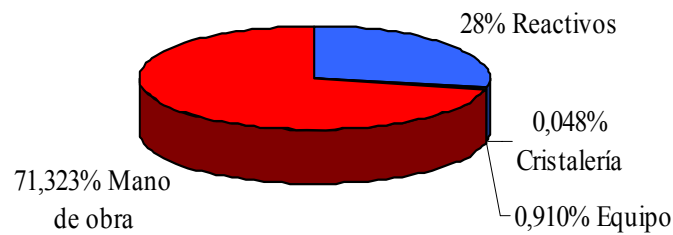


Figura 13.- Distribución porcentual del costo para un análisis de hierro total empleando el método de fenantrolina.

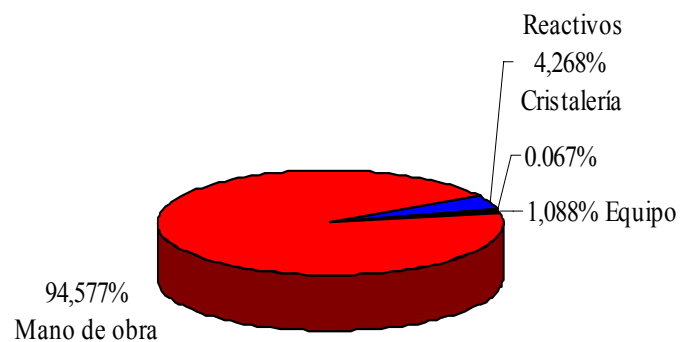


Figura 14.- Distribución porcentual del costo para un análisis de hierro total empleando el método ferover.

En ambos casos el mayor porcentaje se refleja en el costo invertido por mano de obra, y el menor porcentaje por el costo de cristalería, si se toman criterios sobre estos resultados, se debe considerar principalmente el efecto de mano de obra, ya que no sería nada beneficioso



para la empresa pagar una cantidad de dinero considerable, cuando el rendimiento laboral no será óptimo, ya que no sólo se procesan análisis de hierro total, como se hizo referencia anteriormente.

VII.4.-Estudio de Efecto Matriz en las determinaciones de hierro total y Aluminio en aguas

Debido a que no es usual conocer cuanto analito está presente en una porción de muestra, es difícil estar seguro de que tan exitoso ha sido el método para la extracción del analito de la matriz. Por tanto, para estudiar el desempeño que pueden tener los métodos de determinación de hierro total y aluminio en aguas crudas y tratadas correspondientemente mediante técnicas colorimétricas, se estudió el efecto matriz de una muestra de la Planta de Potabilización Pie de Cerro, utilizando una curva de calibración de adición de estándar y una curva de calibración externa para cada determinación. El tratamiento estadístico aplicado para establecer si existe efecto matriz o no, fue un análisis de comparación de pendientes, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 33.- Valores determinados en la comparación de pendientes en la determinación del efecto matriz

<i>Determinación</i>	<i>F crítico</i>	<i>F calculado</i>	<i>t tabulado</i>	<i>t calculado</i>
Hierro total normalizado	2.130	25.990	2.05	1.07
Hierro total No normalizado	2.130	90.432	2.05	0.34
Aluminio	2.130	1.234	1.96	16.60

Estos valores son contrastados contra el valor F para dos colas calculado con el programa estadístico Excel y el valor t encontrado en la tabla (ver apéndice A) al 95% del nivel de significación.



Como se muestra en la **Tabla 33** para la determinación de hierro total tanto por el método de fenantrolina como por el método de ferover, se presentó una diferencia significativa entre las varianzas de ambas curvas de calibración, lo que indica que difieren en cuanto la precisión, y que la diferencia se debe a errores aleatorios, en tanto, que al contrastar el estadístico t para la comparación de las pendientes, no se determinó diferencia significativa, por lo que se puede alegar que no existe algún tipo de interferencia en el agua de entrada de la Planta de Potabilización Pie de Cerro que pueda afectar la cantidad real determinada de hierro total. Caso contrario presentado en la determinación de aluminio en donde, no existe diferencia entre las precisiones, pero si en cuanto a las pendientes de ambas curvas, lo que indica la presencia de errores sistemáticos, debida a la matriz de la muestra por lo que deberán ser reducidos y considerar que la matriz no puede ser imitada artificialmente. Por otro lado es una razón suficientemente valiosa para que el método sea validado empleando “*material de referencia certificado*” y/o haciendo una comparación con métodos de referencia.

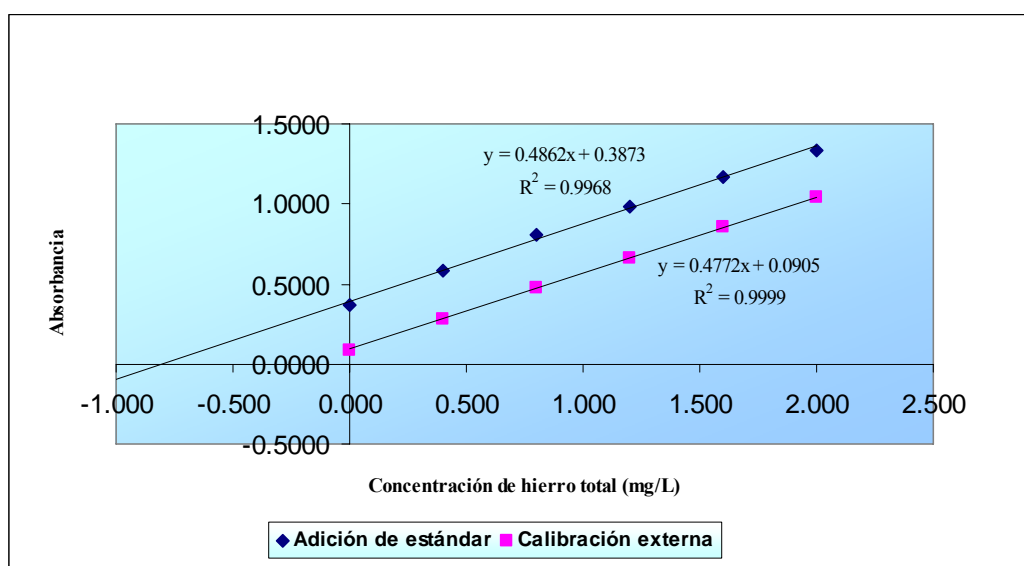


Figura 15.-Análisis de efecto matriz en la determinación de hierro total empleando el método normalizado en el agua cruda de la Planta de Potabilización Pie de Cerro.

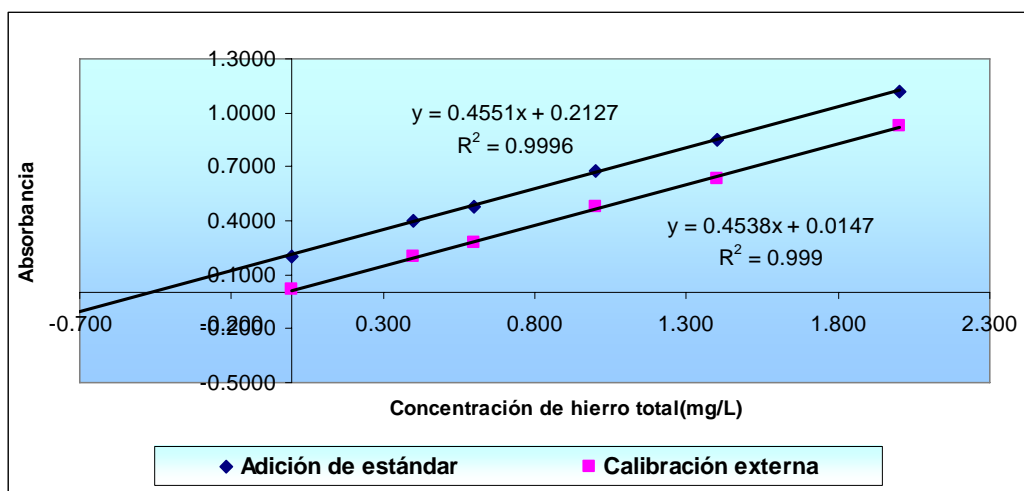


Figura 16.-Análisis de efecto matriz en la determinación de hierro total empleando el método no normalizado en el agua cruda de la Planta de Potabilización Pie de Cerro.

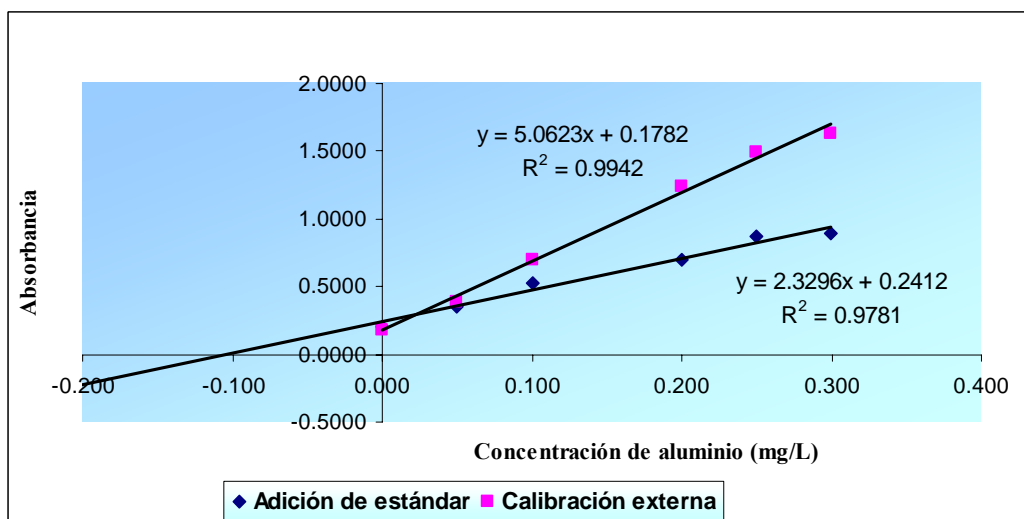


Figura 17.-Análisis de efecto matriz en la determinación de aluminio empleando el método normalizado en el agua tratada de la Planta de Potabilización Pie de Cerro.



Cabe destacar, que la determinación de aluminio, se llevó a cabo empleando la matriz del agua tratada de la Planta de Potabilización Pie de Cerro, debido a que es solo a este tipo de muestras de aguas a la que se les determina dicho parámetro en el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro. En la **Figura 17** se ilustra la diferencia de pendientes tanto que la determinación de aluminio en la muestra por la curva de calibración externa es aproximadamente 14 veces menor a la determinada a través de la curva de adición. De hecho, al determinar la concentración de aluminio por ambas curvas se observa que la concentración determinada a través de la curva de calibración externa es de (0.0075 ± 0.0006) mg AL/L, y la reportada a través de la curva de adición estándar es de aproximadamente 0.1, lo que significa, que la matriz de las muestras de agua tratada de la planta de potabilización Pie de Cerro, influye en la respuesta el instrumental del método proporcionando una disminución de la señal. Este resultado sugiere, la construcción de una curva de adición estándar cuando se determine aluminio en este tipo de muestra.



CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este capítulo se presentan las conclusiones y recomendaciones obtenidas a partir del desarrollo de la discusión de los resultados proporcionados a través del trabajo experimental en el Laboratorio Estatal Aragua, expresando concretamente y de manera precisa el cumplimiento de cada uno de los objetivos planteados.



CONCLUSIONES

- En el estudio de los parámetros de validación realizado para cada uno de los métodos estudiados, en general, se encontró buena precisión, siendo el método de fenantrolina (3500-Fe B.) para la determinación de hierro total el que obtuvo los mejores resultados. También se encontró buena linealidad y comportamiento constante en todo el intervalo de concentraciones trabajado. Y el coeficiente de correlación momento-producto obtenido en la determinación de aluminio por el método de ericromo cianina R, aunque fue el más bajo (0.9953), se encontró dentro de norma. Además, los límites de detección y cuantificación obtenidos permiten determinar sin inconvenientes las concentraciones límites establecidas en las gacetas oficiales para aguas crudas y tratadas.
- En el estudio de interferencia se encontró que el fosfato a una concentración 10 veces mayor a la del hierro total no interfiere en la determinación de dicho analito cuando se emplea el método normalizado de fenantrolina, razón por la cual, este método puede ser aplicado sin inconvenientes y sin considerar las características de las muestras que llegan a diario al Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro, ya que las mismas no afectan sobre el análisis, específicamente la concentración de fosfato. Por otro lado, en el estudio de interferencia para el método no normalizado (ferrover) se encontró que el calcio como carbonato de calcio, a una concentración de 10 ppm, interfiere en el análisis de hierro total empleando dicho método, por lo que se considera que este método en el intervalo de concentraciones trabajado y según las características de las muestras que se analizan diariamente en el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro, no es adecuado para el uso propuesto, bajo el criterio de aceptación o rechazo definido en base al estudio de interferencias.
- En base a la evaluación económica y a la evaluación de tiempo, se determinó que el método ferrover, para la determinación de hierro total soporta su aplicabilidad rutinaria, a pesar, de que el método de fenantrolina presentó mejores parámetros de desempeño.



Sin embargo, es importante destacar que el método de ferrover tiene parámetros de desempeño que cumplen con las disposiciones legales.

- Las muestras de agua tratada proveniente de la planta Pie de Cerro, presentan efecto matriz, al momento de determinar la concentración de aluminio por el método de eriocromo cianina R. Mientras, que las muestras de agua cruda provenientes de dicha planta no presentaron efecto matriz al realizar la determinación de hierro total, empleando tanto el método normalizado (*fenantrolina*) como el método no normalizado (*ferrover*).
- En general se declara de acuerdo al estudio de los parámetros estadísticos de validación que se ha desarrollado en los métodos normalizados 3500-Fe B. Método de Fenantrolina, para la determinación de hierro total, 3500-Al B. Método de Erio Cromo Cianina R, para la determinación de aluminio, 2120 B. Método de Comparación Visual, para la determinación de color y no normalizado Método de Ferrover, para la determinación de hierro total, que estos son adecuados para el uso propuesto según el alcance de materiales, reactivos, equipos y condiciones ambientales del Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro.
- Las incertidumbres requeridas en las determinaciones de hierro total, aluminio y color en muestras de agua, calculadas en base a los límites máximos aceptables reportados en gaceta oficial para los respectivos análisis, son menores a las determinadas en el estudio de los parámetros estadísticos de validación. Lo que requiere de una minimización de las fuentes de incertidumbres en cada uno de los métodos estudiados, para así alcanzar la calidad que deberían exhibir los resultados emitidos por el Laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro.



RECOMENDACIONES

- Emplear material de referencia certificado al realizar el estudio de los parámetros estadísticos de validación.

- Realizar un estudio de interferencias sobre el método de determinación de hierro no normalizado (*ferrover*), tomando en cuenta las características de las muestras que llegan a diario en el Laboratorio Estatal Aragua. A propósito, de encontrar la estrategia adecuada para eliminar la cantidad de calcio en las muestras de agua antes de realizar la determinación de hierro total empleando dicho método.

- No imitar artificialmente, la matriz de las muestras al analizar aluminio en la planta de potabilización Pie de Cerro, es decir realizar una curva de adición de estándar cada vez que se lleve a cabo dicha determinación empleado el método de ericromo cianina R.

- Realizar un estudio de incertidumbres sobre cada método estudiado, con la finalidad de identificar y minimizar las fuentes de acuerdos a las condiciones de trabajo del laboratorio, para así aproximarlos a los valores de las incertidumbres requeridas.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹.- LIZÁK, Natalie. 2005. **Validación de métodos estandarizados para la determinación de fósforo y nitrógeno amoniacal**. Trabajo de grado licenciatura en química. Universidad de Carabobo.
- ².- VANO, Kelim. 2005. **Análisis de las fuentes mas significativas de incertidumbre de métodos analíticos aplicados en la evaluación de alimentos**. Trabajo de grado licenciatura en química. Universidad de Carabobo.
- ³.- MUNDARAÍN, Marielis. 2006. **Validación de métodos estandarizados aplicados en muestras de aguas servidas**. Trabajo de grado licenciatura en química. Universidad de Carabobo.
- ⁴.- LAURENS, Aurimar. 2006. **Validación de métodos estandarizados para la determinación de Hierro, Manganeso y Cinc mediante espectroscopia de absorción atómica en el embalse Guataparo**. Trabajo de grado licenciatura en química. Universidad de Carabobo.
- ⁵ . - KARIM Mohammed. 2006. **Desarrollo de una nueva metodología para la determinación de quinolonas en alimentos de origen animal**. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
- ⁶ . - JAN Jezek; John W. Dilleen; Barry G.D. Haggett; Arnold G. Fogg; Brian J. Birch. 2006. **Hexacianoferrato (II) como patrón en la determinación de hierro total en agua potable, en forma de complejo con 1,10-fenantrolina**. Trabajo de investigación. Luton Institute of research in the Applied Natural Sciences University of Luton, The Spires, 2 Adelaide Street, Luton LUI 5DU, United Kingdom.
- ⁷ .- JULIETTE Tria; Edward C.V. Butler; Paul R. Hadad; Andrew R. Bowie. 2006. **Determinación de Aluminio en muestras de agua natural** . Trabajo de investigación.



Australian Centre for Research on Separation Science (ACRROS), School of Chemistry, University of Tasmania, Australia; Antarctic Climate and Ecosystems Cooperative Research Centre (ACE CRC), Hobart, Australia.

⁸ .- **El Agua**. (2006). Enciclopedia libre Wikipedia. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/agua>.

⁹.- **HIDROCENTRO**. Disponible en: www.hidrocentro.com

¹⁰ .- HIDROCENTRO. **Ficha técnica para la inspección inicial de la Planta de Potabilización Pie de Cerro**. 2005. Gerencia de Captación, Tratamiento y Mantenimiento

¹¹.- VALENZUELA Edgar. **Las normas ISO y su acreditación**. 2003. disponible en: http://www.inen.gov.ec/web_sp/acreditacion.html

¹² .- Guía ISO/IEC 2:1996. **Requisitos para los Laboratorios de Ensayo y Calibración**.

¹³ . - Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 36.395. Caracas, viernes 13 de febrero de 1998. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. **Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable**.

¹⁴ .- **Guía para los Laboratorios que realizan Validaciones de Métodos de Análisis Químicos**. (ENAC CSQ-02. Rev.0).

¹⁵ .- **Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Tópicos relacionados**. EURACHEM. Centro Nacional de metrología. CENAM-México. Primera edición en inglés 1998.

¹⁶ .- RUIZ Silfredo, Aviata Luis. 2001. **Incertidumbre de la medición: Teoría y Práctica**. Primera edición. Consultores C. A. Maracay. Aragua



-
- ¹⁷ .-SKOOG. 2002. **Principios de Análisis Instrumental**. Editorial Mc Graw Hill. México. Pág: 12-20, 920-940
- ¹⁸ .- MILLER James, Miller Jane. **Estadística y Quimiometría para Química Analítica**. 4^{ta} Edición. Editorial Prentice Hall. Madrid 2002. Pág.30-31, 45-49, 53-57, 130-135.
- ¹⁹ .-Lenore S. Cleseri, Wef, Chair; Arnold D. Greenberg, APHA; Andrew D. Eaton, AWWA. Standard Methods **For Examination of Water and Wastewater**. 21th edition. Editorial: American Public Health Association, America Water Work Associations, Water Enviroment Federation. Año 2005. Sección: 3500– Al B, 3500 – Fe B, 2120 B.
- ²⁰ .- Manual del equipo Espectrofotómetro DR 2000. HACH. Company 1988. Pág 353-360
- ²¹ .- KEMMER Frank N.. **Manual del Agua**. Tomo I. Primera Edición. Editorial Mc Graw Hill. México 1989. Pág. 4-20.
- ²² .- VANO Kelim. 2007. **Fundamentos Básicos de Validación**. Pág: 14-32
- ²³ .-**Evaluación de Consistencia Metrológica**. 2002. Disponible en: www.metas.com.mx/guimetas/La-Guia-MetAs-04-10-Det-Int-Cal
- ²⁴ .- HASSOUAN Karim. **Desarrollo de nueva metodología analítica para la determinación de Quinolonasen Alimentos de Origen Animal**. Tesis Doctoral. Granada 2006. Pág 76-78

**APÉNDICE A****Cuadro 2.- Identificación de los parámetros críticos sobre los análisis realizados en el laboratorio Estatal Aragua de Hidrocentro Período junio 2006 – agosto 2007 para la evaluación de interferencias**

Análisis	Bella Vista	Cagua	Choroni	El Consejo	EL Libertado	El Limón
pH	7.30	7.30	7.54	7.0787	7.25	7.83
Fluoruro (mg/L)	0.2	0.05	0.2	0.27	-	0.24
Nitritos (mg/l)	-		3.53			
Calcio (mg/l)	27.13	184.80		263.97	188.67	
Magnesio (mg/l)	-					
Dureza Total (mg/l)						
Fosfato (mg/l)	-	0.33				0.37

Cuadro 2.- continuación

Análisis	La Victoria	Ocumare	Maracay	Saman Güere	San Mateo
pH	7.44	7.25	7.71	7.38	7.10
Fluoruro (mg/L)	0.07	0.69	0.12	0.32	0.06
Nitritos (mg/l)	4				
Calcio (mg/l)	126.83	25.57	59.45	74.52	166.47
Magnesio (mg/l)	-				
Dureza Total (mg/l)			184.31	231.87	491.48
Fosfato (mg/l)	-			0.45	

Cuadro 2.- continuación

Análisis	Sta. Rita	Sur Aragua	Tocorón	Turmero
pH	7.23		7.01	7.57
Fluoruro (mg/L)	0.1	0.15	0.15	0.16
Nitritos (mg/l)	-	-	-	-
Calcio (mg/l)	42.81	26.95	120.49	74.52
Magnesio (mg/l)				
Dureza Total (mg/l)	162.61		428.06	218
Fosfato (mg/l)	0.44		0.31	

**Cuadro 2.- continuación**

Análisis	Villa de Cura	Zuata	Planta Pie de Cerro
pH	7.36		8.12
Fluoruros (mg/l)	0.36	0.16	0.44
Nitritos (mg/l)			-
Calcio (mg/l)	199.86	150.33	51.29
Magnesio (mg/l)			-
Dureza Total (mg/l)	627.87	517.33	152.55
Fosfato (mg/l)	0.85	0.6	-



APÉNDICE B

Determinación de incertidumbre. Modelo de cálculo

Calculo de la Pendiente (m)

$$m = \frac{\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum xx) - (\sum x)^2}$$

	n=	6
n $\sum xy$ =	25,542	
($\sum x$)($\sum y$) =	17,617	
	7,925	
n($\sum xx$) =	52,8	
($\sum x$) ²	36	
n($\sum xx$) - ($\sum x$) ²	16,8	
m =	0,471718	

Calculo del Intersecto (Ao)

$$A_o = \frac{(\sum y)(\sum xx) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum xx) - (\sum x)^2}$$

($\sum y$)($\sum xx$) =	25,84
($\sum x$)($\sum xy$) =	25,54
	0,296
Ao =	0,018

Ecuación de la Recta (A = X.m + Ao)

Yt(A) = X.m + Ao

Evaluación de las Varianzas S²

SA ² =	$\frac{\sum (Y - Y_t)^2}{n - 2} =$	2,39036E-06	SA	0,001546
SAo ²	$\frac{\sum (x_i) \cdot SA^2}{n(\sum xx) - (\sum x)^2} =$	1,2521E-06	SAo	0,001119
Sm ²	$\frac{n \cdot SA^2}{n(\sum xx) - (\sum x)^2} =$	8,53701E-07	Sm	0,000924
r	$\frac{\sum x}{\sqrt{n(\sum xx)}} =$	-0,825722824		

Evaluación de la Incertidumbre Combinada

$$U_c = \sqrt{[(mg/P)^2 \cdot Sm^2 + (2 \cdot (-mg/P) \cdot Sao \cdot Sm \cdot r) + SA^2 + SAo^2] / m^2}$$

Incertidumbre Expandida U = 2 · Uc



ANEXO A**Cuadro 3.- Valores críticos de G (P=0.05) para un contraste de dos cola**

<i>Tamaño de muestra</i>	<i>Valor crítico</i>
3	1.155
4	1.481
5	1.715
6	1.887
7	2.020
8	2.126
9	2.215
10	2.290

Tomados de *Outliers in Statistical data*, Vic Barnett and Toby Lewis, 2nd Edition, 1984, John Wiley & Sons Limited.

**Cuadro 4.- Distribución t**

Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de $ t $ para valores de P de número de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
	0.10	0.05	0.02	0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de $|t|$ son adecuados para un contraste de *dos* colas. Para un contraste de *una* cola el valor se toma de la columna para *dos veces* el valor de P deseado, es decir, para un contraste de una cola, $P = 0.05$, 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual a 2.02.

**Cuadro 5.- Valores críticos de F para un contraste de dos colas ($P = 0.05$)**

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.



ANEXO B

Formato empleado para la declaración del método