



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Validación para la determinación de Fósforo Total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas por la técnica de colorimetría en base a los criterios de las Guías de CENAM-ema para Espectrofotometría UV/Visible.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICA INDUSTRIAL

PRESENTA

ERIKA LIMÓN PÉREZ

ASESOR:

M. EN C. JUAN ADRIÁN DÍAZ RAMOS

COASESOR:

I.Q.I. JOSÉ LUIS SÁNCHEZ TEJEDA

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Índice.....	2
Índice de tablas	5
Resumen	7
Introducción.....	8
1 Marco Teórico.....	9
1.1 Agua	9
1.1.1 Generalidades	9
1.1.2 Propiedades del Agua	9
1.1.3 Tipos de aguas.....	11
1.1.4 Contaminación del agua	12
1.1.4.1 Fuentes de contaminación.....	12
1.2 Fósforo	13
1.2.1 Elemento: Propiedades físicas y químicas del fósforo.....	14
1.2.2 Usos del fósforo	15
1.2.2.1 Alimentos	15
1.2.2.2 Explosivos.....	16
1.2.2.3 Fertilizantes.....	17
1.2.2.4 Industria dentífrica.....	18
1.2.2.5 Detergentes	18
1.2.2.6 Industria Metalúrgica.....	19
1.2.2.7 Otras aplicaciones.....	19
1.2.3 Toxicidad	19
1.2.4 Análisis de Fósforo Total	20
1.3 Normatividad	21
1.4 Validación.....	23
1.4.1 Importancia de una validación y cuando es necesario llevarla a cabo.	23
1.4.2 Parámetros a analizar	24
Intervalo Lineal	24
Intervalo de trabajo	24
Límite de Detección	24
Límite de cuantificación.....	24

Repetibilidad	24
Reproducibilidad	24
Recuperación	25
Sesgo	25
2. OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo General	25
2.2 Objetivos Particulares	25
3. Metodología.....	26
3.1 Material y equipo.....	26
3.2 Reactivos	26
3.3 Preparación de Soluciones de acuerdo a la NMX-AA-029-SCFI-2001 numeral 4 <i>Reactivos y patrones.</i>	26
3.4 Diagrama de flujo general.....	28
3.4.1. Diagrama de flujo para análisis instrumental	29
3.4.2. Diagrama de flujo de la digestión con persulfato de potasio.	30
3.4.3. Diagrama de flujo para el análisis colorimétrico	31
3.5 BLANCOS ADICIONADOS PARA EL INSTRUMENTO	32
3.5.1. Intervalo Lineal Instrumental e Intervalo de Trabajo Instrumental.....	32
3.5.2. Límite de Detección y Límite de Cuantificación Instrumental	32
3.5.3 Gráfico control, repetibilidad y sesgo del instrumento.	33
3.5.4 Reproducibilidad del instrumento.	33
3.6 BLANCOS ADICIONADOS PARA EL MÉTODO	33
3.6.1 Intervalo de Trabajo Metodológico	33
3.6.2. Límite de Detección y Límite de Cuantificación Metodológico.....	34
3.6.3 Gráfico control, repetibilidad y sesgo del Método.	34
3.6.4 Reproducibilidad del método.	34
4. RESULTADOS	35
4.1. Tratamiento de blancos adicionados para el Instrumento	35
4.1.1. Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo Instrumental	35
4.1.2. Límite de Detección Instrumental y Límite de Cuantificación Instrumental	38
4.1.3. Gráfico de Control Instrumental, Exactitud, Sesgo y Repetibilidad Instrumental	40
4.1.4. Reproducibilidad Instrumental	44

4.2 Trabajo de blancos reactivos adicionados para el Método.	47
4.2.1. Intervalo de Trabajo Metodológico	47
4.2.2. Límite de Detección Metodológico y Límite de Cuantificación Metodológico	48
4.2.3. Gráfico de Control Metodológico, Exactitud, Sesgo y Repetibilidad Metodológica	50
4.2.4. Reproducibilidad Metodológica.....	54
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	57
5.1. Intervalo Lineal, Intervalo de Trabajo Instrumental y Metodológico	57
5.1.1. Intervalo Lineal.....	57
5.1.2. Intervalo de Trabajo Instrumental y Metodológico.....	58
5.2. Límite de Detección.....	59
5.2.1 Límite de Detección Instrumental.....	60
5.2.2. Límite de Detección Metodológica	60
5.3. Límite de Cuantificación.....	60
5.3.1. Límite de Cuantificación Instrumental	60
5.3.2. Límite de Cuantificación Metodológico	60
5.4. Gráfico Control.....	61
5.5. Exactitud	62
5.5.1. Exactitud Instrumental.....	62
5.5.2. Exactitud Metodológica	63
5.6. Sesgo	63
5.7. Precisión.....	63
5.7.1. Repetibilidad Instrumental	64
5.7.2. Repetibilidad Metodológica.....	64
5.8. Reproducibilidad	64
5.8.1. Reproducibilidad Instrumental	65
5.8.2. Reproducibilidad Metodológica.....	66
6. Conclusiones	67
7. Referencias.....	68

Índice de tablas

Tabla 1 Propiedades físicas del agua.....	10
Tabla 2 Propiedades físicas y químicas del fósforo.....	15
Tabla 3 Reactivos.....	26
Tabla 4 Preparación de blancos adicionados para el Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo Instrumental.....	32
Tabla 5 Sistemas de blancos adicionados para el Intervalo Lineal.....	35
Tabla 6 Sistemas de blancos adicionados para el Intervalo de Trabajo.....	36
Tabla 7 Parámetros para la regresión lineal del Intervalo de Trabajo.....	37
Tabla 8 Curva de Calibración para el L.D.I. y L.C.I.....	38
Tabla 9 Regresión lineal de la curva de calibración del L.D.I y L.C.I.....	38
Tabla 10 Blancos adicionados para determinar L.D.I. y L.C.I.....	39
Tabla 11 Curva de Calibración para el Gráfico Control Instrumental.....	40
Tabla 12 Regresión lineal de la curva de calibración para el Gráfico Control Instrumento..	40
Tabla 13 Blancos adicionados para determinar el Grafico Control Instrumental.....	41
Tabla 14 Porcentaje de recuperación de blancos adicionados para el Gráfico Control Instrumental.....	42
Tabla 15 Curva de calibración para Reproducibilidad Instrumental.....	44
Tabla 16 Regresión lineal de la Curva de Calibración para la Reproducibilidad Instrumental.....	44
Tabla 17 Blancos adicionados (Día 1) para determinar la Reproducibilidad Instrumental.....	45
Tabla 18 Blancos adicionados (Día 2) para determinar la Reproducibilidad Instrumental.....	45
Tabla 19 Intervalo de Trabajo Metodológico.....	47
Tabla 20 Regresión lineal del Intervalo de Trabajo Metodológico.....	47
Tabla 21 Curva de Calibración para L.D.M. y L.C.M.....	48
Tabla 22 Regresión lineal de la curva de calibración del L.D.M y L.C.M.....	48
Tabla 23 Blancos adicionados para determinar L.D.M. y L.C.M.....	49
Tabla 24 Curva de Calibración para el Gráfico Control Metodológico.....	50
Tabla 25 Regresión lineal de la curva de calibración para el Gráfico Control Metodológico.....	50
Tabla 26 Blancos adicionados para determinar el Gráfico Control Metodológico.....	51
Tabla 27 Porcentaje de recuperación de blancos adicionados para el Gráfico Control Metodológico.....	52
Tabla 28 Curva de calibración para Reproducibilidad Metodológica.....	54
Tabla 29 Regresión lineal de la Curva de Calibración para la Reproducibilidad Metodológica.....	54
Tabla 30 Blancos adicionados (Día 1) para determinar la Reproducibilidad Metodológica.....	55
Tabla 31 Blancos adicionados (Día 2) para determinar la Reproducibilidad Metodológica.....	55
Tabla 32 Intervalo de Trabajo Instrumental.....	58
Tabla 33 Intervalo de Trabajo Metodológico.....	59

Tabla 34 Valores del Sesgo.....	63
Tabla 35 Criterio de Aceptación para la Repetibilidad Instrumental.....	64
Tabla 36 Criterio de Aceptación para la Repetibilidad Metodológica.....	64
Tabla 37 Criterio de aceptación para Reproducibilidad Instrumental.....	65
Tabla 38 Criterio de aceptación para Reproducibilidad Metodológica.....	66

Resumen

El fósforo es un elemento excesivamente reactivo, por esta razón es difícil encontrarlo libre en la naturaleza. La fuente principal para obtener este elemento son las rocas fosfatadas que tienen una composición de $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ (fluorapatito). Esta roca se emplea normalmente como fertilizante. (Umland Jean B.2000).

Toda la materia viva tiene fósforo, este elemento está presente en el ADN como una molécula polimérica que transfiere las características genéticas de cada ser vivo y también forma parte de las moléculas que almacenan y transforman energía en los organismos vivos. (Umland Jean B.2000).

El agua que es usada por humanos puede contener altos niveles de fósforo en sus diferentes especies químicas, al terminar en ecosistemas pluviales propios de la naturaleza, el fósforo actúa como nutriente para algas y diferentes organismos lo que produce un crecimiento descontrolado de estos cambiando las características del ecosistema, en 2008 SEMARNAT reportó que el 35% de los cuerpos de agua monitoreados en México presentaban alta contaminación por fósforo, en concentraciones que favorecían la eutrofización, y sólo el cinco por ciento cumplían con el límite máximo permisible (Castañeda 2016), de ahí la importancia de determinar por medio de análisis las concentraciones de Fósforo Total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

Cuando se efectúa un análisis químico lo que se intenta es obtener resultados analíticos confiables, el objetivo más importante y factor clave para conseguir este propósito es el de obtener la trazabilidad en las mediciones analíticas y por ende la validación confiable en los elementos de ensayo.

En este trabajo se presenta la Validación Parcial o Prueba Inicial de Desempeño (Aguilar R. 2008), de la Determinación de Fósforo Total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas bajo el criterio de la NMX-AA-029-SCFI-2001. Este trabajo se realizó en el Laboratorio de la Zona Metropolitana del Valle de México de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, mediante la determinación de los siguientes parámetros estadísticos: Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo, Límite de Detección Instrumental, Límite de Cuantificación Instrumental, Exactitud de instrumento, Sesgo del Instrumento, Precisión en términos de Repetibilidad Instrumental y Reproducibilidad Instrumental, Límite de Detección Metodológico, Límite de Cuantificación Metodológico, Exactitud de Método, Sesgo de Método, Precisión en términos de Repetibilidad Metodológica y Reproducibilidad Metodológica.

Se demuestra el cumplimiento de los lineamientos y criterios de aplicación de la Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2006, la Guía Técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible (México Abril 2008) y la Guía de Laboratorios para la Validación de Métodos y temas relacionados (México, Noviembre 2005) ambas del Centro Nacional de Metrología (CENAM).

Introducción

México, como país tiene dos millones de kilómetros cuadrados Km². (Ávila P. 2002). En él la disponibilidad natural del agua depende fundamentalmente del balance entre el agua que entra al sistema por medio de la precipitación y de lo que se pierde por evaporación en los cuerpos de agua y por evapotranspiración vegetal. El volumen promedio de agua que ingresa al país por precipitación es de 1 488.8 Km³ anuales, del cual 71.5 % regresa a la atmósfera por evapotranspiración. Para tener el balance completo es necesario agregar alrededor de 48.4 Km³ anuales que ingresan por importaciones de los ríos de las fronteras norte y sur y restar las exportaciones a los Estados Unidos que contabilizan 0.432 Km³ anuales. Así, en el balance general la disponibilidad natural media en México es de 471.5 Km³ anuales de agua en promedio al año. (Conagua, Semarnat 2014)

El posible estrés que enfrentan los habitantes de una región puede medirse estimando el volumen de agua que le corresponde a cada habitante. Cuando la disponibilidad per cápita es inferior a los 1 700 m³ por año se considera como una situación de estrés hídrico, si la disponibilidad está por debajo de los 1 000 m³ se considera que las consecuencias pueden ser severas y comprometer seriamente la seguridad alimentaria e, incluso, el desarrollo económico del país. (Conagua, Semarnat 2014)

En México la disponibilidad per cápita anual ha disminuido de manera considerable: en 2012 la disponibilidad de agua por habitante fue de sólo 4 028 m³ por año, volumen considerado como de baja disponibilidad. Para 2030 se proyecta que la disponibilidad de agua por habitante en el país sea de apenas 3430 m³ por año. (Conagua, Semarnat 2014).

El fósforo está presente en el agua como producto de la escorrentía de los campos de cultivo en las áreas urbanas viaja por los sistemas de drenaje como un componente importante del excremento humano que se descarga de los inodoros (Castañeda, 2016), incluyendo las pequeñas cantidades por aportación de los detergentes sintéticos que ya ha sido denunciada (Tuck A. 2004). En cualquiera de estos casos, el fósforo puede incrementar excesivamente los niveles locales de los nutrientes, provocando la reproducción rápida de algas en los lagos y ríos donde se concentra, un proceso llamado eutrofización. Este crecimiento excesivo de las algas puede llegar a reducir los niveles de oxígeno en el agua al grado de impedir la supervivencia de algunas especies de peces. (Castañeda, 2016).

En muchas regiones del mundo como los ríos de los grandes lagos y las zonas tropicales y subtropicales, hierbas o algas acuáticas se han multiplicado abundantemente. Este crecimiento ha obstaculizado la pesca, la navegación, el riego y la producción de energía hidroeléctrica. Han llevado enfermedad y hambre a comunidades que dependían de dichas extensiones de agua. (Tuck A. 2004).

En el México actual el fósforo se desecha, descarga y acumula en concentraciones contaminantes, lo que se ha convertido en un grave problema ambiental y de salud en nuestro país.

1 Marco Teórico

1.1 Agua

1.1.1 Generalidades

El agua cubre aproximadamente el 75 % de la superficie terrestre, su área de distribución es de 510 millones de Km² y toda esta agua forma una gran capa llamada hidrósfera. Su volumen total es de aproximadamente 1390 millones de Km³. De este volumen sólo el 0.26% es directamente útil para la especie humana. El agua al igual que la energía no se crea ni se destruye, solo se transforma, está en continua circulación y movimiento. Cumpliendo con el ciclo hidrológico del agua, ésta se precipita se evapora y fluye superficial o subterráneamente. Cada una de estas fases involucra, transporte, almacenamiento temporal y cambio de la fase del agua (sólido, líquido y gaseoso) dependiendo de varios factores, como la temperatura, la altitud de la zona geográfica y la época del año. El agua se almacena en distintos lugares del planeta como los mares, océanos, lagos, presas, ríos, acuíferos, pantanos y casquetes polares y en cada uno se mantiene por lapsos distintos. (Mazari M. 2013, Mayo).

Para 1995 se estimó que el total de agua aprovechada en el país era de aproximadamente 300Km³, de esta cifra 113.2 Km³ fueron dedicados a la generación de energía hidroeléctrica y 73.5 Km³ a otros usos entre ellos: agricultura, consumo humano, uso industrial y acuacultura.

En la actualidad la extracción promedio anual de agua representa aproximadamente 43% anual del total del agua renovable, desde una perspectiva nacional, esta cifra podría dar una imagen de abundancia, pero no refleja los problemas de escasez y contaminación que pueden observarse en la mayoría de las cuencas y mantos acuíferos. La escasez de agua como su contaminación ha contribuido a una serie de conflictos entre los diferentes usos y usuarios en muchas zonas del país. (Ávila P. 2002).

1.1.2 Propiedades del Agua

El agua es un compuesto simple y no una mezcla, ésta consta de dos moléculas de hidrógeno y una molécula de oxígeno, es representada por la fórmula H₂O. El agua contiene pequeñas cantidades de sales minerales disueltas, estas sustancias contribuyen a darle sabor. Lo que conocemos ordinariamente como agua pura de manantial es una mezcla natural de agua y una pequeña cantidad de materia mineral inofensiva. (Tuck A. 2004).

En los seres vivos el agua es un componente fundamental para los organismos y todas las estructuras orgánicas. Funciona como una fase continua en la cual se llevan a cabo las reacciones bioquímicas de la vida. El agua por sí misma participa en muchas de las reacciones químicas; sus componentes iónicos H⁺ y OH⁻ son reactivos, la oxidación de ésta produce oxígeno molecular, O₂ (reacción fundamental de la fotosíntesis) en donde la energía del Sol es almacenada químicamente para soportar la vida.

El agua es el compuesto químico más abundante de la biosfera, imprescindible para el sustento de la vida en nuestro planeta. La abundancia y su importancia se deben a sus propiedades fisicoquímicas únicas. Ésta tiene una elevada temperatura de ebullición (100°C a 1 atm), la causa de este fenómeno se debe a las fuertes interacciones existentes entre las moléculas del agua en estado líquido. Su molécula tiene una elevada polaridad por su ángulo de enlace entre H-O-H que es de 105°C. Este ángulo propicia que los dos átomos de hidrógeno de la molécula puedan enlazarse a otras 2 vecinas por medio de puentes de hidrógeno, estos enlaces mantienen más moléculas formando cadenas o grupos. Esta unión se presenta con una teada como se muestra a continuación:

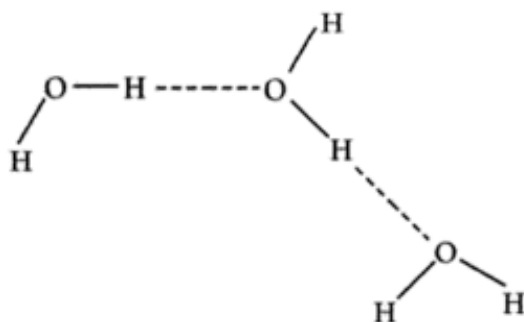


Fig. 1 Enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua.

El agua es una sustancia muy reactiva con propiedades que la diferencian de la mayoría de los líquidos. A continuación se presentan algunas de ellas:

Tabla 1 Propiedades físicas del agua.

Propiedad	Valor
Densidad a 25°C	0.997 g/L
Temperatura de Máxima Densidad	3.98 °C
Constante Dieléctrica	78.30
Entalpia de Vaporización a 100°C, 1 atm	2.26 kJ/Kg
Entalpia de fusión a 0°C, 1 atm	0.33 kJ/Kg
Calor específico 15°C, 1 atm	4.18 kJ/Kg
Tensión superficial 20°C	0.0728J/m ²
Viscosidad 20°C	1x10 ⁻³ Ns /m ²
Conductividad Térmica 2°C	0.588 J/ s m K

La densidad máxima se da a 3.98 °C, en la presión atmosférica hace que el hielo, al ser menos denso, flote en el agua líquida. A causa de este fenómeno el agua en los reservorios naturales empieza a helarse en la superficie, formando una capa de hielo que aísla el agua subyacente del frío ambiental; en consecuencia este fenómeno protege a los animales acuáticos.

Otra propiedad relevante del agua es su elevado calor específico, este fenómeno permite que pueda almacenar grandes cantidades de calor sin que varíe significativamente su temperatura, esto favorece a la estabilización de la temperatura de los organismos y a la de las zonas geográficas completas.

Además presenta alta temperatura de fusión y vaporización, ambos factores son determinantes para el flujo de transferencia de calor, entre la atmósfera y la hidrósfera influyendo en el clima del planeta. Adicionalmente presenta baja viscosidad; ésta disminuye al aumentar la temperatura lo cual favorece el transporte de moléculas por difusión, permite el movimiento de partículas sólidas y de organismos en su seno y por esta razón determina los procesos de sedimentación de sólidos en suspensión. El agua es una de las sustancias líquidas que presentan un valor elevado de tensión superficial, esto da pie a que diferentes y abundantes organismos vivan en la superficie del agua. Esta propiedad le confiere la formación de gotas y su retención en el suelo.

Como punto importante, el agua se distingue por su elevado valor de la constante dieléctrica, relacionada con la polaridad de su molécula y con su estructura, por esta razón el agua presenta una elevada capacidad de disolver, principalmente, compuestos iónicos, puesta de manifiesto en los procesos de meteorización. (Domenech X. & Peral J. 2006).

Naturalmente, el agua es inodora, incolora e insípida. Tiene una geometría doblada, pues a pesar de ser simétrica no es molécula lineal. Este comportamiento se puede explicar por su hibridación sp^3 . El agua es una molécula polar por lo tanto tiene importantes implicaciones en los sistemas vivientes. (Vázquez E. 2003)

1.1.3 Tipos de aguas

De acuerdo al origen, los suministros de agua se clasifican en 3 categorías:

- *Aguas superficiales:* Comprenden los cauces (ríos), océanos, lagos y aguas embalsadas. Es aquella que se encuentra circulando o en reposo sobre la superficie de la tierra, proveniente de las precipitaciones, que no se infiltra ni regresa a la atmósfera por evaporación, también es la que proviene de manantiales o nacimientos que se originan en las aguas subterráneas.
- *Aguas Subterráneas:* Abarcan las aguas situadas por debajo de la superficie del suelo en los espacios porosos y en las fracturas de las formaciones rocosas.
- *Aguas Meteorológicas:* Agua en la atmósfera en forma de nubes, agua en vaporización. (Ramalho R.S. 2003)

1.1.4 Contaminación del agua

Cuando se hace referencia a la calidad del agua es necesario citar el tipo de sustancia que contiene ya sea suspendida o disuelta (sales, metales pesados, hidrocarburos, plaguicidas) o bien microorganismos (virus, bacterias, parásitos etc.). Debemos conocer la concentración en la que estos materiales se encuentran para entender la alteración del agua y que tan seria, reversible o irreversible es. (Mazari M. 2013, Mayo).

El agua residual (aguas negras) es la que arrastra suciedad del lugar donde procede que pueden ser viviendas, poblaciones o zonas industriales. Éstas, al ser conducidas a una Planta de Tratamiento de Aguas (donde se realiza la remoción de los contaminantes a través de métodos biológicos o fisicoquímicos) presentan un efluente del sistema de tratamiento conocido como aguas residuales tratadas. (CESPT. 2009).

1.1.4.1 Fuentes de contaminación

Aguas residuales municipales: Son generadas en las casas, lugares de trabajo y en los lugares públicos, se descargan a los sistemas municipales de alcantarillado y si no son tratadas pueden generar contaminantes biológicos e infecciosos pero también contienen sustancias tóxicas como solventes, que se encuentran en productos de limpieza o disruptores hormonales (alteraciones en las funciones hormonales de los seres vivos) que se liberan al lavar la ropa, entre otros.

Cada vez que empresas descargan sus aguas residuales en el alcantarillado municipal, se representa un grave problema ya que esas aguas tienen un alto contenido de metales pesados y sustancias químicas. Los sistemas de tratamiento de aguas municipales no están hechos para procesar aguas industriales por lo tanto en México existen 2,477 plantas de tratamiento de aguas municipales y para el sector industrial operan 2,832 plantas, en su mayoría en grades y medianas industrias autoabastecidas. A la micro empresa le corresponde únicamente el 0.8% y para las pequeñas empresas no existen plantas. Para el caso de pequeñas y microempresas, por su naturaleza de producción e ingreso económico (bajos), es poco común la instalación de sistemas para tratar las aguas residuales que se generan en los procesos de producción, de acuerdo con la CONAGUA (2016). En la actualidad existen diversas tecnologías convencionales altamente mecanizadas para tratar aguas residuales industriales, a continuación se citan algunos tratamientos comunes:

1. Pretratamiento Industrial Primario: Donde se usan rejillas, tamices, microfiltros y desarenadores.
2. Pretratamiento Industrial Secundario: Utilización de lecho bacteriano, lodos activados, filtros verdes, etc.
3. Pretratamiento Industrial Terciario: Donde se ocupan sistemas como ósmosis inversa, destilación, coagulación, adsorción, etc.

Estos tratamientos tienen costos elevados debido a que los procesos demandan un alto consumo energético además de altos costos de construcción, operación y mantenimiento.

Actividades productivas: principalmente de la industria, la agricultura y la actividad minera, pueden contener toda una serie de sustancias tóxicas como Compuestos Orgánicos Persistentes (COP's) o Volátiles (VOC's) y metales pesados entre otros. Algunas de estas sustancias pueden causar disrupciones hormonales, afectaciones al desarrollo del feto o cáncer. En la mayoría de los casos, existen sustancias inocuas alternativas.

En México, el tratamiento de aguas residuales industriales es una limitante a la que se enfrentan las micro y pequeñas empresas, es escaso el acceso a recursos del gobierno encaminados a tratar las aguas residuales que se producen y que puedan ser reutilizadas. Asimismo, existen pocas investigaciones encaminadas a tratar aguas residuales industriales en países en vías de desarrollo con métodos ecológicos que abaraten los costos de construcción y operación de los sistemas convencionales y puedan ser instalados en pequeñas y micro industrias.

Lixiviados de los basureros: son líquidos que se producen por la descomposición de la basura y que se filtran al suelo, estas sustancias son anóxicas o casi carentes de oxígeno, ricas en ácidos orgánicos y pueden contener altas concentraciones de metales pesados y sustancias tóxicas.

1.2 Fósforo

El fósforo se presenta mayoritariamente en el agua en forma de fosfatos: ortofosfatos, fosfatos condensados (piro, meta y polifosfatos) y fosfatos orgánicos. Los polifosfatos tienen el efecto de disminuir la concentración de equilibrio del calcio y evitar la precipitación de carbonato de calcio en tuberías, torres de enfriamiento o calentadores.

Las condiciones climáticas remueven los fosfatos de las rocas y las transforman en tierra, las plantas usan el fósforo de la tierra para crecer, posteriormente estas plantas son usadas por los humanos y animales para alimentarse. El fósforo se reduce en la tierra como deshecho y es retirado de la tierra por la lluvia. Llega por los ríos a mares y lagos. En estos sitios se precipitan como fosfatos metálicos insolubles. Con el transcurso del tiempo el precipitado sedimenta y tarde o temprano llega a ser parte de la nueva masa de tierra. (Umland J. 2000).

La forma más sencilla de los fosfatos es el PO_4^{-3} . El fósforo proviene de las plantas, animales, suelos, fertilizantes (fosfatos condensados), detergentes y descargas industriales, principalmente del agua de acondicionamiento para calderas.

Las descargas de tintorerías y lavanderías también lo contienen en altas cantidades.

La presencia de fósforo en agua estimula el crecimiento de organismos fotosintéticos en cantidades perniciosas y frecuentemente es el agente limitante del crecimiento en lugar

de nitrógeno ya que este puede ser fijado directamente de la atmósfera por organismos específicos. El fósforo puede encontrarse en los sedimentos de los cuerpos de agua y en los lodos producto del tratamiento de ésta.

Para evitar la proliferación de algas el PO_4^{3-} debe mantenerse por debajo de una concentración de 0.5 mg /L (se debe tomar en cuenta que el contenido de agua residual tiene una concentración de 25mg/L en forma de ortofosfatos, polifosfatos fosfatos insolubles) la eficiencia requerida debe ser alta (>98%). Su eliminación ocurre en el tratamiento primario durante la sedimentación y en el tratamiento biológico por asimilación en la biomasa (20% en lodos activados). La forma más fácil de remoción es por precipitación (90 a 95%) siendo la cal el reactivo más barato a utilizar en ella. Para la remoción se emplea la adsorción con alúmina activada con efectividad del 99.9% de ortofosfato. (Jiménez B. 2001).

La remoción biológica, por métodos específicos es aplicada para enriquecer con fósforo los lodos producidos para tratarlos por métodos fisicoquímicos, generalmente, o disponerlos como mejoradores de suelo. (Jiménez B. 2001).

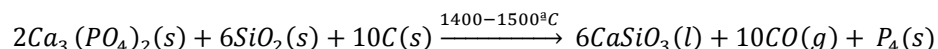
1.2.1 Elemento: Propiedades físicas y químicas del fósforo.

Elemento químico de número atómico 15, muy abundante en la corteza terrestre, tanto en los seres vivos como en el mundo mineral, se presenta en varias formas alotrópicas, todas inflamables y fosforescentes, además de su importancia biológica como constituyente de huesos, dientes y tejidos vivos. Su principal función radica en la formación de biomoléculas claves que necesitamos todos los organismos que habitamos la Tierra. El fósforo se requiere en grandes cantidades para crecer rápidamente, permite a las células contar con energía mediante el adenosíntrifosfato (ATP), también es necesario para mantener un balance hídrico adecuado por acción de los fosfolípidos y por último, permite guardar y transmitir de generación a generación, la información genética en la molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico). Todos los organismos necesitamos adquirir fósforo (P) de nuestro entorno para poder realizar estas funciones básicas de la vida. Las plantas y los microorganismos tienen que tomar el P de la solución del suelo en su forma disponible (ortofosfato) y el resto de los organismos lo adquirimos por medio de nuestros alimentos; por lo que el P que usamos todos los organismos vivos es el tomado principalmente por las plantas. (Tapia Y. y García F. 2018)

Se usa en la industria fosforera, pirotecnia, síntesis de compuestos orgánicos y en forma de fosfatos entra en la composición de fertilizantes agrícolas y detergentes. (Velázquez R. 2011). Existen al menos 4 formas alotrópicas de este elemento: blanca, amarilla, roja y negra.

Comúnmente el fósforo es un sólido blanco y de textura cerosa, mientras que en estado puro es transparente e incoloro, Insoluble en agua y tiene la capacidad de disolverse fácilmente en alcoholes y en disulfuro de carbono que al hacer contacto con el aire se inflama instantáneamente.

El fósforo elemental se obtiene al calentar la roca fosfatada con arena y coque en un horno eléctrico. Llevándose a cabo la siguiente reacción química:



La mayor parte del fósforo producido se emplea para fabricar ácido fosfórico, lo demás se usa para obtener otros compuestos fosfatados.

El fósforo blanco es la más común de sus formas alotrópicas, éste se encuentra constituido por moléculas de P₄. (Umland J. 2000).

Es una molécula no polar, tetraédrica con los pares de electrones sin compartir sobresaliendo de cada átomo de fósforo. Los ángulos de 60° son los responsables de su alta reactividad, la temperatura corporal normal es lo suficientemente alta para encenderlo, por lo cual las quemaduras que producen son muy dolorosas y lentas de curar.

Tabla 2 Propiedades físicas y químicas del fósforo.

Característica	P
Número atómico	15
Peso atómico	30.973762 g/mol
Punto de fusión	44.15 °C
Punto de ebullición	280.5 °C
Estado de Oxidación	+1,+3,+4,+5
Electronegatividad	2.1
Potencial de Ionización (eV)	11.00
Densidad	1.82 g/cm ³

1.2.2 Usos del fósforo

1.2.2.1 Alimentos

Los fosfatos han sido utilizados en diversas formas para la elaboración de alimentos siendo una de las más comunes la levadura en los productos de pan. La levadura química fue inicialmente de dihidrógeno fosfato de calcio, bicarbonato de sodio y fécula (para guardar los dos ingredientes activos antes de que se mezclaran con agua). Al mezclar la masa para cualquier producto de pan como el bollo, torta o galleta ambos reactivos reaccionaban como la siguiente ecuación lo describe.



Para disminuir la pérdida de dióxido de carbono durante el proceso, se utilizaba una levadura química combinada que contenía un ácido de acción retardada, por ejemplo el sulfato de sodio y aluminio $\text{NaAl}(\text{SO}_4)_2$ éste ha sido sustituido parcialmente al dihidrógeno fosfato $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ que contenía el producto original puro. Se ha empleado la fécula de maíz por harina de maíz para separar los ingredientes activos durante el almacenamiento.

Priestley fue el padre de la industria de las bebidas de refresco por añadir dióxido de carbono al agua para producir agua carbonatada, estas bebidas se caracterizan por su sabor ácido. Esta acidez proviene de ácidos añadidos como el cítrico en la naranja y pomelo, tartárico en el mosto, málico en la manzana y ácido fosfórico en los refrescos de cola. El contenido de ácido fosfórico varía entre 0.01 y 0.1/100mL. Mientras más contenido de ácido más sabor amargo del producto. (Rodgers E. 1995).

1.2.2.2 Explosivos

Cuando el fósforo blanco se calienta a 250°C en ausencia de aire se rompen uno o dos enlaces, dando lugar a la estructura polimérica y menos tensionada del fósforo rojo. Esta especie es menos reactiva, funde a mayor temperatura y es menos soluble en solventes no polares, el fósforo negro es de apariencia parecida al grafito y se caracteriza por su forma de láminas plegadas.

El fósforo blanco se caracteriza por una combustión espontánea en el aire lo que lo hace ser objeto de fascinación y curiosidad, en algún momento se cubría con este elemento un pedazo de papel o en una astilla de madera y se mantenía en un tubo de vidrio vacío, cuando el tubo se rompía, el fósforo podría arder. Posteriormente se usaron aditivos como la goma y el almidón para proteger al fósforo del aire hasta ser puesto en contacto con una superficie rugosa.

Mejorando la formulación se le añadió cloruro de potasio por sus propiedades como agente oxidante. El azufre se adicionó para mantener la llama y transferirla a la astilla de madera. Finalmente el fósforo y el azufre se unieron en la forma de Trisulfuro de tetrafósforo P_4S_3 que junto con el clorato de potasio KClO_3 puede producir una llama controlada cuando se frota contra un papel que contenga vidrio pulverizado.

El fósforo ha sido utilizado en gran variedad de productos incendiarios, uno de los más famosos es el coctel Molotov que es una combinación de fósforo y gasolina en una botella de cerveza o leche. Cuando la botella se rompía por impacto el fósforo prendía a la gasolina produciendo un explosivo efectivo y barato. Esta mezcla fue utilizada por primera vez por el gobierno británico para evitar que tropas invadieran su territorio en la Segunda Guerra Mundial.

1.2.2.3 Fertilizantes

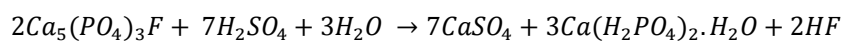
La materia prima para los fertilizantes fosfatados es la roca fosfatada constituida por un complejo fluorinado de fosfatos de calcio con varios minerales, así como sílice y arcilla. Con frecuencia los minerales fosfatados están asociados con arcilla, caliza, arena silíceo y en menos grado con algunas impurezas. El hierro y el aluminio pueden causar dificultades en su uso posterior como fertilizantes si acaso su contenido sube al 3%. Si no se llega a esta concentración de ambos metales, estos fosfatos son satisfactorios para producir fósforo elemental por el proceso del horno eléctrico. (Morel P. 1971)

La calidad del fosfato puede mejorarse sin muchos gastos, la extracción debe acompañarse con operaciones de purificado, la arcilla se lava en las partículas más gruesas de fosfato para mejorar la calidad de éste.

El fosfato es lavado y tamizado para recuperar las partículas grandes, el material fino se trata con agua para eliminar lo que ha sido muy pulverizado esto lleva por nombre "slime", éste contiene la mayoría de la arcilla existente en el material original y alrededor de un 30% de contenido de anhídrido fosfórico. Esto se desecha perdiendo todo ese fósforo. El material fino o de tamaño medio se trata con un detergente y el fósforo se separa de la sílice por flotación. Éste se somete a un proceso de secado y queda listo para ser embarcado.

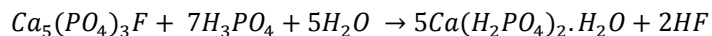
Entre las materias primas para producir fertilizantes fosfatados se incluye al azufre, por su importancia en los procesos primarios de obtención. (Morel P. 1971)

Los fertilizantes de fosfatos se conocen desde hace aproximadamente 150 años. La roca fosfatada contiene minerales como el fluorapatito $Ca_5(PO_4)_3F$ que generalmente son insolubles para ser captados por las plantas, para aumentar su solubilidad, la roca puede tratarse con ácido sulfúrico dando una mezcla llamada superfosfato. (Rodgers E. 1995)



Este fertilizante fue común en la década de los 40's.

Si en lugar de ácido sulfúrico se utilizara el ácido fosfórico se elimina el sulfato de calcio inerte del superfosfato, este producto se llama superfosfato triple (Rodgers 1995).



La conversión de la roca fosfatada en un fertilizante por este medio es el preferido de la producción ya que es de menor costo que el método del horno eléctrico y los productos se integran mejor al mercado. Para convertir la roca fosfatada a ácido fosfórico se requiere casi una tonelada de azufre por cada tonelada de anhídrido fosfórico producido. Para producir superfosfato se requieren 0.6 toneladas de azufre por tonelada de anhídrido fosfórico. (Morel Pablo 1971)

Ambos productos han sido reemplazados gradualmente por fosfatos de amonio o mezclas de fosfatos de amonio y potasio que proporcionan nitrógeno y fósforo al suelo. (Rodgers E.1995). El uso de fertilizantes de fósforo ha disminuido considerablemente, mientras que el uso de fertilizantes nitrogenados ha aumentado. México se encuentra como uno de los principales consumidores de éstos en América Latina. (OCDE 2013).

1.2.2.4 Industria dentífrica

En la década de los años 30, el hidrógeno fosfato de calcio dihidratado $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ sustituyó al yeso como el principal agente de pulido en los dentífricos, ya que este es menos abrasivo que el yeso y proporciona al diente un brillo mejor. Desafortunadamente tiende a deshidratarse por lo que esta propiedad no lo hizo adecuado para su uso en la industria dentífrica (Rodgers E. 1995).

Para suministrar simultáneamente en el diente fluoruro y fósforo se emplea el monofluor fosfato de sodio (MFP) en el cual un grupo OH es remplazado por un flúor (Na_2PO_3F) de este modo se tiene un agente de fluoración que no precipita en presencia de hidrógeno fosfato de calcio dihidratado.

En la actualidad podemos encontrar en su forma comercial la mezcla de fluoruro de sodio (1100 ppm de ión Flúor), pirofosfato disódico y pirofosfato tetrasódico (3.3% de ión Pirofosfato permitiendo que ambos elementos se presenten en la fórmula.

1.2.2.5 Detergentes

El tripolifosfato sódico $Na_5P_3O_{10}$ se obtiene al neutralizar ácido fosfórico comercial con carbonato de sodio, este compuesto final tiene propiedades de detergencia. Dentro de sus propiedades actúa alcalinizando el agua, reacciona con los iones de calcio y magnesio y ayuda a mantener las grasas y el polvo en suspensión para facilitar su eliminación en el lavado. El tripolifosfato $Na_5P_3O_{10}$ es el principal ingrediente de los detergentes fosfatados y es la base de los agentes limpiadores de tejidos y vajilla. Se emplea como coadyuvante, acompañado de tensoactivos que disuelven las grasas y las separan del tejido y los blanqueadores como el perborato sódico. (Muñoz C. 2013)

En los detergentes actuales los fosfatos se han de sustituir por carbonato de sodio, silicatos, citratos, zeolitas, nitroacetato sódico etc. Los fosfatos presentan una serie de ventajas como son su seguridad e inocuidad, tanto frente a la piel humana como en las fibras, colorantes y la estructura interna de la máquina de lavado. Se pueden eliminar satisfactoriamente en las plantas depuradoras, además de que no interfieren con otros procedimientos de tratamiento de residuos. Su estructura química y reacciones son bien conocidas y han sido investigadas y documentadas durante mucho tiempo. (Varó Galvañ P. 2002)

Existe un gran consumo de detergentes éste se aproxima a 20 Kg/año por cada habitante por lo tanto es preciso cuidar de las formulaciones. (Muñoz C. 2013)

1.2.2.6 Industria Metalúrgica

En la industria metalúrgica las disoluciones de ácido fosfórico y fosfatos metálicos se utilizan para limpiar las superficies de los metales y prevenir la corrosión.

Aplicado por primera vez a las ballenas de corse, hace más de un siglo, la fosfatización es actualmente un proceso rutinario previo a la pintura y lacado de los automóviles y electrodomésticos, los retoques finales en tales artículos también se realizan por un producto de fosfato.

Sumergir aluminio y sus aleaciones en una disolución de ácido fosfórico-nítrico, les da un brillante acabado cromado, actualmente estos metales ligeros con baños brillantes han sustituido al cromo en apliques del automóvil y agarraderas de electrodomésticos. Los retoques finales en tales artículos también se realizan por un producto de fosfato. (Rodgers 1995).

1.2.2.7 Otras aplicaciones

El fósforo se encuentra en vidrios coloreados, porcelana, plastificantes, farmacia etc.

1.2.3 Toxicidad

El fósforo es un elemento sumamente importante ya que se encuentra presente en todos los organismos, sin embargo también es altamente tóxico, unos 50 mg de fósforo serían letales para cualquier ser humano. El fósforo blanco es considerablemente peligroso y al ser tan reactivo (inflamable al tener contacto con el aire) debe manipularse con enormes cuidados, por ejemplo siempre debe estar en agua y lejos de las manos pues produce serias quemaduras.

En muchos de los casos por exposición en el veneno para ratas; las personas presentan náuseas, convulsiones en el estómago y desfallecimiento antes de que mueran. Los fosfatos pueden causar problemas de salud como daño a los riñones y osteoporosis.

Quienes trabajaban con fósforo padecían una enfermedad mortal llamada "fosfonecrosis de la mandíbula", cuando se inhalaban los vapores de fósforo estos eran absorbidos a través de las cavidades de los dientes y atacaban los huesos de la mandíbula principalmente, destruyéndolos. La muerte era angustiosa y casi inevitable, actualmente el estado de los dientes de los trabajadores de las plantas de fósforo se controla cuidadosamente. (Rodgers 1995).

Los fosfatos tienen muchos efectos sobre los organismos, estos efectos son en su mayoría consecuencias de las emisiones de grandes cantidades de fosfatos en el ambiente debido a la minería y los cultivos. Durante la purificación del agua los fosfatos no son a menudo eliminados correctamente, así que pueden expandirse a través de largas distancias cuando se encuentran en la superficie de las aguas.

Debido a la constante adición de fosfatos por los humanos y que exceden las concentraciones naturales, el ciclo del fósforo es interrumpido fuertemente.

El incremento de la concentración de fósforo en las aguas superficiales aumenta el crecimiento de organismos dependientes del fósforo, como las algas. Estos organismos usan grandes cantidades de oxígeno y al crecer impiden que los rayos de Sol entren en el agua. Esto hace que el agua sea poco adecuada para la vida de otros organismos. El fenómeno es comúnmente conocido como **eutrofización**. (Lenntech 1998-2018)

1.2.4 Análisis de Fósforo Total

El fósforo total presente en el agua residual se puede dividir en las siguientes fracciones:

1) Fósforo particulado

1.1 Fósforo en organismos

- Ácidos nucleicos (ADN y ARN)
- Fosfoproteínas
- Nucleótidos fosfatados, ADP y ATP ligados a los procesos de respiración y asimilación de CO₂

1.2 Fase mineral de rocas y suelos

- Apatita Ca₅(PO₄)₃X⁻
- Arcillas
- Carbonatos
- Hidróxidos férricos

1.3 Fósforo absorbido a materia orgánica particulada muerta o asociaciones macroorgánicas.

2 Fósforo inorgánico disuelto

2.1 Ortofosfato *inorgánico soluble*

- Ión PO₄³⁻ y sus formas protonadas H₃PO₄, H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻

2.2 Fosfatos condensados o polifosfato inorgánico soluble:

Estos compuestos se transforman en ortofosfatos por hidrólisis, su concentración típica es de 3 mg/L, apareciendo en el agua residual debido a su presencia en algunos productos de limpieza.

2.3 Fósforo orgánico, soluble y en suspensión:

- Tienen poca importancia en aguas residuales urbanas, siendo la concentración total típica 1 mg/L, están presentes por los residuos de origen animal como alimenticio. (Villaseñor J. 1998).

El fósforo disuelto en agua puede presentarse en forma orgánica e inorgánica. (Vidal-Abarca M. 1994). El fósforo inorgánico (ortofosfato) comprende las especies disueltas H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} en función del pH del medio. (Martí 2002).

Las formas de fósforo en una muestra pueden determinarse como total (sin filtración) y disuelto (en el filtrado de una muestra pasada a través de un filtro mediano). Los polifosfatos se pueden convertir a la forma de ortofosfato por digestión en medio ácido y algunos compuestos organofosforados por digestión con persulfato. Todas las formas de fósforo se reportan como mg P/L. Debido a que el fósforo puede estar presente en combinación con materia orgánica se debe realizar una digestión con persulfato para que oxide a la materia orgánica y libere al fósforo como ortofosfato. (IDEAM)

Todas las formas de fósforo presentes después de la digestión con persulfato se llaman: **Fósforo Total.**

La reacción química se lleva a cabo cuando el molibdato de amonio reacciona en condiciones ácidas con el vanadato de amonio formando un heteropoliácido, este reacciona con los fosfatos formando el ácido vanadomolibdofosfórico de color amarillo. Se mide de 400 a 490 nm. (Morel Evangelista Ignacio, 1994)

1.3 Normatividad

En México existen numerosas Normas Oficiales Mexicanas (NOM) en materia de agua. En cumplimiento del dispuesto en la fracción 1 del artículo 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, el proyecto de la NOM-001--SEMARNAT-1996 establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales con el objetivo de proteger su calidad y posibilitar sus usos. Dentro de esta NOM se incluye la NMX-AA-029-SCFI-2001 la cual establece el muestreo, condiciones de la muestra, digestión de la muestra y la determinación colorimétrica para cuantificar fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

La NOM-001-SEMARNAT-1996 especifica las concentraciones máximas permisibles (LMP) para contaminantes como el Fósforo Total siendo éste 30 mg P/L en ríos y embalses naturales y artificiales. La Comisión Nacional del Agua llevará a cabo muestreos y análisis de las descargas de aguas residuales, de manera periódica y aleatoria con la finalidad de verificar el cumplimiento de los límites máximos permisibles establecidos para los parámetros señalados.

La importancia de realizar una Validación Parcial o Prueba Inicial de Desempeño (Aguilar R., Álvarez R. & Becerril S. 2008) es tener una buena competencia técnica y proporcionar confiabilidad de los resultados en las mediciones analíticas, en este caso de la determinación de fósforo total tal y como se explica en la Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2006 y la Guía Técnica de Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la Técnica de Espectrofotometría de Ultravioleta- Visible. (México, Abril-2008) del Centro Nacional de Metrología CENAM.

Trazabilidad

De acuerdo a la NMX-EC-17025-IMNC-2006 párrafo 5.6.2.1.1: "*Para los laboratorios de calibración, el programa de calibración de los equipos debe ser diseñado y operado de modo que se asegure que las calibraciones y las mediciones hechas por el laboratorio sean trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI). Un laboratorio de calibración establece la trazabilidad de sus propios patrones de medición al sistema SI por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones o comparaciones que los vinculen a los pertinentes patrones primarios de las unidades de medida de SI.*" (Escamilla A. 2015)

De acuerdo a la Entidad Mexicana de Acreditación (ema) los lineamientos para trazabilidad son los siguientes:

a) Cadena ininterrumpida de calibraciones:

La trazabilidad empieza con una cadena ininterrumpida de comparaciones, cuyo origen se encuentra en el laboratorio nacional, internacional o patrones intrínsecos de medición y termina con los estándares de referencia de un laboratorio de metrología determinado.

b) Incertidumbre de la medición:

La determinación de la incertidumbre para cada eslabón de la cadena de trazabilidad debe calcularse de acuerdo con métodos definidos y establecerse en cada eslabón, de tal modo que se calcule la incertidumbre de toda la cadena.

c) Documentación

Cada eslabón de la cadena debe realizarse con procedimientos documentados y generalmente aceptados, el resultado debe registrarse en un reporte de calibración o de ensayo.

d) Competencia

Los laboratorios que desarrollan uno o más eslabones de la cadena deben evidenciar su competencia técnica, por ejemplo demostrando que están acreditados o reconocidos por algún cuerpo de acreditación.

e) Referencia a unidades SI

Donde sea posible, los estándares primarios nacionales deben ser estándares primarios materializados de las unidades del SI.

Recalibraciones

Las calibraciones deben de ser repetidas a intervalos apropiados de tiempo de tal manera que la trazabilidad de las mediciones se mantenga asegurada. (Escamilla A. 2015).

La trazabilidad del resultado de una medición está relacionada con la diseminación de la unidad correspondiente a la magnitud que se mide, la expresión del valor de una magnitud incluye la referencia de una unidad de medida, la cual ha sido elegida por acuerdo y por tanto las medidas de la misma magnitud deben estar referidas a la misma unidad, la definición conocida de trazabilidad no impone limitaciones sobre la naturaleza de las referencias determinadas, es conveniente lograr la uniformidad universal de las mismas mediante el uso de las unidades del Sistema Internacional de Unidades.

Es necesario recalcar que los equipos que se utilizan en el proceso de validación cumplen con las especificaciones de calibración adecuadas. Para realizar esta validación el operador debe ser una persona capacitada y técnicamente competente, debe poseer el conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de ser capaz de tomar decisiones apropiadas. (EURACHEM, CENAM).

1.4 Validación

La validación es la confirmación de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto a través del examen y el aporte de evidencias objetivas. (CENAM-ema)

Es un proceso para definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que se requiere la aplicación. De esta forma se evalúan las capacidades de desempeño del método (CENAM 2005).

1.4.1 Importancia de una validación y cuando es necesario llevarla a cabo.

En el mundo se realizan millones de mediciones analíticas diariamente en miles de laboratorios, existen diversas y abundantes razones para realizar estas mediciones por ejemplo: la forma de evaluar bienes para propósitos de comercio, apoyo a la salud, verificar la calidad del agua que consumen los humanos, el análisis de la composición elemental de una aleación etc. Cada aspecto de la sociedad está apoyada de algún modo en una medición analítica. (CENAM 2005) Es importante arrojar un resultado correcto y ser capaz de demostrar que lo es ya que por ejemplo si las pruebas que muestran que el consumo de un alimento no es adecuado puede resultar este hecho en demandas por compensación. (CENAM 2005)

Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico, por ejemplo cuando se han establecido mejoras o cuando el control de calidad indica que un método está siendo deformado con el tiempo. También debe de realizarse una validación cuando se ha presentado algún cambio en la instrumentación o con los analistas, igualmente cuando se debe de demostrar la equivalencia entre dos métodos. (CENAM 2005)

Para una validación de método el laboratorio debe aplicar procedimientos apropiados para todos los ensayos o las calibraciones dentro de su alcance, estos incluyen el muestreo, manipulación, transporte y almacenamiento así como las técnicas estadísticas aplicables a éstos. Debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados. El laboratorio es responsable de registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método.

1.4.2 Parámetros a analizar

Para una validación como la que en este trabajo se lleva a cabo la Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2005/ISO/IEC 17025:2005 cita los parámetros requeridos:

Intervalo Lineal

Se refiere al intervalo de concentraciones del analito dentro del cual los resultados de prueba obtenidos por el método son proporcionales a la concentración del analito.

Intervalo de trabajo

Este parámetro es obtenido a través de la medición de muestras con diferente concentración del analito y seleccionando el intervalo de concentración que proporcione un intervalo de respuesta lineal.

Límite de Detección

Se refiere a la mínima concentración de analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas en la prueba.

Límite de cuantificación

La menor concentración de un analito que puede determinarse bajo las condiciones establecidas de la prueba.

Repetibilidad

Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones sucesivas del mismo mensurando, con las mediciones realizadas con la aplicación de la totalidad de las siguientes condiciones:

- El mismo procedimiento de medición
- El mismo observador
- El mismo instrumento de medición utilizando las mismas condiciones
- El mismo lugar
- La repetición dentro de un período corto de tiempo

Reproducibilidad

Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando, con las mediciones realizadas haciendo variar las condiciones de medición.

Recuperación

Proporción de la cantidad de analito, presente en la porción de la muestra o adicionado a ésta, que es cuantificada por el método de ensayo.

Sesgo

La diferencia entre los resultados de prueba esperados y el valor de referencia aceptado.

2. OBJETIVOS**2.1 Objetivo General**

Realizar la Validación Parcial o Prueba Inicial de Desempeño para tener en control analítico la cuantificación de Fósforo Total bajo el criterio de la Norma Mexicana NMX-AA-029-SCFI-2001 así como la determinación de parámetros estadísticos con base al criterio de las Guías de Trazabilidad del Centro Nacional de Metrología (CENAM) y la Entidad Mexicana de Acreditación (ema).

2.2 Objetivos Particulares

- Determinar los parámetros Intervalo Lineal Instrumental, Intervalo de Trabajo Instrumental, Límite de Detección Instrumental, Límite de Cuantificación Instrumental, Exactitud Instrumental, Sesgo Instrumental, Repetibilidad Instrumental y Reproducibilidad Instrumental para la determinación de Fósforo Total en aguas, para verificar que cumplan con los criterios de aceptación de las Guías de trazabilidad del Centro Nacional de Metrología (CENAM) y la Entidad Mexicana de Acreditación (ema).
- Determinar los parámetros, Intervalo de Trabajo de Método, Límite de Detección de Método, Límite de Cuantificación de Método, Exactitud de Método, Sesgo de Método Repetibilidad de Método y Reproducibilidad de Método para la determinación de fósforo total en aguas, que cumplan con los criterios de aceptación las Guías de trazabilidad del Centro Nacional de Metrología (CENAM) y la Entidad Mexicana de Acreditación (ema).

3. Metodología

3.1 Material y equipo

- Pipetas volumétricas clase A de 2, 4, 5, 10, 20, 25, 30 y 40mL.
- Matraces volumétricos clase A con capacidad de 100 y 1000mL.
- Vasos de precipitado de 250mL.
- Pipetas serológicas de 10mL.
- Vidrios de reloj 10cm de diámetro
- Parrilla de agitación con calentamiento
- Barras magnéticas
- Celda de cuarzo de 10 mm de paso de luz para Espectrofotómetro UV-VIS.
- Espectrofotómetro UV-VIS Marca HACH
- Balanza Analítica de 210 g marca OHAUS de 0.1mg de resolución.
- Estufa IMPERIAL

3.2 Reactivos

Tabla 3 Reactivos

Reactivo	Marca	Lote
Fosfato Monobásico de Potasio	J.T. Baker	M-31357
Fenolftaleína	J.T. Baker	0000115615
Ácido Sulfúrico Concentrado	J.T. Baker	L40C14
Persulfato de Potasio	J.T. Baker	0000141055
Ácido Nítrico Concentrado	J.T. Baker	V32C00
Carbón Activado	Hycel de México	53003
Ácido Clorhídrico Concentrado	J.T. Baker	V49C20
Metavanadato de Amonio	J.T. Baker	0000024061
Heptamolibdato de Amonio	J.T. Baker	54678
Agua Reactivo Tipo II	HYCEL	008345

3.3 Preparación de Soluciones de acuerdo a la NMX-AA-029-SCFI-2001 numeral 4 Reactivos y patrones.

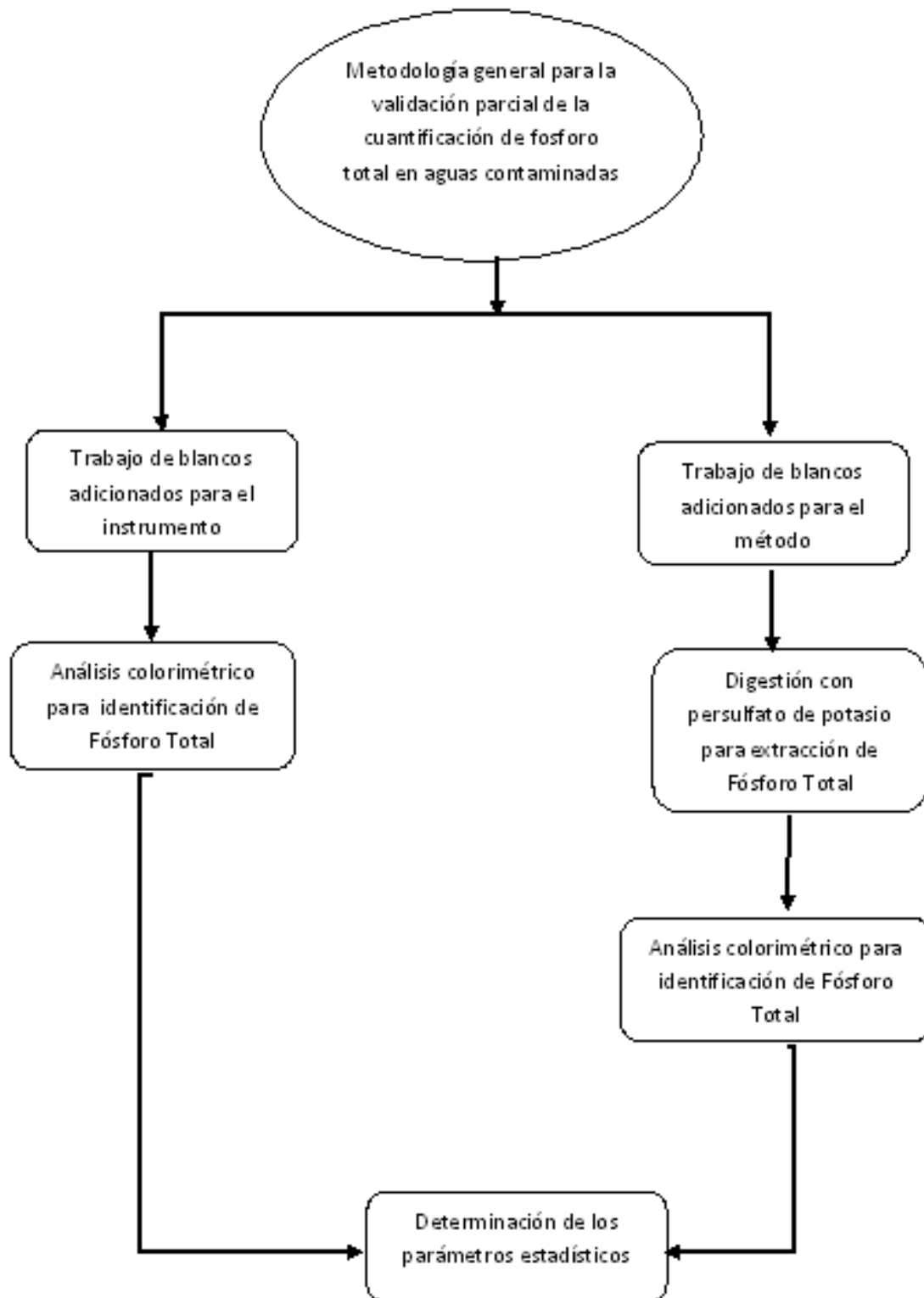
1) Disolución madre de fosfato:

Se secó fosfato monobásico de potasio a 105°C durante dos horas. Posteriormente se pesaron con precisión 219.5mg de esta sal, se vertieron en un matraz aforado de 1000 mL y se llegó al aforo con agua. 1,0 mL = 50,0 µg de P como PO₄³⁻.

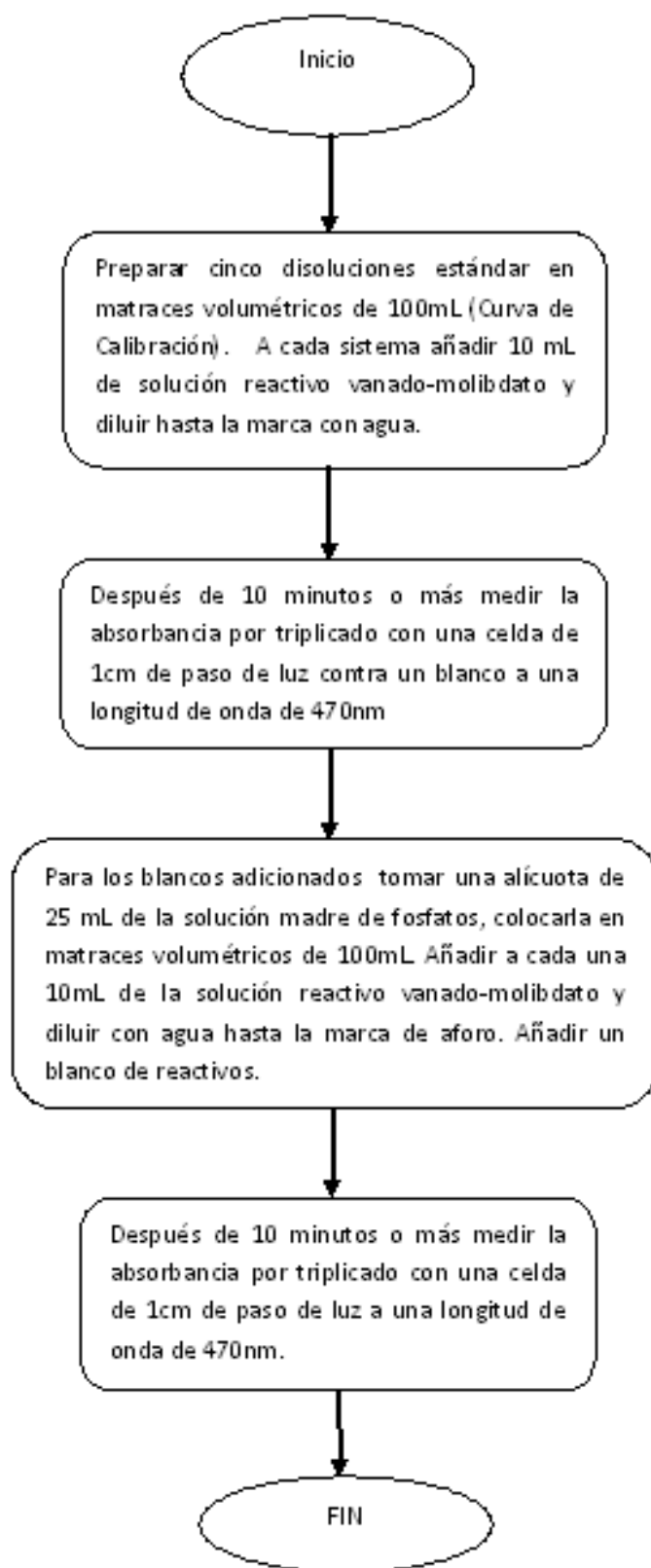
- 2) Disolución de Ácido Fuerte:
Se adicionaron cuidadosamente 300 mL de ácido sulfúrico concentrado a 600mL de agua aproximadamente. Se dejó enfriar y se agregaron 4mL de ácido nítrico concentrado, posteriormente se llegó al aforo de 1000mL con agua.
- 3) Disolución de ácido clorhídrico [1:1] igual 6N.
En un matraz volumétrico de 200 mL, a 70 mL de agua tipo reactivo se le agregaron cuidadosamente 100 mL de ácido clorhídrico posteriormente se llevó al aforo de 200 mL con agua.
- 4) Disolución A
Se pesaron con precisión 25 g de heptamolibdato de amonio y se disolvieron en 300 mL de agua, en un matraz Erlenmeyer de 500 mL.
- 5) Disolución B
Se pesaron aproximadamente 1.25 g de metavanadato de amonio y se disolvieron en 300 mL de agua, ésta se calentó hasta ebullición en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL, se dejó enfriar y se añadieron 330 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- 6) Disolución Reactivo vanado-molibdato:
Se adicionó la solución A a la solución B, en un matraz aforado de 1000 mL se mezcló y se llegó a la marca de aforo con agua.
- 7) Disolución de Hidróxido de sodio [1N]
Se pesaron con precisión 40 g de hidróxido de sodio, se disolvieron en 500mL de agua reactivo Tipo II en un matraz aforado de 1000 mL, se agitó para mezclar dejándose enfriar a temperatura ambiente para después llegar con agua a la marca de aforo.

3.4 Diagrama de flujo general

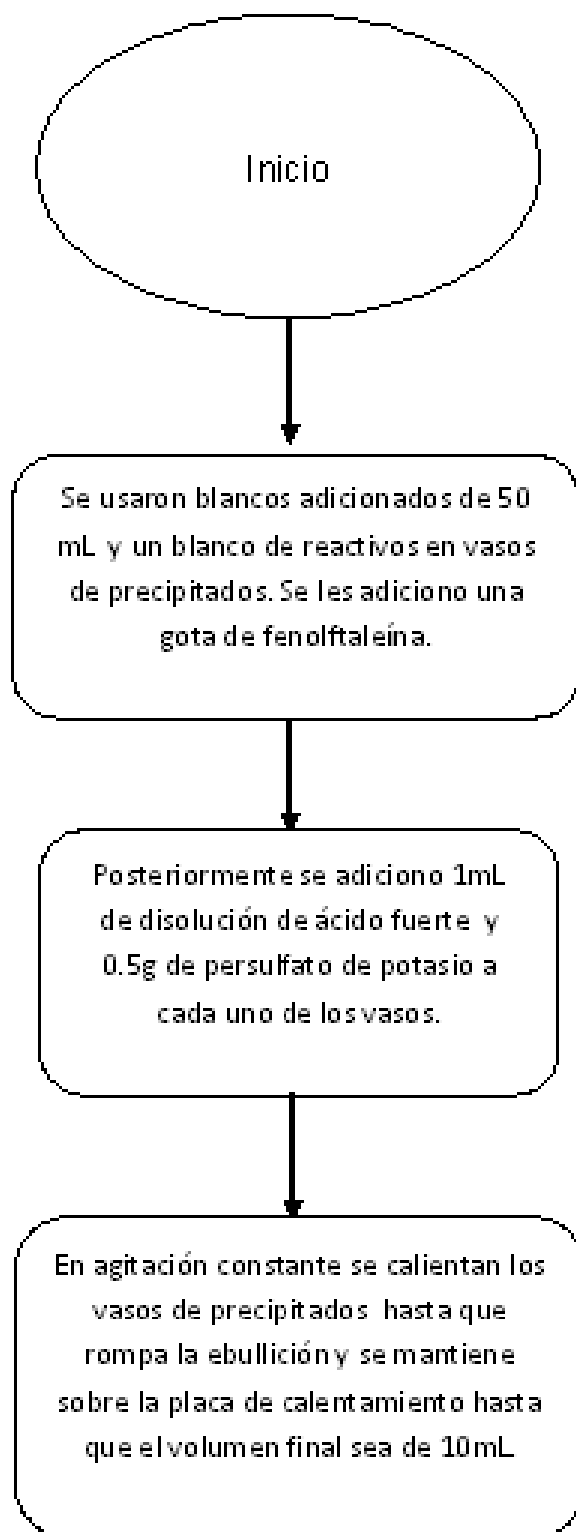
La validación parcial fue realizada de acuerdo al procedimiento para la cuantificación de fósforo total de la Norma Mexicana NMX-AA-029-SCFI-2001.



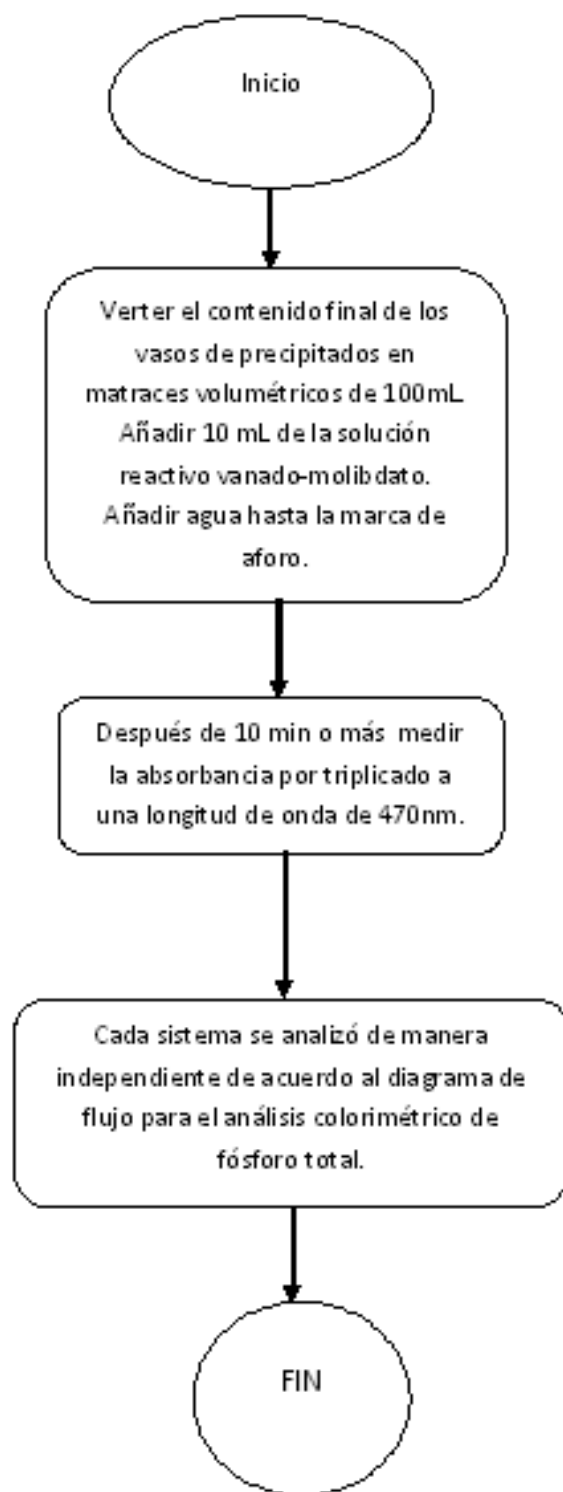
3.4.1. Diagrama de flujo para análisis instrumental



3.4.2. Diagrama de flujo de la digestión con persulfato de potasio.



3.4.3. Diagrama de flujo para el análisis colorimétrico.



3.5 BLANCOS ADICIONADOS PARA EL INSTRUMENTO

A continuación se describe la realización de los sistemas para cada uno de los parámetros a analizar.

3.5.1. Intervalo Lineal Instrumental e Intervalo de Trabajo Instrumental

Se prepararon 12 blancos adicionados de manera independiente y por triplicado, de la siguiente manera:

Tabla 4 Preparación de blancos adicionados para el Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo Instrumental

Concentración teórica de los blancos adicionados (mg P/L)	Alícuota tomada de la solución madre de fosfato (mL)
1	2
2	4
3	6
4	8
5	10
10	20
12.5	25
15	30
20	40
25	50
30	60
35	84

Cada alícuota se añadió a matraces aforados de 100mL agregando 10mL de solución reactivo vanado-molibdato

3.5.2. Límite de Detección y Límite de Cuantificación Instrumental

Se prepararon ocho blancos adicionados de manera independiente de la siguiente forma:

- En ocho matraces aforados de 100 mL se colocaron 10 mL de la solución madre de fosfato y 10 mL de solución reactivo vanado-molibdato.
- Se llevó a la marca de aforo con agua reactivo Tipo II. Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.1.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100 mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 5 mg P/L.

3.5.3 Gráfico control, repetibilidad y sesgo del instrumento.

Se prepararon ocho blancos adicionados de manera independiente de la siguiente forma:

- En ocho matraces aforados de 100 mL se colocaron 25 mL de la solución madre de fosfato y 10 mL de solución reactivo vanado-molibdato.
- Se llevó a la marca de aforo con agua reactivo Tipo II. Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.1.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100 mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 12.5mg P/L.

3.5.4 Reproducibilidad del instrumento.

Se prepararon cinco blancos adicionados de manera independiente para cada día, durante dos días de la siguiente forma:

- En cinco matraces aforados de 100 mL se colocaron 25 mL de la solución madre de fosfato y 10 mL de solución reactivo vanado-molibdato.
- Se llevó a la marca de aforo con agua reactivo Tipo II. Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100 mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 12.5 mg P/L.

3.6 BLANCOS ADICIONADOS PARA EL MÉTODO

3.6.1 Intervalo de Trabajo Metodológico

Se prepararon cinco disoluciones estándar (Curva de Calibración) de manera independiente de la siguiente forma:

- En cinco vasos de precipitado de 250 mL se colocaron 10, 20, 25,30 y 40 mL de solución estándar.
- Se preparó un blanco reactivo vertiendo 50 mL de agua reactivo Tipo II en un vaso de precipitados de 250 mL.
- Posteriormente se llevaron a digestión con Persulfato de potasio como lo indica el diagrama de flujo 3.4.2.
- Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.3.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100 mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 5, 10, 12.5, 15 y 20 mg P/L consecutivamente.

3.6.2. Límite de Detección y Límite de Cuantificación Metodológico

Se prepararon ocho blancos adicionados de manera independiente de la siguiente forma:

- En ocho vasos de precipitado de 250 mL se colocaron 50 mL de solución estándar (5 mg P/L).
- Se preparó un blanco reactivo vertiendo 50 mL de agua reactivo Tipo II en un vaso de precipitados de 250 mL.
- Posteriormente se llevaron a digestión con Persulfato de potasio como lo indica el diagrama de flujo 3.4.2.
- Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.3.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 5mg P/L.

3.6.3 Gráfico control, repetibilidad y sesgo del Método.

Se prepararon ocho blancos adicionados de manera independiente de la siguiente forma:

- En ocho vasos de precipitado de 250 mL se colocaron 50 mL de solución estándar (12.5 mg P/L).
- Se preparó un blanco reactivo vertiendo 50 mL de agua reactivo tipo II en un vaso de precipitados de 250 mL.
- Posteriormente se llevaron a digestión con Persulfato de potasio como lo indica el diagrama de flujo 3.4.2.
- Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.3.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 12.5 mg P/L.

3.6.4 Reproducibilidad del método.

Se prepararon cinco blancos adicionados de manera independiente para cada día, durante dos días de la siguiente forma:

- En cinco vasos de precipitado de 250 mL colocaron 50 mL de solución estándar (12.5 mg P/L).
- Se preparó un blanco reactivo vertiendo 50 mL de agua reactivo Tipo II en un vaso de precipitados de 250 mL.
- Posteriormente se llevó a cabo la digestión con Persulfato de potasio como lo indica el diagrama de flujo 3.4.2.
- Enseguida se realizó el análisis colorimétrico de acuerdo al diagrama de flujo 3.4.3.
- Las concentraciones teóricas finales de cada blanco adicionado en el volumen de aforo de 100 mL antes de la lectura en el espectrofotómetro son de 12.5mg P/L.

4. RESULTADOS

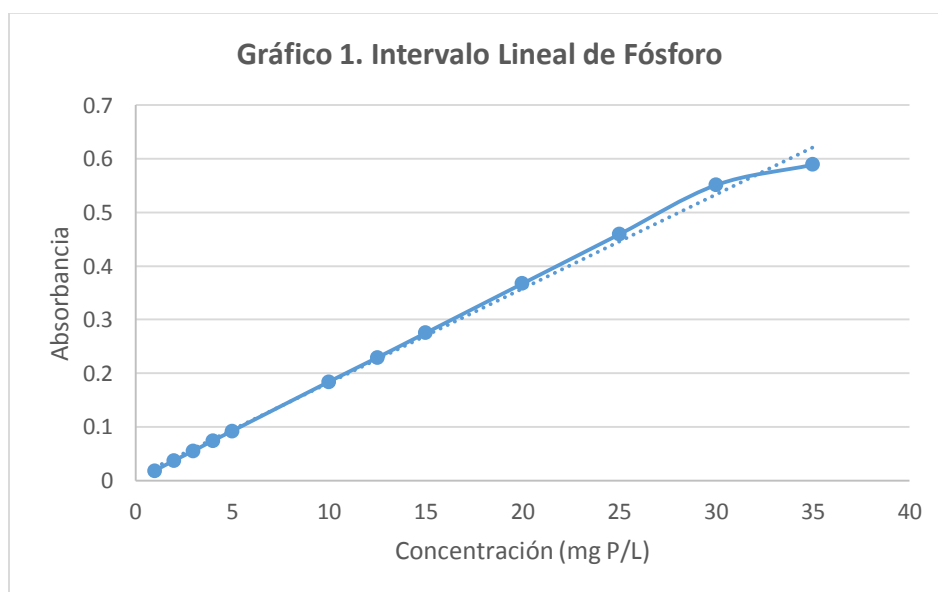
4.1. Tratamiento de blancos adicionados para el Instrumento

4.1.1. Intervalo Lineal e Intervalo de Trabajo Instrumental

Enseguida se presentan los resultados obtenidos del tratamiento de blancos adicionados y su grafico para determinar el intervalo lineal y el de trabajo instrumental.

Tabla 5 Sistemas de blancos adicionados para el Intervalo Lineal

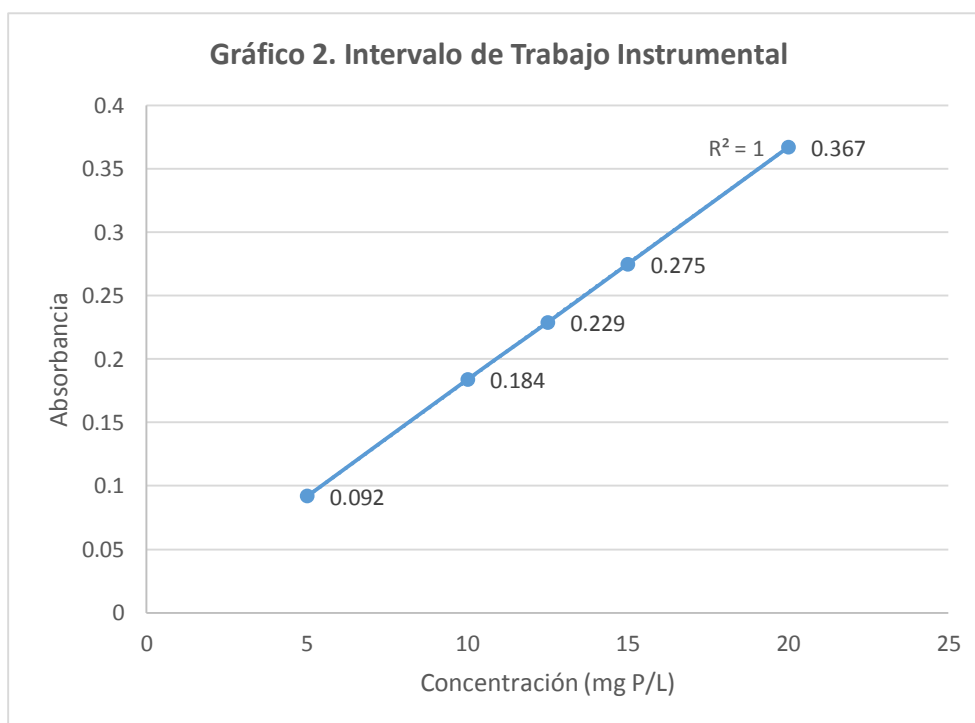
Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
1	1	0.018
2	2	0.037
3	3	0.055
4	4	0.074
5	5	0.092
6	10	0.184
7	12.5	0.229
8	15	0.275
9	20	0.367
10	25	0.459
11	30	0.551
12	35	0.589



De la obtención de estos datos, se tomaron las concentraciones que cubren el intervalo de trabajo expuestos en la *Tabla 6* y el *Gráfico 2* de acuerdo al numeral 9.3.3. "Método ácido vanadomolibdofosfórico" de la NMX-AA-029-SCFI-2001 que a continuación se presentan.

Tabla 6 Sistemas de blancos adicionados para el Intervalo de Trabajo

Concentración (mg P/L)	Absorbancia
5	0.092
10	0.184
12.5	0.229
15	0.275
20	0.367



Se realizó la regresión lineal obteniendo los siguientes datos.

Tabla 7 Parámetros para la regresión lineal del Intervalo de Trabajo

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.092	25	0.008464	0.46
	10	0.184	100	0.033856	1.84
	12.5	0.229	156.25	0.05244100	2.8625
	15	0.275	225	0.07562500	4.1250
	20	0.367	400	0.13468900	7.3400
Σ	62.5	1.147	906.25	0.305075	16.6275

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación se hizo uso de la siguiente formula:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Utilizando estas fórmulas se obtienen los siguientes resultados:

$m = 0.0183200$	$b = 0.00040000$	$r = 0.99999523$
-----------------	------------------	------------------

4.1.2. Límite de Detección Instrumental y Límite de Cuantificación Instrumental

Para expresar el menor contenido de analito que pueda medirse con una estadística certera y razonable se utilizaron los siguientes resultados.

Tabla 8 Curva de Calibración para el L.D.I. y L.C.I.

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.092
10	0.184
12.5	0.229
15	0.275
20	0.367

Para realizar el cálculo del L.D.I. se realizó la regresión lineal obteniendo los siguientes datos.

Tabla 9 Regresión lineal de la curva de calibración del L.D.I y L.C.I.

	Concentración Teórica (mg P / L) x	Absorbancia Y	x ²	y ²	xy
	5	0.092	25	0.008464	0.46
	10	0.184	100	0.033856	1.84
	12.5	0.229	156.25	0.05244100	2.8625
	15	0.275	225	0.07562500	4.1250
	20	0.367	400	0.13468900	7.3400
Σ	62.5	1.147	906.25	0.305075	16.6275

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

$$b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.0183200$	$b = 0.00040000$	$r = 0.99999523$
-----------------	------------------	------------------

Con la información anterior se calcularon los valores de x (concentraciones reales) para los blancos adicionados con el soporte de la fórmula $x = \frac{y-b}{m}$.

Tabla 10 Blancos adicionados para determinar L.D.I. y L.C.I.

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia Y	Concentración Real (mg P/L) X	x ²
1	5	0.091	4.945	24.457
2	5	0.091	4.945	24.457
3	5	0.092	5.000	25.000
4	5	0.094	5.109	26.104
5	5	0.093	5.055	25.549
6	5	0.092	5.000	25.000
7	5	0.094	5.109	26.104
8	5	0.090	4.891	23.920
Σ	-	-	40.05459	200.591

Para obtener la desviación estándar se utilizó la siguiente fórmula matemática:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

Donde N representa el número de mediciones realizadas.

Dando como resultado: $\sigma_{n-1} = 0.07957085$

Para propósitos de una validación, de acuerdo a las guías de validación del CENAM el Límite de Detección se determina multiplicando la desviación estándar por 3 con un nivel de confianza del 99%. Dando por resultado el siguiente valor numérico.

$$L.D.I. = (\sigma_{n-1})(3)$$

$$L.D.I. = 0.2387mg/L$$

El Límite de Cuantificación Instrumental es la desviación estándar multiplicada por 10 por lo tanto su valor se expresa de la siguiente manera:

$$L.C.I. = (\sigma_{n-1})(10)$$

$$L.C.I. = 0.7957085mg/L$$

4.1.3. Gráfico de Control Instrumental, Exactitud, Sesgo y Repetibilidad Instrumental

Tabla 11 Curva de Calibración para el Gráfico Control Instrumental

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.093
10	0.182
12.5	0.235
15	0.277
20	0.367

Para construir el Gráfico Control Instrumental se realizó la regresión lineal de la curva de calibración.

Tabla 12 Regresión lineal de la curva de calibración para el Gráfico Control Instrumental

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.093	25	0.0086	0.4650
	10	0.182	100	0.0331	1.8200
	12.5	0.235	156.25	0.0552	2.9375
	15	0.277	225	0.0767	4.1550
	20	0.367	400	0.1347	7.3400
Σ	62.5	1.154	906.25	0.3084	16.7175

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}$$

$$b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.01834$	$b = 0.0015500$	$r = 0.99966$
---------------	-----------------	---------------

Con la información anterior se calcularon los valores de x (concentraciones reales) para los blancos adicionados con el soporte de la formula $x = \frac{y-b}{m}$.

Tabla 13 Blancos adicionados para determinar el Grafico Control Instrumental

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x ²
1	12.5	0.224	12.129	147.12
2	12.5	0.236	12.784	163.42
3	12.5	0.235	12.729	162.03
4	12.5	0.230	12.456	155.16
5	12.5	0.237	12.838	164.82
6	12.5	0.232	12.565	157.89
7	12.5	0.223	12.075	145.80
8	12.5	0.231	12.511	156.52
Σ	-	-	100.09	1252.75

Se calculó el promedio con la siguiente fórmula matemática:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$$

Siendo N el número de mediciones realizadas (8):

$$\bar{x} = 12.5109$$

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_{n-1} = 0.28556321514$$

A partir de estos datos se calcularon los valores para Límite Superior de Control (LSC), Límite Inferior de Control (LIC), Límite Superior de Alarma (LSA) y Límite Inferior de Alarma (LIA).

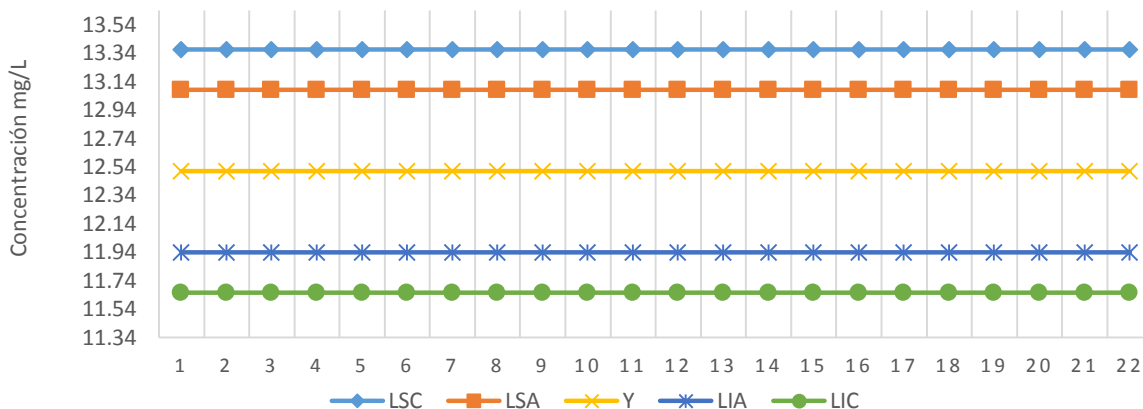
$$LSC = \bar{x} + 3\sigma_{n-1} \quad LSC = 13.36759477$$

$$LIC = \bar{x} - 3\sigma_{n-1} \quad LIC = 11.65421548$$

$$LSA = \bar{x} + 2\sigma_{n-1} \quad LSA = 13.08203156$$

$$LIA = \bar{x} - 2\sigma_{n-1} \quad LIA = 11.9397787$$

Gráfico 3. Gráfico Control Instrumental en concentración (mg /L) de Fósforo



De acuerdo a las concentraciones obtenidas experimentalmente se calculó el porcentaje de recuperación para cada muestra:

$$\% \text{ Recuperación real} = \frac{\text{Concentración Real}}{\text{Concentración Teórica}} * 100$$

Tabla 14 Porcentaje de recuperación de blancos adicionados para el Gráfico Control Instrumental

Sistema	% Recuperación Teórica	% Recuperación Real y	y ²
1	100	97.03	9416
2	100	102.27	10459
3	100	101.83	10370
4	100	99.65	9930
5	100	102.70	10548
6	100	100.52	10105
7	100	96.60	9331
8	100	100.09	10017
Σ	-	800.69793	80176.179

Se calculó el promedio del % de recuperación real:

$$\bar{x} = \frac{\sum y}{N}$$

Siendo N el número de mediciones realizadas (8):

$$\bar{x} = \mathbf{100.09\%} \text{ de recobro (Exactitud del Instrumento)}$$

Con los datos anteriores se calculó el sesgo del instrumento:

$$S.I. (\%) = \text{Recuperación Teórica} - \text{promedio del \% recuperación real}$$

$$S.I. \% = \mathbf{0.09}$$

A continuación se calculó la desviación estándar con la fórmula correspondiente:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado

$$\sigma_{n-1} = 2.28$$

El Coeficiente de Variación se calculó de la siguiente forma:

$$\%C.V. = \frac{\sigma_{n-1}}{\bar{x}} * 100$$

$$\%C.V. = 2.28\% \text{ (Precisión Instrumental en términos de Repetibilidad)}$$

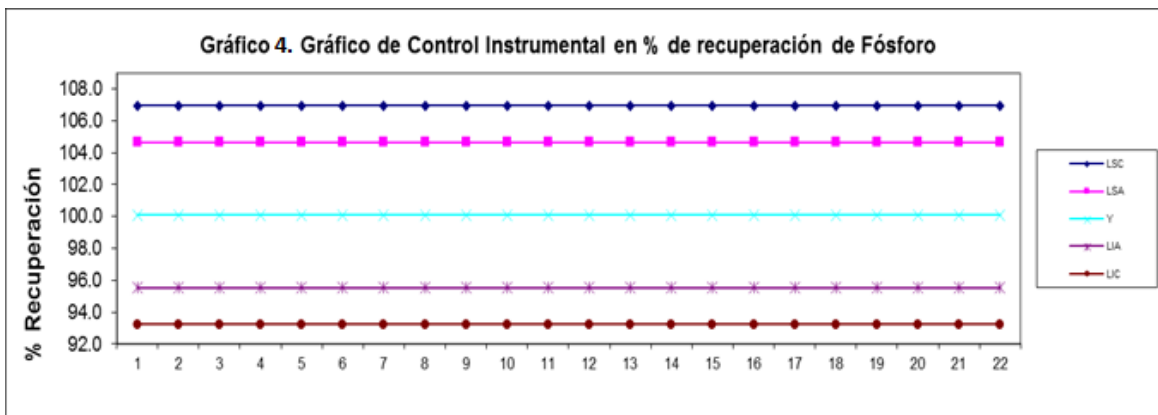
Empleando estos datos anteriores se calcularon los valores para Límite Superior de Control (LSC), Límite Inferior de Control (LIC), Límite Superior de Alarma (LSA) y Límite Inferior de Alarma (LIA).

$$LSC = \bar{x} + 3\sigma_{n-1} \quad LSC = 106.9407582$$

$$LIC = \bar{x} - 3\sigma_{n-1} \quad LIC = 93.23372384$$

$$LSA = \bar{x} + 2\sigma_{n-1} \quad LSA = 104.6562524$$

$$LIA = \bar{x} - 2\sigma_{n-1} \quad LIA = 95.51822956$$



4.1.4. Reproducibilidad Instrumental

Tabla 15 Curva de calibración para Reproducibilidad Instrumental

Concentración (mg P/L)	Absorbancia
5	0.093
10	0.182
12.5	0.235
15	0.277
20	0.367

Para determinar la Reproducibilidad Instrumental, se realizó la comparación de las desviaciones estándar mediante un contraste F. Este análisis se ejecutó de la siguiente forma:

Regresión Lineal de la Curva de Calibración

Tabla 16 Regresión lineal de la Curva de Calibración para la Reproducibilidad Instrumental

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia Y	x ²	y ²	xy
	5	0.093	25	0.008649	0.465
	10	0.182	100	0.033124	1.82
	12.5	0.235	156.25	0.05522500	2.9375
	15	0.277	225	0.07672900	4.1550
	20	0.367	400	0.13468900	7.3400
Σ	62.5	1.154	906.25	0.308416	16.7175

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.0183$	$b = 0.0016$	$r = 0.9996$
--------------	--------------	--------------

Con la información de la recta $y=mx+b$ se calcularon los valores para x de los blancos adicionados.

Tabla 17 Blancos adicionados (Día 1) para determinar la Reproducibilidad Instrumental

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia Y	Concentración Real (mg P/L) x	x^2
1	12.5	0.212	11.49700	132.181009
2	12.5	0.209	11.33300	128.436889
3	12.5	0.197	10.67800	114.019684
4	12.5	0.244	13.24600	175.456516
5	12.5	0.230	12.48100	155.775361
Σ	-	-	59.23500	705.869

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_1 = \sqrt{\frac{N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_1 = 1.014$$

Tabla 18 Blancos adicionados (Día 2) para determinar la Reproducibilidad Instrumental

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x^2
1	12.5	0.231	12.53600	157.151296
2	12.5	0.229	12.42600	154.405476
3	12.5	0.244	13.24600	175.456516
4	12.5	0.268	14.55700	211.906249
5	12.5	0.234	12.69900	161.264601
Σ	-	-	65.46400	860.184

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_2 = \sqrt{\frac{N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_2 = 0.877$$

Finalmente calculamos la F de la siguiente manera:

$$F_c = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

$$F_c = 1.3365$$

4.2 Trabajo de blancos reactivos adicionados para el Método.

4.2.1. Intervalo de Trabajo Metodológico

Tabla 19 Intervalo de Trabajo Metodológico

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.099
10	0.195
12.5	0.242
15	0.283
20	0.375

Se realizó la regresión lineal para el intervalo de trabajo de la siguiente forma:

Tabla 20 Regresión lineal del Intervalo de Trabajo Metodológico

	Concentración Teórica (mg P/L) x	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.099	25	0.0098	0.4950
	10	0.195	100	0.0380	1.9500
	12.5	0.242	156.25	0.0586	3.0250
	15	0.283	225	0.0801	4.2450
	20	0.375	400	0.1406	7.5000
Σ	62.5	1.194	906.25	0.3271	17.2150

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.01832$	$b = 0.0098$	$r = 0.99971$
---------------	--------------	---------------

4.2.2. Límite de Detección Metodológico y Límite de Cuantificación Metodológico

Tabla 21 Curva de Calibración para L.D.M. y L.C.M.

Concentración Teórica (mg/L)	Absorbancia
5	0.092
10	0.184
12.5	0.229
15	0.275
20	0.367

Para realizar el cálculo del L.D.M. se realizó la regresión lineal obteniendo los siguientes datos.

Tabla 22 Regresión lineal de la curva de calibración del L.D.M y L.C.M.

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.092	25	0.008464	0.46
	10	0.184	100	0.033856	1.84
	12.5	0.229	156.25	0.05244100	2.8625
	15	0.275	225	0.07562500	4.1250
	20	0.367	400	0.13468900	7.3400
Σ	62.5	1.147	906.25	0.305075	16.6275

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.0183200$	$b = 0.00040000$	$r = 0.99999523$
-----------------	------------------	------------------

Con la información anterior se calcularon los valores de x (concentraciones reales) para los blancos adicionados con el soporte de la fórmula $x = \frac{y-b}{m}$.

Tabla 23 Blancos adicionados para determinar L.D.M. y L.C.M.

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x ²
1	5	0.093	5.055	25.549
2	5	0.094	5.109	26.104
3	5	0.091	4.945	24.457
4	5	0.092	5.000	25.000
5	5	0.091	4.945	24.457
6	5	0.093	5.055	25.549
7	5	0.090	4.891	23.920
8	5	0.091	4.945	24.457
Σ	-	-	39.94541	199.493

Para obtener la desviación estándar se utilizó la siguiente fórmula matemática:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

Donde N representa el número de mediciones realizadas.

Dando como resultado: $\sigma_{n-1} = 0.07402853$

Para propósitos de una validación, de acuerdo a las guías de validación del CENAM el Límite de Detección se determina multiplicando la desviación estándar por 3 con un nivel de confianza del 99%. Dando por resultado el siguiente valor numérico.

$$L.D.M. = (\sigma_{n-1})(3)$$

$$L.D.M. = 0.2221mg/L$$

El Límite de Cuantificación Metodológico es 10 veces la desviación estándar por lo tanto su valor se expresa de la siguiente manera:

$$L.C.M. = (\sigma_{n-1})(10)$$

$$L.C.M. = 0.7402853mg/L$$

4.2.3. Gráfico de Control Metodológico, Exactitud, Sesgo y Repetibilidad Metodológica

Tabla 24 Curva de Calibración para el Gráfico Control Metodológico

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.093
10	0.182
12.5	0.235
15	0.277
20	0.367

Para construir el Gráfico Control Metodológico se realizó la regresión lineal de la curva de calibración.

Tabla 25 Regresión lineal de la curva de calibración para el Gráfico Control Metodológico

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.093	25	0.0086	0.4650
	10	0.182	100	0.0331	1.8200
	12.5	0.235	156.25	0.0552	2.9375
	15	0.277	225	0.0767	4.1550
	20	0.367	400	0.1347	7.3400
Σ	62.5	1.154	906.25	0.3084	16.7175

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

$m = 0.01834$	$b = 0.0015500$	$r = 0.99966$
---------------	-----------------	---------------

Con la información anterior se calcularon los valores de x (concentraciones reales) para los blancos adicionados con el soporte de la formula $x = \frac{y-b}{m}$.

Tabla 26 Blancos adicionados para determinar el Gráfico Control Metodológico

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x ²
1	12.5	0.229	12.402	153.81
2	12.5	0.227	12.293	151.11
3	12.5	0.206	11.148	124.27
4	12.5	0.212	11.475	131.67
5	12.5	0.210	11.366	129.18
6	12.5	0.218	11.802	139.29
7	12.5	0.222	12.020	144.48
8	12.5	0.225	12.184	148.44
Σ	-	-	94.69	1122.27

Se calculó el promedio con la siguiente fórmula matemática:

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x}{N}$$

Siendo N el número de mediciones realizadas (8):

$$\bar{x} = 11.8362$$

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_{n-1} = 0.46444048117$$

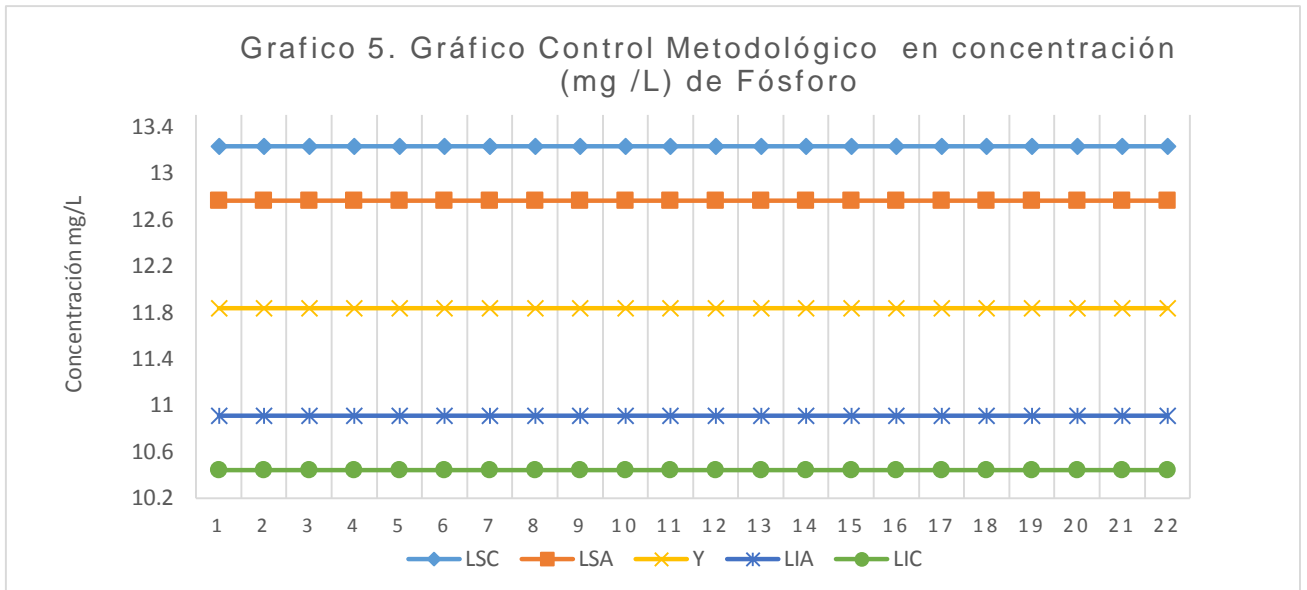
A partir de estos datos se calcularon los valores para Límite Superior de Control (LSC), Límite Inferior de Control (LIC), Límite Superior de Alarma (LSA) y Límite Inferior de Alarma (LIA).

$$LSC = \bar{x} + 3\sigma_{n-1} \quad LSC = 13.22947193$$

$$LIC = \bar{x} - 3\sigma_{n-1} \quad LIC = 10.44282905$$

$$LSA = \bar{x} + 2\sigma_{n-1} \quad LSA = 12.76503145$$

$$LIA = \bar{x} - 2\sigma_{n-1} \quad LIA = 10.90726953$$



De acuerdo a las concentraciones obtenidas experimentalmente se calculó el porcentaje de recuperación para cada muestra:

$$\% \text{ Recuperación real} = \frac{\text{Concentración Real}}{\text{Concentración Teórica}} * 100$$

Tabla 27 Porcentaje de recuperación de blancos adicionados para el Gráfico Control Metodológico

Sistema	% Recuperación Teórica	% Recuperación Real	y ²
		y	
1	100	99.21	9844
2	100	98.34	9671
3	100	89.18	7953
4	100	91.80	8427
5	100	90.93	8268
6	100	94.42	8914
7	100	96.16	9247
8	100	97.47	9500
Σ	-	757.51363	71824.999

Se calculó el promedio del % de recuperación real:

$$\bar{x} = \frac{\Sigma y}{N}$$

Siendo N el número de mediciones realizadas (8):

$$\bar{x} = \mathbf{94.69\%} \text{ de recobro} \quad (\text{Exactitud del Método})$$

Con los datos anteriores se calculó el sesgo del método:

$$S.M. (\%) = \text{Recuperación Teórica} - \text{promedio del \% recuperación real}$$

$$S.M. \% = 5.31$$

A continuación se calculó la desviación estándar con la fórmula correspondiente:

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado

$$\sigma_{n-1} = 3.71552385$$

El Coeficiente de Variación se calculó de la siguiente forma:

$$\%C.V. = \frac{\sigma_{n-1}}{\bar{x}} * 100$$

$$\%C.V. = 3.9239\% \text{ (Precisión del Método en términos de Repetibilidad)}$$

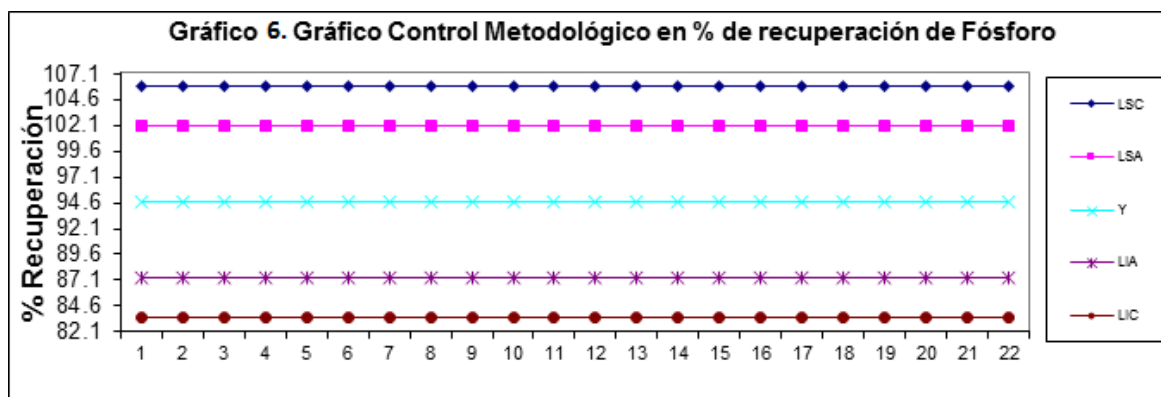
Empleando estos datos anteriores se calcularon los valores para Límite Superior de Control (LSC), Límite Inferior de Control (LIC), Límite Superior de Alarma (LSA) y Límite Inferior de Alarma (LIA).

$$LSC = \bar{x} + 3\sigma_{n-1} \quad LSC = 105.8357755$$

$$LIC = \bar{x} - 3\sigma_{n-1} \quad LIC = 83.54263238$$

$$LSA = \bar{x} + 2\sigma_{n-1} \quad LSA = 102.1202516$$

$$LIA = \bar{x} - 2\sigma_{n-1} \quad LIA = 87.25815623$$



4.2.4. Reproducibilidad Metodológica

Tabla 28 Curva de calibración para Reproducibilidad Metodológica

Concentración (mg P/L)	Absorbancia
5	0.093
10	0.182
12.5	0.235
15	0.277
20	0.367

Para determinar la Reproducibilidad Metodológica, se realizó la comparación de las desviaciones estándar mediante un contraste F. Este análisis se ejecutó de la siguiente forma:

Regresión Lineal de la Curva de Calibración

Tabla 29 Regresión lineal de la Curva de Calibración para la Reproducibilidad Metodológica.

	Concentración Teórica (mg P / L) X	Absorbancia y	x ²	y ²	xy
	5	0.093	25	0.008649	0.465
	10	0.182	100	0.033124	1.82
	12.5	0.235	156.25	0.05522500	2.9375
	15	0.277	225	0.07672900	4.1550
	20	0.367	400	0.13468900	7.3400
Σ	62.5	1.154	906.25	0.308416	16.7175

Las fórmulas matemáticas que a continuación se presentan se emplearon para calcular los valores de la recta **y=mx+b**.

$$m = \frac{t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)}{t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2} \qquad b = \frac{\Sigma y - m(\Sigma x)}{t}$$

Y para el coeficiente de correlación:

$$r = \left\{ \frac{[t(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[t(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][t(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]} \right\}^{1/2}$$

Con estos cálculos obtenemos los siguientes resultados

m= 0.0183	b= 0.0016	r= 0.9996
-----------	-----------	-----------

Con la información de la recta $y=mx+b$ se calcularon los valores para x de los blancos adicionados.

Tabla 30 Blancos adicionados (Día 1) para determinar la Reproducibilidad Metodológica.

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x^2
1	12.5	0.203	11.0054	121.118829
2	12.5	0.219	11.8790	141.110641
3	12.5	0.197	10.6780	114.019684
4	12.5	0.251	13.6280	185.722384
5	12.5	0.230	12.4810	155.775361
Σ	-	-	59.67140	717.747

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_1 = \sqrt{\frac{N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_1 = 1.184$$

Tabla 31 Blancos adicionados (Día 2) para determinar la Reproducibilidad Metodológica.

Sistema	Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia y	Concentración Real (mg P/L) x	x^2
1	12.5	0.233	12.64500	159.896025
2	12.5	0.229	12.42600	154.405476
3	12.5	0.251	13.62800	185.722384
4	12.5	0.268	14.55700	211.906249
5	12.5	0.232	12.76500	162.945225
Σ	-	-	66.02100	874.875

Posteriormente se calculó la desviación estándar:

$$\sigma_2 = \sqrt{\frac{N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{N(N-1)}}$$

Obteniendo como resultado:

$$\sigma_2 = 0.883$$

Finalmente calculamos la F de la siguiente manera:

$$F_c = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

$$F_c = 1.7981$$

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

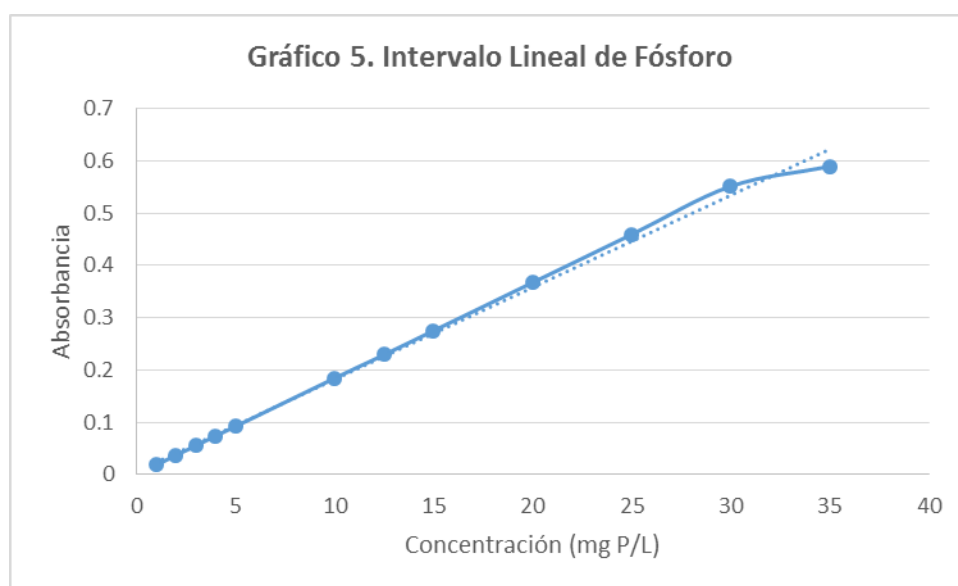
5.1. Intervalo Lineal, Intervalo de Trabajo Instrumental y Metodológico

5.1.1. Intervalo Lineal

El intervalo lineal de un método analítico (intervalo de trabajo) es el intervalo de concentraciones de analito en el que su respuesta es proporcional a la concentración. Este intervalo se encuentra dentro del intervalo dinámico el cual es medible pero no lineal. (Harris D. 2007).

Cuando se realiza un método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito sobre los cuales este método puede aplicarse. Dentro de este intervalo la absorbancia tendrá una relación lineal con la concentración del analito. Cuando esta relación ya no existe, ya no hay linealidad.

El siguiente gráfico corresponde a los datos obtenidos al realizar el intervalo lineal dinámico.



En él se puede observar inspeccionando detenidamente que la relación lineal se pierde en el extremo superior a partir de la décima concentración (25 mg P/L), este fenómeno se puede dar por varios efectos que dependen del sistema de soluciones y del instrumento en el que se realiza la medición, a partir de este punto se pierde la linealidad. Para que pueda ser evaluada la linealidad el gráfico debe poseer por lo menos la información de 10 puntos a diferentes concentraciones. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y cuantificación. En esta inspección se observa con claridad que intervalo de trabajo que está establecido en las concentraciones de 5 a 20 mg P/L tiene una relación lineal.

5.1.2. Intervalo de Trabajo Instrumental y Metodológico

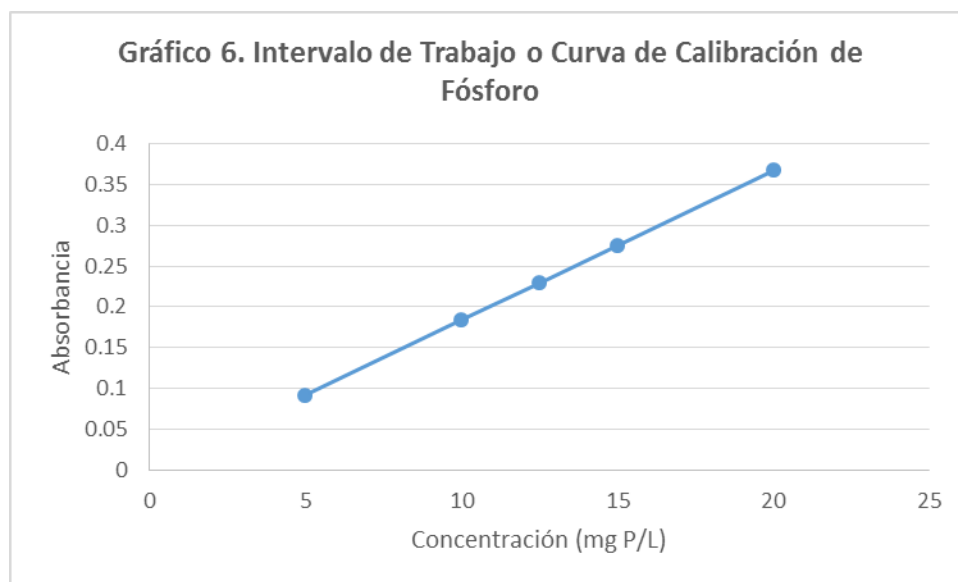
El Intervalo de trabajo expone las concentraciones superior e inferior para las que se ha demostrado que el analito es cuantitativo con un nivel satisfactorio de linealidad.

Para comprobar que se cumple lo anterior se realizó una regresión lineal únicamente a las concentraciones donde encontramos el Intervalo de Trabajo Instrumental.

Tabla 32 Intervalo de Trabajo Instrumental

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.092
10	0.184
12.5	0.229
15	0.275
20	0.367

Se graficaron los datos:



Realizando esta regresión se puede estimar como se ajustan los datos experimentales a una línea recta, el coeficiente de correlación correspondiente a este gráfico indica que la relación absorbancia-concentración es lineal.

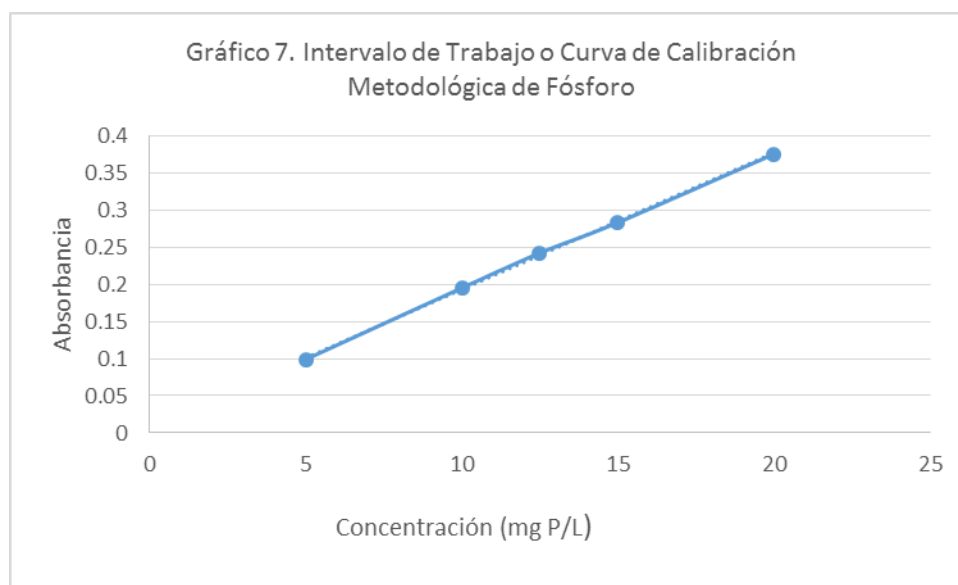
El coeficiente de correlación que se obtuvo de estos datos fue de $r = 1$.

Para comprobar que se cumple con el mismo criterio para el Intervalo de Trabajo Metodológico se realizó una regresión lineal únicamente a las concentraciones donde encontramos el Intervalo de Trabajo Metodológico.

Tabla 33 Intervalo de Trabajo Metodológico

Concentración Teórica (mg P/L)	Absorbancia
5	0.099
10	0.195
12.5	0.242
15	0.283
20	0.375

Se graficaron los datos:



Realizando esta regresión se puede estimar como se ajustan los datos experimentales a una línea recta, el coeficiente de correlación correspondiente a este gráfico indica que la relación absorbancia-concentración es lineal.

El coeficiente de correlación que se obtuvo de estos datos fue de $r = 0.99971$

5.2. Límite de Detección

Cuando realizamos una validación parcial necesitamos conocer la concentración más baja del analito que pueda ser detectable por el instrumento. De acuerdo al CENAM el límite de detección es la menor cantidad de analito que puede medirse con certeza estadística y razonable en un procedimiento analítico expresado en unidades de concentración. Esta concentración no siempre puede ser cuantificable pero si necesita ser detectada en las condiciones establecidas por la prueba.

Citando a la Guía de Laboratorio para Validación de Métodos el criterio para calcular el límite de detección se reporta con un 99% de confianza siguiendo la siguiente fórmula:

$$L.D. = (\sigma_{n-1})(3)$$

5.2.1 Límite de Detección Instrumental

El límite de detección instrumental es aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento, que será detectado y que puede ser identificado.

$$L.D.I. = 0.2387 \text{ mg/L}$$

5.2.2. Límite de Detección Metodológica

El límite de detección del método será aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento, que será detectado y que puede ser identificado siguiendo el procedimiento y las condiciones en que se realiza el método.

$$L.D.M. = 0.2221 \text{ mg/L}$$

Cuando realizamos una comparación entre el Límite de Detección Metodológica y el Límite de Detección Instrumental podemos constatar que ambos son similares, lo que nos indica que el analito de estudio puede ser detectado pero no cuantificado confiablemente por el método como por el instrumento.

5.3. Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación es el límite inferior para medidas cuantitativas precisas como opuesto a la detección cualitativa, es el contenido igual o mayor que el primer punto de concentración en la curva de calibración. Este límite es característico del desempeño que marca la habilidad de un proceso de medición química para cuantificar adecuadamente a un analito.

Este se expresa generalmente como 10 veces la desviación estándar.

5.3.1. Límite de Cuantificación Instrumental

El límite de cuantificación instrumental es aquella concentración de un analito que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del instrumento.

$$L.C.I. = 0.7957085 \text{ mg /L}$$

5.3.2. Límite de Cuantificación Metodológico

El límite de cuantificación metodológico es aquella concentración de un analito que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas por el método.

$$L.C.M. = 0.7402853 \text{ mg/L}$$

El valor obtenido en ambas pruebas es aceptable pues cumple con la premisa de ser igual o mayor que el menor punto de concentración en la curva de calibración. Por lo tanto estos resultados comparados exhiben que se puede llegar a resultados similares por método como por instrumento.

5.4. Gráfico Control

Un gráfico control es una representación visual de los intervalos de confianza de una distribución gaussiana, éste tiene la función de avisar rápidamente cuando la propiedad que se mide se desvía peligrosamente de un valor “objetivo” buscado.

Los gráficos control nos indican si un proceso sigue estando dentro de los límites esperados.

Cuando un gráfico control presenta las siguientes anomalías el proceso debe ser detenido para solucionar problemas:

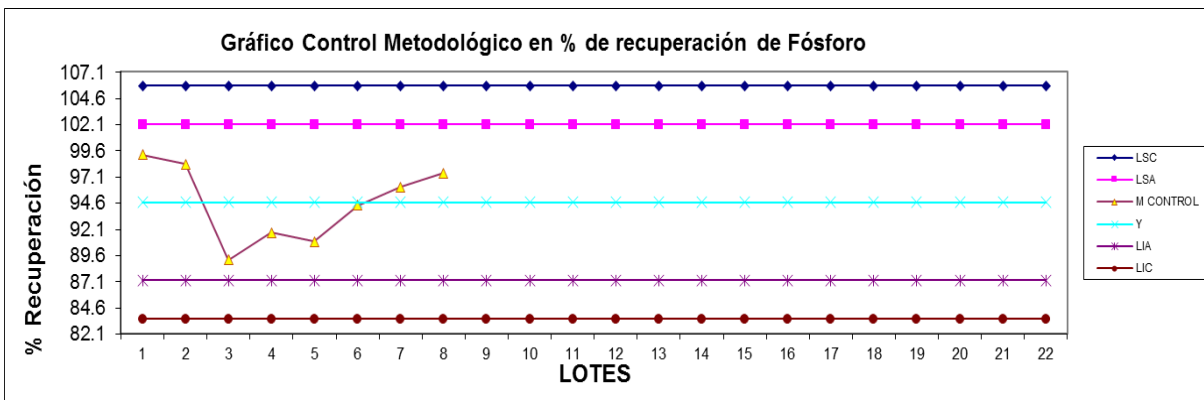
- Único punto de observación fuera de los límites de control.
- Dos de cada tres medidas consecutivas se encuentran entre las líneas de alarma y control.
- Siete medidas consecutivas, todas crecientes o todas decrecientes, independientemente de donde estén.
- Catorce puntos consecutivos varían de forma alternada hacia arriba y hacia abajo, independientemente de donde se encuentren.
- Si se observa un comportamiento claramente no aleatorio

En estos gráficos se representan secuencialmente los resultados obtenidos para las muestras que se investigan, por lo que constituyen un instrumento para demostrar el control estadístico y monitorizar el control de calidad del proceso de medida químico. La principal función de un gráfico control es su capacidad de detectar desviaciones respecto del estado de control estadístico, el interés para el analista reside en monitorizar la precisión y exactitud del proceso analítico. Esta técnica no fue diseñada para controlar la exactitud de resultados individuales.

En los gráficos de Shewhart la variable de interés que se presenta es normalmente la concentración de analito a determinar en función del número de muestra o del tiempo. Estos gráficos incorporan una línea central que define la mejor estimación del valor central de la variable elegida.

Alrededor de esta línea se localizan los límites entre los que puede oscilar de acuerdo con la probabilidad. El límite de alarma está situado a una distancia de $\pm 2\sigma$, es decir dos veces la desviación estándar respecto al valor central, la zona entre estas líneas incorporan aproximadamente el 95% de los resultados de acuerdo a un proceso aleatorio con una distribución Gaussiana. El otro límite denominado límite de control está situado a una distancia de $\pm 3\sigma$ e incorpora aproximadamente el 99.8% de los resultados. El valor central y los límites deben de ser fijados antes de iniciar el proceso de control de calidad.

Estos análisis se obtienen mediante una muestra control. Esta muestra se analiza a lo largo del tiempo y los resultados son los que se representarán en el gráfico control, debe de cumplir con homogeneidad, estabilidad y parecido a las muestras reales cuyo análisis quiera controlarse.



El valor de la muestra control es este gráfico expresa que el control de calidad es aceptable ya que los resultados obtenidos están dentro de los límites de alarma lo que indica que las muestras que se analizaron en cada uno de estos lotes también sean confiables.

5.5. Exactitud

De acuerdo a la Guía de Laboratorio del CENAM la exactitud expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. Es la proximidad entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados obtenidos evaluando los errores sistemáticos como los errores aleatorios.

5.5.1. Exactitud Instrumental

La exactitud instrumental se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las cuales se le añaden cantidades conocidas de analito.

El porcentaje de recobro es la media del % de recuperación real entre el número de mediciones realizadas para el gráfico control instrumental.

Exactitud Instrumental	100.09%
------------------------	---------

5.5.2. Exactitud Metodológica

La exactitud metodológica se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras, siguiendo el método, a las cuáles se les añaden cantidades conocidas de analito.

El porcentaje de recobro es la media del % de recuperación real entre el número de mediciones realizadas para el gráfico control metodológico.

Exactitud del Método	94.69%
----------------------	---------------

5.6. Sesgo

El sesgo es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. El sesgo es un error sistemático y no un error aleatorio, puede haber uno o más componentes del error sistemático que contribuyan al sesgo

Tabla 34 Valores del Sesgo

Sesgo	Instrumental	Metodológico
%	0.09	5.31

De acuerdo a la Entidad Mexicana de Acreditación (ema) el sesgo no debe tener un valor mayor al 15% por lo tanto ambos valores, para instrumento y método, cumplen con este criterio. Los valores reportados de sesgo son pequeños lo cual indican que ambos procedimientos son exactos, basándonos en términos de sesgo.

5.7. Precisión

El CENAM define a la precisión como la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas 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, esta medida generalmente se expresa en términos de imprecisión y se calcula como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de los resultados de la prueba.

La precisión se expresa en condiciones de repetibilidad, donde se obtienen resultados independientes de una prueba ya que son realizados bajo el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo analista, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.

La Entidad Mexicana de Acreditación (ema) expresa la repetibilidad en términos de coeficiente de variación siendo ≤ 20 el criterio de aceptación.

5.7.1. Repetibilidad Instrumental

La repetibilidad instrumental es la aptitud del instrumento para proporcionar indicaciones muy semejantes entre sí por aplicaciones repetidas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición. El coeficiente de variación se obtuvo a partir de los resultados obtenidos al realizar el gráfico control instrumental.

Tabla 35 Criterio de Aceptación para la Repetibilidad Instrumental

Criterio de Aceptación	% C. V. \leq 20
Repetibilidad Instrumental	% C. V. = 2.28

De acuerdo a lo dictado por la **ema** el valor experimental es menor a 20 por lo tanto cumple con expresar la precisión en condiciones de repetibilidad.

5.7.2. Repetibilidad Metodológica

La repetibilidad metodológica es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición. El coeficiente de variación se obtuvo a partir de los resultados obtenidos al realizar el gráfico control metodológico.

Tabla 36 Criterio de Aceptación para la Repetibilidad Metodológica

Criterio de Aceptación	% C.V. \leq 20.
Repetibilidad Metodológica	%C. V = 3.9239

De acuerdo a lo dictado por la **ema** el valor experimental es menor a 20 por lo tanto cumple con expresar la precisión en condiciones de repetibilidad.

5.8. Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones diferentes. Estas condiciones pueden ser diferentes analistas, días, equipos etc.

La reproducibilidad se expresa cuantitativamente en términos de la dispersión de los resultados.

Cuando se realiza el análisis bajo condiciones de reproducibilidad se utiliza la desviación estándar de los resultados de prueba obtenidos que expresan una medida de la dispersión de la distribución de los resultados, la varianza de reproducibilidad y el coeficiente de variación de reproducibilidad pueden utilizarse como medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo estas condiciones.

Cuando se realizan pruebas analíticas es importante detectar errores sistemáticos para esto se utiliza la comparación de la desviación estándar, es decir, los errores aleatorios de dos conjuntos de datos. Cuando queremos comparar la precisión de dos métodos diferentes se usa una prueba llamada de dos colas.

La prueba F se considera la razón de las dos varianzas muestrales, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar. La siguiente fórmula expresa de manera clara la cantidad calculada F.

$$F_c = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

La hipótesis nula H_0 afirma que las poblaciones de donde se toman las muestras deben de ser iguales las varianzas de las poblaciones. Si la hipótesis nula es verdadera entonces la razón de varianzas debería estar próxima a 1. Si el valor calculado de F excede el valor referido de F en las tablas entonces se rechaza la hipótesis nula. Para probar si es significativa la diferencia entre las dos varianzas muestrales, debemos comprobar que $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$ para esto se calcula F.

El valor de F calculado se compara con un valor crítico de F en tablas de la siguiente forma:

El número de grados de libertad es n-1 tanto para el numerador como para el denominador. En el caso de esta experimentación cada muestra tuvo 5 mediciones por lo tanto el número de grados de libertad es de 4 en cada caso. El valor crítico de F de tablas es de $F_{4,4}=15.98$ al 99% de confianza.

Para que la hipótesis nula sea aceptada, el valor de F debe de ser menor al valor crítico de F de tablas.

5.8.1. Reproducibilidad Instrumental

La Reproducibilidad Instrumental es la precisión del instrumento expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones experimentales.

Tabla 37 Criterio de aceptación para Reproducibilidad Instrumental

	<i>F calculada</i>	<i>F de Tablas</i>
Reproducibilidad Instrumental	1.3365	15.98

La tabla anterior expone que el valor de la F calculada es menor, por lo tanto la hipótesis nula es aceptada, lo que afirma que no existe diferencia entre las variables de comparación instrumentales basadas en los datos de varianza expuestos anteriormente.

5.8.2. Reproducibilidad Metodológica

La Reproducibilidad Metodológica es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones experimentales.

Tabla 38 Criterio de aceptación para Reproducibilidad Metodológica

	<i>F calculada</i>	<i>F de Tablas</i>
Reproducibilidad Metodológica	1.7981	15.98

La tabla anterior expone que el valor de la F calculada es menor, por lo tanto la hipótesis nula es aceptada, lo que afirma que no existe diferencia entre las variables de comparación metodológicas basadas en los datos de varianza expuestos anteriormente.

6. Conclusiones

La estabilidad química del fósforo fue muy importante al realizar esta validación ya que el color desarrollado por la reacción química es estable por días y su intensidad no se ve afectada por las variaciones de la temperatura ambiental. Este elemento debe de ser ampliamente estudiado por las importantes aportaciones que proporciona a los seres vivos y a los ecosistemas. Todos dependemos de él.

Su cuantificación y la forma en la que está se lleve a cabo es sumamente importante para el futuro del planeta, siendo esta validación un claro ejemplo de que siguiendo una línea de investigación podemos tener en control analítico su análisis cuantitativo.

La validación parcial o prueba inicial de desempeño se llevó a cabo exitosamente de acuerdo a lo que el Centro Nacional de Metrología (CENAM) y la Entidad Mexicana de Acreditación (ema) citan en sus guías correspondientes.

Al realizar el intervalo lineal se comprobó experimentalmente que el intervalo de trabajo cumple con el criterio de aceptación de que la relación absorbancia-concentración es lineal.

Para los parámetros Límite de Detección Instrumental y Metodológico concluimos en que cumplen con las especificaciones a un nivel de confianza determinado y una certeza estadística razonable expresada por la desviación estándar. Ambos parámetros son indicativo del nivel al cual la detección puede ser comprobada de acuerdo a Eurachem.

Podemos concluir que los Límites de Cuantificación Instrumental y Metodológico experimentales exponen la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, cumpliendo con los cálculos y la definición de la Guía de Laboratorios para Validación.

Los gráficos control siendo una herramienta importante verificar cuando nuestro método a analizar esta en control, concluimos que de aquí se obtiene información veraz que nos permite tener un criterio de aceptación para los términos de exactitud porcentual y sesgo. Afirma que la precisión en sus dos condiciones: repetibilidad en %CV y la reproducibilidad en términos de F son aceptables de acuerdo a las guías en las que nos hemos basado.

La prueba inicial de desempeño es un elemento básico en los sistemas de calidad de los laboratorios, garantiza que los resultados analíticos son confiables y seguros. Proporciona información que permiten cumplir con la NMX-EC-17025-IMNC-2006 y con Guías del CENAM-ema para obtener la aprobación de la entidad gubernamental en cuestión.

Llegamos a la conclusión de que esta prueba inicial de desempeño para fósforo total demostró por medio de parámetros estadísticos establecidos que está en dominio del analista y en control de calidad analítica en base a los criterios de aceptación antes demostrados.

7. Referencias

- 1) Aguiar R., Álvarez R. & Becerril S. (2008). *Guía Técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible*. México: CENAM-ema.
- 2) Alañon A. (1993). *Nuevos métodos fotométricos y fluorimétricos de determinación de Penicilinas*. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha. p 84
- 3) Autores varios. (1992). *Prevención de la contaminación del agua por la agricultura y actividades afines*. Santiago de Chile: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- 4) Ávila P. (2002). *Agua, cultura y sociedad en México. Zona Metropolitana*. El Colegio de Michoacán. México: Instituto Mexicano de Tecnología del agua.
- 5) Castañeda Jorge. (2016). *Contaminados con fósforo el 95 por ciento de los cuerpos de agua en México*. Revista Foro Ambiental obtenido 09, 2018 de <https://www.foroambiental.com.mx/contaminados-con-fosforo-cuerpos-de-agua-en-mexico/>
- 6) CESPT. (2009). *¿Qué son las Aguas Residuales?*. Mayo 13, 2017, de Comisión Estatal de Servicios Públicos de Tijuana (CESPT) Sitio web: www.cuidoelagua.org
- 7) Semarnat.(2014) *Estadísticas del Agua en México*. Edición 2013. México.Conagua,
- 8) Domenech X. & Peral J. (2006). *Química ambiental de sistemas terrestres*. España: Edit. Reverté.
- 9) Escamilla A.. (2015). *Metrología y sus aplicaciones*. México: Grupo Editorial Patria pp.17 y 18
- 10) Hansen B., Ghare P. (1990). *Control de Calidad: Teoría y aplicaciones*. España: Díaz de Santos
- 11) Harris D. (2007). *Análisis Químico Cuantitativo*. España: Reverté. P. 86, 729

- 12) IDEAM Fósforo Total: Método del Ácido Ascórbico. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM Ministerio de Medio Ambiente República de Colombia
- 13)(2009). Informe Human perspectives on the global water crisis. Water View
- 14) Jiménez B. (2001). *La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada*. México: Limusa.
- 15) Lenntech. (1998-2018) *Propiedades del Fósforo, efectos del Fósforo sobre la salud y efectos ambientales del fósforo recuperado* el 22 de marzo de 2017 de <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/p.htm>
- 16) Martí N. (2002). *Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process*. EUA: Edit. Dissertation.
- 17) Mazari M. (2013, Mayo). *El agua como recurso. ¿Como ves?*, 54, pp.1-4.
- 18) Miller J. N. y Miller J. C.(1993). *Estadística para Química Analítica*. E.U.A.: Addison Wesley Iberoamerican.pp. 31-32.
- 19) Morell I. (1994). *Investigación en Zona no Saturada España*: Edit. Universitat Jaume.
- 20) Morel P. (1971). *Tecnología de los fertilizantes*. Santiago de Chile: Edit. Andres Bello.
- 21) Muñoz E. & Grau R. (2013). *Ingeniería Química*. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- 22) Vázquez E. (2003) *Propiedades del agua México UNAM* recuperado el 20 de mayo de 2017 de, <http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/propiedades%20agua.html>
- 23) OCDE. (2013). *Evaluaciones de la OCDE sobre el desempeño ambiental: México 2013*. OECD Publishing.

- 24) Ramalho R.S. (2003). *Tratamiento de Aguas Residuales*. España: Ed. Reverté.
- 25) Rodgers E. (1995). *Química Inorgánica: Introducción a la química de coordinación, del estado sólido y descriptiva*. España: Edit. McGraw Hill.
- 26) Skoog D. (2009). *Fundamentos de Química Analítica*. México: Cengage Learning. pp.127, 128.
- 27) Tapia Y. y García F. (2018) Fósforo: la nueva arista de la crisis global ambiental. *OIKOS=*. (Año 9, No. 20).
- 28) Tuck A. (2004). *Ecología- Contaminación-Medio ambiente*. México: Mc Graw-Hill.
- 29) Varó Galvañ P. (2002) *Contribución al estudio sobre el comportamiento ambiental y degradación de jabones*. (tesis doctoral). Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, España.
- 30) Valcárcel M. & Ríos A. (2002). *La calidad en los laboratorios analíticos*. España: Editorial Reverté pp.92-98.
- 31) Velazquez R. (2011). *El origen del Sol*. EUA: Edit. Trafford.
- 32) Vidal-Abarca M. (1994). *Ecología de aguas continentales: prácticas de limnología*. España: Universidad de Murcia.
- 33) Villaseñor J. (1998). *Eliminación biológica de fósforo en aguas residuales urbanas*. España: Universidad de Castilla-La Mancha.
- 34) Umland J. (2000). *Química General*. México: Edit. Thomson Learning.