

**IMPLEMENTACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
LA DETERMINACIÓN DE: ALCALINIDAD, FOSFATOS Y CLORUROS EN
AGUA POTABLE EN EL LABORATORIO DEL ACUEDUCTO DE POPAYÁN.**

DIANA ANDREA CARDONA PEÑA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010**

**IMPLEMENTACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
LA DETERMINACIÓN DE: ALCALINIDAD, FOSFATOS Y CLORUROS EN
AGUA POTABLE EN EL LABORATORIO DEL ACUEDUCTO DE POPAYÁN.**

DIANA ANDREA CARDONA PEÑA

**Trabajo de grado en Modalidad de Pasantía presentado como requisito
parcial para optar al título de Químico**

**Directora: M.Sc. ISABEL BRAVO REALPE
Asesor: Ing. Qco. RODRIGO VELASCO OROZCO**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010**

Nota de Aceptación

Directora
MSc. ISABEL BRAVO REALPE

Jurado
MSc. FERNANDO HERNANDEZ

Jurado
RENE ZUÑIGA

Fecha de sustentación: Popayán, 26 de Marzo de 2010

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por mostrarme el camino, por ser mi guía y enseñarme que de cada caída hay una oportunidad para levantarse, por darme conocimiento, sabiduría y esfuerzo para culminar esta meta.

A mis padres por ser un pilar en mi vida, por aconsejarme, quienes con su amor, esfuerzo y devoción fueron los principales gestores de mi triunfo.

A mi madre, por ser la madre más buena del mundo, por su apoyo incondicional, por sus sacrificios y lucha, por darme amor y confiar en mí desde el principio de mi existencia.

A mi esposo por su cariño y comprensión, por su apoyo en todo momento, por compartir conmigo los momentos más agradables de mi existencia.

A mi hijo, por ser el ángel que Dios me dio para llenar mi vida de amor y felicidad.

A mi hermana, quien ha sido mi amiga incondicional, la quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

A mi directora: M.Sc. Isabel Bravo Realpe, a quien le agradezco la orientación y el tiempo dedicado en la preparación de este trabajo, por brindarme sus consejos y recomendaciones, por sus valiosas enseñanzas durante mi proceso de formación personal y profesional.

Al ingeniero Rodrigo Velasco, por creer en mí y brindarme la oportunidad de aplicar mis conocimientos en beneficio de la empresa.

A los Jurados por su recepción y colaboración en el mismo.

A mis profesores, por compartir sus conocimientos, por guiarme en el camino correcto durante mi formación académica.

A mis compañeros de Agroquímica: Camilo Arboleda, Viviana Navia, Andersson Hoyos por brindarme su colaboración desinteresada y no escatimar su tiempo cada vez que la necesitaba. A Victoria Galvis y Paola Sotelo por su apoyo moral en los momentos difíciles y por su sincera amistad.

A mi familia por su afecto y consejo.

Finalmente quiero agradecer a todas y cada una de las personas que de una u otra manera fueron partícipes y me brindaron su colaboración desinteresadamente en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	pag.
RESUMEN	16
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GENERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	19
3.1 QUE ES EL AGUA?	19
3.2 PROPIEDADES DEL AGUA	19
3.2.1 Propiedades físicas	20
3.2.2 Propiedades químicas	20
3.2.3 Propiedades biológicas	21
3.3 CLASIFICACIÓN DEL AGUA	21
3.3.1 Tipos de agua para consumo	21
3.3.2 Tipos de aguas potables	22
3.4 CALIDAD DEL AGUA	22
3.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO	24
3.5.1 Características físicas	24
3.5.2 Características químicas	24
3.5.3 Características microbiológicas	26
3.6 MÉTODO VOLUMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD	27
3.6.1 Principio	28
3.7 MÉTODO ARGENTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORUROS	29
3.7.1 Principio	30
3.7.2 Otros métodos de análisis de cloruros	31
3.8 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS.	32
3.8.1 Principio	32
3.8.2 Métodos de análisis	33
3.9 DEFINICIÓN DE PARÁMETROS EN EL PROCESO DE VALIDACIÓN	35

	pag.	
3.9.1	Exactitud	35
3.9.2	Precisión	35
3.9.3	Límite de detección	35
3.9.4	Límite de cuantificación	35
3.9.5	Límite de detección instrumental	35
3.9.6	Linealidad	35
3.9.7	Sensibilidad	35
3.9.8	Precisión intermedia	35
3.9.9	Repetibilidad (Repetitividad)	35
3.9.10	Reproducibilidad	36
3.9.11	Pruebas Paramétricas	37
3.9.12	Pruebas No Paramétricas	38
4	METODOLOGÍA	40
4.1	UBICACIÓN GEOGRÁFICA	40
4.2	DOCUMENTACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS	40
4.3	METODOLOGÍAS ANALÍTICAS SELECCIONADAS PARA LA ESTANDARIZACIÓN DE LOS MÉTODOS	40
4.3.1	Método para la medición de la Alcalinidad Total	41
4.3.1.1	Técnica volumétrica	42
4.3.2	Método para la medición de cloruros.	44
4.3.2.1	Técnica volumétrica	44
4.3.3	Método para determinar fosfato	46
4.3.3.1	Técnica espectrofotométrica	47
4.4	ESTANDARIZACIÓN DE LOS MÉTODOS	48
4.4.1	Diseño experimental	48
4.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	49
4.6	ELABORACIÓN Y PRESENTACIÓN DE DOCUMENTOS	50
5	ANÁLISIS DE RESULTADOS	51
5.1	IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO VOLUMÉTRICO PARA DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL	51
5.1.1	Estandarización del sistema instrumental	51
5.1.2	Estandarización de la metodología	60
5.1.2.1	Resultados de Análisis de Alcalinidad Total en muestras del Acueducto sede Tablazo	63
5.1.2.2	Resultados de Análisis de Alcalinidad Total en muestras del Acueducto sede Tulcán	66
5.1.3	Estandarización Intralaboratorio	71

	pag.
5.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO VOLUMÉTRICO (ARGENTOMÉTRICO) PARA DETERMINACIÓN DE CLORUROS	73
5.2.1 Estandarización del sistema instrumental	73
5.2.2 Estandarización de la metodología	83
5.2.2.1 Resultados de Análisis de Cloruros en muestras del Acueducto sede Tablazo	86
5.2.2.2 Resultados de Análisis de Cloruros en muestras del Acueducto sede Tulcán	88
5.2.3 Estandarización Intralaboratorio	91
5.3 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS	92
5.3.1 Estandarización del sistema instrumental	92
5.3.2 Estandarización de la metodología	101
5.3.2.1 Resultados de Análisis de Fosfatos en muestras del Acueducto sede Tablazo	103
5.3.2.2 Resultados de Análisis de Fosfatos en muestras del Acueducto sede Tulcán	105
5.3.3 Estandarización Intralaboratorio	106
5.4 RESUMEN DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE LOS TRES MÉTODOS	107
6 CONCLUSIONES	109
BIBLIOGRAFÍA	112
ANEXOS	116

LISTA DE TABLAS

	pag.
Tabla 1. Propiedades físicas del agua.	20
Tabla 2. Características físicas	24
Tabla 3. Características químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana	25
Tabla 4. Características químicas que tienen implicaciones sobre la salud humana.	25
Tabla 5. Características químicas que tienen consecuencias económicas e indirectas sobre la salud humana.	26
Tabla 6. Características microbiológicas.	26
Tabla 7. Especies químicas presentes según el pH	29
Tabla 8. Preparación de la curva de calibración de carbonatos.	43
Tabla 9. Preparación de la curva de calibración de cloruros.	46
Tabla 10. Preparación de la curva de calibración de fosfatos.	48
Tabla 11. Grupo básico de muestras.	49
Tabla 12. Curva de calibración de carbonato (rango de 5-100mg CaCO ₃ /L).	52
Tabla 13. Resultados de la evaluación de la linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total.	53
Tabla 14. Prueba de normalidad para los resultados de linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total.	53
Tabla 15. Evaluación de la linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total.	54
Tabla 16. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Rho de Spearman para Alcalinidad Total.	55
Tabla 17. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de regresión lineal de la pendiente y el intercepto.	56
Tabla 18 Estadísticos de contraste para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Carbonato de sodio	56
Tabla 19 Curvas de calibración de carbonato de sodio bajo condiciones de Repetibilidad.	57
Tabla 20 Curvas de calibración de carbonato de sodio bajo condiciones de Precisión Intermedia	57
Tabla 21 Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.	58
Tabla 22 Curvas de calibración de carbonato de sodio para la determinación de límites críticos.	58

	pag.
Tabla 23	Datos para hallar LDI, LOD y LOQ en el análisis de Alcalinidad Total. 59
Tabla 24	Resultados de la determinación experimental de LOD y LOQ 60
Tabla 25	Especificaciones para cada muestra de agua 60
Tabla 26	Datos de curvas de calibración de Carbonato de Sodio para interpolar muestras 61
Tabla 27	Exactitud y precisión del método para determinar Alcalinidad Total. 62
Tabla 28	Prueba estadística de homogeneidad de varianzas 62
Tabla 29	Prueba estadística de homogeneidad de varianzas sin Nivel 1. 63
Tabla 30	Exactitud y precisión para la metodología global. 63
Tabla 31	Datos obtenidos para Alcalinidad Total de las muestras de agua correspondiente al Acueducto sede Tablazo 64
Tabla 32	Pruebas de normalidad para muestras Acueducto Tablazo 65
Tabla 33	Datos prueba de Kruskal- Wallis para muestras Acueducto Tablazo 65
Tabla 34	Datos prueba de Tukey para muestras Acueducto Tablazo 66
Tabla 35	Datos obtenidos para Alcalinidad Total de las muestras de agua correspondiente al Acueducto sede Tulcan. 67
Tabla 36	Pruebas de normalidad de Shapiro- Wilk para muestras Acueducto Tulcan. 68
Tabla 37	Datos prueba de Kruskal- Wallis para muestras Acueducto Tulcan. 68
Tabla 38	Prueba de comparación Múltiple (Tukey) para muestras acueducto Tulcán. 69
Tabla 39	Prueba Tukey para relacionar Alcalinidad con Sitio de muestreo Muestras Tulcán. 70
Tabla 40	Datos de Comparaciones múltiples para relacionar Alcalinidad con factor día en muestras acueducto sede Tulcán 70
Tabla 41	Prueba de Tukey para relacionar Alcalinidad con factor día en muestras acueducto sede Tulcán 71
Tabla 42	Valores de Alcalinidad Obtenidos por dos Analistas diferentes en el mismo Laboratorio. 72
Tabla 43	Prueba t para muestras relacionadas 73
Tabla 44	Curva de calibración de Cloruros (rango de 5 a 140 mg Cl ⁻ /L) 74
Tabla 45	Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental para la determinación de Cloruros 76
Tabla 46	Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los resultados de linealidad instrumental para determinar Cloruros 76

	pag.
Tabla 47	Evaluación de la linealidad instrumental para determinar Cloruros 77
Tabla 48	Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson para Cloruros 78
Tabla 49	Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto. 78
Tabla 50	Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Cloruros . 79
Tabla 51	Curvas de calibración de Cloruros bajo condiciones de Repetibilidad. 80
Tabla 52	Curvas de calibración de Cloruros bajo condiciones de Precisión Intermedia. 80
Tabla 53	Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia para determinar Cloruros 80
Tabla 54	Curvas de calibración de Cloruros para la determinación de límites críticos. 81
Tabla 55	Calculo del límite de detección (LOD), el límite de cuantificación (LOQ) y límite de detección instrumental (LDI) para determinar cloruros. 82
Tabla 56	Resultados para la determinación experimental de LOD y LOQ para determinar Cloruros 82
Tabla 57	Especificaciones para cada muestra de agua. 83
Tabla 58	Curvas de calibración de Cloruros para interpolar muestras 84
Tabla 59	Exactitud y precisión del método para determinar Cloruros 84
Tabla 60	Prueba estadística de homogeneidad de varianzas para determinar Cloruros 85
Tabla 61	Exactitud y precisión para la metodología global para la determinación de Cloruros con base en la mediana 85
Tabla 62	Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a la Planta de Tratamiento Acueducto sede Tablazo. 86
Tabla 63	Prueba de normalidad para análisis de cloruros de muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo 87
Tabla 64	Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo - variable de agrupación: Día 88
Tabla 65	Estadísticos de contraste muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo- variable de agrupación: Sitio 88
Tabla 66	Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a la Planta de Tratamiento Acueducto sede Tulcán 89
Tabla 67	Prueba de normalidad para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán. 90

	pag.
Tabla 68	Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán - variable de agrupación: Día 90
Tabla 69	Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán - variable de agrupación: Sitio 90
Tabla 70	Comparación de Datos entre Analistas 1 y 2 para análisis de Cloruros 91
Tabla 71	Prueba t para datos obtenidos entre Analistas 1 y 2 en el análisis de Cloruros. 92
Tabla 72	Curva de calibración de Fosfatos (rango de 0,1 a 3 mg PO ₄ ³ /L) 93
Tabla 73	Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental en el análisis de fosfatos 94
Tabla 74	Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los resultados de linealidad instrumental para análisis de fosfatos 95
Tabla 75	Evaluación de la linealidad instrumental 95
Tabla 76	Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson 96
Tabla 77	Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto en la curva de calibración de fosfatos 96
Tabla 78	Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de fosfatos 97
Tabla 79	Curvas de calibración bajo condiciones de Repetibilidad. 98
Tabla 80	Curvas de calibración bajo condiciones de Precisión Intermedia 98
Tabla 81	Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. 98
Tabla 82	Datos de las curvas de calibración de Fosfato para la determinación de límites críticos. 99
Tabla 83	Calculo del límite de detección instrumental (LDI), límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ). 100
Tabla 84	Resultados para la determinación experimental de LOD y LOQ 100
Tabla 85	Especificaciones para cada muestra de agua. 101
Tabla 86	Curvas de calibración de Fosfato para interpolar muestras 102
Tabla 87	Exactitud y precisión del método para la determinación de Fosfato 102
Tabla 88	Prueba estadística de homogeneidad de varianzas determinar Exactitud y precisión en la determinación de Fosfato 103
Tabla 89	Exactitud y precisión para la metodología global 103

		pag.
Tabla 90	Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a la Planta de Tratamiento Acueducto sede Tablazo	104
Tabla 91	Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a la Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tulcan	105
Tabla 92	Comparación de Datos entre Analistas 1 y 2 para análisis de Fosfatos	106
Tabla 93	Prueba t para comparar resultados obtenidos por analista 1 y 2 en la determinación de fosfato.	107
Tabla 94	Resumen de la validación para cada uno de los tres métodos implementados y validados	108

LISTA DE FIGURAS

		pag.
Figura 1	Estructura molecular del agua.	20
Figura 2	Montaje típico de titulación.	27
Figura 3	Indicadores de adsorción más comunes para la titulación de AgCl.	31
Figura 4	Mapa de los sitios de muestreo en la ciudad de Popayán.	41
Figura 5	Curva de calibración de carbonato de calcio (Rango de 5-100mg de CaCO ₃ /L).	52
Figura 6	Curva de calibración de carbonato de sodio	54
Figura 7	Curva de calibración de carbonato de sodio para hallar LOD y LOQ.	59
Figura 8	Curvas de calibración de carbonato de sodio para interpolar muestras.	61
Figura 9	Curva de calibración de Cloruros	74
Figura 10	Curva de calibración de Cloruros sin dos últimos niveles de concentración	75
Figura 11	Curvas para la evaluación de linealidad Instrumental	77
Figura 12	Curvas de Calibración de Cloruros para hallar LOD y LOQ	81
Figura 13	Curvas de Calibración de Cloruros para interpolar muestras.	84
Figura 14	Curva de calibración de Fosfatos (Rango 0,1- 3 mg PO ₄ ⁻³ / L)	93
Figura 15	Curvas para la evaluación de linealidad Instrumental	94
Figura 16	Curvas de Calibración de Fosfato para hallar LOD y LOQ.	99
Figura 17	Curvas de Calibración de Fosfato para interpolar muestras	102

LISTA DE ACRÓNIMOS

% C.V.	Porcentaje de coeficiente de variación.
% R.	Porcentaje de Recuperación.
A	Absorbancia.
ANOVA	Análisis de varianza.
EPA	Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental).
ISO	International Organization for Standardization.
IEC	International Electrotechnical Commission.
INS	Instituto Nacional de Salud.
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
LDI	Límite de detección instrumental.
LOD	Límite de detección.
LOQ	Límite de cuantificación.
N	Normalidad.
nm	Nanómetro.
NTC	Norma Técnica Colombiana.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
ppm	Partes por millón.
r	Coeficiente de correlación.
s	Desviación estándar.
SPSS	Statistical Package for Social Sciences.

RESUMEN

Del agua existente en el planeta, sólo el 3% es agua dulce, y sólo el 1% de este porcentaje se encuentra como agua superficial. Las aglomeraciones en las grandes ciudades, la mejora en la calidad de vida, el rápido desarrollo industrial, el incremento del turismo y la agricultura, etc. hacen que este escaso porcentaje se vaya reduciendo de forma "natural" y que su composición se vea notablemente alterada. De todo esto se deriva, la gran importancia de un aprovechamiento integral de las aguas dulces disponibles y la preservación de su calidad, en condiciones óptimas, para su utilización.

Surge por tanto, la necesidad de ofrecer un control de calidad para garantizar la potabilidad del agua consumida por todos los habitantes del municipio de Popayán.

Con el objeto de garantizar la calidad del agua potable suministrada a la ciudadanía, la empresa Acueducto y Alcantarillado de Popayán S.A. E.S.P busca mediante un proceso de acreditación, reconocer la competencia técnica de su laboratorio para realizar análisis de aguas y garantizar la confiabilidad de sus resultados bajo la normatividad NTC-ISO-IEC 17025.

Mediante este proyecto y el correspondiente convenio entre la Universidad del Cauca y la empresa Acueducto y Alcantarillado de Popayán S.A. E.S.P se pretende implementar los métodos para la determinación de Alcalinidad por Volumetría, Fosfatos por Colorimetría y Cloruros por Argentometría, en las instalaciones del Laboratorio del Acueducto y Alcantarillado de Popayán, con los equipos, materiales y reactivos disponibles, y de esta forma contribuir en el proceso de acreditación del Laboratorio.

En el proceso se determinan los parámetros que servirán para establecer la confiabilidad del método, como son: intervalo lineal, sensibilidad, límite instrumental, límite de detección del método, límite de cuantificación, exactitud, precisión, límite de confianza, porcentaje de recuperación, de acuerdo al protocolo de estandarización de metodologías analíticas del Instituto Nacional de Salud, empleando patrones de referencia, muestras tomadas antes y después de las plantas de Tratamiento El Tablazo y Tulcán y de puntos de muestreo en la ciudad.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los desafíos en materia de exigencias analíticas obligan a trabajar con la excelencia y calidad que los mercados nacionales e internacionales exigen. La interconexión de los laboratorios de calidad, con el objeto de efectuar un seguimiento continuo de la inocuidad del agua, desempeña un importante papel en la prevención de posibles riesgos para la salud de la población.

Por ello el laboratorio de análisis de aguas del Acueducto y Alcantarillado de Popayán busca garantizar la calidad de sus servicios mediante el proceso de acreditación regido por la norma NTC-ISO-IEC 17025. Dicha norma contiene los requerimientos que los laboratorios de ensayo y calibración deben cumplir si desean demostrar que funcionan con un sistema de calidad, que son técnicamente competentes y que los resultados que generan son válidos. Esta Norma constituye la guía para la evaluación de la conformidad de los requisitos de calidad y competencia aplicable a todos los laboratorios, independientemente de la naturaleza del ensayo y/o la calibración que se realice, proporcionando herramientas para que el laboratorio pueda generar confianza a sus clientes mejorando su competitividad y productividad.

La norma ISO17025 exige la validación de los métodos analíticos que se utilicen en el laboratorio, tanto los desarrollados al interior del laboratorio como aquellos procedentes de fuentes bibliográficas o desarrolladas por otros laboratorios.

La empresa no cuenta con un sistema de calidad apropiado para la estandarización de las metodologías en su laboratorio de análisis de aguas, ni tampoco métodos implementados para tales análisis, ni un método estadístico que permita evaluar dichas metodologías. Para ello, la empresa Acueducto y Alcantarillado de Popayán S.A. E.S.P. en convenio con la Universidad del Cauca, se lleva a cabo pasantía de un estudiante del área de Química en trabajo de grado, para la implementación y estandarización de dichas metodologías.

En este trabajo de grado se busca implementar las metodologías necesarias para los análisis de algunos parámetros como: Volumetría para Alcalinidad y Cloruros (Argentometría) y Espectrofotometría para Fosfatos, que una vez implementados, generen resultados confiables para iniciar el proceso de estandarización.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Efectuar la estandarización de técnicas analíticas para la determinación de Alcalinidad, Fosfatos y Cloruros en aguas potables provenientes de las Plantas de tratamiento de El tablazo y Tulcán del municipio de Popayán.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Implementar las metodologías volumétricas necesarias para la determinación de Alcalinidad y Cloruros.
- Implementar la metodología espectrofotométrica para la determinación de Fosfatos.
- Determinar los parámetros: Exactitud, Precisión, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad, intervalo lineal para cada una de las metodologías.
- Estandarizar las metodologías Intralaboratorio.
- Aplicar un tratamiento estadístico a todos los resultados con el propósito de evaluar la confiabilidad de los resultados.
- Elaborar un registro de los resultados obtenidos en cada método, así como el protocolo a seguir en cada uno de ellos.

3. FUNDAMENTO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE

El agua es indispensable para vivir; sin agua no hay vida. En un inicio, el hombre se limitaba a utilizar el agua para subsistir; es decir, la aprovechaba como bebida y para preparar los alimentos. La difusión de hábitos higiénicos y el desarrollo de la Industria hicieron que aumentara el consumo de agua por el hombre.

El agua pura prácticamente no existe, porque, además de presentar impurezas incluso después de una destilación en laboratorio, también posee la propiedad de disolver numerosas sustancias, por lo que se la conoce como *solvente universal*. Cuando el agua entra en contacto con el aire, el suelo o incluso el propio hombre, adquiere impurezas y modifica su composición, lo que puede producir enfermedades y perjuicios para el ser humano.

Según la OMS “aproximadamente un cuarto de las camas existentes en todos los hospitales del mundo están ocupadas por enfermos cuyos males se deben a la mala calidad del agua”.

Por esta razón, el hombre debe disponer de agua en cantidad suficiente y de calidad adecuada para que pueda atender todas sus necesidades ^[1].

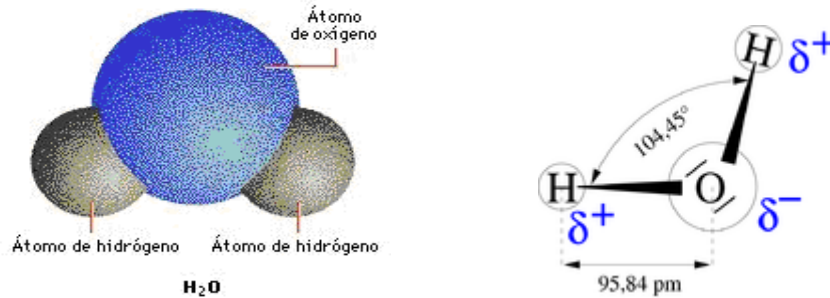
3.1 QUE ES EL AGUA?

El término agua es la denominación común que se aplica al estado líquido de la molécula compuesta de dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno formando un ángulo de 105 grados: H₂O (ver Fig 1). Hasta la última mitad del siglo XVIII se consideraba al agua como un elemento básico. Fue el químico francés Lavoisier quien, basándose en los experimentos del británico Henry Cavendish efectuados en 1781, llegó a la conclusión de que el agua no era un elemento sino un compuesto de oxígeno y de hidrógeno ^[2].

3.2 PROPIEDADES DEL AGUA

El agua es un líquido incoloro, insípido e inodoro; es decir, no tiene color, sabor ni olor cuando se encuentra en su mayor grado de pureza. Es un elemento vital ya que sin ella no sería posible la vida de los seres vivos (animales o plantas) ^[3].

Figura 1. Estructura molecular del agua.



3.2.1 Propiedades Físicas

Tabla 1. Propiedades Físicas del agua ^[4]

Propiedad	Valor
Estado físico	Sólida, Líquida y Gaseosa
Peso molecular	18,016 g/mol
Color	Incolora
Sabor	Insípida
Olor	Inodora
Densidad	1g/mL a 4°C 0,9970g/mL a 25°C
Punto de Fusión	0°C a 1atm
Punto de Ebullición	100°C a 1atm
Presión Crítica	217,5 atm
Temperatura Crítica	374°C
Índice de Refracción	1,333
Viscosidad	0,01g/cm a 20°Cy 1atm
Calor específico	4.186,8 J/°C*Kg

3.2.2 Propiedades Químicas

El agua por su estructura química posee:

- Acción disolvente debida a su capacidad para formar puentes de hidrógeno con otras sustancias que presenten grupos polares, o con carga iónica ^[5].
- Elevada fuerza de cohesión y adhesión. Por su misma propiedad de cohesión, el agua tiene una gran atracción entre las moléculas de su

superficie, creando una elevada tensión superficial, y es responsable, junto con la adhesión, del llamado fenómeno de la capilaridad.

- Reacciona con metales activos o cualquier elemento de los grupos 1-A y II-A, a excepción del magnesio, dando como productos el hidróxido o base correspondiente acompañado de desprendimiento de hidrógeno en forma de gas.
- Reacciona con un óxido metálico o básico para producir el hidróxido o base correspondiente, así como también reacciona con un óxido no metálico produciendo el respectivo oxiácido [5].

3.2.3 Propiedades Biológicas

- El agua es esencial para todos los tipos de vida, por lo menos tal y como la entendemos. Entre las principales funciones biológicas del agua están [5]:
- Ser un excelente disolvente, de sustancias tóxicas y compuestos bipolares. Incluso moléculas biológicas no solubles (p.e. lípidos) forman con el agua, dispersiones coloidales.
- Participar como agente químico reactivo, en las reacciones de hidratación, hidrólisis y oxidación - reducción.
- Permitir la difusión, es decir el movimiento en su interior de partículas sueltas, constituyendo el principal transporte de muchas sustancias nutritivas.
- Constituye un excelente termorregulador (calor específico), permitiendo la vida de organismos en una amplia variedad de ambientes térmicos. Ayuda a regular el calor de los animales. Tiene un importante papel como absorbente de radiación infrarroja, crucial en el efecto invernadero.
- Interviene (plantas) en el mantenimiento de la estructura celular.
- Proporciona flexibilidad a los tejidos.
- Actúa como vehículo de transporte en el interior de un ser vivo y como medio lubricante en sus articulaciones.

3.3 CLASIFICACIÓN DEL AGUA

3.3.1 Tipos De Agua Para Consumo

Según el sistema para la protección y control de la calidad del agua para consumo humano se clasifica en [6]:

Agua Cruda: Agua natural que no ha sido sometida a proceso de tratamiento para su potabilización.

Agua Potable: Es aquella que por cumplir las características Físicas, Químicas y Microbiológicas es apta para el consumo humano. Se utiliza en bebida directa, en la preparación de alimentos o en la higiene personal.

Agua Envasada: Agua potable tratada, envasada y comercializada, con destino al consumo humano, entendida como un producto de la industria alimentaria.

3.3.2 Tipos De Aguas Potables

Según la cantidad de minerales que tenga disueltos, las aguas pueden ser ^[7]:

Duras: Se caracterizan por tener altos contenidos de Calcio y Magnesio, además que no producen espuma al mezclarse con el jabón. Esta agua suelen proceder de aguas subterráneas en las que el agua ha tenido que atravesar diferentes capas de minerales. La disolución y arrastre de estos minerales es lo que le proporciona la dureza.

Blandas: Presentan bajos contenidos de minerales. Al contrario de las aguas duras, éstas generan grandes cantidades de espuma cuando se les mezcla con el jabón. Las aguas de pozo o aquellas que proceden de aguas superficiales suelen ser aguas blandas. El agua más blanda es el agua destilada, que no posee ningún tipo de mineral y por ello no es apta para el consumo humano.

Según la procedencia de las aguas:

Aguas Superficiales: Proceden de los ríos, lagos, pantanos o del mar. Estas aguas para que resulten potables deben someterse a un tratamiento que elimine los elementos no deseados, tanto las partículas en suspensión como los microorganismos patógenos.

Aguas Subterráneas: Son aquellas que proceden de un manantial que surge del interior de la tierra o la que se obtiene de los pozos. Deben tener un tratamiento previo antes de ser aptas para el consumo humano.

3.4 CALIDAD DEL AGUA

El agua de lluvia es prácticamente agua destilada, producto de la condensación del agua previamente evaporada. Pero una vez que cae sobre la tierra y empieza esa parte de su recorrido por el ciclo hidrológico, la composición del agua cambia a medida que se va cargando de diversas sustancias, al mismo tiempo que tienen lugar en su seno determinados procesos biológicos. Estas variaciones de su

calidad tienen una importancia fundamental para la salud de los ecosistemas y de las comunidades humanas ^[8].

Un concepto más amplio de carácter ambiental es la calidad ecológica. Mide la capacidad del agua para sostener un ecosistema equilibrado, independientemente del uso que luego se le vaya a dar.

Determinadas condiciones del ciclo hidrológico natural pueden causar cambios en la calidad. Por ejemplo, el agua se puede cargar de sales tras atravesar capas subterráneas con determinados tipos de minerales y rocas. Pero las amenazas más importantes para la calidad de las aguas son principalmente de origen humano y tienen lugar cuando se interviene el ciclo del agua para los diferentes usos que demanda la sociedad.

El grado de calidad del agua depende de la interacción de la intensidad de uso de las aguas con la cantidad disponible de las mismas.

La calidad del agua, es entonces, un estado de esta, caracterizado por su composición físico-química y biológica. Este estado deberá permitir su empleo sin causar daño, para lo cual deberá reunir dos características ^[9]:

1. Estar exenta de sustancias y microorganismos que sean peligrosos para los consumidores.
2. Estar exenta de sustancias que le comuniquen sensaciones sensoriales desagradables para el consumo (color, turbiedad, olor, sabor).

Hoy día y más aún de cara al futuro, y como consecuencia de la polución creciente y los mayores avances de la técnica y la ciencia hay que considerar además otros caracteres que inciden de forma perjudicial en la salud del consumidor (pesticidas, detergentes, subproductos de la desinfección y otras sustancias orgánicas e inorgánicas así como protozoos, virus, bacterias, etc).

Los objetivos de los estudios de calidad del agua están referidos a los usos previstos. Por lo tanto el concepto de contaminación está referido, desde un punto de vista práctico, a los usos posteriores del agua. Los parámetros de calidad utilizan características que se pueden medir objetivamente, como el grado de turbiedad, la concentración de nitratos o la presencia de determinadas especies de microorganismos. En la práctica, se miden una serie de parámetros organolépticos (olor y sabor), físicos (color, turbidez, temperatura y radiactividad), químicos (concentración de diversas sustancias, como potasio, aluminio, fósforo, arsénico, nitratos, etc.), biológicos (concentración de microorganismos como *Escherichia coli*) y más recientemente ecológicos (diversidad y composición de las comunidades de organismos que viven en la masa de agua) ^[8].

La consideración legal sobre la potabilidad de un agua se apoya o se basa en fijar una serie de compuestos o sustancias y asociarlas con unos contenidos aceptables. Mediante el Capítulo II y Capítulo III de la Resolución Número 2115 del 22 de Junio de 2007, los Ministros de la Protección Social y de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, decretan las características físicas, químicas y microbiológicas del agua para consumo humano. El decreto 1575 del 9 de Mayo de 2007 establece el sistema para la protección y control de calidad del agua para consumo humano.

3.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO

3.5.1 Características Físicas

El agua para consumo humano no puede sobrepasar los valores máximos aceptables para cada una de las características físicas se señalan en la Tabla 2 [10].

3.5.2 Características Químicas

El agua posee en solución sustancias orgánicas e inorgánicas como también minerales y sales, estos elementos no deben ser perjudiciales o tóxicos a la fisiología humana. El conocimiento de la calidad química del agua permite evitar la ingestión de elementos tóxicos.

Las características químicas del agua para consumo humano de los elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos diferentes a los plaguicidas y otras sustancias que al sobrepasar los valores máximos aceptables tienen reconocido efecto adverso en la salud humana, deben enmarcarse dentro de los valores máximos aceptables que se señalan a continuación:

Tabla 2. Características Físicas

Parámetro	Expresado como	Valor máximo aceptable
Color aparente	Unidades de Platino Cobalto (UPC)	15
Olor y Sabor	Aceptable ó no Aceptable	Aceptable
Turbiedad	Unidades Nefelométricas de Turbiedad (UNT)	2
Conductividad	$\mu\text{S}/\text{cm}$	1000
pH		6,5 – 9,0

Tabla 3. Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana

Elemento o compuesto químico	Expresado como	Valor máximo aceptable (ppm)
Antimonio	Sb	0,02
Arsénico	As	0,01
Bario	Ba	0,7
Cadmio	Cd	0,003
Cianuro libre y dissociable	CN ⁻	0,05
Cobre	Cu	1,0
Cromo total	Cr	0,05
Mercurio	Hg	0,001
Níquel	Ni	0,02
Plomo	Pb	0,01
Selenio	Se	0,01
Trihalometanos totales	THMs	0,20
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)	HAP	0,01

Las características químicas del agua para consumo humano en relación con los elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos que tienen implicaciones sobre la salud humana se señalan en la Tabla 4.

Las características químicas del agua para consumo humano en relación con los elementos y compuestos químicos que tienen consecuencias económicas e indirectas sobre la salud se señalan en la Tabla 5.

Tabla 4. Características Químicas que tienen implicaciones sobre la salud humana

Elemento o compuesto químico	Expresado como	Valor máximo aceptable (ppm)
Carbono Orgánico Total	COT	5,0
Nitritos	NO ₂ ⁻	0,1
Nitratos	NO ₃ ⁻	10
Fluoruros	F ⁻	1,0

Tabla 5. Características Químicas que tienen consecuencias indirectas sobre la salud humana

Elemento o compuesto químico	Expresado como	Valor máximo aceptable (ppm)
Calcio	Ca	60
Alcalinidad Total	CaCO ₃	200
Acidez	CaCO ₃	50
Cloruros	Cl ⁻	250
Aluminio	Al	0,2
Dureza Total	CaCO ₃	300
Hierro Total	Fe	0,3
Magnesio	Mg	36
Manganeso	Mn	0,1
Molibdeno	Mo	0,07
Sulfatos	SO ₄ ²⁻	250
Zinc	Zn	3
Fosfatos	PO ₄ ³⁻	0,5

3.5.3 Características Microbiológicas

Desde el punto de vista sanitario el análisis microbiológico del agua tiene por finalidad obtener una conformación exacta de las condiciones de potabilidad, comprobando si esta libre o no de microorganismos patógenos que indiquen una contaminación y que pueda comportarse la misma como vehículo de enfermedades. Estas características deben enmarcarse dentro de los siguientes valores máximos aceptables establecidos:

Tabla 6. Características Microbiológicas

Técnica utilizada	Coliformes totales	Escherichia coli
Filtración por membrana	0 UFC/100cm ³	0 UFC/100cm ³
Enzima Sustrato	< de 1 microorganismo en 100cm ³	< de 1 microorganismo en 100cm ³
Sustrato Definido	0 microorganismo en 100cm ³	0 microorganismo en 100cm ³
Presencia -Ausencia	Ausencia en 100 cm ³	Ausencia en 100 cm ³

UFC = Unidad Formadora de Colonia

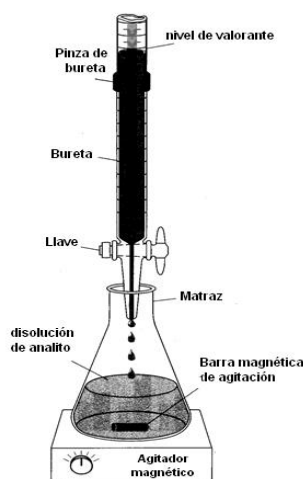
3.6. MÉTODO VOLUMETRICO PARA LA DETERMINACION DE ALCALINIDAD

El método para determinar la alcalinidad es una titulación o valoración ácido-base. En el análisis volumétrico o titulométrico se mide el volumen de reactivo que se requiere para que reaccione con el analito (la sustancia que se analiza). En una titulación, se añaden incrementos de la solución del reactivo -el titulante o valorante al analito hasta que su reacción sea completa. El procedimiento usual consiste en añadir el titulante con una bureta como se muestra en la Fig 2 ^[11].

Los métodos más usuales para determinar cuándo una reacción es completa consisten en observar el cambio de color de un indicador (valoración ácido-base).

Se define la alcalinidad total como la capacidad del agua para neutralizar ácidos y representa la suma de las bases que pueden ser tituladas. Dado que la alcalinidad de aguas superficiales está determinada generalmente por el contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, ésta se toma como un indicador de dichas especies iónicas. La alcalinidad de las aguas naturales suele deberse a los carbonatos y bicarbonatos de calcio, magnesio, sodio y potasio y en algunos casos también se debe en pequeño grado a los boratos, silicatos y fosfatos. El bicarbonato es el componente que más contribuye a la alcalinidad.

Figura 2. Montaje típico de titulación^[12]



La alcalinidad no sólo representa el principal sistema amortiguador (tampón, buffer) del agua dulce, sino que también desempeña un rol principal en la productividad de cuerpos de agua naturales, sirviendo como una fuente de reserva de CO₂ para la fotosíntesis ^[13, 14].

Alcalinidad en los ríos o fuentes de agua está influenciada por la presencia de rocas, su contacto con los suelos, sales, ciertas actividades agrícolas e industriales, y descargas de aguas residuales.

Medir la alcalinidad es importante para determinar la capacidad de la fuente de agua para neutralizar la contaminación acida proveniente de las aguas lluvias o aguas residuales. Es una buena manera de medir la sensibilidad de la fuente a entradas de ácidos. Su determinación se utiliza en la interpretación y en el control de los procesos de tratamientos de aguas limpias y residuales, aguas para riego y para calderas, sistemas refrigeradores y suelos, es importante en los fenómenos de coagulación y ablandamiento, así como en la prevención de la corrosión [14].

3.6.1 Principio

La alcalinidad da un índice de la resistencia del agua a bajar su pH cuando se le añade ácido. No deben confundirse los términos alcalinidad y basicidad, es decir, alcalinidad y pH. El pH es una medida de la intensidad y la alcalinidad es una indicación o medida de la capacidad de aceptar protones H^+ para alcanzar un estado determinado.

La alcalinidad total se mide por la cantidad de ácido (por ej. Ácido sulfúrico o clorhídrico) necesario para llevar la muestra a un pH de 4.2. A este pH todos los compuestos alcalinos en la muestra son "consumidos o gastados." El resultado se expresa como miligramos por litro de carbonato de calcio ($mg/L CaCO_3$) [15].

La alcalinidad puede ser medida como Alcalinidad de Fenolftaleína y Alcalinidad Total. La primera se determina neutralizando la muestra a un pH de 8.3. La Alcalinidad Total se determina neutralizando la muestra a pH 4,5 con H_2SO_4 o HCl 0,02N. Este proceso convierte los iones hidróxido en agua, los iones carbonato y bicarbonato en ácido carbónico (ecuaciones 1, 2 y 3) [16, 17].



En la Tabla 7 se relacionan las diferentes especies químicas según el pH.

Interferencias: Los jabones, las materias oleosas y los sólidos en suspensión o precipitados pueden enmascarar o dificultar la observación del viraje del color del indicador. El cloro residual presente en aguas tratadas interfiere con el viraje de

los indicadores por lo que es necesario eliminarlo con tiosulfato de sodio. Las muestras no se deben filtrar, diluir o concentrar.

Tabla 7. Especies químicas presentes según el pH

Especie	Intervalo de pH
OH ⁻ OH ⁻ + CO ₃ ²⁻	> 10
CO ₃ ²⁻ CO ₃ ²⁻ + HCO ₃ ⁻	8.3 < pH < 10
HCO ₃ ⁻	4.5 < pH < 8.3

Internacionalmente es aceptada una alcalinidad mínima de 20 mg de CaCO₃/L para mantener la vida acuática. Cuando las aguas tienen alcalinidades inferiores se vuelven muy sensibles a la contaminación, ya que no tienen capacidad para oponerse a las modificaciones que generen disminuciones del pH (acidificación)^[13].

3.7 MÉTODO ARGENTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CLORUROS

El cloruro en forma de ion Cl⁻, es uno de los aniones inorgánicos principales en el agua natural y residual. En el agua potable, el sabor salado producido por el cloruro, es variable y depende de la composición química del agua, cuando el cloruro está en forma de cloruro de sodio, el sabor salado es detectable a una concentración de 250 ppm de NaCl . Cuando el cloruro está presente como una sal de calcio ó de magnesio, el típico sabor salado de los cloruros puede estar ausente aún a concentraciones de 1000 ppm^[14].

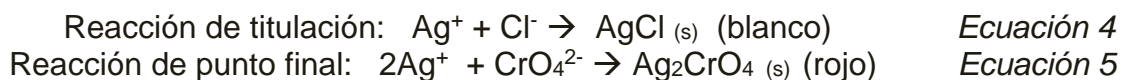
Una de las principales razones por las cuales se incluyen en los estudios de calidad de aguas , es porque dicho ion se comporta como un “trazador o indicador ideal” de afectación antrópica , además su medición es importante en estudios de evaluación ambiental ^[18].

La concentración de cloruro es mayor en aguas residuales, que en las naturales, debido a que el cloruro de sodio (NaCl) es común en la dieta y pasa inalterado a través del aparato digestivo, también puede aumentarse debido a procesos industriales

3.7.1 Principio

Las titulaciones con Ag^+ se denominan titulaciones argentométricas. Existen tres métodos con indicador^[11]:

- **Titulación de Mohr.** Se titula el Cl^- con Ag^+ en presencia de CrO_4^{2-} .



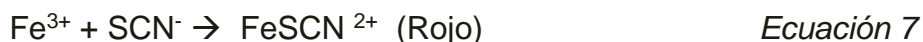
El AgCl precipita antes que el Ag_2CrO_4 . El AgCl es blanco, el CrO_4^{2-} disuelto es amarillo, y el Ag_2CrO_4 es rojo. El punto final de la formación de AgCl es indicado por la primera aparición de Ag_2CrO_4 . Es necesario ejercer control razonable de la concentración de CrO_4^{2-} y del pH, para que la precipitación de Ag_2CrO_4 ocurra en el momento deseado de la titulación.

Puesto que es necesario una cantidad de Ag_2CrO_4 en exceso para la detección visual del punto final, el color no se percibe sino hasta después del punto de equivalencia teórico. Este error de titulación se corrige de dos formas. Una es el uso de la titulación de un blanco exento de cloruro. El volumen de Ag^+ necesario para formar el color rojo perceptible se resta del Volumen de Ag^+ en la titulación del Cl^- . En la otra, el AgNO_3 , puede estandarizarse titulado una solución estándar de NaCl en condiciones similares a las de la titulación del analito.

- **Titulación de Volhard.** Para determinar el Cl^- se requiere efectuar una titulación por retroceso. Primero se precipita el Cl^- con un exceso conocido de una solución estándar de AgNO_3 (ver ecuación 4). Se separa el AgCl , y el exceso de Ag^+ se titula con una solución estándar de KSCN en presencia del ion Fe^{3+} como se muestra en la ecuación 6



Cuando se ha consumido todo el ion Ag^+ , el SCN^- reacciona con Fe^{3+} para formar un complejo rojo (ecuación 7).



La aparición del color rojo indica el punto final. Al conocer la cantidad de SCN^- que fue necesaria para la titulación por retroceso, se puede saber qué cantidad de Ag^+ quedó sin reaccionar después de la reacción con Cl^- .

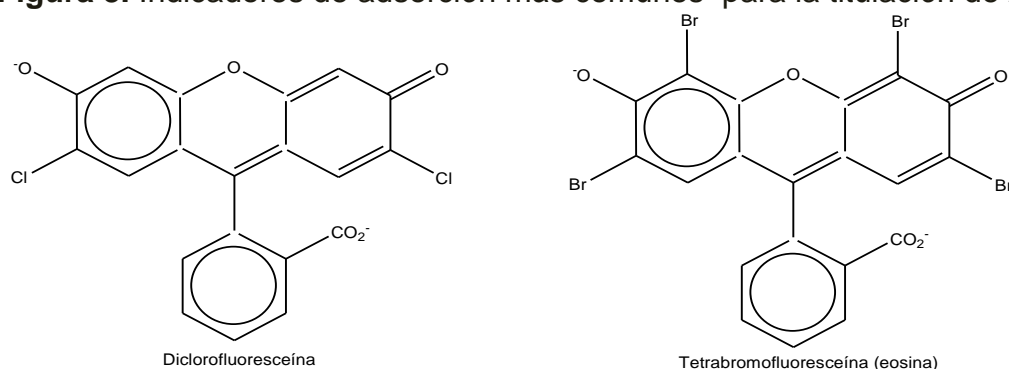
En la determinación de Cl^- por el método de Volhard, el color del punto final se desvanece lentamente debido a que el AgCl es más soluble que el AgSCN . Para

evitar que esto ocurra, comúnmente se utilizan dos técnicas. Una consiste en separar el AgCl por filtración y solo titular el Ag⁺ en el filtrado. La otra, más simple, consiste en agitar con el AgCl precipitado alguno mL de nitrobenzeno, antes de titular por retroceso. El nitrobenzeno recubre al AgCl y lo aísla eficazmente del ataque por SCN⁻.

- **Titulación de Fajans.** Se utiliza un indicador de adsorción. Cuando se añade Ag⁺ a Cl⁻, antes del punto de equivalencia existe un exceso de iones Cl⁻ en la solución. Algunos estos iones se adsorben selectivamente sobre la superficie del AgCl, confiriendo carga negativa a la superficie del cristal. Después del punto de equivalencia, se tiene un exceso de Ag⁺ en la solución. La adsorción de los cationes Ag⁺ sobre la superficie de los cristales confiere carga positiva a las partículas del precipitado. El cambio brusco de la carga negativa a la positiva ocurre en el punto de equivalencia.

Los indicadores de adsorción usuales son colorantes aniónicos, la adsorción del colorante con carga negativa en la superficie cargada positivamente modifica el color de esta sustancia debido a interacciones no muy bien comprendidas. Los indicadores más comúnmente utilizados para la titulación de AgCl es la diclorofluoresceína y la eosina que se muestran en la figura 3.

Figura 3. Indicadores de adsorción más comunes para la titulación de AgCl.



3.7.2 Otros métodos de análisis de cloruros

Existen otros procedimientos para la determinación de cloruros como son ^[14]:

- **Método del nitrato mercúrico.** El cloruro se valora con nitrato mercúrico Hg(NO₃)₂, formándose cloruro mercúrico soluble, ligeramente dissociado. En la zona de pH 2,3 – 2,8, la difenilcarbazona indica el punto final de la valoración por formación de un complejo púrpura con iones mercúricos en exceso. El xilenocianol FF sirve como indicador del pH y potenciador del punto final. Aumentado la concentración del titulante y modificando las mezclas indicadoras, se amplía la gama de concentraciones mensurables de cloruro.

- **Método potenciométrico.** El cloruro se determina por titulación potenciométrica con solución de nitrato de plata y un sistema de electrodos de vidrio y plata-cloruro de plata. Durante la valoración se utiliza un voltímetro electrónico para detectar el cambio de potencial entre los dos electrodos. El punto final de la valoración es la lectura del aparato a la que se produce el máximo cambio de voltaje para un incremento pequeño y constante del nitrato de plata añadido.

3.8. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACION DE FOSFORO

El término espectrofotometría se refiere al uso de la luz para medir las concentraciones de sustancias químicas, se aplica a la espectroscopia de absorción de la radiación electromagnética de la región de longitudes de onda comprendida entre 160 y 780 nm^[11,19].

3.8.1 Principio

La espectroscopia de absorción molecular se basa en la medida de la transmitancia T o de la Absorbancia A de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes que tienen un camino óptico de b cm.

Ley de Lambert: Un cuerpo que radia obedece a la ley de Lambert si su luminancia espectral energética es la misma para un elemento cualquiera de su superficie, y no depende de la dirección de emisión.

Ley de Beer: La absorbancia de una sustancia o especie es directamente proporcional a la concentración de la misma.

Normalmente, la concentración c de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como representa la ecuación 8:

$$A = -\log T = -\log (P_0/P) = \epsilon bc \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde P_0 es la potencia de la radiación incidente, P es la potencia radiante del haz emergente, ϵ es el coeficiente de extinción molar, que es característico de cada sustancia y se expresa en $L/mol \cdot cm$.

Esta ecuación representa la *ley de Lambert – Beer*. La Absorbancia de una especie en solución homogénea es directamente proporcional a su actividad óptica, longitud del paso óptico y su concentración.

3.8.2. Métodos de análisis

El fósforo se encuentra en aguas naturales y residuales casi exclusivamente como fosfatos, los cuales se clasifican en ortofosfatos, fosfatos condensados (piro-, meta-, y otros polifosfatos) y fosfatos orgánicos. El análisis de fósforo envuelve dos pasos generales: (a) conversión de la forma de fósforo de interés a ortofosfato disuelto, y (b) determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto ^[20].

Las formas de fósforo en una muestra pueden determinarse como total (sin filtración), disuelto (en el filtrado de una muestra pasada a través de un filtro de 0,45 μm de diámetro de poro) y en suspensión (en el residuo de filtración si existe la suficiente cantidad de fósforo para garantizar tal consideración), y comprenden en cada caso:

- Fósforo total (P): todas las formas de fósforo presentes, se determina después de digestión con ácidos.
- Fósforo reactivo disuelto: las formas de fósforo, principalmente inorgánico, que responden a la prueba colorimétrica sin hidrólisis ni digestión oxidativa preliminares.
- Fósforo hidrolizable: fósforo medido después de hidrólisis con ácido sulfúrico, menos el ortofosfato previamente determinado; incluye polifosfatos ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$, etc.) y algunos fosfatos orgánicos.
- Fósforo orgánico total: fósforo inorgánico más orgánico oxidable medidos previa digestión con ácidos, y menos el fósforo hidrolizable y ortofosfato.

Todos ellos se toman en cuenta para calcular el contenido total de fósforo o P_{Total} que es un parámetro importante a monitorear en las salidas de las plantas de tratamiento de agua ^[21].

El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de organismos, por lo que la descarga de fosfatos en cuerpos de aguas puede estimular el crecimiento de macro y microorganismos fotosintéticos en cantidades nocivas ^[22].

En aguas frescas y sistemas marinos está sujeto a procesos de transformación continua que incluyen consumo o desprendimiento del elemento en sus diferentes formas o especies. Es considerado como un parámetro crítico en la calidad de aguas debido a su influencia en el proceso de eutrofización, de ahí la importancia de disponer de las técnicas analíticas y de muestreo adecuadas para la determinación de la concentración de las diferentes especies que pueden estar disueltas en el agua, adsorbidas sobre partículas o asociadas con organismos acuáticos ^[23].

Existen tres métodos para determinar el fosfato o las concentraciones de fósforo:

- Molibdeno/ácido ascórbico
- Molibdeno/cloruro estanoso
- Vanadato/molibdato (amarillo)

Todos se basan en la medición del ortofosfato, por lo que para determinar el P_{Total} es necesario realizar la digestión del fósforo ya sea orgánico disuelto o en partículas. Deberá utilizarse una muestra no filtrada para incluir toda la materia sólida en el proceso de digestión. La digestión se lleva a cabo, normalmente, calentado la muestra con una mezcla de ácido sulfúrico - nítrico.

- **Método del Ácido Ascórbico.** Este método se aplica a la determinación de P inorgánico u ortofosfatos. Se basa en la reacción en medio ácido entre el anión fosfato y el molibdato amónico en presencia de Tartrato de Antimonio y Potasio, para generar ácido fosfomolibdico el cual es reducido mediante ácido ascórbico generando una coloración azul debida al Molibdeno y susceptible de determinación colorimétrica a 660nm ^[20,21].

- **Método cloruro estanoso .** Este método se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido Molibdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la reacción: ^[22]



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 660 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido. El método es aplicable cuando el contenido de fósforo en las muestras se encuentra entre las concentraciones de 0,01 mg P/L a 6,0 mg P/L.

Todo el fósforo contenido en la muestra debe estar como ión orto-fosfato $(\text{PO}_4)^{3-}$, ya que el método espectrofotométrico es esencialmente específico para este ión ortofosfato $(\text{PO}_4)^{3-}$. La materia orgánica de la muestra es destruida por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P), e hidrolizando los poli-fosfatos a orto-fosfatos.

- **Método del ácido vanadomolibdofosfórico** En una disolución diluida de orto-fosfatos, el molibdato de amonio reacciona en condiciones ácidas con el vanadato para formar un heteropoliácido, ácido vanadomolibdofosfórico. En la presencia de vanadio, se forma ácido vanadomolibdofosfórico de color amarillo. La longitud de onda a la cual la intensidad del color es medida depende de la detección requerida y está entre 400 - 490nm. La intensidad del color amarillo es directamente proporcional a la concentración de fosfato [22] .

3.9. DEFINICIÓN DE PARÁMETROS EN EL PROCESO DE ESTANDARIZACIÓN

La estandarización de un procedimiento analítico es un procedimiento para establecer por medio de estudios de laboratorio una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad, las figuras de mérito analíticas y errores sistemáticos, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

3.9.1 Exactitud: Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando. Se calcula como el Porcentaje de recuperación o como la diferencia entre el promedio y el valor verdadero aceptado junto con los intervalos de confianza [19,24,25].

3.9.2 Precisión: Es la medida del grado de la repetibilidad de un método analítico o de los resultados obtenidos, es decir, la concordancia entre los valores numéricos de dos o más medidas replicadas o medidas que se han realizado exactamente en las mismas condiciones experimentales. Se puede medir por el grado de reproducibilidad o de repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de operación. Los parámetros de calidad de la precisión son: *La desviación estándar, el coeficiente de variación y la varianza* [19, 24, 25].

4.9.3 Límite de Detección (LOD): Es la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada *con fiabilidad*, pero no necesariamente cuantificada por un método analítico determinado. Se calcula mediante la ecuación 10 [24, 25, 26].

$$LOD = \frac{3S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde S_b es la desviación estándar del intercepto, $m_{promedio}$ es la pendiente promedio de la curva de calibración.

3.9.4 Límite de Cuantificación (LOQ): Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.. Se ha sugerido el valor calculado mediante la ecuación 11^[24, 25, 26, 27]:

$$LOQ = \frac{10S_b}{m_{promedio}} \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde S_b es la desviación estándar del intercepto, $m_{promedio}$ es la pendiente promedio de la curva de calibración.

3.9.5. Límite de Detección instrumental (LDI): Concentración de analito que produce una señal superior a 5 veces la relación señal/ruido del instrumento. Se ha establecido en 1,645 veces el valor de la desviación estándar de los análisis de los blancos como se indica en la ecuación 12^[28].

$$LDI = 1,645x S_{blanco} \quad \text{Ecuación 12}$$

3.9.6 Linealidad: Es la habilidad de un método para generar resultados que son directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra dentro de un rango dado. Generalmente se reporta como la variación de la pendiente de la línea de regresión Otros autores plantean que para que un método se considere lineal, el coeficiente de correlación (r) debe ser mayor o igual a 0,999^[24, 25, 29].

3.9.7 Sensibilidad: Es la medida de la capacidad del instrumento de diferenciar pequeñas variaciones en la concentración del analito. Según la IUPAC, la sensibilidad se define como la pendiente de la curva de calibrado, a mayor pendiente mayor sensibilidad^[19].

3.9.8 Precisión Intermedia: Precisión obtenida dentro del laboratorio por el mismo analista, mismo equipos, en un intervalo largo de tiempo (días distintos) con la misma muestra homogénea^[30].

3.9.9 Repetibilidad (Repetitividad): Precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.

3.9.10 Reproducibilidad: Expresa la precisión entre laboratorios como resultado de estudios interlaboratorios diseñados para estandarizar la metodología ^[24,25].

3.9.11 Pruebas Paramétricas: Son aquellas pruebas estadísticas que exigen que los datos a los que se aplican pertenezcan a una muestra aleatoria de una distribución de probabilidad de tipo normal o de Gauss, simétrica alrededor de la media, que las varianzas de los grupos que se comparan en una variable dependiente sean aproximadamente iguales. Viene determinada por dos parámetros, la media y la desviación típica. Se aplican principalmente a datos de tipo cuantitativo. Las pruebas paramétricas más conocidas y usadas son la prueba *t* de Student, la prueba *F*, llamada así en honor a Fisher, y el coeficiente de correlación de Pearson, simbolizado por *r* ^[31].

Pruebas de Normalidad: Para evaluar la normalidad de un conjunto de datos tenemos el Test de *Kolmogorov-Smirnov* y el test de *Shapiro-Wilks* ^[32].

La prueba de Kolmogorov-Smirnov con la modificación de Lilliefors es la más utilizada y se considera uno de los test más potentes para muestra mayores de 30 casos. En este test la Hipótesis nula H_0 : es que el conjunto de datos siguen una distribución normal. Y la Hipótesis Alternativa H_a : es que no sigue una distribución normal.

La prueba de Shapiro-Wilks se basa en estudiar el ajuste de los datos graficados sobre un gráfico probabilístico en el que cada dato es un punto cuyo valor de abscisa el valor observado de probabilidad para un valor determinado de la variable, y el de ordenada el valor esperado de probabilidad. En este test la H_0 y la H_a son iguales que para la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

El estadístico *W* de Shapiro-Wilks mide la fuerza del ajuste con una recta. Cuanto mayor sea este estadístico mayor desacuerdo habrá con la recta de normalidad, por lo que podremos rechazar la hipótesis nula. La prueba de Shapiro-Wilks está considerada como la prueba más potente para muestra inferiores a 30 casos.

Coefficiente de correlación de Pearson: es un índice estadístico que mide la relación lineal entre dos variables cuantitativas. A diferencia de la covarianza, la correlación de Pearson es independiente de la escala de medida de las variables ^[33].

El valor del índice de correlación varía en el intervalo [-1, +1]:

Si $r = 0$, no existe relación lineal. Pero esto no necesariamente implica una independencia total entre las dos variables, es decir, que la variación de una de

ellas puede influir en el valor que pueda tomar la otra. Pudiendo haber relaciones no lineales entre las dos variables. Estas pueden calcularse con la razón de correlación.

Si $r = 1$, existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en idéntica proporción.

Si $0 < r < 1$, existe una correlación positiva.

Si $r = -1$, existe una correlación negativa perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables llamada *relación inversa*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en idéntica proporción.

Si $-1 < r < 0$, existe una correlación negativa.

ANOVA (Análisis de varianza). Es un técnica estadística que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de variación. El análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones.

Con las pruebas ANOVA se verifica si la diferencia entre las medias muestrales es demasiado grande para explicarse por medio de los errores aleatorios ^[31]

3.9.12 Pruebas No Paramétricas: Pruebas estadísticas libres de distribución para los datos. En la mayor parte de ellas los resultados estadísticos se derivan únicamente a partir de procedimientos de ordenación y recuento, por lo que su base lógica es de fácil comprensión. En estos casos se emplea como parámetro de centralización la mediana, que es aquel punto para el que el valor de X está el 50% de las veces por debajo y el 50% por encima.

Las más conocidas en estas pruebas son la ji cuadrada de Pearson, los coeficientes de contingencia de Pearson y Cramer, la prueba U de Mann & Whitney, el coeficiente de correlación de rangos de Spearman, y el coeficiente de asociación ordinal de Goodman, Prueba de Kruskal-Wallis para comparar K muestras, Prueba de Friedman para comparar K muestras pareadas (bloques), Coeficiente de correlación de Spearman para rangos, Prueba de rachas de Wald-Wolfowitz ^[31].

- **Coefficiente de Correlación de Spearman:** ρ (rho), es una medida de la correlación (la asociación o interdependencia) entre dos variables aleatorias continuas. La interpretación de coeficiente de Spearman es igual que la del coeficiente de correlación de Pearson. Oscila entre -1 y +1, indicándonos asociaciones negativas o positivas respectivamente, 0 cero, significa no correlación pero no independencia ^[34].
- **Prueba de Kruskal-Wallis (para comparar k muestras independientes).** En estadística, el análisis de varianza de Kruskal-Wallis es una prueba no paramétrica para escalas ordinales que no asume que la población siga una distribución normal. El fundamento de esta prueba de K-W es comparar las sumas de los rangos de los sujetos correspondientes a cada uno de los grupos ^[31].
- **Prueba de Tukey.** Si el análisis de varianza acusa un efecto significativo, la prueba de Tukey provee un nivel de significancia global de α cuando los tamaños de las muestras son iguales y de α a lo sumo a cuando no son iguales. Se basa en la construcción de intervalos de confianza de las diferencias por pares. Si estos intervalos incluyen al 0, entonces no se rechaza la hipótesis nula ^[31].

4. METODOLOGÍA

Los métodos a estandarizar comprenden: Volumetría para la determinación de la Alcalinidad y Cloruros (Argentometría), y Espectrofotometría para la determinación de Fosfatos, en aguas potables utilizando las metodologías establecidas por el Instituto nacional de Salud INS y el laboratorio de Agroquímica de la Universidad del Cauca [35, 36].

4.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

Las muestras que se utilizarán para la estandarización de los métodos se recolectaran en sitios diferentes: antes (Aguas Crudas) y después (Aguas potables) de las Plantas de Tratamiento Acueducto El Tablazo y Tulcán, incluyendo diferentes puntos de muestreo en la ciudad. La ubicación de los sitios se reporta en el Mapa del Municipio de Popayán en la figura 4.

Los análisis y el desarrollo del trabajo se realizarán en el laboratorio de aguas del Acueducto de Popayán, ubicado en la Planta de Tratamiento El Tablazo.

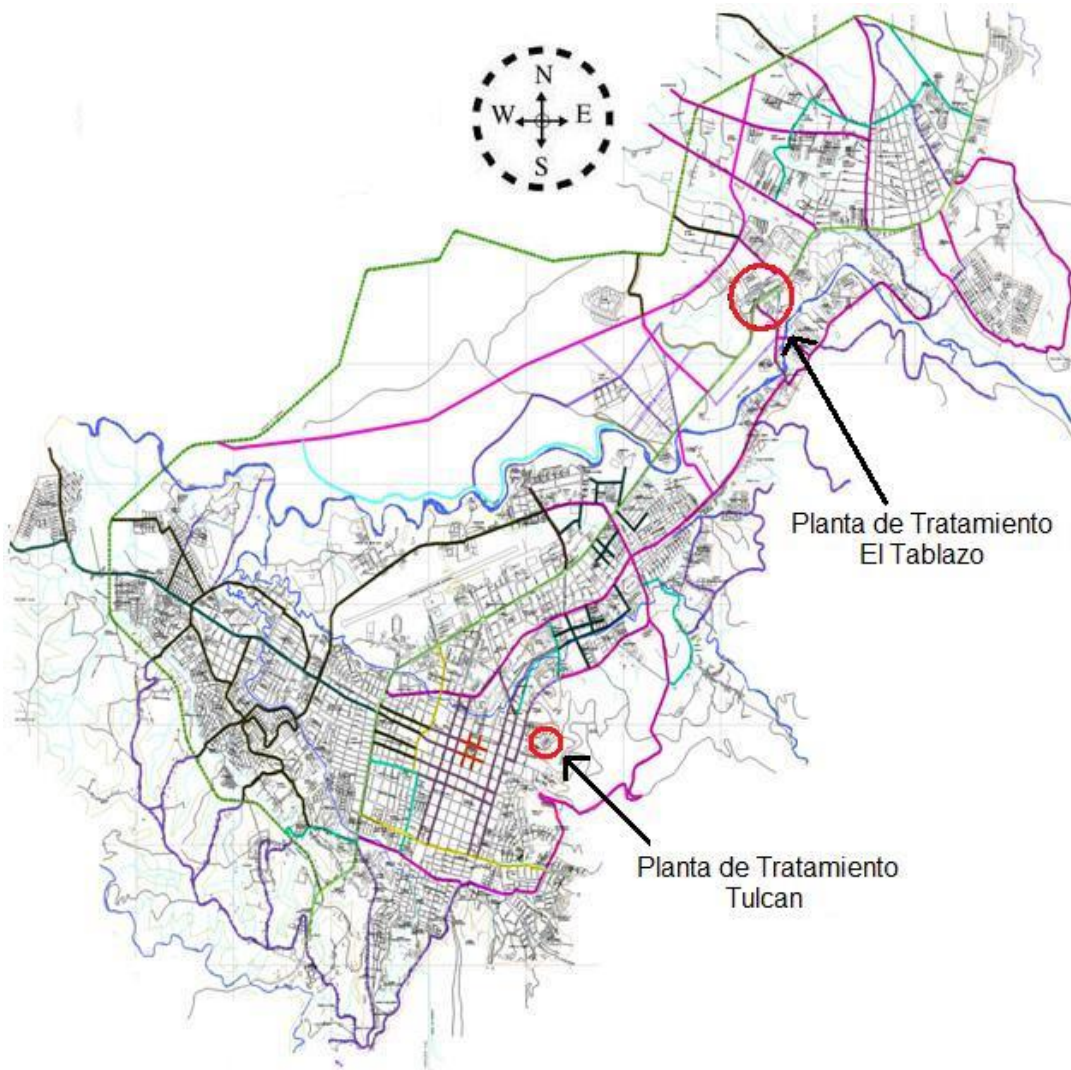
4.2 DOCUMENTACION E IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS

Para el montaje y validación de las metodologías analíticas para la determinación de Alcalinidad y Cloruros se seguirán los procedimientos descritos en el protocolo para el análisis de agua para consumo humano, del laboratorio de la Red de Salud Ambiental, del Instituto Nacional de Salud [35] y para la determinación de Fosfatos se seguirá el protocolo utilizado en el laboratorio de Agroquímica de La Universidad del Cauca [36].

4.3 METODOLOGÍAS ANALÍTICAS SELECCIONADAS PARA LA ESTANDARIZACION DE LOS METODOS

De acuerdo a los instrumentos, materiales y reactivos que existen en el Laboratorio del Acueducto de Popayán, se selecciona el Método Volumétrico para la Alcalinidad Total. En la determinación de Cloruros se selecciona el Método Volumétrico: Argentometría (Mohr) y en la determinación de Fosfatos se selecciona el Método Espectrofotométrico (660nm)

Figura 4. Mapa de los sitios de muestreo en la Ciudad de Popayán.



4.3.1. Método para la medición de la Alcalinidad. Con el propósito de determinar la Alcalinidad, las muestras se toman durante las horas de la mañana, en las plantas de Tratamiento después de la Cascada (aguas crudas, antes del tratamiento) se toman 2 muestras de 1L (una de cada planta), en los tanques Principales (Aguas tratadas, después del tratamiento) se toman 2 muestras de 1L y en diferentes puntos de muestreo de la ciudad se toman 4 muestras de 1L y se llevan al laboratorio para su inmediato análisis. Se debe eliminar el cloro residual en el caso de las muestras de agua tratada.

4.3.1.1 Técnica Volumétrica: Se toma 100mL de muestra de agua y se colocan en un erlenmeyer de 250mL, se adicionan 3 gotas de indicador mixto (rojo de metilo - verde de bromocresol). Si aparece un color rosa, la alcalinidad total es igual a cero. Si aparece un color azul, se titula con ácido sulfúrico o clorhídrico 0,02N hasta la aparición del color inicial del indicador. Este proceso convierte los iones hidróxido en agua, los iones carbonato y bicarbonato en ácido carbónico como se muestra en las ecuaciones 13,14 y 15^[16, 17].



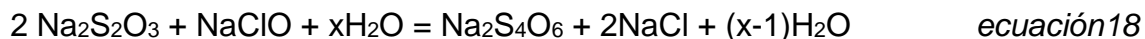
A las muestras de agua tratada se le adiciona 1 gota de solución de Tiosulfato de sodio 0,1N para eliminar el cloro residual.

Es importante mencionar que el cloro gaseoso disuelto utilizado en el proceso de desinfección reacciona con el agua para formar ácido hipocloroso, iones cloruro y protones, como se indica en la ecuación 16. El ácido hipocloroso es un ácido débil y se ioniza para formar ion hipoclorito (ecuación 17). La suma de las tres especies químicas Cl_2 , HClO y ClO^- , se refieren comúnmente como cloro libre o residual y su concentración se expresa en unidades mg/L como Cl_2 ^[37].

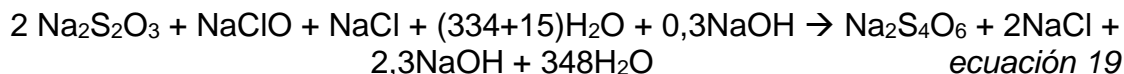


Las cantidades relativas de ácido hipocloroso e ion hipoclorito formado dependen del pH. Por ejemplo, a pH 6 una solución de cloro es aproximadamente 95 % HClO , a pH 8 baja a 20 % y cuando el valor del pH es de 7,5 las concentraciones se igualan^[38].

El hipoclorito formado puede neutralizarse con una solución al 5% de tiosulfato sódico (la reacción es muy exotérmica y debe, por tanto, manejarse soluciones muy diluidas) según la ecuación 18^[39].



La reacción de neutralización, teniendo en cuenta el grado de dilución de tiosulfato, viene dada por la ecuación 19:



- ✓ **Preparación de la solución patrón de 500ppm de Carbonato de Sodio (Na₂CO₃).** Pesar exactamente 500,5 mg de Carbonato de sodio (99,9%) previamente seco a 105°C durante dos horas) y disolver en agua destilada. Afore a 1L ± 0,4mL con agua destilada.
- ✓ **Preparación del Ácido Sulfúrico 0,02N (H₂SO₄).** Medir exactamente 555µL de H₂SO₄ al 96% y aforar a 1L ± 0,4mL con agua destilada.
- ✓ **Preparación del Indicador Mixto.** Pesar 0,02 ± 0,0001g de rojo de metilo y 0,1g ± 0,0001g de verde de bromocresol en 100mL ± 0,10mL de alcohol etílico al 96%.
- ✓ **Preparación de la solución de Tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃*5H₂O).** Pesar exactamente 2,5 g de Na₂S₂O₃*5H₂O en 100mL ± 0,10mL de agua destilada.

➤ **Preparación de la Curva de Calibración**

A partir de una solución patrón de Carbonato de Sodio de 500 ppm se prepara las siguientes soluciones patrón en balones aforados de 100mL, empleando para cada concentración los volúmenes de solución patrón de Carbonato de Sodio especificados en la Tabla 8.

Tabla 8. Preparación de la Curva de Calibración de Carbonato de Sodio

Nivel de Concentración	Volumen de Solución patrón (mL)	mg Na ₂ CO ₃ / L
N1	1	5
N2	2	10
N3	4	20
N4	5	25
N5	10	50
N6	20	100

Diariamente se titulan los patrones y con los datos obtenidos, se calcula la concentración de carbonato de sodio mediante la ecuación 20:

$$T (mg Na_2CO_3) = \frac{A*B*C*1000}{M} \quad \text{ecuación 20}$$

Donde:

A = Volumen de solución de ácido estándar gastado (mL)
B = Normalidad de la solución de ácido estándar (N)
C = peso equivalente de Carbonato de Sodio (53g/ eq-g)
1000 = Factor de conversión (mg/g)
M =Volumen de muestra titulada.

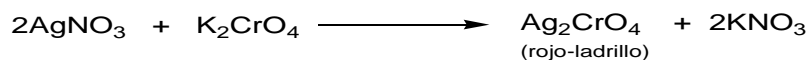
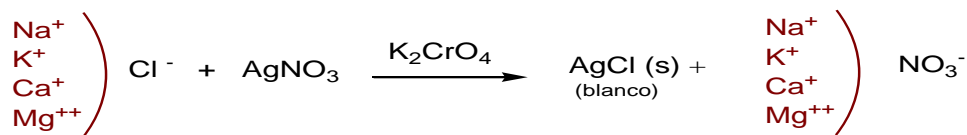
En la determinación de la Alcalinidad Total en las muestras, se minimiza la interferencia ocasionada por la presencia de cloro residual, mediante la adición de 1 gota de solución de Tiosulfato de Sodio 0,1N antes de titular. Se hace una curva de calibración de Volumen de Ácido Sulfúrico 0,02N utilizado en la titulación en función de la Concentración con solución de patrones de Carbonato de Sodio. El contenido de Alcalinidad total en las muestras se expresa en términos de mg CaCO_3/L , y se obtiene al interpolar el volumen de Ácido gastado en la titulación en la curva de calibración de Carbonato de sodio y el valor obtenido se multiplica por 1,059 (Factor de conversión de mg Na_2CO_3 a mg CaCO_3).

4.3.2. Método para la medición de Cloruros. Con el propósito de determinar la cantidad de Cloruros, las muestras se toman durante las horas de la mañana, en las plantas de Tratamiento después de la cascada (aguas crudas, antes del tratamiento) se toman 3 muestras de 1L (de cada planta), y en los tanques Principales (Aguas tratadas, después del tratamiento) se toman otras 3 muestras de 1L (de cada planta).

4.3.2.1 Técnica Volumétrica: Se toma 100mL de muestra de agua y se colocan en un erlenmeyer de 250mL, se adicionan 1mL de solución indicadora de cromato de potasio (K_2CrO_4) y se titula con nitrato de plata (AgNO_3) 0,0141N hasta un cambio de color amarillo a rojo ladrillo.

El pH óptimo para llevar a cabo el análisis de cloruros es de 7.0 a 8.3 , ya que cuando se tienen valores de pH mayores a 8.3, el ión Ag^+ precipita en forma de $\text{Ag}(\text{OH})$; cuando la muestra tiene un pH menor que 7.0, el cromato de potasio(K_2CrO_4) se oxida a dicromato ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), afectando el viraje del indicador.

El cloruro de plata AgCl , precipita cuantitativamente primero, al terminarse los cloruros, el AgNO_3 reacciona con el K_2CrO_4 formando un precipitado rojo ladrillo de Ag_2CrO_4 que indica el punto final de la titulación (Reacción descrita en ecuación 21).



Ecuación 21

- ✓ **Solución Estándar de Nitrato de Plata (AgNO₃) 0,0141N.** Pesar exactamente 2,395g de Nitrato de Plata (AgNO₃) en agua destilada y aforar a 1L. Esta solución se estandariza con una solución de Cloruro de Sodio (NaCl) 0,0141N.
- ✓ **Solución Estándar de Cloruro de Sodio (NaCl) 0,0141N.** Esta solución se prepara disolviendo exactamente 0,8240g de NaCl (previamente seco a 105°C durante dos horas) en agua destilada y se completa a 1L con la misma calidad de agua.
- ✓ **Solución patrón de Cloruro de Sodio (NaCl) de 100ppm.** Se disuelven exactamente 0,0414g de NaCl (99.7% previamente seco a 105°C durante dos horas) en agua destilada y se completa a 250mL con la misma calidad de agua.
- ✓ **Solución Indicadora de Cromato de Potasio (K₂CrO₄) 5%.** Se disuelven exactamente 5g de (K₂CrO₄) en agua destilada y se completa a 100mL con la misma calidad de agua.
- ✓ **Solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 1N.** Se disuelven 4,04g de NaOH (99%) y se afora a 100mL con agua destilada.
- ✓ **Solución de Ácido Sulfúrico (H₂SO₄) 1N.** Se disuelven 2,725m L±0,025 de H₂SO₄ (95 -97%) y se afora a 1L con agua destilada.

➤ Preparación de la Curva de Calibración

A partir de una solución patrón de Cloruro de Sodio de 100 ppm se prepara las siguientes soluciones patrón en balones aforados de 100mL, empleando para cada concentración los volúmenes de solución patrón de Cloruro de Sodio especificados en la Tabla 9.

Tabla 9. Preparación de la Curva de Calibración de Cloruros

Nivel de Concentración	Volumen de Solución patrón (mL)	mg Cl ⁻ / L
N1	1	1
N2	2	2
N3	4	4
N4	6	6
N5	10	10
N6	15	15
N7	20	20

Diariamente se titulan los patrones y con los datos obtenidos, se calcula la concentración de Cloruros mediante la siguiente ecuación y se expresa en términos de mg Cl⁻ / L (ecuación 22):

$$mg Cl^{-} / L = \frac{(A-B) \times N \times 35,45}{V_m} \times 1000 \quad \text{Ecuación 22}$$

Donde:

A = Volumen de solución de AgNO₃ gastado en la titulación de la muestra (mL)

B = Volumen de solución de AgNO₃ gastado en la titulación del blanco (mL)

N = Normalidad de la solución de AgNO₃

35,45 = peso equivalente del cloruro, en mg/ eq-g

1000 = Factor de conversión (mg/g)

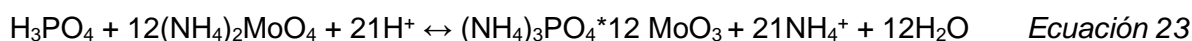
V_m = Volumen de muestra titulada.

Para la determinación de Cloruros en las muestras se hace una curva de calibración de Volumen de Nitrato de Plata (AgNO₃) 0,0141N utilizado en la titulación en función de la Concentración con solución de patrones de Cloruro de Sodio. El contenido de Cloruros en las muestras se obtiene al interpolar el volumen de Nitrato de Plata gastado en la titulación en la curva de calibración.

4.3.3 Método para determinar Fosfato. Las muestras para determinación de Fosfatos se toman de cada planta de Tratamiento durante las horas de la mañana: después de la cascada (aguas crudas, antes del tratamiento) se toman 2 muestras, en los tanques Principales (Aguas tratadas, después del tratamiento) se toman 2 muestras y en diferentes puntos de muestreo de la ciudad se toman 4 muestras y se llevan al laboratorio para su inmediato análisis (volumen de cada muestra: 250 mL).

4.3.3.1 Técnica Espectrofotométrica Se toman exactamente 2mL de muestra y se adicionan 18mL de solución coloreadora, a los 15 minutos se efectúa la lectura en un espectrofotómetro Visible Genesys 20 a 660nm. Se lleva a 0 de absorbancia con el blanco de reactivos (2mL de agua destilada y 18mL de solución coloreadora) y se leen los patrones para elaborar una curva de calibración.

Este método se basa en la reacción del Fósforo Reactivo Total contenido en la muestra como ortofosfato (PO_4^{3-}) con el ácido molíbdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la ecuación 23:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el ácido ascórbico a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 660 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido. El método es aplicable cuando el contenido de fósforo en las muestras se encuentra entre las concentraciones de 0,01 mg P/L a 6,0 mg P/L [20].

- ✓ **Solución Estándar de Fosfato (PO_4^{3-}) de 50ppm.** Se disuelven exactamente 0,072g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4 al 99,5%) previamente seco a 105°C durante dos horas. Se afora a 1L con agua destilada. A partir de esta solución se preparan los patrones.
- ✓ **Solución A.** Pesar exactamente 60g de Molibdato de Amonio [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] en 200mL de agua, se añaden exactamente 1,455g de Tartrato de Antimonio y Potasio [$\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$] y se disuelve. Se agrega lentamente con agitación suave 700mL de H_2SO_4 concentrado, se deja enfriar y se afora a 1L con agua destilada.
- ✓ **Solución B.** Se disuelven exactamente 61g de Ácido Ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) en agua destilada y se afora a 500mL.

NOTA: Las soluciones A y B, se deben almacenar en la nevera en frasco ámbar por ser sensibles a la luz. En estas condiciones se pueden utilizar por 1 mes.

- ✓ **Solución Coloreadora.** Esta solución se prepara antes de realizar el análisis a partir de las soluciones A y B. Se toman 25 mL de la solución A, se adicionan 800mL de agua destilada, se mezcla y luego se adicionan 10mL de la solución B y se completa a 1L con agua destilada.

➤ Preparación de la Curva de Calibración

A partir de la solución patrón de Fosfato (PO_4^{3-}) de 50 ppm se prepara las siguientes soluciones patrón en balones aforados de 25mL, empleando para cada concentración los volúmenes de solución patrón de Fosfato especificados en la Tabla 10.

Tabla 10. Preparación de la Curva de Calibración de Fosfatos.

Nivel de Concentración	Volumen de Solución patrón (mL)	mg PO_4^{3-} / L
N1	0,5	1
N2	1	2
N3	2	4
N4	2,5	5
N5	4	8
N6	5	10

Se hace una curva de calibración de Absorbancia en función de la Concentración de Fosfato de los patrones. La concentración del Ion fosfato en las muestras se determina por interpolación en la curva de calibración.

4.4. ESTANDARIZACIÓN DE LOS MÉTODOS

Previo a la estandarización de cada método se realiza el montaje, se verifica que el equipo funciona en condiciones óptimas para la lectura de muestras, para lo cual se establecen por mediciones programadas los valores de las figuras de mérito analíticas, para demostrar que el método funciona con muestras del analito dado, en la concentración esperada en la matriz con un alto grado de exactitud y precisión.

4.4.1 Diseño Experimental. El diseño experimental utilizado para determinar Alcalinidad, Cloruros y Fosfatos consiste en la evaluación de las muestras y el registro de resultados para cada grupo diario de ensayos, en cada uno de los métodos a estandarizar. El grupo básico en cada ensayo está formado por 13 muestras (ver tabla 11). Este grupo básico de muestras comprende entre una y tres réplicas por día, dependiendo del análisis. En esta etapa de corrida de los ensayos, es donde se obtienen todos los datos primarios y requiere que en su ejecución se cumplan ciertas condiciones mínimas como son los descritos en la tabla 11.

Tabla 11. Grupo básico de muestras

N° de muestras	Tipo de Muestra
1	Blanco de reactivos
2	Estándares de concentración baja
2	Estándares de concentración media
2	Estándares de concentración alta
2	Agua cruda para comparar
4	Agua tratada de Acueducto

- ✓ El grupo básico de muestras se analiza en el mismo día corriendo todas las muestras.
- ✓ El proceso se inicia siempre a la misma hora y lo suficientemente temprano para que se pueda cumplir con el análisis de todas las muestras, teniendo en cuenta que pueden ocurrir contratiempos.
- ✓ Todo el material de vidrio se lava previamente con jabón libre de fósforo (para análisis de Fosfatos) o con jabón neutro (para análisis de Cloruros y Alcalinidad Total) de acuerdo con las normas establecidas en el Laboratorio.
- ✓ El formato de los datos obtenidos se diligencia en el mismo momento en que se obtienen.

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Para validar los métodos utilizados para la determinación de Alcalinidad, Cloruros y Fosfatos se determinan las figuras de mérito tales como: desviación estándar, coeficiente de variación, porcentaje de recuperación, límites de detección del método, el instrumental y de cuantificación. A los resultados se aplicarán pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 11.5, con el propósito de verificar si hay diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de cada uno de los métodos y comprobar si hay repetibilidad entre los datos.

4.6 ELABORACIÓN Y PRESENTACIÓN DE DOCUMENTOS

Como resultado de la estandarización se elaboran los documentos que serán entregados única y exclusivamente al laboratorio de aguas del Acueducto de Popayán, los cuales son:

✓ **Protocolo de estandarización:** Consiste en un plan experimental que contiene las siguientes especificaciones:

1. *Control de materias primas.* Se refiere al control de los reactivos procedentes de casas comerciales reconocidas que se utilizan en el proceso de validación. Aparece de forma detallada las especificaciones de las muestras de ensayo, la preparación y estabilidad de las disoluciones, diluciones, pH y temperatura, según el caso.

2. *Material de referencia* utilizado para la calibración del sistema de medición (por ejemplo disoluciones tampones para la calibración de pHmetros) o patrones de comparación en las determinaciones del analito.

3. *Procedimiento de verificación, calibración y control de los equipos* para la comprobación del buen funcionamiento del instrumento.

4. *Procedimiento normalizado de operación del método.* Refleja el procedimiento exacto para ejecutar el método analítico.

5. *Parámetros de Estandarización:* Son los resultados finales del proceso, expresados en forma clara y de acuerdo con las convenciones que se utilicen por la literatura especializada en el tema

✓ **Carpeta de Informes:** Contiene la documentación generada durante el proceso de validación (hojas de datos, notas y observaciones, fórmulas y cálculos) y demás información que permita la revisión del proceso y/o su replicación por otro analista o por otro laboratorio.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO VOLUMÉTRICO PARA DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

Para implementar el método para la determinación de Alcalinidad Total en muestras de **aguas potables**, es necesario inicialmente definir y estandarizar la curva de calibración, su linealidad y determinar los límites de detección y cuantificación del método.

5.1.1 Validación del Sistema Instrumental

En el desarrollo de la estandarización de la técnica volumétrica para determinar Alcalinidad en aguas potables, se elabora un protocolo inicial que permita definir los parámetros analíticos: precisión, exactitud, linealidad, límite de detección, sensibilidad, y de esta forma evaluar la eficiencia del método.

El sistema instrumental empleado fue una bureta tipo A con divisiones de 0,05mL marca Brand. Todo el material volumétrico utilizado en este procedimiento es clase A y los reactivos grado analítico

Para eliminar el cloro residual presente en el agua tratada que interfiere con el viraje del indicador se utiliza una solución de Tiosulfato de Sodio 0.1N.

Inicialmente se busca determinar el rango de concentraciones de Carbonatos (mg CaCO₃/L) adecuado para elaborar la curva de calibración, con base en los valores usualmente encontrados en aguas potables [35] y teniendo en cuenta la norma establecida por la ley [10]. Para ello se elige un rango comprendido entre 5 y 100 mg CaCO₃/L. Los resultados se presentan en la tabla 12 y Figura 5.

De acuerdo a la figura 5, se puede observar que los datos del volumen están muy dispersos y no se ajustan a una línea recta, esto lo confirma el bajo coeficiente de correlación ($r = 0,886$), ya que en la práctica analítica las gráficas de calibración deben proporcionar valores de r mayores a 0,999 [28, 40, 41, 42,], esto permite afirmar que los datos de volumen no están linealmente relacionados con los de concentración. La explicación para este hecho está en la difícil preparación de los patrones de Carbonato de Calcio, el cual tiene una baja solubilidad (1,4 mg CaCO₃/L) [43] que dificulta la disolución completa de la sal.

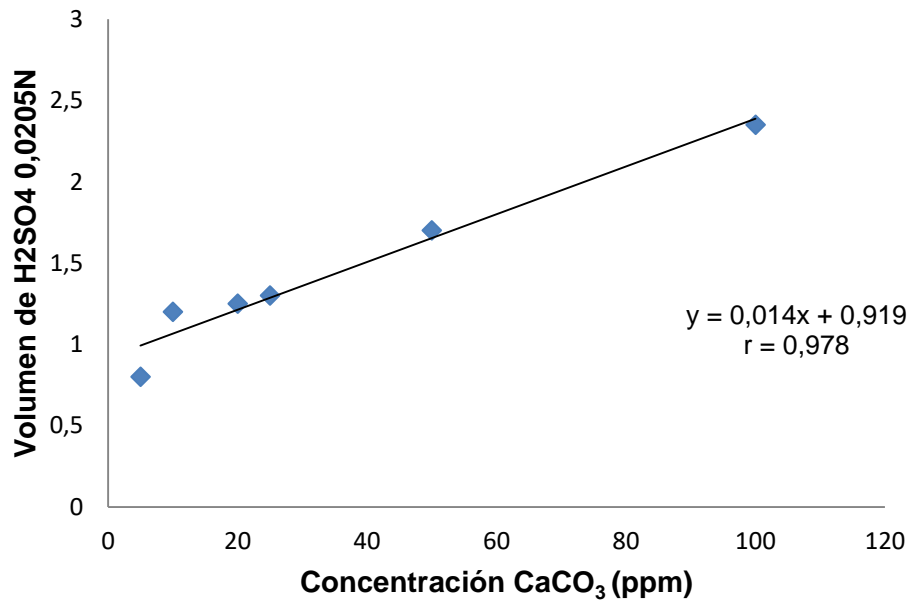
Después de varios ensayos para tratar de disolver el Carbonato de Calcio se decide utilizar el Carbonato de Sodio Na_2CO_3 que es mucho más soluble (210g/L)^[43] como patrón para preparar las curvas de calibración.

Se prepara la curva de calibración de acuerdo a lo anteriormente expuesto. Los resultados obtenidos se reportan en la Tabla 13 y Figura 6.

Tabla 12. Curva de calibración de Carbonato (rango de 5 a 100 mg CaCO_3/L)

mg CaO_3/L	Volumen de H_2SO_4 0,02N (mL)
5	0,8
10	1,2
20	1,25
25	1,3
50	1,7
100	2,35

Figura 5. Curva de calibración de Carbonato



✓ Linealidad Instrumental

Se evaluó a 6 niveles de concentración durante 5 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología. Los resultados se presentan en la tabla 13.

Tabla 13: Resultados de la evaluación de la linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total.

mg Na ₂ CO ₃ /L	Volumen de H ₂ SO ₄ 0,0205N (mL)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
5	0,500	0,500	0,475	0,475	0,475
10	0,925	0,925	0,925	0,925	0,900
20	1,800	1,900	1,850	1,850	1,850
25	2,350	2,350	2,300	2,300	2,300
50	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600
100	9,200	9,200	9,200	9,200	9,200

*incertidumbre en la medición del volumen $S_{vol} : \pm 0,025\text{mL}$

Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro- Wilk, encontrando que la mayoría de los resultados no provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística es inferior a 0,05 (Tabla 14). La no normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas no paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 14: Prueba de normalidad para los resultados de linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total ^(a,b)

	Nivel de Concentración	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Volumen titulante	2,00	0,684	5	0,006
	3,00	0,863	5	0,238
	4,00	0,956	5	0,777
	5,00	0,684	5	0,006
	7,00	0,552	5	0,000

a Volumen titulante es una constante cuando Nivel de Concentración = 1,00 y se ha desestimado.

b Volumen titulante es una constante cuando Nivel de Concentración = 6,00 y se ha desestimado.

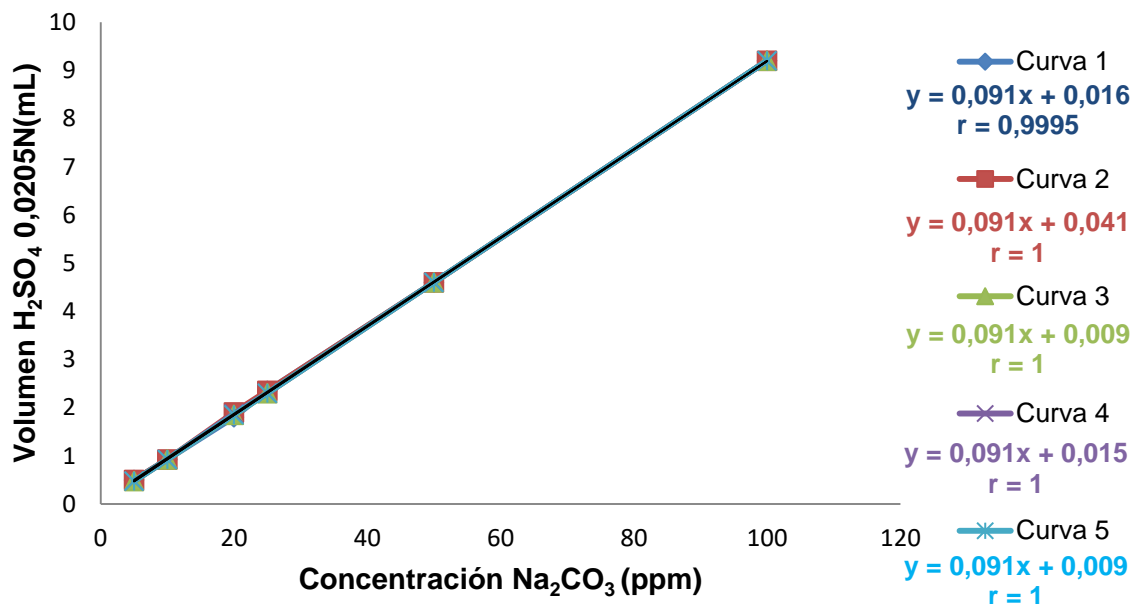
La tendencia de los datos se evaluó a través de un grafico relacionando el volumen del titulante Ácido Sulfúrico 0,0205 N respecto a la concentración de Carbonatos (ppm de Na₂CO₃), las gráficas obtenidas se muestran en la figura 6, donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal que relacione el volumen del titulante con la Concentración de analito.

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Evaluación de la linealidad instrumental para determinar Alcalinidad Total .

PARÁMETRO	SÍMBOLO	VALOR
Coeficiente de Correlación	r	0,9999
Pendiente	b	0,091
Intercepto	a	0,018
Desviación Estándar para el intercepto	S_a	0,013
Desviación Estándar para la pendiente	S_b	0,000

Figura 6. Curvas de Calibración de Carbonato de Sodio.



El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente (Correlación no paramétrica: Rho de Spearman) teniendo como hipótesis nula: “No existe correlación entre x e y”. Como se observa en la tabla 16 la prueba es significativa (Sig. 0,000), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa entre la concentración de carbonatos y el volumen del titulante medido con la bureta.

Tabla 16. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Rho de Spearman para Alcalinidad Total.

			Volumen titulante	Nivel de Concentración
Rho de Spearman	Volumen titulante	Coeficiente de correlación	1,000	,995(**)
		Sig. (bilateral)	.	,000
		N	35	35
	Nivel de Concentración	Coeficiente de correlación	,995(**)	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	.
		N	35	35

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se tienen las siguientes hipótesis:

Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en la tabla 17, la significancia estadística tanto para la pendiente como para el intercepto son inferiores a 0,05, por lo que se deben rechazar las hipótesis nulas, y concluir que la pendiente y el intercepto son significativamente diferentes de cero.

Tabla 17. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de regresión lineal de la pendiente y el intercepto.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	0,012	0,006		2,070	0,043	0,000	0,023
	Pendiente	0,092	0,000	1,000	709,711	0,000	0,092	0,092

Mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la Tabla 19.

Para evaluar la regresión se tiene:

Hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($r = 0$)”

Hipótesis alternativa: “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($r \neq 0$)”.

Como se observa en la Tabla 18, la significancia para la regresión es menor a 0,05 (sig = 0,000) por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Los resultados obtenidos en la prueba para la evaluación de linealidad permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 5 ppm y 100 ppm de Carbonato de Sodio, con un coeficiente de correlación igual a 0,9998.

Tabla 18. Estadísticos de contraste para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Carbonato de sodio. ^(a,b)

	Volumen titulante
Chi-cuadrado	33,640
Gl	6
Sig. asintót.	,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: Nivel de Concentración

✓ Precisión Instrumental

Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 6 curvas de calibración con 6 niveles de concentración, las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19. Curvas de calibración de carbonato de sodio bajo condiciones de Repetibilidad.

mg Na ₂ CO ₃ /L	Volumen de H ₂ SO ₄ 0,0205N (mL)					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6
5	0,475	0,450	0,450	0,475	0,450	0,475
10	0,875	0,900	0,875	0,900	0,900	0,900
20	1,825	1,825	1,825	1,825	1,850	1,875
25	2,300	2,325	2,275	2,275	2,300	2,275
50	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600	4,575
100	9,200	9,225	9,200	9,200	9,200	9,200

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 20.

Se calculó el Porcentaje de Coeficiente de Variación (% C.V) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la tabla 21.

Tabla 20. Curvas de calibración de carbonato de sodio bajo condiciones de Precisión Intermedia.

mg Na ₂ CO ₃ /L	Volumen de H ₂ SO ₄ 0,0205N (mL*)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
5	0,500	0,500	0,475	0,475	0,475
10	1,000	0,925	0,925	0,925	0,875
20	1,800	1,900	1,850	1,850	1,825
25	2,350	2,350	2,300	2,300	2,300
50	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600
100	9,200	9,200	9,200	9,200	9,200

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Como se observa en la tabla 22 los % C.V son bajos al ser inferiores al 6 %. Sin embargo, se observa una variabilidad poco mayor en los resultados obtenidos en días diferentes (precisión intermedia) respecto a los obtenidos el mismo día (repetibilidad), esto probablemente debido a la preparación diaria de las curvas de calibración y a errores aleatorios del analista.

Tabla 21. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.

NIVEL	REPETIBILIDAD		PRECISION INTERMEDIA	
	DES. EST	% C.V	DES. EST	% C.V
N1	0.0137	2.961	0.0122	2.530
N2	0.0129	1.448	0.0366	3.941
N3	0,0209	1.138	0.0323	1.745
N4	0,0204	0,891	0.0244	1.054
N5	0,0102	0,222	0.0000	0.000
N6	0.0129	0.140	0.0094	0.103

✓ Límites Críticos

Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC ^[20,30,31]. Se prepararon 6 curvas de calibración las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (resultados en Tabla 22).

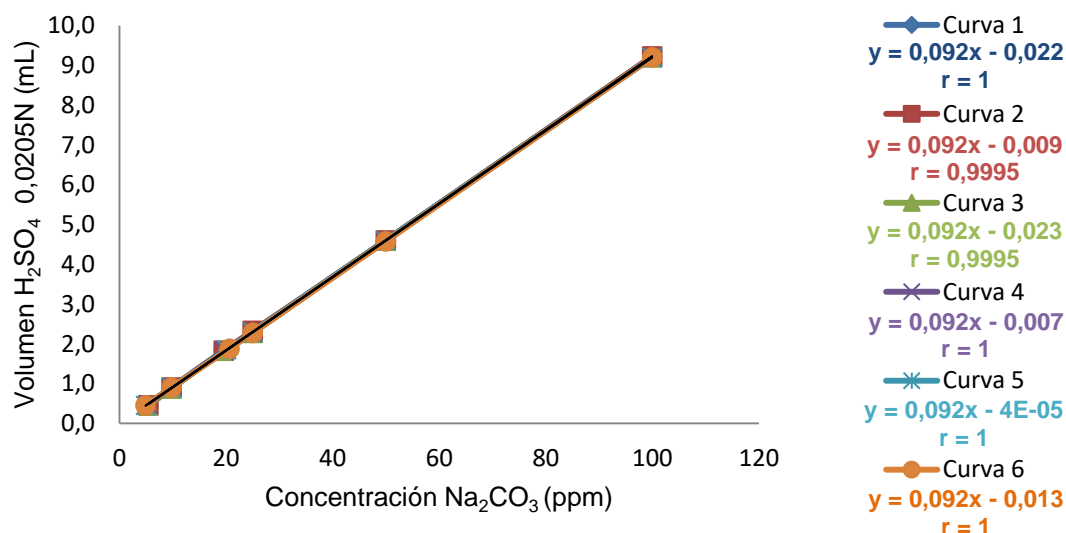
Con los resultados obtenidos se elaboró un gráfico que relaciona el volumen de titulante vs concentración de carbonatos, el cual se ilustra en la Figura 7.

Tabla 22. Curvas de calibración de carbonato de sodio para la determinación de límites críticos.

mg Na ₂ CO ₃ /L	Volumen de H ₂ SO ₄ 0,0205N (mL)					
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6
5	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
10	0,900	0,900	0,900	0,900	0,900	0,900
20	1,800	1,800	1,800	1,800	1,900	1,900
25	2,300	2,300	2,300	2,300	2,300	2,300
50	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600
100	9,200	9,200	9,200	9,200	9,200	9,200

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Figura 7. Curvas de Calibración de Carbonato de Sodio para hallar LOD y LOQ.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados la ecuación de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las seis curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ($S_{\text{interceptos}}$) y el promedio de las pendientes (m_{prom}). Finalmente se aplicaron las ecuaciones para establecer teóricamente los valores para el límite de detección instrumental (LDI), límite de detección del método (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), los resultados se muestran en la tabla 23.

Tabla 23. Datos para hallar LDI, LOD y LOQ.

PARÁMETRO	CURVA						s	prom	LDI (mg Na_2CO_3 /L)	LOD	LOQ
	1	2	3	4	5	6					
Blanco mg Na_2CO_3 /L)	1,9	1,9	1,66	1,66	1,66	1,9	0,2245		0,37	0,33	1,09
Pendiente	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092		0,092			
intercepto	-0,02	-0,01	-0,02	-0,01	0,00	-0,01	0,01	-0,01			

Los límites críticos determinados teóricamente se evaluaron en forma experimental preparando 3 réplicas de una solución al nivel del LOD establecido teóricamente (0,33mg Na_2CO_3 /L) y 5 réplicas al nivel del LOQ calculado (1,09 mg Na_2CO_3 /L). Estas soluciones se analizaron de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Para la solución al LOD se determinó si el sistema instrumental brinda alguna respuesta generando los volúmenes presentados en la tabla 24, para el LOQ los volúmenes obtenidos se promediaron e interpolaron en una curva

de calibración preparada y analizada el mismo día, con estos resultados se halla la precisión y la exactitud al LOQ como se muestra en la tabla 24.

Tabla 24. Resultados de la determinación experimental de LOD y LOQ.

Límite _{teórico}	mL H ₂ SO ₄ 0,0205N					Concentración Experimental	% R	% C.V
LOD 0,33mg Na ₂ CO ₃ /L	0,05	0,05	0,05					
LOQ 1,09 mg Na ₂ CO ₃ /L	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	1.11mg Na ₂ CO ₃ /L	101,83	0%

Como se observa en la tabla 25 el sistema instrumental es lo suficientemente sensible para detectar carbonato al LOD, como también brinda una exactitud y precisión adecuadas al LOQ.

5.1.2. Validación de la Metodología

Para la estandarización de la metodología se utilizaron muestras de aguas potables (tratadas) provenientes de las Plantas de Tratamiento de El Tablazo y de Tulcán además en 4 puntos de muestreo de la Ciudad (2 puntos para cada Acueducto). También se tomaron muestras de aguas crudas (Sin tratamiento de potabilización) para verificar el cambio en las concentraciones del analito a analizar después del tratamiento en cada Acueducto. Todas las muestras, tanto crudas como tratadas se sometieron a la metodología descrita anteriormente.

Tabla 25. Especificaciones para cada muestra de agua.

Muestra	Tipo de Agua	Origen de la muestra (Lugar)
1	Cruda	Acueducto Tablazo (cascada)
2	Cruda	Acueducto Tulcán (cascada)
3	Tratada	Acueducto Tablazo (Tanques)
4	Tratada	Acueducto Tulcán /Tanques)
5	Tratada	Punto 1 de muestreo Tablazo
6	Tratada	Punto 2 de muestreo Tablazo
7	Tratada	Punto 1 de muestreo Tulcán
8	Tratada	Punto 2 de muestreo Tulcán

➤ **Linealidad.**

Correspondiente a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración de Carbonato de Sodio en agua destilada para la cuantificación de Carbonatos en las muestras de agua.

➤ **Precisión y Exactitud.**

Se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 26 y Tabla A1 (Anexo 1) y en la figura 8. Se determinó la precisión y exactitud por nivel de concentración en las curva de calibración, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 27. Los % C. V obtenidos son inferiores al 5 % y los % R son adecuados.

Tabla 26. Datos de curvas de calibración de Carbonato de Sodio para interpolar muestras

mg Na ₂ CO ₃ /L	Volumen de H ₂ SO ₄ 0,0205N (mL)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
5	0,500	0,500	0,475	0,475	0,475
10	0,925	1,000	0,925	0,925	0,925
20	1,800	1,900	1,850	1,850	1,850
25	2,350	2,35	2,300	2,300	2,300
50	4,600	4,600	4,600	4,600	4,600
100	9,200	9,200	9,200	9,200	9,225

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Figura 8. Curvas de Calibración de Carbonato de Sodio para interpolar muestras

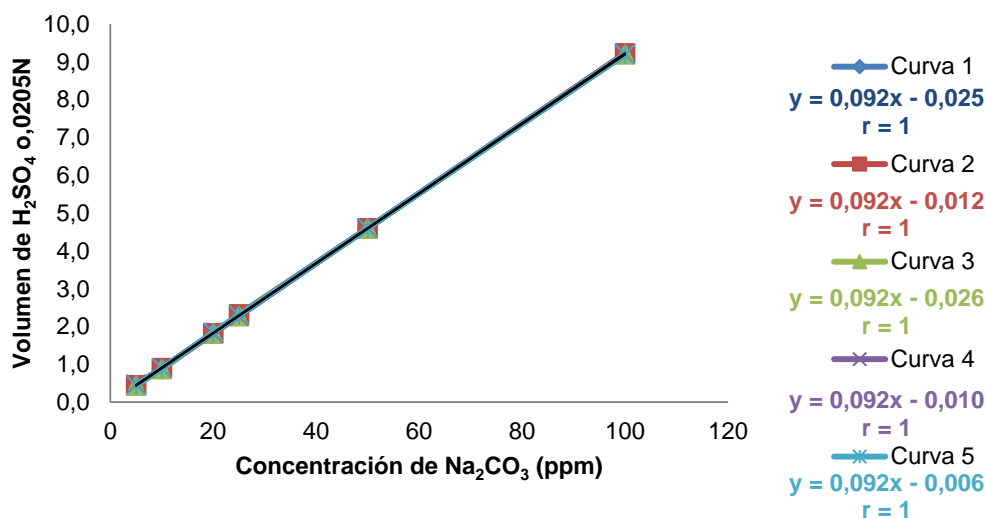


Tabla 27. Exactitud y precisión del método para determinar Alcalinidad Total.

Nivel	Presición Intermedia		
	Desv. Est.	% C.V	% R _{prom}
N1	0,132	2,52	104,7
N2	0,395	3,92	100,9
N3	0,349	1,73	100,5
N4	0,263	1,05	100,6
N5	0,00	0,00	100,0
N6	0,102	0,102	100,0

Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene), teniendo para ella como hipótesis nula que “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 28.

Tabla 28. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas.

		Estadístico de Levene	gl ₁	gl ₂	Sig.
% RECUPERACIÓN	Basándose en la media	32,360	5	30	0,000
	Basándose en la mediana.	15,964	5	30	0,000
	Basándose en la mediana y con gl corregido	15,964	5	11,186	0,000
	Basándose en la media recortada	29,222	5	30	0,000

Como se observa en la tabla 28, la significancia estadística basándose en la media para el Estadístico de Levene es menor a 0.05, por lo que la prueba estadística es significativa y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración sí afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Por lo tanto para cada nivel de concentración se debe tener en cuenta su porcentaje de recuperación, siendo lógico puesto que volúmenes pequeños son más difíciles de medir con el instrumento utilizado que en este caso es la bureta.

Si no se tiene en cuenta el primer nivel correspondiente a una concentración teórica de 5 ppm, cuando se hace la misma prueba se encuentra: la significancia estadística basándose en la mediana para el Estadístico de Levene es mayor a 0.05, por lo que la prueba estadística es no significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos, los resultados se muestran en la tabla 29. Esto permite calcular un % R_{prom} y un % C.V_{typ} para la metodología global, así como también el intervalo de confianza para el % R_{prom} (ver tabla 30).

Tabla 29 Prueba estadística de homogeneidad de varianzas sin Nivel 1.

		Estadístico de Levene	gl ₁	gl ₂	Sig.
% RECUPERACIÓN	Basándose en la media	3,626	4	25	0,018
	Basándose en la mediana.	1,409	4	25	0,260
	Basándose en la mediana y con gl corregido	1,409	4	11,186	0,293
	Basándose en la media recortada	3,144	4	25	0,032

Tabla 30. Exactitud y precisión para la metodología global.

% R _{prom}	Intervalo de Confianza		% C.V _{typ}
	% R - sz/√n	% R + sz/√n	
99,06	98,35	99,78	1,76

5.1.2.1 Resultados de Análisis de Alcalinidad Acueducto Tablazo

Se realizó el análisis de las muestras por triplicado durante cinco días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Carbonatos obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 31.

Como se observa en la tabla 31 los % C.V para los cuatro tipos de muestras provenientes del Acueducto Tablazo son bajos (inferiores al 5 %) para los análisis realizados el mismo día, es decir hay repetibilidad, siendo apropiado el método aplicado. La muestra Cruda presenta valores bajos de Alcalinidad si se tiene en cuenta la norma^[10].

Los datos de Alcalinidad Total de la muestra Cruda tomadas en diferentes días, pero en el mismo sitio y a la misma hora, presentan coeficientes de variación bajos (inferiores al 5%), indicando que la alcalinidad es propia del río y es posible que no tenga contaminación con esta fuente de bases. De tal manera que desde este punto de vista el agua del Rio Piedras no está contaminado.

Para las muestras Tratadas provenientes de los tanques del Acueducto tablazo y de dos puntos diferentes de la Ciudad de Popayán, también se observa que las muestras tomadas el mismo día presentan % C.V. bajos indicando que hay reproducibilidad del método. Además se aprecia que para días diferentes a pesar tomadas en el mismo punto y a la misma hora, los valores de alcalinidad varían

apreciablemente. Para saber si la diferencia es significativa se aplica inicialmente la prueba de Normalidad Shapiro - Wilk (Tabla 32) donde se observa que los datos no se ajustan a la normalidad (Sig = 0,000)

Tabla 31. Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tablazo.

Muestra	Réplica	mg CaCO ₃ / L					Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5			
Cruda	1	33,04	33,55	34,06	32,53	33,04	33,24	0,58	1,75
	2	32,53	33,55	33,55	32,53	33,04	33,04	0,51	1,54
	3	32,53	33,55	33,55	32,53	33,04	33,04	0,51	1,54
	Prom.	32,7	33,55	33,72	32,53	33,04			
	S	0,29	0,00	0,29	0,00	0,00			
	%CV	0,90	0,00	0,87	0,00	0,00			
Tratada (tanques Acueducto)	1	30,5	30,5	30,5	29,99	19,06	28,11	5,06	18,02
	2	29,99	30,5	30,5	30,5	18,81	28,06	5,18	18,45
	3	30,5	30,5	30,25	29,99	19,06	28,06	5,04	17,95
	Prom.	30,33	30,5	30,42	30,16	18,98			
	S	0,29	0,00	0,14	0,29	0,14			
	%CV	0,97	0,00	0,47	0,98	0,76			
Ciudad Sitio 1	1	29,99	31,52	30,5	31,01	19,57	28,52	5,03	17,65
	2	29,99	31,52	30,5	30,5	19,82	28,47	4,86	17,09
	3	29,48	31,52	30,5	30,5	19,82	28,36	4,83	17,03
	Prom.	29,82	31,52	30,5	30,67	19,74			
	S	0,29	0	0	0,29	0,14			
	%CV	0,99	0	0	0,96	0,73			
Ciudad Sitio 2	1	29,48	29,99	30,5	31,26	22,32	28,71	3,63	12,65
	2	29,48	29,48	30,5	31,01	22,11	28,52	3,64	12,77
	3	29,48	29,99	30,5	31,01	22,11	28,62	3,68	12,87
	Prom.	29,48	29,82	30,50	31,09	22,18			
	S	0,00	0,29	0,00	0,14	0,12			
	%CV	0,00	0,99	0,00	0,46	0,55			

Tabla 32. Pruebas de normalidad para muestras Acueducto Tablazo (a,b,c,d,e,f,g,h)

	DIA	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
CRUDA	1,00	,750	3	,000
	3,00	,750	3	,000
ACUEDUCTO	1,00	,750	3	,000
	3,00	,750	3	,000
	4,00	,750	3	,000
	5,00	,750	3	,000
SITIO 1	1,00	,750	3	,000
	4,00	,750	3	,000
	5,00	,750	3	,000
SITIO 2	2,00	,750	3	,000
	4,00	,750	3	,000
	5,00	,750	3	,000

a CRUDA es una constante cuando DIA = 2,00 y se ha desestimado.

b CRUDA es una constante cuando DIA = 4,00 y se ha desestimado.

c CRUDA es una constante cuando DIA = 5,00 y se ha desestimado.

d ACUEDUCTO es una constante cuando DIA = 2,00 y se ha desestimado.

e SITIO 1 es una constante cuando DIA = 2,00 y se ha desestimado.

f SITIO 1 es una constante cuando DIA = 3,00 y se ha desestimado.

g SITIO 2 es una constante cuando DIA = 1,00 y se ha desestimado.

i SITIO 2 es una constante cuando DIA = 3,00 y se ha desestimado.

Como los datos no se ajustan a la normalidad, se aplican pruebas no Paramétricas como la de Kruskal-Wallis.

Tabla 33. Datos prueba de Kruskal- Wallis para muestras Acueducto Tablazo (a,b)

	CRUDA	ACUEDUCTO	SITIO1	SITIO2
Chi-cuadrado	12,929	9,759	13,528	13,536
Gl	4	4	4	4
Sig. asintót.	,012	,045	,009	,009
Sig. Exacta	,000	,014	,000	,000
Probabilidad en el punto	,000	,004	,000	,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: DÍA

Como se observa en la tabla 33, esta prueba muestra que la Significancia es inferior a 0,05 en todos los casos por lo tanto hay variabilidad en los resultados de cada sitio de muestreo durante los días del ensayo. Para saber cuáles son los datos diferentes se aplica la prueba de Tukey., obteniéndose los resultados de la tabla 34.

Tabla 34. Datos prueba de Tukey para muestras Acueducto Tablazo

SITIO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		1	2
2,00	15	28,0767	
3,00	15	28,4493	
HSD de Tukey(a)	4,00	28,6149	
	1,00		33,1080
Sig.		,978	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 15,000.

Comparando los datos de cada sitio en los días diferentes la prueba de Tukey muestra que el Sitio 1 (Muestra Cruda) es significativamente superior a los datos de los demás sitios, pero que entre los datos de alcalinidad de muestras tratadas en el Tablazo provenientes de diferentes sitios no hay diferencia significativa. Este análisis indica que el tratamiento en el acueducto El Tablazo es efectivo para disminuir la alcalinidad que llega del río Piedras, quedando así el agua potable para consumo humano desde el punto de vista de este parámetro.

5.1.2.2 Resultados de Análisis de Alcalinidad Muestras Acueducto Tulcán

Se realizó el análisis de las muestras por triplicado durante cinco días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Carbonatos obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 35.

Como se observa en la tabla 35 los % C.V para los cuatro tipos de muestras provenientes del Acueducto Tulcan son bajos (inferiores o iguales al 6 %) para los análisis realizados el mismo día, de acuerdo al Standard Methods ^[14], es decir hay repetibilidad, siendo apropiado el método aplicado. La muestra Cruda presenta valores bajos de Alcalinidad si se tiene en cuenta el decreto 2115 [6].

Los datos de Alcalinidad Total de las muestra Cruda tomadas en diferentes días, pero en el mismo sitio y a la misma hora, presentan coeficientes de variación bajos (alrededor de 6%), indicando que la alcalinidad es propia del río Molino el cual surte este acueducto y es posible que no tenga contaminación con esta fuente de

bases. De tal manera que desde este punto de vista el agua del Rio Molino no está contaminado.

Tabla 35. Datos obtenidos para Alcalinidad Total de las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tulcan.

Muestra	Réplica	mg CaCO ₃ / L					Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5			
Cruda	1	21,35	21,86	21,86	19,52	19,83	20,88	1,13	5,40
	2	21,86	21,86	22,37	19,52	19,57	21,04	1,38	6,55
	3	21,86	21,86	22,37	19,52	19,83	21,09	1,31	6,22
	Prom.	21,69	21,86	22,2	19,52	19,74			
	S	0,29	0	0,29	0	0,15			
	%CV	1,36	0	1,33	0	0,76			
Tratada (Tanques Acueducto)	1	14,74	11,69	13,22	7,12	7,37	10,83	3,45	31,82
	2	15,25	11,44	13,22	7,12	7,62	10,93	3,53	32,23
	3	14,74	11,69	13,22	7,12	7,62	10,88	3,39	31,11
	Prom.	14,91	11,61	13,22	7,12	7,54			
	S	0,29	0,14	0,00	0,00	0,14			
	%CV	1,97	1,24	0,00	0,00	1,92			
Ciudad Sitio 1	1	11,18	11,18	12,2	7,62	11,18	10,67	1,76	16,51
	2	11,18	11,18	12,2	8,13	11,18	10,77	1,54	14,32
	3	11,18	11,18	12,2	7,62	11,18	10,67	1,76	16,51
	Prom.	11,18	11,18	12,2	7,79	11,18			
	S	0	0	0	0,29	0			
	%CV	0	0	0	3,78	0			
Ciudad Sitio 2	1	11,69	30,75	12,71	7,62	8,39	14,23	9,48	66,61
	2	11,69	30,5	12,71	8,13	8,64	14,33	9,25	64,50
	3	11,69	30,5	12,71	8,13	8,64	14,33	9,25	64,50
	Prom.	11,69	30,58	12,71	7,96	8,56			
	S	0,00	0,14	0,00	0,29	0,14			
	%CV	0,00	0,47	0,00	3,70	1,69			

En cuanto a las muestras potables del acueducto Tulcán igualmente no se aprecia variabilidad en los datos de alcalinidad que se toman el mismo día (% C.V. <6%) confirmando la precisión del método. En los datos obtenidos para las

muestras tomadas en días diferentes, pero en el mismo sitio y a la misma hora, se obtienen %C.V. muy altos. Aplicando inicialmente la prueba de normalidad de Shapiro- Wilk se obtienen los resultados de la tabla 36.

Tabla 36 Pruebas de normalidad de Shapiro- Wilk para muestras Acueducto Tulcan.

	DÍA	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
ALCALINIDAD	1,00	,767	12	,004
	2,00	,644	9	,000
	3,00	,631	12	,000
	4,00	,609	12	,000
	5,00	,754	12	,003

Como se puede observar, los datos no se ajustan a la normalidad (Sig < 0,05). Por lo tanto se aplican pruebas No Paramétricas como la de Prueba de Kruskal-Wallis (ver Tabla 37), la cual muestra que la alcalinidad es significativamente diferente en el tiempo del estudio, pero que no hay diferencia entre los datos de un mismo sitio.

Tabla 37. Datos prueba de Kruskal- Wallis para muestras Acueducto Tulcán (a)

	ALCALINIDAD	SITIO
Chi-cuadrado	17,265	1,492
gl	4	4
Sig. asintót.	,002	,828

a Variable de agrupación: DÍA

Para saber cuáles sitios son diferentes se aplica la prueba de comparación Múltiple (ver Tabla 38).

Esta prueba muestra que existe interacción altamente significativa entre los datos de alcalinidad correspondientes al sitio 1 con respecto a los otros sitios. En la Prueba de Tukey se muestra que los datos del sitio1 (Muestra Cruda) la Alcalinidad es significativamente superior a la de los demás sitios (Sig<0.05) correspondientes a las muestras de agua potable tratadas en el Acueducto Tulcan, esto indica la efectividad del tratamiento de potabilización en la Planta del Acueducto sede Tulcan, ya que se logra disminuir el valor de dicha alcalinidad proveniente del río Molino aún cuando esté por debajo del límite permitido por la

norma ^[10]. Si se aplica la prueba de Tukey para relacionar el valor de la alcalinidad dentro de los sitios, en la tabla 39 se observa que dentro de un mismo sitio no hay variabilidad en los datos de alcalinidad durante el tiempo de ensayo (Sig>0,05).

La prueba de comparación múltiple para los datos de alcalinidad considerando el factor día (tabla 40) no muestra ninguna interacción.

NOTA : Nomenclatura de los sitios utilizada para la tabla de comparación múltiple:

Sitio 1: Muestra Cruda

Sitio 2: Muestra Tratada de Acueducto (tanques)

Sitio 3: Muestra Tratada de Ciudad Punto 1

Sitio 4: Muestra Tratada de Ciudad Punto 2.

Tabla 38. Prueba de comparación Múltiple (Tukey) para muestras acueducto Tulcán.

Variable dependiente		(I) SITIO	(J) SITIO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%			
							Límite inferior	Límite superior		
ALCALINIDAD	HSD de Tukey	1,00	2,00	10,1240(*)	,78656	,000	8,0377	12,2103		
			3,00	10,2967(*)	,78656	,000	8,2103	12,3830		
			4,00	10,7735(*)	,83427	,000	8,5606	12,9864		
		2,00	1,00	-10,1240(*)	,78656	,000	-12,2103	-8,0377		
			3,00	,1727	,78656	,996	-1,9137	2,2590		
			4,00	,6495	,83427	,864	-1,5634	2,8624		
		3,00	1,00	-10,2967(*)	,78656	,000	-12,3830	-8,2103		
			2,00	-,1727	,78656	,996	-2,2590	1,9137		
			4,00	,4768	,83427	,940	-1,7360	2,6897		
		4,00	1,00	-10,7735(*)	,83427	,000	-12,9864	-8,5606		
			2,00	-,6495	,83427	,864	-2,8624	1,5634		
			3,00	-,4768	,83427	,940	-2,6897	1,7360		
		DÍA	HSD de Tukey	1,00	2,00	,0000	,54079	1,000	-1,4344	1,4344
					3,00	,0000	,54079	1,000	-1,4344	1,4344
					4,00	-,2500	,57359	,972	-1,7714	1,2714
				2,00	1,00	,0000	,54079	1,000	-1,4344	1,4344
3,00	,0000				,54079	1,000	-1,4344	1,4344		
4,00	-,2500				,57359	,972	-1,7714	1,2714		
3,00	1,00			,0000	,54079	1,000	-1,4344	1,4344		
	2,00			,0000	,54079	1,000	-1,4344	1,4344		
	4,00			-,2500	,57359	,972	-1,7714	1,2714		
4,00	1,00			,2500	,57359	,972	-1,2714	1,7714		
	2,00			,2500	,57359	,972	-1,2714	1,7714		
	3,00			,2500	,57359	,972	-1,2714	1,7714		

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05.

Tabla 39. Prueba Tukey para relacionar Alcalinidad con Sitio de muestreo Muestras Tulcán.

	SITIO	N	Subconjunto para alfa = .05	
			1	2
HSD de Tukey(a,b)	4,00	12	10,2292	
	3,00	15	10,7060	
	2,00	15	10,8787	
	1,00	15		21,0027
	Sig.		,854	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 14,118.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla 40. Datos de Comparaciones múltiples para relacionar Alcalinidad con factor día en muestras acueducto sede Tulcán.

Variable dependiente: ALCALINIDAD

	(I) DÍA	(J) DÍA	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	1,00	2,00	-,0147	2,14589	1,000	-6,0786	6,0491
		3,00	-,2150	1,98671	1,000	-5,8290	5,3990
		4,00	4,2700	1,98671	,215	-1,3440	9,8840
		5,00	3,1133	1,98671	,525	-2,5007	8,7274
	2,00	1,00	,0147	2,14589	1,000	-6,0491	6,0786
		3,00	-,2003	2,14589	1,000	-6,2641	5,8636
		4,00	4,2847	2,14589	,282	-1,7791	10,3486
		5,00	3,1281	2,14589	,594	-2,9358	9,1919
	3,00	1,00	,2150	1,98671	1,000	-5,3990	5,8290
		2,00	,2003	2,14589	1,000	-5,8636	6,2641
		4,00	4,4850	1,98671	,175	-1,1290	10,0990
		5,00	3,3283	1,98671	,458	-2,2857	8,9424
	4,00	1,00	-4,2700	1,98671	,215	-9,8840	1,3440
		2,00	-4,2847	2,14589	,282	-10,3486	1,7791
		3,00	-4,4850	1,98671	,175	-10,0990	1,1290
		5,00	-1,1567	1,98671	,977	-6,7707	4,4574
	5,00	1,00	-3,1133	1,98671	,525	-8,7274	2,5007
		2,00	-3,1281	2,14589	,594	-9,1919	2,9358
		3,00	-3,3283	1,98671	,458	-8,9424	2,2857
		4,00	1,1567	1,98671	,977	-4,4574	6,7707

La prueba de Tukey para Alcalinidad considerando el factor día (tabla 40 y 41) muestra que en el día no hay diferencia entre los datos de alcalinidad para todos los sitios confirmando lo expresado anteriormente en el sentido de que el método es reproducible y el tratamiento del Acueducto es efectivo, pues las muestras son tomadas en sitios diferentes y no hay diferencia significativa entre los valores de alcalinidad.

Tabla 41. Prueba de Tukey para relacionar Alcalinidad con factor día en muestras acueducto sede Tulcán.

	DÍA	N	Subconjunto para alfa = .05 1
HSD de Tukey(a,b)	4,00	12	10,5975
	5,00	12	11,7542
	1,00	12	14,8675
	2,00	9	14,8822
	3,00	12	15,0825
	Sig.		

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 11,250.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

De lo anterior se puede afirmar que no hay variabilidad en los datos de alcalinidad de cada sitio, mostrando reproducibilidad del método, además de que no se presenta contaminación por esta variable en la red de distribución, y la efectividad del tratamiento en dicho acueducto.

De todas las consideraciones anteriores se puede deducir que el método para la determinación de Alcalinidad en muestras de aguas Potable queda debidamente implementado en el Laboratorio del Acueducto de Popayán.

5.1.3 Estandarización Intra-laboratorio

Los resultados obtenidos tanto para las muestras a través del método implementado, se compararon con los correspondientes al análisis realizado por otro analista en las mismas condiciones obteniendo los resultados presentados en la tabla 42. Se denomina Analista 2 a un estudiante del grupo de Agroquímica quien aplicó la metodología implementada con este trabajo de grado (Analista 1), Ambos analistas realizaron el análisis por separado sobre las mismas muestras cada uno realizó su respectiva curva de calibración y de cada muestra se

realizaron tres réplicas. Los datos de las curvas y de las réplicas de las muestras se relacionan en el anexo tablas A2 y A3.

Tabla 42. Valores de Alcalinidad Obtenidos por dos Analistas en el mismo Laboratorio.

Muestra	Analista 1*		Analista 2*	
	ppm CaCO ₃	% C.V	ppm CaCO ₃	% C.V
1	26,26	1,08	26,23	1,01
2	19,49	1,48	19,90	0,00
3	23,72	1,24	24,22	1,10
4	8,64	0,00	8,94	2,97
5	24,40	0,00	24,07	0,00
6	24,23	1,22	24,38	1,09
7	8,30	3,55	8,47	3,27
8	8,64	0,00	8,31	0,00

*resultados del análisis de las muestras por triplicado.

En la tabla 42 se reporta la variación para las concentraciones promedio de las muestras obtenidas por los diferentes analistas durante el ensayo. En ambos casos se observa que los coeficientes de variación correspondientes a cada muestra son bajos (inferiores al 6%), lo cual significa que existe repetibilidad en las medidas durante este proceso, favoreciendo el desarrollo de la estandarización.

Para comprobar que no hay diferencia estadística significativa entre los dos análisis se aplica la prueba t para muestras relacionadas, teniendo en cuenta la siguiente hipótesis nula H₀: Los métodos no proporcionan resultados significativamente diferentes para la concentración de carbonatos.

Como se observa en la tabla 43, el valor de $|t| = 0,946$, al nivel $P = 0,05$ para $gl = 7$ el valor crítico para el estadístico $|t|$ es de 2,36 [27]. Puesto que el valor calculado de $|t|$ es menor al valor crítico, no se rechaza la hipótesis nula. Por otro lado la significancia es mayor a 0,05 (0,376), se llega a las mismas conclusiones: se acepta la hipótesis nula: Los datos de los dos análisis no difieren significativamente [27].

Tabla 43. Prueba t para muestras relacionadas

Par 1	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. bilateral
	Media	Desv. típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
analista 1 – analista 2	-,1050	,31396	,11100	-,3675	,1575	-,946	7	0,376

De todas las consideraciones anteriores se puede deducir que el método para la determinación de Alcalinidad Total en muestras de aguas potables queda debidamente implementado y estandarizado.

5.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO VOLUMÉTRICO (ARGENTOMÉTRICO) PARA DETERMINACIÓN DE CLORUROS

Con el propósito de implementar el método para la determinación de Cloruros en muestras de aguas potables, es necesario inicialmente definir y estandarizar la curva de calibración, su linealidad y determinar los límites de detección y cuantificación del método.

El sistema instrumental empleado fue una bureta tipo A con divisiones de 0,05mL marca Brand. Todo el material volumétrico utilizado en este procedimiento es clase A y los reactivos, grado analítico.

5.2.1 Estandarización del Sistema Instrumental

En el desarrollo de la estandarización de la técnica volumétrica para determinar Cloruros en aguas, se elabora un protocolo inicial que permita definir los parámetros analíticos: precisión, exactitud, linealidad, límite de detección, sensibilidad, y de esta forma evaluar la eficiencia del método.

Las interferencias más comunes para el análisis son el color y el pH. El color debe ser eliminado por medio de un tratamiento de la muestra con carbón activado, filtrando la muestra al vacío o centrifugando la muestra a 3000rpm por treinta minutos. El pH óptimo para llevar a cabo el análisis de cloruros es de 7.0 a 8.3, ya que cuando tenemos valores de pH mayores a 8.3, el ión Ag^+ precipita en forma de $Ag(OH)$; cuando la muestra tiene un pH menor que 7.0, el cromato de

potasio se oxida a dicromato, afectando el viraje del indicador. El pH se ajusta utilizando soluciones de H₂SO₄ ó NaOH 0,1N.

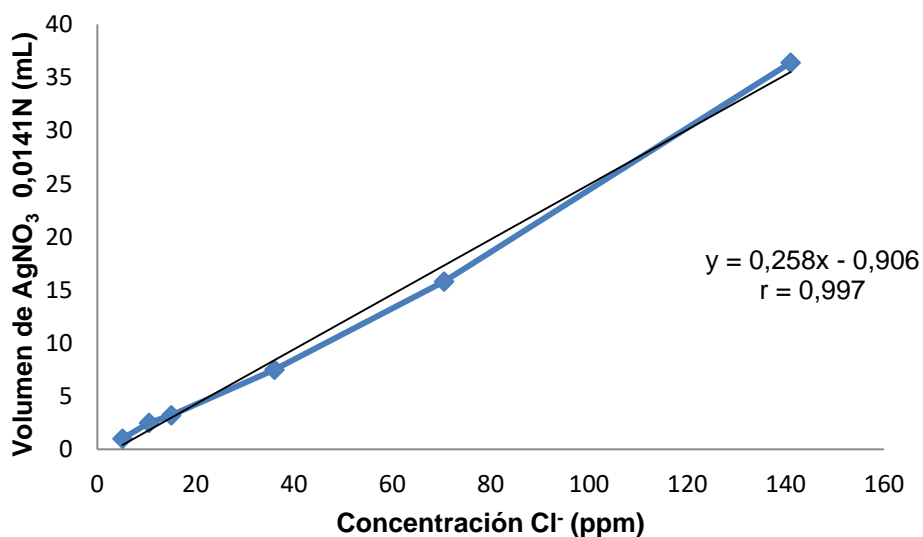
Inicialmente se busca determinar el rango de concentraciones de Cloruros (mg Cl⁻/L) adecuado para elaborar la curva de calibración, con base en los valores usualmente encontrados en aguas potables [35] y teniendo en cuenta la norma establecida por la ley [10]. Para ello se elige un rango comprendido entre 5 y 140 mg Cl⁻/L. Los resultados se presentan en la tabla 44 y Figura 9.

Tabla 44. Curva de calibración de Cloruros (rango de 5 a 140 mg Cl⁻/L)

mg Cl ⁻ /L	Volumen de AgNO ₃ 0,0141N (mL)
5,10	1,0
10,50	2,5
15,00	3,2
36,00	7,5
70,50	15,8
141,00	36,4

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

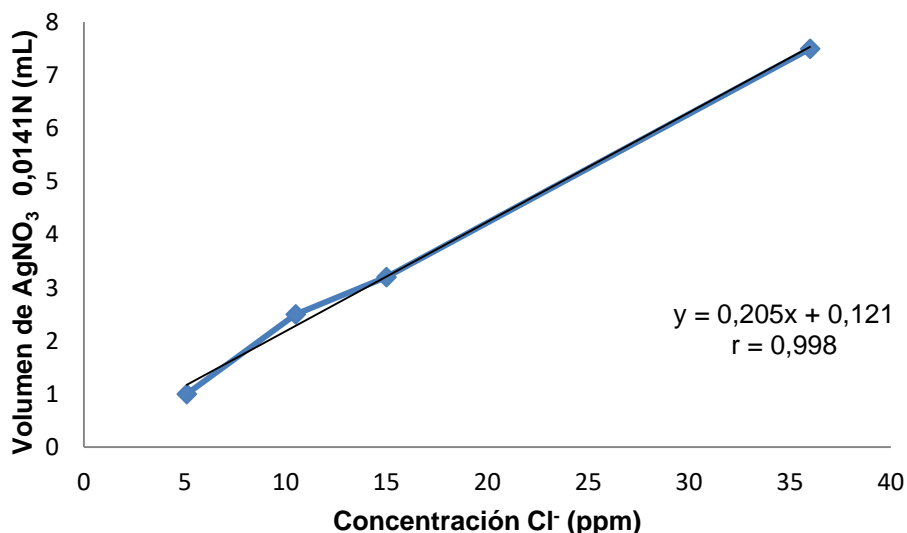
Figura 9. Curva de calibración de Cloruros



De acuerdo a la figura, se puede observar que los datos del volumen están algo dispersos y no se ajustan completamente a una línea recta, de acuerdo al

coeficiente de correlación ($r = 0.997$). Como se mencionó anteriormente las gráficas de calibración deben proporcionar valores de r mayores a 0.999 [40, 41, 42], si se eliminan los dos últimos niveles de concentración se puede afirmar que los datos de volumen están linealmente relacionados con los de concentración. La explicación para este hecho está en que las soluciones de cloruro superiores a 30 aumenta la concentración del precipitado blanco en la solución correspondiente al cloruro de plata AgCl , que interfiere con el viraje del indicador.

Figura 10. Curva de calibración de Cloruros sin dos últimos niveles de concentración



Teniendo en cuenta que al descartar los dos últimos niveles de concentración aumenta la linealidad (ver figura 10) y después de titular unas muestras para verificar la concentración aproximada de cloruros se decide trabajar con un rango de 1 ppm hasta 20 ppm de Cl^- .

De acuerdo a lo anterior la validación del sistema instrumental se lleva a cabo con curvas de calibración con Cloruro de Sodio en agua destilada. Se evalúa la linealidad, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos.

✓ **Linealidad Instrumental**

Se evaluó a 7 niveles de concentración durante 5 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología. Los resultados se presentan en la tabla 45 (ver también figura 11).

Tabla 45. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental para la determinación de Cloruros.

mg Cl ⁻ /L	Volumen de AgNO ₃ 0,01338N (mL)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
2	0,45	0,45	0,425	0,45	0,45
4	0,85	0,90	0,85	0,90	0,85
6	1,30	1,30	1,30	1,35	1,30
10	2,10	2,10	2,125	2,15	2,10
15	3,20	3,15	3,150	3,175	3,20
20	4,20	4,225	4,250	4,175	4,25

*incertidumbre en la medición del volumen $S_{vol} : \pm 0,025\text{mL}$

Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro -Wilks, encontrando que los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 en la mayoría de los casos (Tabla 46). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 46. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los resultados de linealidad instrumental para determinar Cloruros^(a).

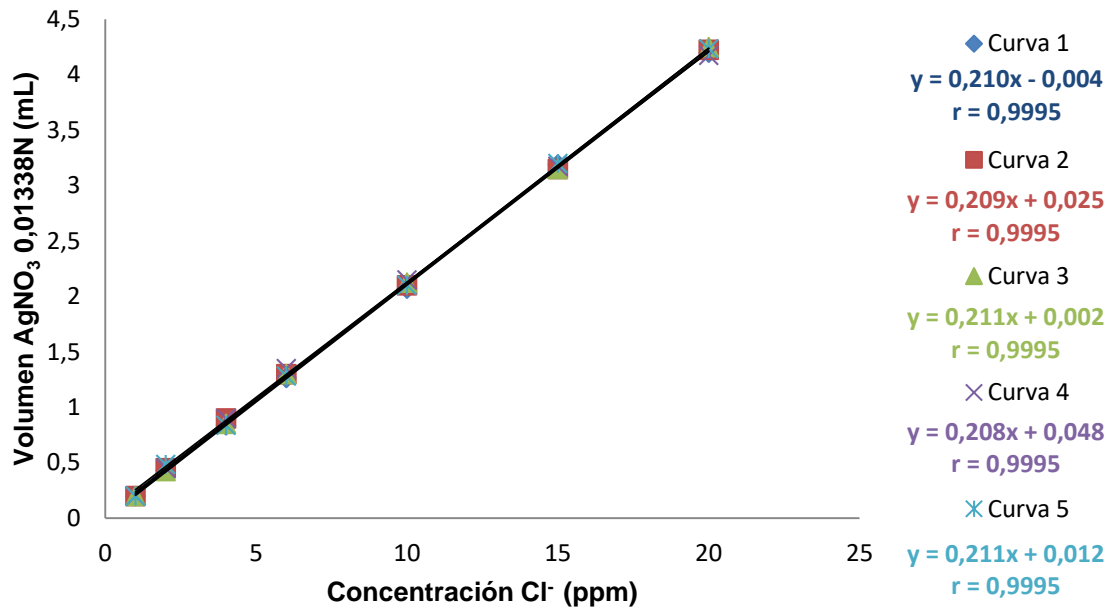
	Nivel de Concentración	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Volumen de Titulante	2,00	,896	5	,389
	3,00	,768	5	,043
	4,00	,915	5	,495
	5,00	,968	5	,864
	6,00	,884	5	,329
	7,00	,963	5	,827

* Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a Volumen de Titulante es una constante cuando Nivel de Concentración = 1,00 y se ha desestimado.

La tendencia de los datos se evaluó a través de un grafico relacionando el volumen del titulante (mL de Nitrato de Plata 0,01338 N) respecto a la concentración de Cloruro (mg de Cl⁻ /L), las gráficas obtenidas se muestran en la figura 11, donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal que relacione el volumen del titulante con la Concentración de analito.

Figura 11. Curvas para la evaluación de linealidad Instrumental



Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 47.

Tabla 47. Evaluación de la linealidad instrumental para determinar Cloruros.

PARÁMETRO	SÍMBOLO	VALOR
Coeficiente de Correlación	r	0,9995
Pendiente	b	0,2100
Intercepto	a	0,0170
Desviación Estándar para el intercepto	s_a	0,0207
Desviación Estándar para la pendiente	s_b	0,0013

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente teniendo como hipótesis nula: “No existe correlación entre x e y”. Como se observa en la tabla 48 la prueba es significativa (Sig. = 0,000 < 0,05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se

concluye que existe correlación significativa entre la concentración de cloruros y el volumen del titulante medido con la bureta.

Tabla 48. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson para Cloruros.

		Concentración	Volumen de Titulante
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	1	0,970(**)
	Sig. (bilateral)	.	0,000
	N	35	35
Volumen de Titulante	Correlación de Pearson	0,970(**)	1
	Sig. (bilateral)	0,000	.
	N	40	40

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Para la evaluar estadísticamente la pendiente y el intercepto se tienen las siguientes hipótesis: Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05. Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en la tabla 49, la significancia estadística para la pendiente es inferior a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la pendiente es significativamente diferente de cero. Para el intercepto, la significancia de 0,038 es menor a 0,05, por lo cual también se debe rechazar la hipótesis nula y concluir que el intercepto es significativamente diferente de cero.

Tabla 49. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	0,017	0,008		2,156	0,038	0,001	0,033
	Pendiente	0,210	0,001	1,000	285,664	0,000	0,209	0,212

a Variable dependiente: Volumen de Tiulante

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la Tabla 50.

Para evaluar la regresión se tiene: Hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($r = 0$)” Hipótesis alternativa: “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($r \neq 0$)”.

Como se observa en la Tabla 50, la significancia (Sig = 0,000) para la regresión es menor a 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 1 y 20 mg de Cl⁻/L, con un coeficiente de correlación igual a 0,9995.

Tabla 50. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de Cloruros^(a,b).

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	62,747	1	62,747	532,121	0,000(a)
	Residual	3,891	33	0,118		
	Total	66,638	34			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración

b Variable dependiente: Volumen Titulante

✓ Precisión Instrumental

Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 5 curvas de calibración con 7 niveles de concentración, las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 51.

Para el ensayo de precisión intermedia se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 52.

Se calculó el Porcentaje de Coeficiente de Variación (% C.V) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la tabla 53.

Como se observa en la tabla 53 los % C.V son bajos al ser inferiores al 6 % tanto para repetibilidad como para precisión intermedia, siendo ligeramente superiores en esta última.

Tabla 51. Curvas de calibración de Cloruros bajo condiciones de Repetibilidad.

mg de Cl/L	Volumen de AgNO ₃ 0,01338N (mL)				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
2	0,450	0,450	0,425	0,425	0,425
4	0,900	0,900	0,900	0,850	0,850
6	1,300	1,300	1,300	1,300	1,300
10	2,100	2,100	2,100	2,150	2,125
15	3,150	3,150	3,200	3,175	3,150
20	4,200	4,225	4,225	4,200	4,250

*incertidumbre en la medición del volumen $S_{vol} : \pm 0,025\text{mL}$

Tabla 52. Curvas de calibración de Cloruros bajo condiciones de Precisión Intermedia.

mg de Cl/L	Volumen de AgNO ₃ 0,01338N (mL)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,200	0,200	0,200	0,20	0,200
2	0,450	0,450	0,425	0,425	0,450
4	0,850	0,900	0,850	0,900	0,850
6	1,300	1,300	1,300	1,350	1,300
10	2,100	2,100	2,125	2,150	2,100
15	3,200	3,150	3,150	3,175	3,200
20	4,200	4,225	4,250	4,250	4,250

*incertidumbre en la medición del volumen $S_{vol} : \pm 0,025\text{mL}$

Tabla 53. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia para determinar Cloruros.

NIVEL	Repetibilidad		Precision Intermedia	
	Desv. Est	% C.V	Desv. Est	% C.V
N1	0,01	3,15	0,014	3,11
N2	0,03	3,11	0,027	3,15
N3	0,00	0,00	0,022	1,71
N4	0,02	1,06	0,022	1,06
N5	0,02	0,71	0,025	0,79
N6	0,02	0,50	0,022	0,53

✓ Límites Críticos

Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC [26, 24,25]. Se prepararon 5 curvas de calibración las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (resultados en Tabla 54).

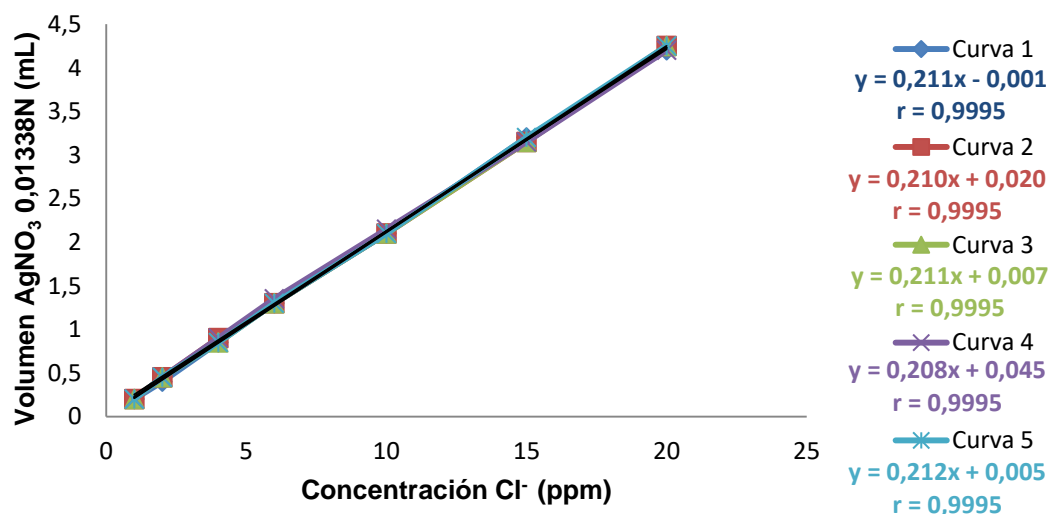
Tabla 54. Curvas de calibración de Cloruros para la determinación de límites críticos.

mg de Cl ⁻ /L	Volumen de AgNO ₃ 0,01338N (mL)				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
2	0,400	0,450	0,450	0,450	0,450
4	0,850	0,900	0,850	0,900	0,850
6	1,300	1,300	1,300	1,350	1,300
10	2,100	2,100	2,100	2,150	2,100
15	3,200	3,150	3,150	3,150	3,200
20	4,200	4,250	4,250	4,200	4,250

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Con los resultados obtenidos se elaboró un gráfico que relaciona el volumen de titulante vs concentración de cloruros, el cual se ilustra en la Figura 12.

Figura 12. Curvas de Calibración de Cloruros para hallar LOD y LOQ.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las cinco curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ($S_{interceptos}$) y el promedio de las pendientes (m_{prom}). Finalmente se aplicaron las ecuaciones correspondientes para establecer teóricamente los valores para el límite de detección instrumental (LDI), límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), los resultados se muestran en la tabla 55.

Tabla 55. Calculo del límite de detección (LOD) , el límite de cuantificación (LOQ) y límite de detección instrumental (LDI) para determinar cloruros.

PARAMETRO	Curva					S	Prom.	LDI	LOD	LOQ
	1	2	3	4	5					
Blanco (mgCl ⁻ /L)	1,9	1,9	1,66	1,66	1,66	0,131	1,76			
Pendiente	0,211	0,210	0,211	0,208	0,212	0,0015	0,210	0,21	0,26	0,87
Intercepto	-0,001	0,02	0,007	0,05	0,01	0,0183	0,015			

Los límites críticos se evaluaron en forma experimental preparando 3 réplicas de una solución al nivel del LOD establecido teóricamente (0,26 mg Cl⁻/L) y 3 réplicas al nivel del LOQ calculado (0,87 mg Cl⁻/L). Estas soluciones se analizaron de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Para la solución al LOD se determinó si el sistema instrumental brinda alguna respuesta generando los volúmenes presentados en la tabla 56, para el LOQ los volúmenes obtenidos se promediaron e interpolaron en la curva de calibración promedio obtenida en la tabla 55, con estos resultados se halla la precisión y la exactitud al LOQ como se muestra en la tabla 56.

Tabla 56. Resultados para la determinación experimental de LOD y LOQ para determinar Cloruros.

Límite _{teórico}	mL AgNO ₃ 0,01321N			Concentración Experimental	% R	% C.V
LOD 0,26mg Cl ⁻ /L	0,1	0,1	0,1	0, mg Cl ⁻ /L		
LOQ 0,87 mg Cl ⁻ /L	0,2	0,2	0,2	0.88mg Cl ⁻ /L	101,15	0%

Como se observa en la tabla 56, el sistema instrumental es lo suficientemente sensible para detectar carbonato al LOD, así como también brinda una exactitud y precisión adecuadas al LOQ.

5.2.2 Estandarización de la Metodología

Se utilizaron muestras de aguas potables (tratadas) provenientes de las Plantas de Tratamiento de El Tablazo y de Tulcán, además se tomaron muestras de aguas crudas (Sin tratamiento de potabilización) para verificar el cambio en las concentraciones del analito objeto de este estudio después del tratamiento en cada Acueducto. Todas las muestras, tanto crudas como tratadas se sometieron a la metodología descrita anteriormente.

Tabla 57. Especificaciones para cada muestra de agua.

Muestra	Tipo de Agua	Origen de la muestra (Lugar)
1	Cruda	Acueducto Tablazo (Cascada)
2	Cruda	Acueducto Tulcán (Cascada)
3	Tratada	Acueducto Tablazo (Tanques)
4	Tratada	Acueducto Tulcán /Tanques)

Para la estandarización de la metodología se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos.

Linealidad.

Correspondiente a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración de Cloruro de Sodio en agua destilada para la cuantificación de Cloruros en las muestras de agua.

Precisión y Exactitud.

Se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 58 y en la figura 13. Se determinó la precisión y exactitud por nivel de concentración en las curvas de calibración, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 59. Los % C. V obtenidos son iguales e inferiores al 5 % y los % R son adecuados (95%-105%) excepto para los dos primeros niveles. Esto se explica, ya que la concentración de cloruro es muy baja y es muy difícil percibir con exactitud el cambio de color de la solución.

Tabla 58. Curvas de calibración de Cloruros para interpolar muestras.

mg de Cl ⁻ /L	Volumen de AgNO ₃ 0,01321N (mL)				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,250	0,225	0,225	0,225	0,225
2	0,450	0,450	0,425	0,500	0,450
4	0,900	0,900	0,850	0,850	0,875
6	1,300	1,300	1,300	1,300	1,325
10	2,150	2,150	2,125	2,125	2,150
15	3,225	3,200	3,200	3,200	3,200
20	4,250	4,250	4,250	4,250	4,250

*incertidumbre en la medición del volumen S_{vol} : ± 0,025mL

Figura 13. Curvas de Calibración de Cloruros para interpolar muestras

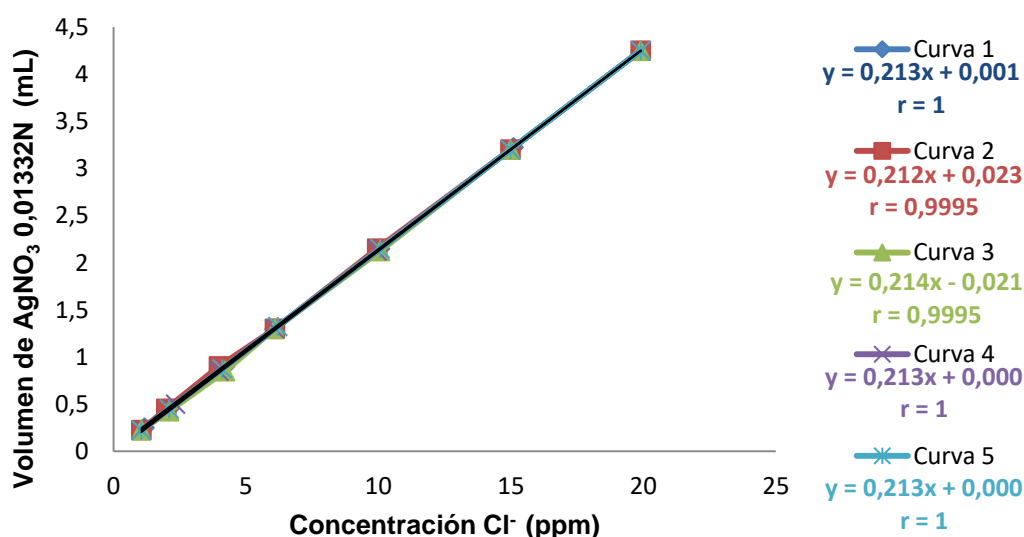


Tabla 59. Exactitud y precisión del método para determinar Cloruros.

Nivel	Precisión Intermedia		
	Desv. Est.	% C.V	% R _{prom}
N1	0,054	5,00	107,4
N2	0,129	6,06	106,3
N3	0,115	2,81	102,4
N4	0,053	0,86	101,8
N5	0,060	0,60	100,2
N6	0,054	0,36	100,0
N7	0,000	0,00	99,5

Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene), teniendo para ella como hipótesis nula que “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 60.

Tabla 60. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas para determinar Cloruros^(a).

		Estadístico de Levene	gl ₁	gl ₂	Sig.
% RECUPERACIÓN	Basándose en la media	5,879	5	24	0,001
	Basándose en la mediana.	0,845	5	24	0,532
	Basándose en la mediana y con gl corregido	0,845	5	4,294	0,578
	Basándose en la media recortada	4,196	5	24	0,007

a % Recuperación es una constante cuando Nivel de Concentración = 7,00 y se ha desestimado

Como se observa, la significancia estadística basándose en la media para el Estadístico de Levene es menor a 0,05, por lo que la prueba estadística es significativa y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración sí afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Por lo tanto para cada nivel de concentración se debe tener en cuenta su porcentaje de recuperación, siendo lógico puesto que a concentraciones bajas del ion cloruro es más difícil de detectar el cambio de color, además volúmenes pequeños son más difíciles de medir con el instrumento utilizado en este caso es la bureta.

Por otro lado la significancia estadística basándose en la mediana para el Estadístico de Levene es mayor a 0,05 (Sig = 0,532), por lo que la prueba estadística es no significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Esto permite calcular un % R_{prom} y un % C.V_{typ} para la metodología global. Los resultados se muestran en la tabla 61 (ver tabla A5).

Tabla 61. Exactitud y precisión para la metodología global para la determinación de Cloruros con base en la mediana.

	Nivel							R _{Prom}	Desvest	%CV
	1	2	3	4	5	6	7			
% R	105,0	105,0	102,5	101,3	100,6	99	99,5	101,8	2,44	2,40

Los % R obtenidos en base a la mediana y el %R promedio son aceptables, encontrándose dentro del intervalo normal (95%-105%), de igual forma los %CV son inferiores al 5%.

5.2.2.1. Resultados de Análisis de Cloruros en Muestras Acueducto Tablazo

Se realizó el análisis de las muestras provenientes de la planta de Tratamiento Acueducto sede Tablazo, por triplicado durante cinco días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Cloruros obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método obtenido en la prueba anterior. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 62.

Como se observa en la tabla 62 los % C.V para los dos tipos de muestras provenientes del Acueducto Tablazo son inferiores al 6 % para los análisis realizados el mismo día, es decir hay repetibilidad, siendo apropiado el método aplicado. La muestra Cruda presenta concentraciones bajas de Cloruros si se tiene en cuenta la norma (Resolución 2115)^[10].

Tabla 62. Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tablazo.

Muestra	Réplica	mg Cl ⁻ / L					Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5			
Cruda Tablazo	1	1,61	2,00	2,13	2,3	2,19	2,05	0,27	13,04
	2	1,73	2,00	2,13	2,19	2,3	2,07	0,22	10,57
	3	1,61	1,89	2,02	2,19	2,3	2,00	0,27	13,47
	Prom.	1,65	1,96	2,09	2,23	2,26			
	S	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06			
	%CV	4,20	3,23	3,03	2,85	2,81			
Tratada Tablazo (Tanques Acueducto)	1	4,14	3,97	3,97	4,15	4,15	4,08	0,10	2,38
	2	4,14	3,86	4,2	4,15	4,15	4,10	0,14	3,32
	3	4,14	3,97	4,2	4,15	4,15	4,12	0,09	2,14
	Prom.	4,14	3,93	4,12	4,15	4,15			
	S	0,00	0,06	0,13	0,00	0,00			
	%CV	0,00	1,61	3,22	0,00	0,00			

Los datos de Cloruros de la muestra Cruda tomadas en diferentes días, pero en el mismo sitio y a la misma hora, presentan coeficientes de variación altos (superior al 6%), por lo tanto hay variabilidad en los resultados durante los días del ensayo, indicando que hay fuentes alternas de entrada de cloruros al río Piedras probablemente por fuentes antrópicas aún cuando sus valores no representan peligro de contaminación para el consumo de acuerdo a la norma ^[10].

Para las muestras de agua Tratada provenientes de los tanques del Acueducto tablazo de la Ciudad de Popayán, se observa que tanto las muestras tomadas tanto el mismo día como para días diferentes presentan % C.V. bajos indicando que hay reproducibilidad del método y no hay variabilidad en la concentración de cloruros entre los días del ensayo, indicando que el tratamiento de potabilización es semejante al menos durante el tiempo del ensayo, sin producir cambios significativos en la concentración de cloruros, aspecto favorable para el bienestar del consumidor.

Para saber si existe diferencia significativa entre las concentraciones de cloruros entre las muestras durante los días del ensayo se aplica inicialmente la prueba de Normalidad de Shapiro - Wilk (Tabla 63) donde se observa que los datos no se ajustan a la normalidad (Sig <0,05).

Tabla 63. Prueba de normalidad para análisis de cloruros de muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo ^(a)

	Día	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Cloruros	1,00	,698	6	,006
	2,00	,723	6	,011
	3,00	,739	6	,016
	4,00	,701	6	,006
	5,00	,706	6	,007

a Corrección de la significación de Lilliefors

Como los datos no se ajustan a la normalidad, se aplica otra prueba no paramétrica como la de Kruskal Wallis considerando como variable de agrupación el tiempo (tabla 64) y se aprecia que no hay diferencia significativa (Sig = 0,309 > 0,05) en la concentración de Cloruros en función del tiempo. Es decir que hay repetibilidad.

Tabla 64. Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo - variable de agrupación: Día^(a)

	Cloruros	Sitio
Chi-cuadrado	4,795	,000
gl	4	4
Sig. asintót.	,309	1,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

Cuando se aplica la misma prueba pero tomando como variable de agrupación el sitio de muestreo, se aprecia que la concentración de Cloruros sí varía significativamente entre las muestras (sig = 0,000 < 0,05), siendo la concentración de cloruros superior en las muestras tratadas, este leve incremento se debe porque el tratamiento de potabilización utiliza Cloro gaseoso (Cl₂) como desinfectante, pero este incremento es muy bajo y no alcanza valores perjudiciales para el consumo, Los resultados se encuentran en la tabla 65.

Tabla 65. Estadísticos de contraste muestras provenientes de la Planta de Tratamiento El Tablazo- variable de agrupación: Sitio ^(a)

	Cloruros	Día
Chi-cuadrado	22,044	,000
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	1,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

5.2.2.2. Resultados de Análisis de Cloruros Muestras Acueducto Tulcán.

Igualmente se realizó el análisis de las muestras provenientes de la planta de Tratamiento Acueducto sede Tulcán, por triplicado durante cinco días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Cloruros obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método obtenido en la prueba anterior. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las tres muestras, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 66.

Como se observa en la tabla los % C.V para los dos tipos de muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán son inferiores al 6 % para los análisis realizados el mismo día, es decir hay repetibilidad, siendo apropiado el método aplicado. En días diferentes se obtienen %C.V. mayores al 6% solo para las muestras de agua Cruda, mostrando que hay variabilidad en los resultados

durante los días del ensayo, esto puede indicar que hay fuentes alternas de entrada de cloruros al río Molino probablemente por fuentes antrópicas, aún cuando hay variaciones, la concentración de cloruros es baja si se tiene en cuenta la norma (Resolución 2115) [10].

Tabla 66. Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tulcán.

Muestra	Réplica	mg Cl ⁻ / L					Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5			
Cruda Tulcán	1	2,65	3,16	3,28	3,11	3,23	3,09	0,25	8,17
	2	2,65	3,16	3,28	3,23	3,23	3,11	0,26	8,38
	3	2,65	3,16	3,28	3,23	3,23	3,11	0,26	8,38
	Prom.	2,65	3,16	3,28	3,19	3,23			
	S	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00			
	%CV	0,00	0,00	0,00	2,17	0,00			
Tratada Tulcán (Tanques Acueducto)	1	4,26	4,44	4,54	4,26	4,72	4,44	0,20	4,40
	2	4,38	4,44	4,54	4,26	4,72	4,47	0,17	3,88
	3	4,38	4,44	4,66	4,26	4,72	4,49	0,19	4,30
	Prom.	4,34	4,44	4,58	4,26	4,72			
	S	0,07	0,00	0,07	0,00	0,00			
	%CV	1,60	0,00	1,51	0,00	0,00			

Para la muestras de agua Tratada provenientes de los tanques de la Planta de Tratamiento Tulcán, se observa que tanto las muestras tomadas tanto el mismo día como para días diferentes presentan % C.V. bajos indicando que hay reproducibilidad del método y no hay variabilidad en la concentración de cloruros entre los días del ensayo, indicando que el tratamiento de potabilización es semejante al menos durante el tiempo del ensayo, sin producir cambios significativos en la concentración de cloruros, aspecto favorable para el bienestar del consumidor.

Con el propósito de saber si existe diferencia significativa entre las concentraciones de cloruros entre las muestras durante los días del ensayo se aplica inicialmente la prueba de Normalidad de Shapiro - Wilk (Tabla 67) donde se observa que los datos no se ajustan a la normalidad (Sig <0,05).

Tabla 67. Prueba de normalidad para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán.

	Dia	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Cloruros	1,00	,705	6	,007
	2,00	,683	6	,004
	3,00	,719	6	,010
	4,00	,726	6	,011
	5,00	,683	6	,004

Como los datos no se ajustan a la normalidad, se aplica otra prueba no paramétrica como la de Kruskal- Wallis considerando como variable de agrupación el tiempo (tabla 68) y se aprecia que no hay diferencia significativa (Sig = 0,260 > 0,05) en la concentración de Cloruros en función del tiempo. Es decir que hay repetibilidad.

Tabla 68. Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán - variable de agrupación: Día^(a)

	Cloruros	sitio
Chi-cuadrado	5,277	,000
gl	4	4
Sig. asintót.	,260	1,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

Cuando se aplica la misma prueba pero tomando como variable de agrupación el sitio de muestreo (tabla 69), se aprecia que la concentración de Cloruros sí varía significativamente entre las muestras (sig = 0,000 < 0,05), siendo la concentración de cloruros superior en las muestras tratadas, este incremento se debe como ya se explicó antes al tratamiento de potabilización que utiliza Cloro gaseoso (Cl₂) como desinfectante, pero este incremento es muy bajo y no alcanza valores perjudiciales para el consumo.

Tabla 69. Estadísticos de contraste para muestras provenientes de la Planta de Tratamiento Tulcán - variable de agrupación: Sitio^(a)

	Cloruros	Dia
Chi-cuadrado	22,029	,000
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	1,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

Se puede ver también que las muestras de la Planta Tulcán tienen concentraciones de cloruros un poco mayores que las muestras de la Planta Tablazo. Se observa además que el proceso de Cloración para la desinfección del agua aumenta la concentración del ion cloruro en las aguas potables de ambos acueductos, igualmente esta tendencia es más fuerte en la Planta Tulcán que en la Planta Tablazo.

De todas las consideraciones anteriores se puede deducir que el método para la determinación de Cloruros en muestras de aguas potables queda debidamente implementado.

5.2.3 Estandarización Intra-laboratorio

Los resultados obtenidos tanto para los patrones a través del método validado se compararon con los correspondientes al análisis realizado por otro analista (analista 2) en las mismas condiciones obteniendo los resultados presentados en la tabla 70 (ver anexo Tablas A6 y A7).

Tabla 70. Comparación de Datos entre Analistas 1 y 2 para análisis de Cloruros.

Muestra	Analista 1 *		Analista 2*	
	mg Cl ⁻ /L	% C.V	mg Cl ⁻ /L	% C.V
1	1,61	0	1,64	0
2	3,15	4,04	3,37	3,94
3	2,92	4,75	2,89	4,65
4	4,48	4,25	4,54	3,05

*resultados del análisis de las muestras por triplicado.

En la tabla 70 se reporta la estadística para las concentraciones promedio de las muestras obtenidas por los diferentes analistas durante el ensayo. En ambos casos se observa que los coeficientes de variación correspondientes a cada muestra son bajos (inferiores al 5%), lo cual significa que existe repetibilidad en las medidas durante este proceso, favoreciendo el desarrollo de la estandarización.

Para comprobar que no hay diferencia estadística significativa entre los dos análisis se aplica la prueba t para muestras relacionadas, teniendo en cuenta la siguiente hipótesis nula H_0 : Los métodos no proporcionan resultados significativamente diferentes para la concentración de Cloruros.

Como se observa en la tabla 71, el valor de $|t| = 1,970$, al nivel $P = 0,05$ para $gl = 11$ el valor crítico para el estadístico $|t|$ es de $2,2$ ^[46], puesto que el valor calculado

de $|t|$ es menor al valor crítico, no se rechaza la hipótesis nula. Por otro lado la significancia es mayor a 0,05 (Sig = 0,075), se llega a las mismas conclusiones: se acepta la hipótesis nula: Los dos análisis no difieren significativamente [27].

Tabla 71. Prueba t para datos obtenidos entre Analistas 1 y 2 en el análisis de Cloruros.

Par 1	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. bilateral
	Media	Desv. típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
analista interno – analista externo	0,0717	0,1260	,0364	-,0084	0,1518	1,970	11	0,075

De todas las consideraciones anteriores se puede deducir que el método para la determinación de Cloruros en muestras de aguas potables queda debidamente implementado y estandarizado.

5.3 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS

Para implementar el método Espectrofotométrico (colorimétrico) para la determinación de Fosfatos, es necesario inicialmente definir y estandarizar la curva de calibración, su linealidad y determinar los límites de detección y cuantificación del método.

El sistema instrumental empleado consistió en un espectrofotómetro Visible Genesys 20 equipado con celda de 1 cm de paso óptico de luz. La longitud de onda empleada fue de 660 nm.

5.3.1 Estandarización del Sistema Instrumental

La Estandarización del sistema instrumental descrito anteriormente se llevó a cabo con curvas de calibración de Fosfato monobásico de potasio anhidro (KH_2PO_4) en agua destilada. Se evaluó la linealidad, precisión en términos de precisión intermedia y límites críticos, para ello se aplicaron pruebas estadísticas.

En el desarrollo de la estandarización de la técnica espectrofotométrica para determinar Fosfato como Fósforo Reactivo Total (PRT), en aguas, se elabora un protocolo inicial que permita definir los parámetros analíticos precisión, exactitud,

linealidad, limite de detección, sensibilidad, y de esta forma evaluar la eficiencia del método.

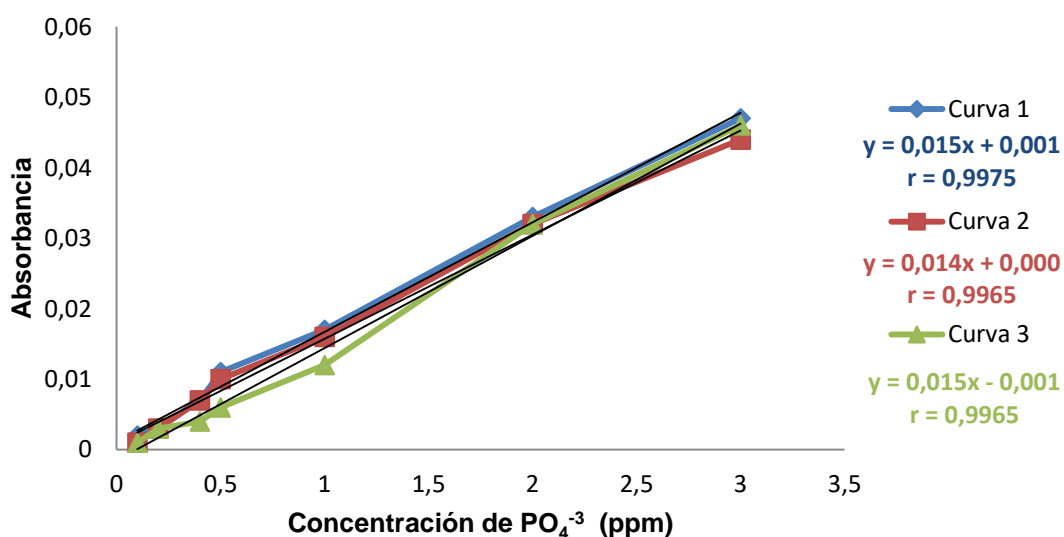
Las interferencias más comunes para el análisis son la turbidez en la muestra cruda, ésta se elimina por filtración previa al análisis.

Inicialmente se busca determinar el rango de concentraciones de Fosfato (mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$) adecuado para elaborar la curva de calibración, con base en los valores usualmente encontrados en aguas potables [35] y teniendo en cuenta la norma establecida por la ley [10]. Para ello se elige un rango comprendido entre 0,1 y 3 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$. Los resultados se presentan en la tabla 72 y Figura 14.

Tabla 72. Curva de calibración de Fosfatos (rango de 0,1 a 3 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$)

Concentración (mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$)	Absorbancia			Prom	Desv.	%CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
0,1	0,002	0,001	0,001	0,0013	0,00058	43,30
0,2	0,003	0,003	0,003	0,0030	0,00000	0,00
0,4	0,007	0,007	0,004	0,0060	0,00173	28,87
0,5	0,011	0,01	0,006	0,0090	0,00265	29,40
1	0,017	0,016	0,012	0,0150	0,00265	17,64
2	0,033	0,032	0,032	0,0323	0,00058	1,79
3	0,047	0,044	0,046	0,0457	0,00153	3,34

Figura 14. Curva de calibración de Fosfatos (Rango 0,1- 3 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$)



De acuerdo a la figura 14, se puede observar que los datos de la Absorbancia no se ajustan completamente a una línea recta, con un coeficiente de correlación de las tres curvas $r < 0.999$, Para niveles bajos de concentración se presentan %CV muy altos (superiores al 6%) lo que indica que no hay reproducibilidad. Por lo tanto, se redefine un nuevo rango de concentraciones entre 1 y 10 mg PO_4^{3-} /L en donde los CV son más bajos.

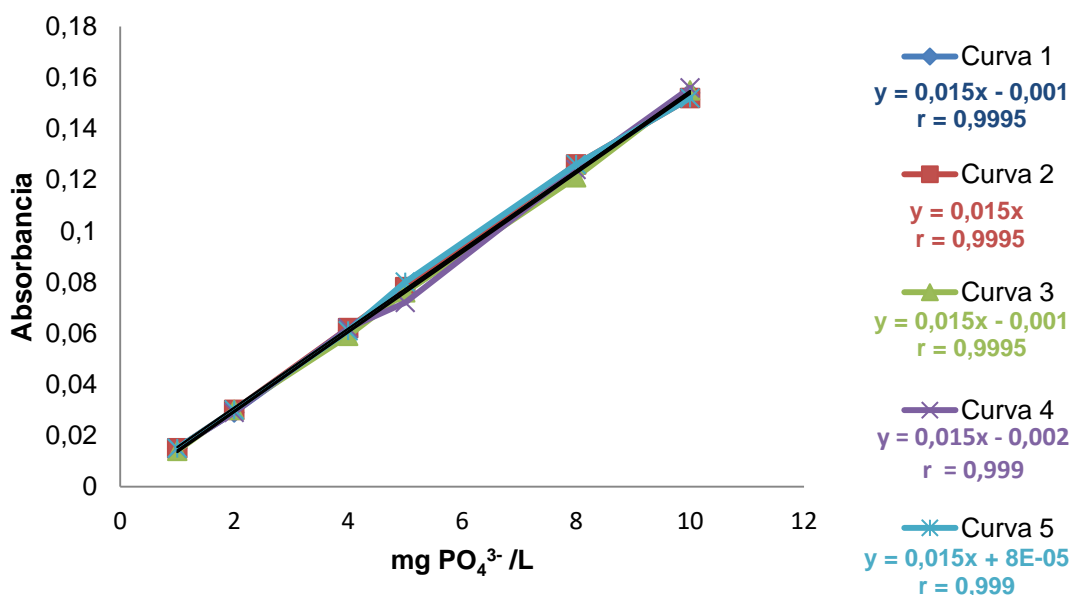
✓ Linealidad Instrumental

Se evaluó a 6 niveles de concentración durante 5 días diferentes. Se preparó una curva de calibración por día, la cual se sometió al método descrito en la metodología. Los resultados se presentan en la tabla 73 (ver también figura 15).

Tabla 73. Resultados para la evaluación de la linealidad instrumental en el análisis de fosfatos

mg PO_4^{3-} /L	Absorbancia				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,015	0,015	0,014	0,015	0,015
2	0,029	0,03	0,03	0,029	0,03
4	0,061	0,062	0,059	0,062	0,061
5	0,076	0,078	0,076	0,072	0,08
8	0,123	0,126	0,121	0,124	0,126
10	0,154	0,152	0,155	0,156	0,152

Figura 15. Curvas para la evaluación de linealidad Instrumental.



Se evaluó la normalidad de los datos aplicando el test de Shapiro-Wilk, encontrando que la mayoría de los resultados provienen de una población con distribución normal con una significancia estadística mayor a 0,05 (Tabla 74). La normalidad de estos resultados permitió aplicar pruebas paramétricas para su correspondiente análisis estadístico.

Tabla 74. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los resultados de linealidad instrumental para análisis de fosfatos.

	Nivel de Concentración	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Absorbancia	1,00	,552	5	,000
	2,00	,684	5	,006
	3,00	,833	5	,146
	4,00	,956	5	,777
	5,00	,910	5	,468
	6,00	,894	5	,377

* Este es un límite inferior de la significación verdadera.

La tendencia de los datos se evaluó a través de un gráfico relacionando Absorbancia respecto a la concentración de fosfato ($\text{mg PO}_4^{3-}/\text{L}$), las gráficas obtenidas se muestran en la figura 15, donde se observa la tendencia lineal de los resultados, por lo que se aplicó el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación lineal que relaciona la Concentración de Fosfato con la Absorbancia.

Se calcularon los valores para la pendiente, el intercepto, el coeficiente de correlación para cada curva y la correspondiente desviación estándar, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 75.

Tabla 75. Evaluación de la linealidad instrumental.

Parámetro	Símbolo	Valor
Coefficiente de Correlación	r	0,9993
Pendiente	b	0,0150
Intercepto	a	- 0,0008
Desviación Estándar para el intercepto	S_a	0,0000
Desviación Estándar para la pendiente	S_b	0,0006

El coeficiente de correlación se evaluó estadísticamente teniendo como hipótesis nula: “No existe correlación entre x e y”. Como se observa en la tabla 76 la prueba es significativa (Sig. = 0,000 < 0,05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa entre la concentración de Fosfatos y la respuesta brindada por el equipo (Absorbancia).

Tabla 76. Resultados obtenidos en la evaluación estadística del coeficiente de correlación de Pearson.

		Nivel de Concentración	Absorbancia
Nivel de Concentración	Correlación de Pearson	1	0,986(**)
	Sig. (bilateral)	.	0,000
	N	30	30
Absorbancia	Correlación de Pearson	0,986(**)	1
	Sig. (bilateral)	0,000	.
	N	30	00

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

En la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto se tienen las siguientes hipótesis: Para la pendiente se tiene como H_0 : “b no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05. Para el intercepto se tiene como H_0 : “a no es significativamente diferente de cero”, la cual se rechaza cuando la prueba estadística es significativa, es decir cuando sig. < 0,05.

Como se observa en la tabla 77, la significancia estadística para la pendiente es inferior a 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la pendiente es significativamente diferente de cero. Para el intercepto, la significancia de 0,128 es mayor a 0,05, por lo cual se debe aceptar la hipótesis nula y concluir que el intercepto no es significativamente diferente de cero.

Tabla 77. Resultados obtenidos en la evaluación estadística de la pendiente y el intercepto en la curva de calibración de fosfatos ^a.

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.	Intervalo de confianza para B al 95%	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	Intercepto	-0,001	0,001		-1,849	0,075	-0,002	0,000
	Pendiente	0,016	0,000	0,999	159,302	0,000	0,015	0,016

a Variable dependiente: Absorbancia

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se evaluó estadísticamente la regresión en la curva de calibración, los resultados se muestran en la Tabla 78.

Para evaluar la regresión se plantean las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula: “No hay regresión significativa en la curva de calibración ($r= 0$)”

Hipótesis alternativa: “Hay regresión significativa en la curva de calibración ($r\neq 0$)”.

Como se observa, la significancia para la regresión es menor a 0,05 (Sig = 0,000) por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, concluyendo que existe regresión significativa en la curva de calibración.

Tabla 78. Análisis de varianza para evaluar la regresión lineal en la curva de calibración de fosfatos^(a,b).

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	0,072	1	0,072	25377,162	0,000(a)
	Residual	0,000	28	0,000		
	Total	0,072	29			

a Variables predictoras: (Constante), Concentración

b Variable dependiente: Absorbancia

Los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas para la evaluación de linealidad permiten concluir que el método instrumental empleado es lineal en el rango entre 1 y 10 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$, con un coeficiente de correlación igual a 0,9993.

✓ Precisión Instrumental

Se evaluó bajo condiciones de repetibilidad (el mismo día) y precisión intermedia (días diferentes). En condiciones de repetibilidad se prepararon 5 curvas de calibración con 6 niveles de concentración, las cuales se analizaron el mismo día bajo las mismas condiciones. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 79.

En el ensayo de precisión intermedia se prepararon 5 curvas de calibración durante 5 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 80.

Tabla 79. Curvas de calibración bajo condiciones de Repetibilidad.

mg PO ₄ ⁻³ /L	Absorbancia				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
1	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
2	0,030	0,029	0,030	0,029	0,029
4	0,061	0,061	0,062	0,060	0,061
5	0,077	0,076	0,078	0,074	0,074
8	0,123	0,121	0,122	0,121	0,122
10	0,152	0,153	0,152	0,150	0,152

Tabla 80. Curvas de calibración bajo condiciones de Precisión Intermedia.

mg PO ₄ ⁻³ /L	Absorbancia				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
1	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
2	0,029	0,03	0,029	0,03	0,031
4	0,061	0,061	0,062	0,061	0,062
5	0,076	0,077	0,077	0,072	0,078
8	0,123	0,126	0,122	0,124	0,128
10	0,154	0,152	0,156	0,158	0,155

Se calculó el Porcentaje de Coeficiente de Variación (% C.V) por nivel de concentración bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la tabla 81.

Como se observa en la tabla 81 los % C.V son bajos al ser inferiores al 6 %. Sin embargo, se observa una leve variabilidad en los resultados obtenidos en días diferentes (precisión intermedia) respecto a los obtenidos el mismo día (repetibilidad), esto se debe como ya se mencionó antes a la preparación diaria de las curvas de calibración y a errores aleatorios del analista.

Tabla 81. Precisión instrumental bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia.

Nivel	Repetibilidad		Precisión Intermedia	
	Desv. Est.	% C.V	Desv. Est.	% C.V
N1	0,000	0,00	0,000	0,00
N2	0,001	1,86	0,001	2,81
N3	0,001	1,16	0,001	0,89
N4	0,002	2,36	0,002	3,09
N5	0,001	0,69	0,002	1,93
N6	0,001	0,72	0,002	1,44

✓ Límites Críticos

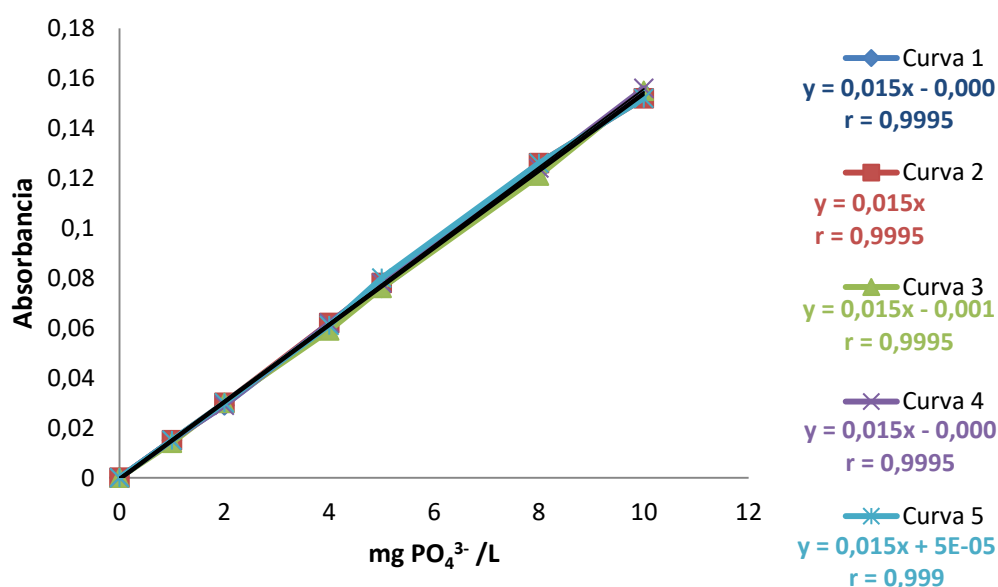
Los límites de detección y cuantificación se determinaron teóricamente aplicando el método sugerido por la IUPAC [24, 25, 26]. Se prepararon 5 curvas de calibración las cuales se analizaron el mismo día, bajo las mismas condiciones (resultados en Tabla 82).

Con los resultados obtenidos se elaboró un grafico que relaciona la absorbancia y la concentración de Fosfatos (mg PO₄³⁻/L), el cual se ilustra en la Figura 16.

Tabla 82. Datos de las curvas de calibración de Fosfato para la determinación de límites críticos.

mg de PO ₄ ³⁻ /L	Absorbancia				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
0	0	0	0	0	0
1	0,015	0,015	0,014	0,015	0,015
2	0,029	0,03	0,03	0,029	0,03
4	0,061	0,062	0,059	0,062	0,061
5	0,076	0,078	0,076	0,078	0,08
8	0,123	0,126	0,121	0,124	0,126
10	0,154	0,152	0,155	0,156	0,152

Figura 16. Curvas de Calibración de Fosfato para hallar LOD y LOQ.



Seguidamente, se calculó mediante el método de mínimos cuadrados la ecuación de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las cinco curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ($S_{\text{interceptos}}$) y el promedio de las pendientes (m_{prom}). Finalmente se aplicaron las ecuaciones para establecer teóricamente los valores para el límite de detección instrumental, el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) de la metodología, los resultados se muestran en la tabla 83.

Tabla 83. Calculo del límite de detección instrumental (LDI), límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ).

PARAMETRO	Curva					S_{Interc}	m promedio	LDI	LOD	LOQ
	1	2	3	4	5					
Blanco	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
Pendiente	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015		0,015	0,0	0,12	0,40
Intercepto	-0,001	0	-0,001	-0,001	8,00E-05	0,0006				

Los límites críticos determinados teóricamente se evaluaron en forma experimental preparando 3 réplicas de una solución al nivel del LOD establecido teóricamente (0,12 mg PO_4^{3-} /L) y 5 réplicas al nivel del LOQ calculado (0,40 mg PO_4^{3-} /L). Estas soluciones se analizaron de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Para la solución al LOD se determinó si el sistema instrumental brinda alguna respuesta generando las absorbancias presentadas en la tabla 85, para el LOQ las absorbancias se promediaron e interpolaron en una curva de calibración promedio de las curvas preparadas para hallar estos límites (tabla 83), con estos resultados se halla la precisión y la exactitud al LOQ como se muestra en la tabla 84.

Tabla 84. Resultados para la determinación experimental de LOD y LOQ.

Límite teórico	Absorbancia					Concentración Experimental	% R	% C.V
LOD 0,12 mg PO_4^{3-} /L	0,001	0,000	0,001					
LOQ 0,4 mg PO_4^{3-} /L	0,007	0,007	0,007	0,006	0,007	0,41mg mg PO_4^{3-} /L	103,2	7,15%

Como se observa en la tabla 84 el sistema instrumental es lo suficientemente sensible para detectar fosfato al LOD, pero brinda una exactitud y precisión adecuadas al LOQ.

5.3.2 Estandarización de la Metodología

Se utilizaron muestras de aguas potables (tratadas) provenientes de las Plantas de Tratamiento de El Tablazo y de Tulcán, además se tomaron muestras de aguas crudas (Sin tratamiento de potabilización) para verificar el cambio en las concentraciones del analito a analizar después del tratamiento en cada Acueducto. Todas las muestras, tanto crudas como tratadas se sometieron a la metodología anteriormente descrita.

Tabla 85. Especificaciones para cada muestra de agua.

Muestra	Tipo de Agua	Origen de la muestra (Lugar)
1	Cruda	Acueducto Tablazo (cascada)
2	Cruda	Acueducto Tablazo (cascada)
3	Tratada	Acueducto Tablazo (Tanques)
4	Tratada	Acueducto Tablazo (Tanques)
5	Cruda	Acueducto Tulcán (cascada)
6	Cruda	Acueducto Tulcán (cascada)
7	Tratada	Acueducto Tulcán (Tanques)
8	Tratada	Acueducto Tulcán (Tanques)

Para la estandarización de la metodología se evaluaron los parámetros linealidad, exactitud, precisión y límites críticos.

Linealidad.

Correspondiente a la linealidad instrumental, por lo que se emplearon curvas de calibración de Fosfato mono potásico anhidro KH_2PO_4 en agua destilada para la cuantificación de Fosfatos en las muestras de agua.

Precisión y Exactitud.

Se prepararon 5 curvas de calibración durante 4 días diferentes, una curva de calibración por día, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 86 y en la figura 17. Se determinó la precisión y exactitud por nivel de concentración en las curvas de calibración, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 87. Los % C. V obtenidos son iguales e inferiores al 5 % y los % R son adecuados (95%-105%).

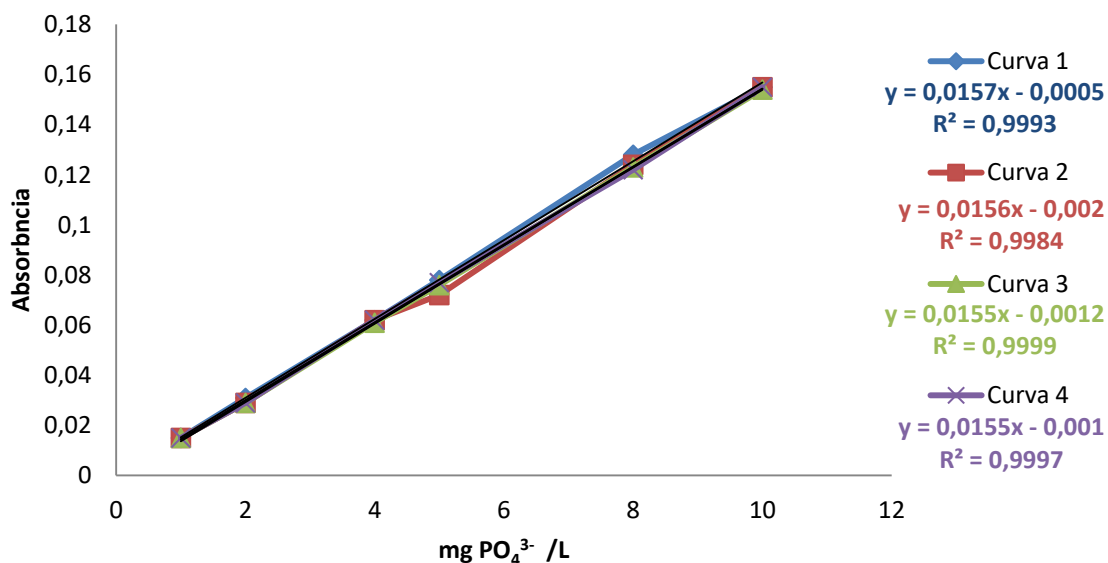
Tabla 86. Curvas de calibración de Fosfato para interpolar muestras

mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$	Absorbancia			
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
1	0,015	0,015	0,015	0,015
2	0,031	0,029	0,029	0,029
4	0,062	0,062	0,061	0,062
5	0,078	0,072	0,076	0,077
8	0,128	0,124	0,123	0,122
10	0,155	0,155	0,154	0,155

Tabla 87. Exactitud y precisión del método para la determinación de Fosfato.

Nivel	Precisión Intermedia		
	DESV. EST	% C.V	% R_{prom}
N1	0,03	3,44	101,75
N2	0,06	3,17	99,00
N3	0,05	1,29	103,31
N4	0,14	2,80	101,35
N5	0,18	2,12	103,72
N6	0,05	0,51	103,33

Figura 17. Curvas de Calibración de Fosfato para interpolar muestras



Con el fin de determinar la exactitud y precisión para la metodología global se aplicó la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de

Levene), teniendo para ella como hipótesis nula que “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 88.

Tabla 88. Prueba estadística de homogeneidad de varianzas determinar Exactitud y precisión en para la determinación de Fosfato.

		Estadístico de Levene	gl ₁	gl ₂	Sig.
% RECUPERACIÓN	Basándose en la media	2,089	5	18	0,114
	Basándose en la mediana.	0,737	5	18	0,606
	Basándose en la mediana y con gl corregido	0,737	5	7,379	0,618
	Basándose en la media recortada	1,826	5	18	0,158

Como se observa en la tabla 88, la significancia estadística basándose en la media para el Estadístico de Levene es mayor a 0,05 (0,114), por lo que la prueba estadística es no significativa y por tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Esto permite calcular un %R_{prom} (al 95% de confianza) y un %CV_{typ} para la metodología global, así como también el intervalo de confianza para el %R_{prom}, los resultados se muestran en la tabla 89.

Tabla 89. Exactitud y precisión para la metodología global

% R _{prom}	Intervalo de Confianza		% C.V _{typ}
	% R – sz/√n	% R + sz/√n	
102,08	98,49	105,67	1,75

Los % R obtenidos en base a la media y el %R promedio son aceptables, encontrándose dentro del intervalo normal (95%-105%), de igual forma los %CV son inferiores al 5%.

5.3.2.1 Análisis de muestras Acueducto Tablazo

Se realizó el análisis de las muestras por triplicado durante cuatro días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Fosfatos para cada muestra teniendo en cuenta

el % R del método obtenido en la prueba anterior. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las tres muestras, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 90.

Las muestras analizadas presentan valores de P inferiores al límite de Cuantificación y en algunos casos inclusive por debajo del límite de detección del método estandarizado, por esto se observan coeficientes de variación tan altos en las muestras. Por lo tanto, tanto el método estandarizado no es útil para la cuantificación de Fosfatos en agua potables del Acueducto en mención cuando la concentración de Fosfato sea inferior a 0.4 mg de PO_4^{-3}/L . Pero se puede afirmar que el agua tratada en este acueducto cumple con la norma establecida.

Tabla 90. Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tablazo

Muestra	Réplica	mg PO_4^{-3}/L				Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4			
Cruda 1	1	0,065	0,13	0,392	0,256	0,211	0,14	68,58
	2	0,13	0,13	0,256	0,196	0,178	0,06	34,04
	3	0,065	0,196	0,196	0,196	0,163	0,07	40,12
	Prom.	0,09	0,15	0,28	0,22			
	S	0,04	0,04	0,10	0,03			
	%CV	43,30	25,07	35,70	16,04			
Cruda 2	1	0,13	0,065	0,196	0,196	0,147	0,06	42,76
	2	0,13	0,065	0,196	0,256	0,162	0,08	51,01
	3	0,065	0,196	0,196	0,256	0,178	0,08	45,23
	Prom.	0,108	0,109	0,196	0,236			
	S	0,04	0,08	0,00	0,03			
	%CV	34,64	69,60	0,00	14,68			
Tratada 1	1	0,13	0,065	0,13	0,33	0,164	0,11	70,22
	2	0,13	0,065	0,13	0,33	0,164	0,11	70,22
	3	0,13	0,065	0,196	0,33	0,180	0,11	62,83
	Prom.	0,130	0,065	0,152	0,330			
	S	0,0	0,0	0,0	0,0			
	%CV	0,0	0,0	25,1	0,0			
Tratada 2	1	0,13	0,065	0,13	0,33	0,164	0,11	70,22
	2	0,196	0,065	0,196	0,33	0,197	0,11	54,99
	3	0,196	0,065	0,196	0,392	0,212	0,13	63,51
	Prom.	0,174	0,065	0,174	0,351			
	S	0,04	0,00	0,04	0,04			
	%CV	21,90	0,00	21,90	10,21			

5.3.2.2 Análisis de muestras Acueducto Tulcán

Se realizó el análisis de las muestras por triplicado durante cuatro días diferentes, se preparó una curva de calibración por día y los resultados obtenidos para las muestras se interpolaron en la curva de calibración correspondiente. Se realizó la corrección en la concentración de Fosfatos para cada muestra teniendo en cuenta el % R del método obtenido en la prueba anterior. Se determinó la precisión en términos del % C.V para cada una de las tres muestras, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 91.

Tabla 91. Datos obtenidos para las muestras de agua correspondiente a las Plantas de Tratamiento Acueducto sede Tulcan.

Muestra	Réplica	mg PO ₄ ⁻³ /L				Prom	S	%CV
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4			
Cruda Tulcán 1	1	0,065	0,065	0,065	0,13	0,081	0,03	40,00
	2	0,065	0,065	-	0,196	0,109	0,08	69,60
	3	0,065	0,065	0,065	0,13	0,081	0,03	40,00
	S	0,00	0,00	0,00	0,04			
	%CV	0,00	0,00	0,00	25,07			
Cruda Tulcán 2	1	0,065	0,065	-	0,13	0,087	0,04	43,30
	2	0,065	0,065	-	0,13	0,087	0,04	43,30
	3	0,065	0,065	-	0,13	0,087	0,04	43,30
	S	0,00	0,00	-	0,00			
	%CV	0,00	0,00	-	0,00			
Tratada Tulcán 1	1	0,065	0,065	-	0,13	0,087	0,04	43,3
	2	0,065	0,065	-	0,196	0,109	0,08	69,60
	3	0,065	0,065	0,065	0,196	0,098	0,07	67,01
	S	0,00	0,00	-	0,04			
	%CV	0,00	0,00	-	21,90			
Tratada Tulcán 2	1	0,13	0,065	0,065	0,196	0,114	0,06	54,97
	2	0,065	0,065	0,065	0,196	0,098	0,07	67,01
	3	0,065	0,065	0,065	0,196	0,098	0,07	67,01
	S	0,04	0,00	0,00	0,00			
	%CV	43,30	0,00	0,00	0,00			

Las muestras analizadas de la planta de tratamiento Tulcán, al igual que las muestras de la Planta de Tratamiento El Tablazo presentan valores de PO_4^{3-} inferiores al límite de Cuantificación y en algunos casos inclusive por debajo del límite de detección del método estandarizado, por esto se observan coeficientes de variación tan altos en las muestras

Por lo tanto, tanto el método estandarizado no es útil para la cuantificación de Fosfatos en agua potables del Acueducto en mención cuando la concentración de Fosfato sea inferior a 0,4 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$. Pero se puede afirmar que el agua tratada en ambos acueductos de la ciudad de Popayán cumple con la norma establecida para este parámetro^[10].

5.3.3 Estandarización Intra-laboratorio

Dado que las muestras presentan concentraciones de Fosfatos por debajo del límite de cuantificación del método, la estandarización intralaboratorio se llevó a cabo utilizando patrones los cuáles se sometieron al método estandarizado. Los resultados de los análisis se compararon con los resultados obtenidos por otro analista (analista 2) en las mismas condiciones, , obteniendo los resultados presentados en la tabla 92 (ver anexo Tablas A8 y A9).

Tabla 92. Comparación de Datos entre Analistas 1 y 2 para análisis de Fosfatos.

mg $\text{PO}_4^{3-} / \text{L}$	Analista 1 *		Analista 2*	
	Absorbancia	% C.V	Absorbancia	% C.V
1	0,014	4,03	0,015	0,00
2	0,030	1,95	0,029	1,97
4	0,060	2,89	0,061	0,95
5	0,076	0,76	0,073	1,57
8	0,121	0,48	0,121	0,48
10	0,155	0,37	0,156	0,38

*resultados promedio del análisis de los patrones por triplicado.

En las tablas 92 se reporta las absorbancias promedio para cada nivel de concentración de fosfato obtenidas por los diferentes analistas durante el ensayo. En ambos casos se observa que los coeficientes de variación correspondientes para cada nivel son bajos (inferiores al 5%), lo cual significa que existe

repetibilidad en las medidas durante este proceso, favoreciendo el desarrollo de la estandarización.

Para comprobar que no hay diferencia estadística significativa entre los dos análisis se aplica la prueba t para muestras relacionadas, teniendo en cuenta las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula H_0 : Los análisis no proporcionan resultados significativamente diferentes para la cuantificación de fosfatos.

Hipótesis alternativa H_a : Los análisis proporcionan resultados significativamente diferentes para la cuantificación de fosfatos.

Como se observa en la tabla 93, el valor de $|t| = 1,104$, al nivel $P = 0,05$ para $gl = 17$ el valor crítico para el estadístico $|t|$ es de 2,1 [46]. Puesto que el valor calculado de $|t|$ es menor al valor crítico, no se rechaza la hipótesis nula. Por otro lado con una significancia de 0,285 que es mayor a 0,05, se llega a las mismas conclusiones: se acepta la hipótesis nula: Los dos análisis no difieren significativamente [27].

Tabla 93 Prueba t para comparar resultados obtenidos por analista 1 y 2 en la determinación de fosfato.

Par 1	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. bilateral
	Media	Desv. típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
analista 1– analista 2	0,00861	0,033068	0,007794	-0,00784	0,02505	1,104	17	0,285

De todas las consideraciones anteriores se puede deducir que el método para la determinación de Fosfatos en muestras de aguas potables queda debidamente implementado y estandarizado.

5.4 RESUMEN DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE LOS TRES MÉTODOS

En la tabla 94 se resumen las figuras de mérito analíticas de los tres métodos validados

Tabla 94. Resumen de la validación para cada uno de los tres métodos implementados y validados.

Metodología	LDI	LOD	LOQ	Linealidad	Sensibilidad	% R	%C.V
Alcalinidad Total (mg Na₂CO₃ /L	0,37	0,33	1,09	0,9998	0,092	99,06	1,76
Cloruros mg Cl⁻/L	0,21	0,26	0,87	0,9995	0,21	101,8	2,40
Fosfatos mg PO₄³⁻ /L	0,0	0,12	0,4	0,9993	0,015	102,08	1,75

6 CONCLUSIONES

Se logró implementar y estandarizar el Método Volumétrico para la Determinación de Alcalinidad Total en aguas Potables de los Acueductos El Tablazo y Tulcan del Municipio de Popayán, siendo lineal en el rango 5 a 100 mg/L de Na_2CO_3 con un coeficiente de correlación $r = 0,9999$. Preciso con % C.V de 1,76, exacto con un % R para la metodología global de 99,06 y suficientemente sensible con LDI, LOD y LOQ de 0,37 mg Na_2CO_3 /L, 0,33 mg Na_2CO_3 /L y 1,09 mg Na_2CO_3 /L. respectivamente.

El Río Piedras que surte al Acueducto El Tablazo presenta valores de alcalinidad Total de 33,24 mg CaCO_3 /L, mientras que el valor de alcalinidad total para El Río Molino que surte al Acueducto Tulcan presenta valores de alcalinidad Total de 21,09 mg CaCO_3 /L, en ambos casos los valores son bajos, de acuerdo a la norma (< 200 mg CaCO_3 /L)

El tratamiento en el acueducto El Tablazo y Tulcán es efectivo para disminuir la alcalinidad que llega del río Piedras y Molino respectivamente, quedando así el agua potable para consumo humano desde el punto de vista de este parámetro.

No hay variabilidad en los datos de alcalinidad de cada sitio, mostrando reproducibilidad del método, además de que no se presenta contaminación por esta variable en la red de distribución.

La estandarización intralaboratorio no proporciona resultados significativamente diferentes para la concentración de carbonatos, y con las pruebas realizadas anteriormente se puede deducir que el método para la determinación de Alcalinidad Total en muestras de aguas potables queda debidamente implementado y validado.

Se logró implementar y estandarizar el Método Volumétrico (Argentométrico) para la Determinación de Cloruros en aguas Potables de los Acueductos El Tablazo y Tulcan del Municipio de Popayán, siendo lineal en el rango 1 a 20 mg Cl^- /L con un coeficiente de correlación $r = 0,9995$. Preciso con % C.V de 2,40%, exacto con un % R para la metodología global de 101,8% y suficientemente sensible con LDI, LOD y LOQ de 0,21 mg Cl^- /L , 0,26 mg Cl^- /L y 0,87 mg Cl^- /L . respectivamente.

El Río Piedras que surte al Acueducto El Tablazo presenta concentraciones de Cloruros alrededor de los 2,05 mg Cl⁻/L , mientras que para El Río Molino que surte al Acueducto Tulcán presenta concentraciones de Cloruros alrededor de los 3,1 mg Cl⁻/L, en ambos casos los valores son bajos, de acuerdo a la norma (< 250 mg mg Cl⁻/L)

Las muestras tratadas de ambos acueductos, presentan concentraciones bajas de Cloruros (entre 4,1 y 4,5 mg Cl⁻/L aproximadamente) , cumpliendo con la norma establecida que indica que la concentración máxima admisible de cloruros en aguas potables es de 250mg Cl⁻ /L.

La variabilidad en la concentración de cloruros en las muestras de aguas crudas durante los días del ensayo puede indicar, que hay fuentes alternas de entrada de cloruros al río Piedras y Molino probablemente por fuentes antrópicas aún cuando sus valores no representan peligro de contaminación para el consumo de acuerdo a la norma ^[10].

Las muestras de aguas Tratadas provenientes de los tanques de ambos Acueductos de la Ciudad de Popayán, presentaron % C.V. bajos indicando que hay reproducibilidad del método y que no hay variabilidad en la concentración de cloruros entre los días del ensayo, indicando que el tratamiento de potabilización es semejante al menos durante el tiempo del ensayo, sin producir cambios significativos en la concentración de cloruros, aspecto favorable para el bienestar del consumidor.

La estandarización intralaboratorio proporcionó resultados que permiten afirmar que existe una buena repetibilidad en las medidas durante este proceso, favoreciendo el desarrollo de la estandarización, y con las pruebas realizadas anteriormente se puede deducir que el método para la determinación de Cloruros en muestras de aguas potables queda debidamente implementado y validado.

Se logró implementar y estandarizar el Método Espectrofotométrico (colorimétrico) para la Determinación de Fosfatos, siendo lineal en el rango 1 a 10 mg PO₄³⁻/L con un coeficiente de correlación $r = 0,9993$. Preciso con % C.V de 1,75%, exacto con un % R para la metodología global de 102,08 y suficientemente sensible con LDI, LOD y LOQ de 0,00 mg PO₄³⁻/L, 0,12 mg PO₄³⁻/L y 0,4 mg PO₄³⁻/L respectivamente.

Las muestras analizadas presentan valores de Fosfato inferiores al límite de Cuantificación y en algunos casos inclusive por debajo del límite de detección del método. Por lo tanto, el método estandarizado no es útil para la cuantificación de Fosfatos en agua potables de los Acueductos de la Ciudad de Popayán cuando la concentración de Fosfato presente en las mismas sea inferior a 0,4 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$ (por encima de este valor si es cuantificable).

Se encontró que las concentraciones de Fosfato en las muestras tanto crudas como tratadas de ambos Acueductos no superan los 0,4 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$ cumpliendo así con la normatividad colombiana, que establece que esta sustancia no debe sobrepasar los 0,5. mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$ [10].

Se logró la implementación y estandarización de los métodos analíticos: Volumetría para la determinación de la Alcalinidad Total, Argentometría para Cloruros y Espectrofotometría (Colorimetría) para la determinación de Fosfatos.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. CENTRO PANAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y CIENCIAS DEL AMBIENTE. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas. Lima. 2002. 452p.
- [2]. FRANQUET. B. J., Agua Que No Has De Beber. 60 Respuestas Al Plan Hidrológico Nacional.<<http://www.eumed.net/libros/2005/jmfb-h/1A.htm>> [citado en Febrero 4 de 2009].
- [3]. Proyecto Bio-Regional De Educación Ambiental A.C. <<http://www.sdnhm.org/education/binational/curriculums/agua/act1ante.html> > [citado en febrero 6 de 2009].
- [4]. GRIMALT Angel. Propiedades Físicas Y Químicas Del Agua. Revista Ciencias.Com. < <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EpZkApuEuVGsDBwUPW.php> > [citado en febrero 5 de 2009].
- [5]. Molécula del agua <[http://es.wikipedia.org/wiki/Agua_\(mol%C3%A9cula\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Agua_(mol%C3%A9cula))> [citado en febrero 5 de 2009].
- [6]. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. República de Colombia. Decreto No 1575 de 2007.
- [7]. Botanical online. <<http://www.botanical-online.com/aguatipos.htm>> [citado en Febrero 4 de 2009].
- [8]. El control de la calidad del agua.<http://www.aguacam.com/materiales/pdf/aguamediterraneo/el_control_de_calidad_del_agua.pdf> > [citado en Diciembre 7 de 2009].
- [9]. Ministerio de Medio Ambiente-Gobierno de España. < http://potablewater-iespana.es/calidad_del_agua.htm> [citado en Enero 29 de 2009].
- [10]. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 de 2007.
- [11]. HARRIS, Daniel. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 1992. 886p.

- [12]. Juan José. Titulación ácido – base . laboratorio de química <http://labquimica.wordpress.com/category/lab/page/2/> >. [citado en febrero 9 de 2009].
- [13]. Red de Monitoreo Ambiental Participativo de Sistemas Acuáticos MAPSA. Determinación de alcalinidad total. 2007 [en línea] < http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/alcalinidad.pdf > [Citado en Diciembre 7 de 2009].
- [14]. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA) – AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA) - WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz De Santos. 1ª Edición. España. 1992.1816p
- [15]. EPA. Total Alkalinity . Volunteer Stream Monitoring: A Methods Manual.2006 <http://www.epa.gov/owow/monitoring/volunteer/stream/vms510.html>
- [16] Hanna Instruments. Test de alcalinidad <http://www.hannaarg.com/productos/Catalogo/Test-kits/Otros/m_3811.pdf> [citado en febrero 5 de 2009].
- [17]. Hanna Instruments. Test de alcalinidad total. <http://www.hannainst.es/catalogo/fichas/m_38014.pdf> [citado en febrero 9 de 2009].
- [18]. UNIVERSIDAD DISRTITAL. Calidad de Aguas. Capítulo 12: Cloruros. http://atenea.udistrital.edu.co/grupos/fluoreciencia/capitulos_fluoreciencia/calaguas_cap12.pdf.
- [19]. SKOOG, D. Principios De Análisis Instrumental. 5ª Edición. Editorial Mcgraw Hill. España. 2001
- [20]. Instituto De Hidrología, Meteorología Y Estudios Ambientales IDEAM. Protocolos Para Análisis De Aguas. Fósforo: Método Del Ácido Ascórbico.
- [21]. Técnicas De Análisis Para Determinar Fosfatos En Muestras De Agua < <http://www.xtec.net/~gjimene2/licencia/students/05tecnicas.html>> [citado en febrero 10 de 2009].
- [22]. Secretaría De Economía DGN. Norma Mexicana NMX-AA-029-SCFI-2001. Análisis De Aguas - Determinación De Fósforo Total En Aguas Naturales, Residuales Y Residuales Tratadas - Método De Prueba.
- [23]. SÁNCHEZ DE FUENTES, J. El fosforo, parámetro critico de calidad de agua: técnicas analíticas y de muestreo. XXVII Congreso Interamericano de

Ingeniería Sanitaria y Ambiental. ABES - Asociación Brasileira de Ingeniería Sanitaria y Ambiental.

[24]. SWARTZ, Michael. Analytical Method Development and Validation. 1a edición. CRC Press. New York. 1997.

[25]. UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). Validation of Compendial Methods. USP Capítulo. [en línea]: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1225.html. [citado en Diciembre 9 de 2009].

[26]. McNAUGHT, A.D., WILKINSON, A. , IUPAC. Compendium Of Chemical Terminology, 2nd Ed. (The "Gold Book").. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). [en línea]: <http://goldbook.iupac.org/L03540.html> [citado en febrero 9 de 2009].

[27]. Miller, J., Miller, J. Estadística Y Quimiometría Para Química Analítica. 4ª Edición. Editorial Prentice Hall. España. 2000. 278p.

[28]. IDEAM. Programa de Fisicoquímica Ambiental. Protocolo estandarización de métodos analíticos. Bogotá, 1999. 10 p

[29]. CASTILLO A., Beatriz, GONZÁLEZ H., Rolando. Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la cuantificación de Fármacos. Revista Cubana de Farmacología.

[30]. Guia De Validación De Metodos Analiticos.
<http://www.ministeriodesalud.go.cr/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>
[citado en febrero 9 de 2009].

[31]. CISNEROS ORDOÑEZ, W. A., Validación de métodos analíticos para la determinación de: demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), sulfatos y nitratos en aguas superficiales en el laboratorio ambiental de la CRC. Universidad del Cauca. Departamento de Química. 2006.

[32]. Pruebas No Paramétricas. [en línea]: http://www.uclm.es/actividades0708/cursos/estadistica/pdf/descargas/SPSS_PruebasNoParametricas.pdf. [citado en Diciembre 6 de 2009].

[33]. Coeficiente de correlación de Pearson. [en línea]: http://es.wikipedia.org/wiki/Coeficiente_de_correlaci%C3%B3n_de_Pearson. [citado en Diciembre 6 de 2009].

- [34]. Coeficiente de correlación de Spearman. [en línea]: http://es.wikipedia.org/wiki/Coeficiente_de_correlaci%C3%B3n_de_Spearman. [citado en Diciembre 6 de 2009].
- [35]. Instituto nacional de Salud INS. Laboratorio Red Salud Ambiental. Análisis de Agua para consumo Humano. División de Biblioteca y Publicaciones INS. Bogotá. 1999.
- [36]. Bravo, I., Giraldo, E. Manual de Prácticas de Química Agrícola: Análisis de Suelos. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la educación. Departamento de Química. Popayán. 2003
- [37]. DE SOUSA, Cristina , COLMENARES María Cristina, CORREIA Angelina. Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control. Boletín Malariología y Salud Ambiental V.48 N.1 Maracay jun. 2008.
- [38]. SAWYER C., McCARTY P., PARKIN G. Química para Ingeniería Ambiental. 4ª ed. McGraw-Hill Interamericana, S. A. Bogotá, Colombia. 2001.
- [39]. El agua potable. Cloración : Absorción y neutralización del cloro en caso de fugas. [en línea]: <http://Fortunecy.es/felices/andorra/51/cloraci3n1.htm#Reacciones%20del%20cloro%20el%20agua>. [citado en Diciembre 6 de 2009].
- [40]. SMITH, M., Rudd DR. The importance of proper validation of the analytical methods employed in the quality control of pharmaceuticals. Acta Pharm Jugosl 1990;40:7-19.
- [41]. CAMACHO, MA, Torres AI, Gil ME, Obreg3n MM, Ruz V. Validation protocol of analytical methods for finished pharmaceutical products. ATP Pharma Practique 1993;3(3):197-202
- [42]. TORRES AI, Camacho MA. Validation of two analytical methods applied to two new cytostatic drugs. STP Pharma Practique 1992;2(2):93-9.
- [43]. MERCK. Reactivos - Productos Químicos. 1999-2000.
- [44]. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACION. Documentación, Presentación de Tesis, Trabajos de Grado y Otros Trabajos de Investigación. Con la reforma 1486. 5ed. Bogotá: ICONTEC. 2009. 114p
- [46]. DE LA HORRA N, Julián. Estadística Aplicada. 3ª Ed. Díaz de Santos. Madrid. España. 2003. 357p

ANEXOS

Tabla A1. Datos Curvas de calibración para interpolar muestras y hallar % de Recuperación para Alcalinidad.

Na ₂ CO ₃ Teo (ppm)	Dia 1			Dia 2			Dia 3			Dia 4			Dia 5		
	Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol. Exp	% R	Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol. Exp	% R	Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol. Exp	% R	Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol. Exp	% R	Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol. Exp	% R
0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	-
5	5,43	0,5	108,6	5,43	0,5	108,6	5,16	0,475	108,6	5,16	0,475	103	5,16	0,475	103
10	10,05	0,925	100,5	10,86	1	108,6	10,05	0,925	100,5	10,05	0,925	100,5	9,51	0,875	100,5
20	19,56	1,8	97,8	20,64	1,9	103,2	20,1	1,85	100,5	20,1	1,85	100,5	19,83	1,825	100,5
25	25,53	2,35	102,12	25,53	2,35	102,12	24,99	2,3	99,96	24,99	2,3	99,96	24,99	2,3	99,96
50	49,98	4,6	99,96	49,98	4,6	99,96	49,98	4,6	99,96	49,98	4,6	99,96	49,98	4,6	99,96
100	99,96	9,2	99,96	99,96	9,2	99,96	99,96	9,2	99,96	99,96	9,2	99,96	100,23	9,225	100,23

Tabla A2. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Alcalinidad Total Analista 1.

CURVA		MUESTRAS									Prom.	Desv.	%CV
Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol H ₂ SO ₄ exp	Muestra	Vol. H ₂ SO ₄ 0,0205N			ppm CaCO ₃							
			1	2	3	1	2	3					
0	0	1	2,6	2,55	2,6	26,42	25,93	26,42	26,26	0,28	1,08		
5,16	0,475	2	1,95	1,9	1,9	19,82	19,32	19,32	19,49	0,29	1,48		
10,05	0,925	3	2,35	2,35	2,3	23,89	23,89	23,38	23,72	0,29	1,24		
20,1	1,85	4	0,85	0,85	0,85	8,64	8,64	8,64	8,64	0,00	0,00		
24,99	2,3	5	2,4	2,4	2,4	24,4	24,4	24,4	24,40	0,00	0,00		
49,98	4,6	6	2,4	2,35	2,4	24,4	23,89	24,4	24,23	0,29	1,22		
99,96	9,2	7	0,8	0,8	0,85	8,13	8,13	8,64	8,30	0,29	3,55		
		8	0,85	0,85	0,85	8,64	8,64	8,64	8,64	0,00	0,00		

Tabla A3. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Alcalinidad Total Analista 2.

CURVA			MUESTRAS						Prom.	Desv.	%CV
Na ₂ CO ₃ Exp (ppm)	Vol H ₂ SO ₄ exp	Muestra	Vol. H ₂ SO ₄ 0,01837N			ppm CaCO ₃					
			1	2	3	1	2	3			
0	0	1	2,85	2,85	2,8	26,38	26,38	25,92	26,23	0,27	1,01
4,381	0,45	2	2,15	2,15	2,15	19,9	19,9	19,9	19,90	0,00	0,00
9,74	1	3	2,7	2,7	2,65	24,07	24,07	24,53	24,22	0,27	1,10
19,95	2,05	4	0,95	0,95	1	8,79	8,79	9,25	8,94	0,27	2,97
24,83	2,55	5	2,6	2,6	2,6	24,07	24,07	24,07	24,07	0,00	0,00
49,17	5,05	6	2,65	2,65	2,6	24,53	24,53	24,07	24,38	0,27	1,09
100,77	10,35	7	0,9	0,9	0,95	8,31	8,31	8,79	8,47	0,28	3,27
		8	0,9	0,9	0,9	8,31	8,31	8,31	8,31	0,00	0,00

Tabla A4. Datos Curvas de calibración para interpolar muestras y hallar % de Recuperación para Cloruros.

mg Cl ⁻ /L teo.	Dia 1			Dia 2			Dia 3			Dia 4			Dia 5		
	ppm Cl ⁻ Exp	Vol. Exp	% R	ppm Cl ⁻ Exp	Vol. Exp	% R	ppm Cl ⁻ Exp	Vol. Exp	% R	ppm Cl ⁻ Exp	Vol. Exp	% R	ppm Cl ⁻ Exp	Vol. Exp	% R
5	1,17	0,25	117,0	1,05	0,225	105,0	1,05	0,225	105,0	1,05	0,225	105,0	1,05	0,225	105,0
10	2,10	0,45	105,0	2,10	0,45	105,0	1,99	0,425	99,50	2,34	0,500	117,0	2,1	0,45	105,0
20	4,21	0,90	105,0	4,21	0,90	105,0	3,98	0,850	99,50	3,98	0,850	99,5	4,1	0,875	102,5
25	6,08	1,30	101,3	6,08	1,30	101,3	6,09	1,300	101,3	6,08	1,300	101,3	6,2	1,325	103,3
50	10,06	2,15	100,6	10,06	2,15	100,6	9,95	2,125	99,50	9,95	2,125	9,95	10,06	2,150	100,6
100	15,10	3,225	100,6	14,98	3,20	99,90	14,98	3,200	99,90	14,98	3,200	99,9	14,98	3,20	99,90

Tabla A5. Datos Descriptivos para %Recuperación por Nivel de Concentración de Cloruros. ^(a)

Nivel de Concentración		Estadístico	Error típ.	
1,00	Media	107,4000	2,40000	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior		100,7365
		Límite superior		114,0635
	Media recortada al 5%	107,0000		
	Mediana	105,0000		
	Varianza	28,800		
	Desv. típ.	5,36656		
	Mínimo	105,00		
	Máximo	117,00		
	2,00	Media		106,3000
Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	98,3060	
		Límite superior	114,2940	
Media recortada al 5%		106,0833		
Mediana		105,0000		
Varianza		41,450		
Desv. típ.		6,43817		
Mínimo		99,50		
Máximo		117,00		
3,00		Media	102,3000	1,23085
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	98,8826	
		Límite superior	105,7174	
	Media recortada al 5%	102,3056		
	Mediana	102,5000		
	Varianza	7,575		
	Desv. típ.	2,75227		
	Mínimo	99,50		
	Máximo	105,00		
	4,00	Media	101,7000	
Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	100,5894	
		Límite superior	102,8106	
Media recortada al 5%		101,6333		
Mediana		101,3000		
Varianza		,800		
Desv. típ.		,89443		

	Mínimo		101,30	
	Máximo		103,30	
5,00	Media		82,2500	18,07626
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	32,0623	
		Límite superior	132,4377	
	Media recortada al 5%		85,2472	
	Mediana		100,6000	
	Varianza		1633,755	
	Desv. típ.		40,41974	
	Mínimo		9,95	
	Máximo		100,60	
6,00	Media		100,0400	,14000
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	99,6513	
		Límite superior	100,4287	
	Media recortada al 5%		100,0167	
	Mediana		99,9000	
	Varianza		,098	
	Desv. típ.		,31305	
	Mínimo		99,90	
	Máximo		100,60	

Tabla A6. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Cloruros Analista 1.

CURVA		MUESTRAS							Prom.	Desv.	%CV
ppm Cl ⁻ Exp	Vol AgNO ₃ exp	Muestra	Vol. AgNO ₃ 0,01323N			ppm Cl ⁻					
			1	2	3	1	2	3			
0	0	1	0,35	0,35	0,35	1,61	1,61	1,61	1,61	0	0
0,25	1,17	2	0,70	0,70	0,65	3,22	3,22	3,00	3,15	0,127	4,04
0,45	2,1	3	0,65	0,60	0,65	3,00	2,76	3,00	2,92	0,139	4,75
0,9	4,21	4	0,95	0,95	0,95	4,37	4,7	4,37	4,48	0,191	4,25
1,3	6,08										
2,15	10,06										
3,225	15,1										
4,25	19,9										

Tabla A7. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Cloruros Analista 2.

CURVA		MUESTRAS									
ppm Cl ⁻ Exp	Vol AgNO ₃ exp	Muestra	Vol. AgNO ₃ 0,01323N			ppm Cl ⁻			Prom.	Desv.	%CV
			1	2	3	1	2	3			
0	0	1	0,35	0,35	0,35	1,64	1,64	1,64	1,64	0	0
1,29	0,275	2	0,75	0,7	0,7	3,52	3,29	3,29	3,37	0,133	3,94
2,11	0,45	3	0,6	0,6	0,65	2,82	2,82	3,05	2,89	0,135	4,65
4,22	0,9	4	0,95	1	0,95	4,46	4,7	4,46	4,54	0,139	3,05
6,09	1,3										
10,08	2,15										
15	3,2										
20,16	4,3										

Tabla A8. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Fosfatos Analista 1.

mg PO ₄ ³⁻ /L	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	desv	%CV
1	0,014	0,015	0,014	0,014	0,0006	4,03
2	0,03	0,029	0,03	0,030	0,0006	1,95
4	0,059	0,062	0,059	0,060	0,0017	2,89
5	0,076	0,077	0,076	0,076	0,0006	0,76
8	0,121	0,122	0,121	0,121	0,0006	0,48
10	0,155	0,156	0,155	0,155	0,0006	0,37

Tabla A9. Datos Validación Intra-laboratorio para análisis de Fosfatos Analista 2.

mg PO ₄ ³⁻ /L	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom	desv	%CV
1	0,015	0,015	0,015	0,015	0	0,00
2	0,029	0,03	0,029	0,029	0,00058	1,97
4	0,061	0,06	0,061	0,061	0,00058	0,95
5	0,074	0,072	0,074	0,073	0,00115	1,57
8	0,12	0,121	0,121	0,121	0,00058	0,48
10	0,152	0,0151	0,152	0,156	0,07904	0,38