

302827
2
de,



UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A. C.

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

VALIDACION DEL METODO DEL CLORURO ESTANOSO
PARA LA DETERMINACION DEL FOSFORO EN
AGUA A CONCENTRACIONES MENORES DE 0.003 mg. l

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

Georgina Berenice Cueva Torres

MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D Í C E

	Pag.
Capítulo I	
INTRODUCCION.....	1
Capítulo II	
ANTECEDENTES.....	2
2.1. Validación de un procedimiento analítico.....	2
2.2. Métodos analíticos empleados en la determinación del fósforo en forma de fosfatos.....	4
2.3. Eutroficación.....	6
Capítulo III	
PARTE EXPERIMENTAL.....	8
3.1. Diagrama de flujo.....	8
3.2. Material, reactivos y equipo.....	9
3.2.1. Material de laboratorio.....	9
3.2.2. Reactivos.....	9
3.2.3. Equipo.....	9
3.2.4. Preparación de reactivos.....	10
3.3. Metodología.....	11
3.3.1. Preparación del material de laboratorio.....	11
3.3.2. Preparación de las muestras.....	11
3.3.3. Desarrollo del color.....	11
3.3.4. Determinación de la longitud de onda óptima.....	11
3.3.5. Curva de calibración.....	12
3.3.6. Optimización de reactivos.....	12
3.3.7. Estabilidad del color desarrollado.....	12

3.3.8. Determinación de los parámetros establecidos para la validación.....	13
3.3.8.1. Linealidad del sistema de medición....	13
3.3.8.2. Exactitud al 100% del método de medición.....	14
3.3.8.3. Linealidad del método de medición.....	15
3.3.8.4. Precisión del sistema de medición.....	16
3.3.8.5. Precisión del método de medición.....	16
3.3.9. Terminología y simbología empleada.....	17
Capítulo IV	
RESULTADOS Y DISCUSION.....	19
4.1. Resultados.....	19
4.2. Discusión.....	33
Capítulo V	
CONCLUSIONES.....	36
BIBLIOGRAFIA.....	38

INTRODUCCION .

I N T R Ò D U C C I O N .

Dada la importancia de la eutroficación (envejecimiento acelerado de un cuerpo en agua) como problema de contaminación es necesario determinar los parámetros analíticos que la indican, uno de éstos está representado por la concentración de fósforo (en forma de fosfatos) en agua. La Organización Mundial de la salud, en 1978 determinó que la concentración de 0.002 mg/l de fosfatos en agua es el rango más bajo de eutroficación para ser considerado de interés (32).

Neos en 1984 (28), indica que la concentración mínima requerida para el crecimiento de algas y bacterias en el agua es de 0.0025 mg/l de fosfatos. Por esta razón cualquier estudio orientado a evaluar la eutroficación requerirá una metodología analítica que permita determinar concentraciones menores de 0.003 mg/l.

Mediante procedimientos estadísticos se comprobará la confiabilidad, reproducibilidad y efectividad del método seleccionado.

Por lo tanto el objetivo del presente trabajo es validar el método del cloruro estánico que sirve para determinar concentraciones de fósforo en agua menores de 0.003 mg/l.

A N T E C E D E N T E S .

A N T E C E D E N T E S .

2.1.- Validación de un Procedimiento Analítico.

La validación de una metodología analítica, consiste a grandes rasgos en la determinación de ciertos parámetros estadísticos, como son: la linealidad del sistema de medición, la exactitud y la precisión, la repetibilidad, la reproducibilidad y la linealidad del método de medición (2, 8, 34, 42).

Según el Comité de Guías Oficiales de Validación (42), la validación es la utilización del método científico para proporcionar la evidencia documental que demuestra la confiabilidad, reproducibilidad y efectividad de cualquier procedimiento analítico. Por otra parte puede definirse como el proceso por el cual queda establecido por estudios de laboratorio que la capacidad del método estudiado satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas (2, 8, 34, 42).

Los parámetros recomendados en la validación de un método analítico son los siguientes:

La linealidad del Sistema de Medición es la habilidad para asegurar que los resultados analíticos, obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática son proporcionales a las concentraciones de sustancia dentro del rango determinado (2, 8, 34, 42).

La exactitud de un método analítico es la concordancia absoluta entre el valor de una propiedad medida experimentalmente y su valor real de referencia (2, 8, 34, 42).

Un estimador proporciona una medida para evaluar un parámetro de la población comúnmente a partir de una muestra (13, 16, 22).

Si el valor esperado del estimador no es igual al valor verdadero, se dice que esta diferencia es el sesgo o error del estimador. Si un estimador tiene un error de cero se dice que es exacto y finalmente si el error es grande se dice que es inexacto (13, 16, 53).

La Precisión del Método de Medición es la concoordancia entre mediciones repetidas independientes, de una misma propiedad bajo las mismas condiciones (2, 8, 34, 42).

Por otra parte la precisión de un método de medición se refiere a su variabilidad, una medida numérica de la precisión, es la "desviación estandar" (53).

La Precisión de un estimador es una medida de la repetibilidad y puede expresarse en términos de "varianza", una gran varianza significa falta de precisión y una pequeña varianza significa una gran precisión. Obviamente una varianza nula implica una precisión absoluta, caso que en la realidad es muy difícil de encontrar (13, 16).

La Repetibilidad del Método de Medición es definida como la expresión de la concoordancia entre determinaciones independientes realizadas por un sólo analista usando los mismos aparatos y las mismas técnicas (2, 8, 34, 42).

La Reproducibilidad del Método de Medición es la expresión de la concoordancia entre determinaciones independientes, realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, utilizando el mismo o diferente equipo (2, 8, 34, 42).

La Linealidad del Método de Medición es la relación que se esta-

blece mediante una recta entre una propiedad medida y el valor real de ésta (2, 8, 34, 42).

2.2.- Métodos Analíticos Empleados en la Determinación de Fósforo en Forma de Fosfatos.

Existen varios métodos para la determinación de fósforo en el agua. Los métodos volumétricos y gravimétricos determinan concentraciones mayores a 50 mg/l, comunes en aguas termales o líquidos sobrenadantes de la digestión. Estos métodos requieren de mucho tiempo (39, 44).

El método del ácido vanadomolibdofosfórico, se basa en que los iones ortofosfatos con el molibdato de amonio debido a las condiciones ácidas forma el heteropoliácido del ácido molibdofosfórico que con el agente reductor, vanadato de amonio genera el ácido vanadomolibdofosfórico de color amarillo que a menor concentración de fosfatos es fácil que no se perciba, aunque se utilice una longitud de onda dentro de la región visible de 490 nm, por lo que este método se aplica cuando las concentraciones más bajas a determinar de ortofosfatos son de 1.0 mg/l.

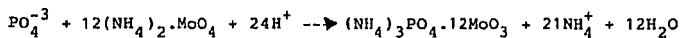
El método del ácido ascórbico, basado en la formación de "azul de molibdeno" por la reacción de los iones ortofosfatos con el molibdato de amonio en condiciones ácidas con el tartrato de amonio y potasio forman un heteropoliácido, que es reducido con el ácido ascórbico a un producto azul (azul de molibdeno), cuya intensidad es sólo detectable en el infrarrojo, esto es a 880 nm (39).

En el método de reducción automática del ácido ascórbico, el fundamento es igual al método del ácido ascórbico simple, su límite de detección puede llegar a concentraciones mínimas de fosfatos de 0.001 mg/l, pero requiere de un autoanalizador automático, aparato que no se encuentra normalmente en un laboratorio (39, 41).

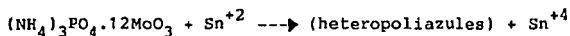
El método espectrofluorométrico, se basa en la fluorescencia de un complejo formado, por la reacción del ión fosfomolibdato y el reactivo la Rodamina B, el complejo se extrae como par iónico con cloroformo - butanol 4:1 y después es leído en el espectrofluorómetro. Este método además de requerir equipo especial, detecta sólo concentraciones mínimas de fosfato a 0.200 mg/l (48). El método del cloruro estano, es de tipo colorimétrico y se basa en la formación del complejo fosfomolibdato de amonio color azul que es proporcional a la concentración de ortofosfatos presentes (12, 38, 48).

La determinación se basa en las propiedades de los heteropoliácidos como el ácido molibdofosfórico que se reduce fácilmente a especies de color azul llamadas heteropoliazules; con el estaño estas especies dan una coloración más intensa y se presta a determinar cantidades muy pequeñas de fósforo (en forma de fosfatos) (12, 38, 48). Para llevar a cabo la reacción y generar el complejo de fosfomolibdato de amonio es necesario contar con los heteropoliácidos del ácido fosfomolibdico producido por el molibdato de amonio en medio ácido, y los iones fosfatos de la muestra, el cual en presencia del cloruro estano o ácido ascórbico es reducido al fosfomolibdato de amonio (39).

Se escogió como agente reductor el cloruro estanozo, ya que el ácido ascórbico sólo detecta concentraciones mínimas de 0.010 mg/l.



El compuesto colorido formado nunca se ha aislado y esta fórmula es desconocida. Pero puede ser presentada de una forma cualitativa, como sigue:



2.3.- Eutroficación.

Etimológicamente, el término eutrófico viene del griego "eu" que significa bien y "trofein" que significa nutrir. Es considerado como un proceso natural, que se desarrolla muy lentamente en el curso del envejecimiento de los lagos, por lo cual el sedimento se enriquece progresivamente en materia orgánica. Es un término aplicado a la situación en la cual una substancia nutritiva (fósforo ó nitrógeno), llega a sobresaturar un cuerpo acuático. En el agua son las cantidades grandes de materia orgánica en degradación las que producen el crecimiento profuso de las algas, inclusive con pocos fosfatos (10, 27, 52). Debido a esto, la luz no penetra con igual facilidad hacia la parte inferior de un cuerpo acuático lo cual produce una gran acumulación de materia orgánica que provoca condiciones anaeróbicas. Estas se van incrementando del fondo hacia la superficie

y por consecuencia hay un agotamiento de oxígeno disponible. La eutroficación afecta la transparencia del agua, que disminuye por efecto de la exuberante producción de fitoplancton y también cambia el color y sabor del agua.

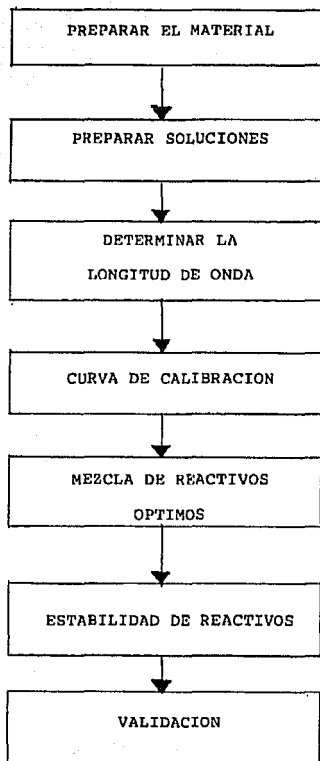
Las aguas profundas se tornan reductoras y la materia orgánica es mineralizada y oxidada parcialmente. La eutroficación causa el entarquinamiento de frezaderos de salmónidos, la reducción de los peces de esta familia, el enrarecimiento del oxígeno en las proximidades del fondo que pronto se convertirán en un medio abiótico y la mortalidad masiva de los peces: cuando las algas tras haber formado flores de agua, se sumergen en el agua y se pudren, o cuando la materia orgánica formada en verano fermenta bajo el hielo. Las algas causan muchas complicaciones en las estaciones de bombeo (6, 31, 52).

El grado de eutroficación de un lago puede ser detectado y evaluado en base a tres parámetros esenciales, la variación del contenido de las aguas del nitrógeno, fósforo u oxígeno y las variaciones cuantitativas y cualitativas del fitoplancton, que es un reflejo de la eutroficación (7, 35, 47).

P A R T E E X P E R I M E N T A L .

PARTE EXPERIMENTAL

3.1.- Diagrama de Flujo.



3.2.- Material, reactivos y equipo

3.2.1. Material de Laboratorio.

matraces aforados de 100, 1000 ml.

matraces Erlenmeyer de 250, 500 ml.

probeta de 100 ml.

vasos de precipitados de 50, 1000 ml.

pipetas de 5 ml.

frasco gotero

microbureta

pizetas

agitadores de vidrio

3.2.2. Reactivos

Fenolftaleína (Grado reactivo, Merck)

Molibdato de amonio (Grado analítico, Merck)

Acido sulfúrico (Grado reactivo, Merck)

Cloruro estanoso (Grado analítico, Merck)

Glicerol (Grado reactivo, Merck)

Fosfato dibásico de potasio (Grado analítico, Merck)

3.2.3. Equipo

Agitador magnético 9 x 9 (Cole-Parmer Instrument Company

Modelo No. 4815).

Balanza analítica (Bausch & Lomb 350)

Espectrofotómetro (Perkin - Elmer Spectronic 35)

Parrilla eléctrica 9 x 9 (Cole-Parmer Instrument Company)

Modelo No. 4815)

3.2.4. Preparación de reactivos.

1) Solución indicadora de fenolftaleína: pesar 5 g de fenolftaleína y diluir con 500 ml de alcohol etílico al 95% y aforar con agua destilada a un litro.

2) Solución de molibdato de amonio: pesar 25 g de molibdato de amonio y diluir con 175 ml de agua destilada, con precaución - agregar 280 ml de ácido sulfúrico concentrado, enfriar y diluir a un litro con agua destilada.

3) Solución de ácido fuerte: verter lentamente 300 ml de ácido sulfúrico concentrado en 600 ml de agua destilada, dejar enfriar, agregar 4 ml de ácido nítrico y aforar a un litro con agua destilada.

4) Solución de cloruro estano: pesar 25 g de cloruro estano y disolver en un litro de glicerol, calentar en un baño de agua y agitar para acelerar la disolución.

5) Solución patrón de fosfatos I: secar en la estufa el fosfato dibásico de potasio a 105°C y colocar en un desecador, pesar - 0.2195 g de éste, diluir y aforar con agua destilada a un litro.

6) Solución patrón de fosfatos II: tomar 100 ml de la solución de fosfatos I, diluir y aforar a un litro con agua destilada.

3.3.- Metodología.

3.3.1.- Preparación del material de laboratorio.

Lavar todo el material con extrán y enjuagar con agua destilada. Después enjuagar con HCl 1:1 en H₂O y posteriormente volver a enjuagar con agua destilada. Esperar a que escurra y seque todo el material.

3.3.2. Preparación de la muestra.

A 100 ml de la muestra adicionar 0.005 ml de fenolftaleína, si la muestra se torna rosa, adicionar gota a gota la solución de ácido fuerte (0.5 ml). Si se requieren más de 5 gotas tomar una muestra más pequeña (50 ml) y diluir con agua destilada a 100 ml, después de la primera desaparición del color rosa con ácido sulfúrico.

3.3.3. Desarrollo del color.

Adicionar 4 ml del reactivo de molibdato de amonio, agitar y agregar 10 gotas de cloruro estanoso, agitar y después de 10 min y antes de 12 min tomar la lectura en el espectrofotómetro en la región infrarroja a una longitud de onda de 690 nm.

3.3.4. Determinación de la longitud de onda óptima.

Tomar una alícuota de 0.5 ml de la solución II de fosfatos y aforar con agua destilada a 100 ml. Agregar 10 gotas de cloruro

estamoso y 4 ml de molibdato de amonio, después de 10 min, leer en el espectrofotómetro cada 10 min, a partir de 650 hasta 740 nm.

3.3.5. Curva de calibración.

De la solución de fosfatos II, tomar alícuotas de 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, 1.7, 2.0 ml por duplicado, aforar cada una a 100 ml con agua destilada. Agregar los reactivos para el desarrollo del color y leer en el espectrofotómetro a 690 nm en el infrarrojo.

3.3.6. Optimización de reactivos.

Formar 11 grupos de 5 matraces cada uno. A cada matraz adicionar 0.5 ml de la solución de fosfatos II y aforar a 100 ml con agua destilada.

Al matraz 1 de cada grupo adicionar 1 ml de molibdato de amonio, al matraz 2 de cada grupo 2 ml, y así sucesivamente hasta tener en el matraz 5 de cada grupo 5 ml. Así mismo a todos los matraces del grupo 1 adicionar 1 gota de cloruro estamoso, a los del grupo 2 adicionar 2 gotas y así sucesivamente hasta que en el grupo 11 se adicionen 11 gotas.

3.3.7. Estabilidad del color desarrollado.

Tomar una alícuota de 0.5 ml de la solución II de fosfatos y aforar con agua destilada a 100 ml. Agregar 10 gotas de cloruro estamoso y 4 ml de molibdato de amonio, después de los 10 min

hacer la lectura cada minuto en el espectrofotómetro a 690 nm.

3.3.8. Determinación de los parámetros establecidos para la validación.

3.3.8.1. Linealidad del sistema de medición.

Construir una curva de calibración de una misma solución patrón, utilizar por lo menos cinco diluciones incluir el 100%, y hacer el análisis por duplicado para cada dilución.

Calcular la suma de cuadrados de regresión (SCr) y la suma de cuadrados del error de regresión (SCer).

$$SCr = m \cdot S_{xy} + b(Sy) - ((Sy^2) / n)$$

$$SCer = Sy^2 - m(S_{xy}) - b(Sy)$$

Calcular la suma de cuadrados del error puro (SCep) y la suma de cuadrados de falta de ajuste (SCfa).

$$SCep = SY - ((Sy^2)/r)$$

$$SCfa = SCer - SCep$$

Calcular la desviación estandar de la regresión (Sy.x).

$$Sy.x = (SCer / gler)^{1/2}$$

Calcular la desviación estandar de la ordenada al origen.

$$Sb = Sy.x \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}}{(Sx^2) - (Sx)^2/n}^{1/2}$$

Calcular el intervalo de confianza para la ordenada al origen (ICb).

$$ICb = b - t(n-2, 0.975) (Sb)$$

Calcular los parámetros de regresión.

Calcular el valor de la pendiente (m).

$$m = \frac{n \cdot S_{xy} - S_x \cdot S_y}{n \cdot S_x^2 - (S_x)^2}$$

Calcular el valor de ordenada al origen (b).

$$b = \frac{S_y - m \cdot S_x}{n}$$

Calcular el coeficiente de determinación (R^2).

$$R^2 = \frac{(n(S_{xy}) - (S_x)(S_y))^2}{(n(S_x)^2 - (S_x)^2)(n(S_y)^2 - (S_y)^2)}$$

3.3.8.2. Exactitud al 100% del método de medición.

Preparar de manera independiente, por lo menos 6 muestras al 100% del elemento que se va a determinar, y recuperar esta cantidad mediante el método de medición, bajo las mismas condiciones de análisis.

Calcular la media.

$$\bar{Y} = \frac{S_y}{n}$$

Calcular la desviación estandar.

$$D.S. = \frac{(n \cdot S_y^2 - (S_y)^2)^{1/2}}{n(n-1)}$$

Calcular el valor de la t de Student a una p. de .975

Calcular el intervalo de confianza para el porcentaje recuperado (IC).

$$IC = Y + t(n-1, 0.975) (D.S./n)^{1/2}$$

Calcular el valor de la t de Student de la siguiente manera.

$$t = \frac{(y \cdot 100)(n)^{1/2}}{D.S.}$$

Calcular la repetibilidad del método.

$$REP = +t (p., 0.975) (D.S.)$$

3.3.8.3. Linealidad del método de medición.

Preparar las muestras de manera independiente, por lo menos por duplicado, como mínimo tres diferentes cantidades y recuperar el activo adicionado, utilizar el método de medición bajo las mismas condiciones de análisis.

Calcular la suma de los cuadrados de regresión (SCr) y la suma de cuadrados del error de regresión (SCer).

$$SCr = m (Sxy + b (Sy) - ((Sy^2)/n))$$

$$SCer = Sy^2 - m(Sxy) - b(Sy).$$

Calcular la suma de cuadrados del error puro (SCep) y la suma de cuadrados de la falta de ajuste (SCfa).

$$SCep = Sy^2 - ((Sy^2) r)$$

$$SCfa = SCer - SCep.$$

Calcular el intervalo de confianza para la ordenada al origen (ICb).

$$ICb = b \pm t (n-2, 0.975) (Sb)$$

Calcular el error estandar para la ordenada al origen (Sb).

$$Sb = Sy.x \frac{1}{n} + \frac{r^2}{(Sx^2) - (SX)^2/n} \quad 1/2$$

Determinar la t de Student $t(n-2, 0.975)$

Calcular el intervalo de confianza para la pendiente (ICm).

$$ICm = m \pm t(n-2, 0.975) (Sm)$$

Calcular el error estandar para la pendiente (Sm).

$$Sm = (Sy.x) \left(\frac{1}{(Sx^2) - (SX)^2/n} \right) \quad 1/2$$

Calcular la D.S. de la regresión ($Sy.\bar{x}$).

$$Sy.x = (SCer / gler)^{1/2}$$

Determinar los parámetros de regresión (m , b , R^2).

$$m = \frac{n(Sxy) - (Sx)(Sy)}{n(Sx^2) - (Sx)^2}$$

$$b = \frac{Sy - m(Sx)}{n}$$

$$R^2 = \frac{(n(Sxy) - (Sx)(Sy))^2}{(n(Sx^2) - (Sx)^2)(n(Sy^2) - (Sy)^2)}$$

3.3.8.4. Precisión del sistema de medición.

Preparar de manera independiente por lo menos 6 diluciones, a partir de la misma solución patrón, correspondiente al 100% de lo establecido en la linealidad del sistema de medición y medir su propiedad bajo las mismas condiciones de medición.

Calcular la desviación estandar (D.S.).

$$D.S. = (S(x - \bar{x})^2 / n - 1)^{1/2}$$

Calcular el coeficiente de variación (C.V.).

$$C.V. = \frac{D.S.}{y} (100)$$

y

3.3.8.5. Precisión del método de medición.

Se requieren al menos 2 analistas, en por lo menos dos determinaciones independientes quienes deben analizar independientemente una muestra homogénea del elemento cercano al 100%.

Calcular la repetibilidad del método (REP).

$$REP = 100 -+ (1.96)(MCA)^{1/2}$$

Calcular la reproducibilidad interdía para el analista (Rep-d)

$$Rep - d = 100 -+ (1.96)(MCD-MCE)/r)^{1/2}$$

Calcular la reproducibilidad interanalista (Rep-a).

$$Rep-a = 100 -+ (1.96)(MCA-MCD)/(r)(d))^{1/2}$$

Calcular la suma de cuadrados del analista (SCa), y la suma de cuadrados del día acumulados en el analista (SCd).

$$SCa = (Syi^2)/(d)(r) - (Y^2)/(d)(r)(a)$$

$$SCd = (SSYij^2)/r - (SYi^2)/(r)(d)$$

Calcular la suma de cuadrados del error (SCe).

$$SCe = (SSSYijk^2) - (SSYij^2)/r.$$

3.3.9. Terminología y simbología empleada.

S = Sumatoria

t = número de concentraciones

r = número de replicaciones por concentración

n = (r . t) número de pares ordenados

D.S. = desviación estandar

g - 1 = grados de libertad

Parámetros de regresión:

m = pendiente

b = ordenada al origen

R² = coeficiente de determinación

Tabla de análisis de varianza:

Scr = suma de los cuadrados de regresión

Scer = suma de los cuadrados del error de regresión.

SCep = suma de los cuadrados del error puro.

SCfa = suma de los cuadrados de la falta de ajuste.

"t" = t de Student.

I.C. = intervalo de confianza.

S Y.X. = desviación estándar de la regresión.

REP = repetibilidad del método de medición.

s = desviación estandar del porciento recuperado.

Sm = error estandar para la pendiente.

ICm = intervalo de confianza para la pendiente.

ICb = intervalo de confianza para ordenada al origen.

Sb = error estandar para la regresión.

SCa = suma de los cuadrados del analista.

SCd = suma de los cuadrados del día.

Rep = reproducibilidad del método.

Rep - d = reproducibilidad interdía.

Rep - a = reproducibilidad interanalista.

RESULTADOS Y DISCUSION

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Resultados.

Las siguientes tablas y gráficas representan los resultados obtenidos después de seguir el diagrama de flujo (3.1).

La tabla I y gráfica I, muestran que 690 nm es la longitud de onda óptima a la que el fosfomolibdato de amonio tiene su mayor absorbancia (ver gráfica I).

La curva de calibración indica la cantidad de fósforo en Microgramos/litro que puede contener la muestra (gráfica II). La tabla II corresponde a los resultados obtenidos en la curva de calibración, junto con la ecuación de la línea recta ($y=b+mx$). Calcular el intercepto, la pendiente al origen y transformar cualquier lectura en los miligramos correspondientes.

La ecuación de la recta es:

$$Y = 9,35677 \times 10^{-3} + 78297 X$$

donde:

$$b = 9,35677 \times 10^{-3}$$

$$m = 7.8797$$

$$r = 0,994053$$

$$D.S. = 0.0027798$$

La tabla III, muestra que cuando se usan los 4 ml de molibdato de amonio y las 10 gotas de cloruro estano, hay una declinación positiva y en seguida se marca la declinación negativa que es la más notable de todas las otras cantidades usadas (ver gráfica III). Respecto a la estabilidad del color desarrollado se

comprueba que las determinaciones se deben hacer en los siguientes dos minutos después de los 10 minutos para la formación del complejo de fosfomolibdato de amonio (ver gráfica IV).

En la Linealidad del Sistema de Medición existe una relación altamente significativa entre la cantidad adicionada y la propiedad medida (ver tabla V). La ordenada al origen de la relación lineal simple concentración-absorbancia, es estadísticamente igual a cero. El coeficiente de determinación lineal es 0.958, por lo tanto no existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada-propiedad medida (ver tabla Va). El mejor modelo lineal entre Absorbancia y el porcentaje de fósforo, es del rango de 80-110% que corresponde a 0.0020-0.0030 mg/100 ml de fosfatos.

Este resultado coincide con la Exactitud que es de 99.76% que corresponde a 0.0020 mg/ml de fosfatos por lo que el método no es exacto (ver tabla VI). En la Linealidad del Método de Medición (ver tabla VII) la relación lineal simple cantidad adicionada-cantidad recuperada es correcta y no existe falta de ajuste (ver tabla VIIa). El coeficiente de determinación de la relación lineal es 0.85, la ordenada al origen es 15.34 y la pendiente de esta misma relación es 0.747, por lo que se detecta un error proporcional constante, que se indica con el valor de la exactitud del 99.76% (ver tabla X).

Es preciso el Sistema de Medición, (ver tabla VIII) ya que se obtuvo un coeficiente de variación menor de 1.5% que corresponde a los métodos químicos y espectrofotométricos (ver tabla X).

La Precisión del Método de Medición (ver tabla IX) es repetible para un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas: es reproducible para diferentes analistas en diferentes días en el mismo y/o diferente equipo. (ver tabla X)

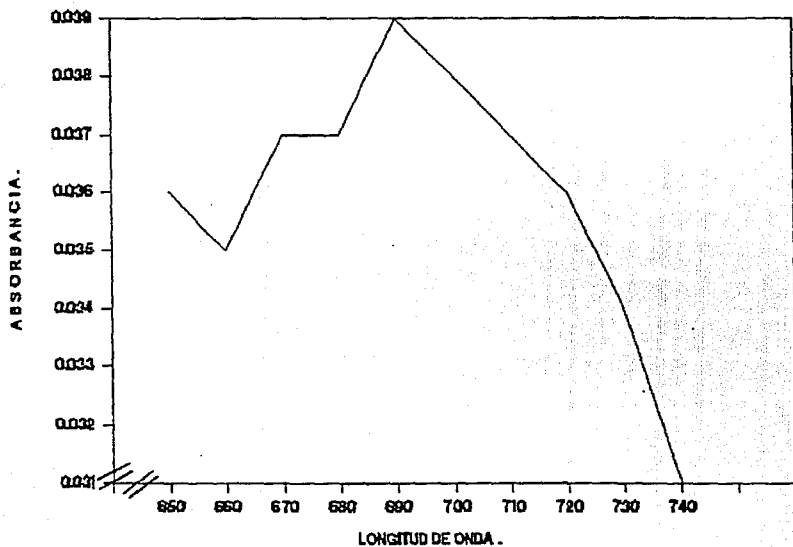
Tabla I. Longitud de Onda Optima.

<u>LONGITUD DE ONDA</u> <u>(nm).</u>	<u>A B S O R B A N C I A</u>
650	0.036
660	0.035
670	0.037
680	0.037
690	0.039
700	0.038
710	0.037
720	0.036
730	0.034
740	0.031

Tabla II. Valores de la curva de calibración.

ml de solución.	mg/100 ml.	absorbancia.
0.2	0.0010	0.017
0.3	0.0015	0.022
0.4	0.0020	0.025
0.5	0.0025	0.028
0.6	0.0030	0.032
0.7	0.0035	0.040
0.8	0.0040	0.043
1.0	0.0050	0.045
1.2	0.0060	0.051
1.5	0.0075	0.070
1.7	0.0085	0.075
2.0	0.0100	0.090

GRAFICA 1. DETERMINACION DE LA LONGITUD DE ONDA OPTIMA.



GRAFICA II . CURVA DE CALIBRACION .

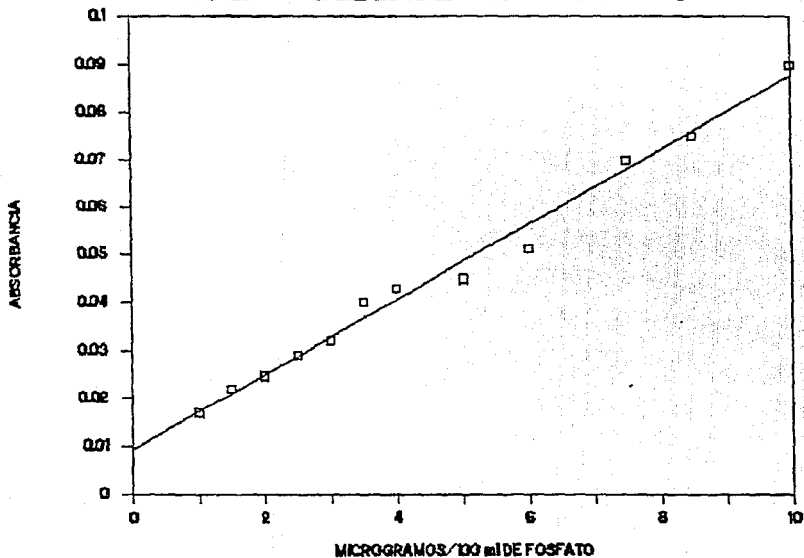


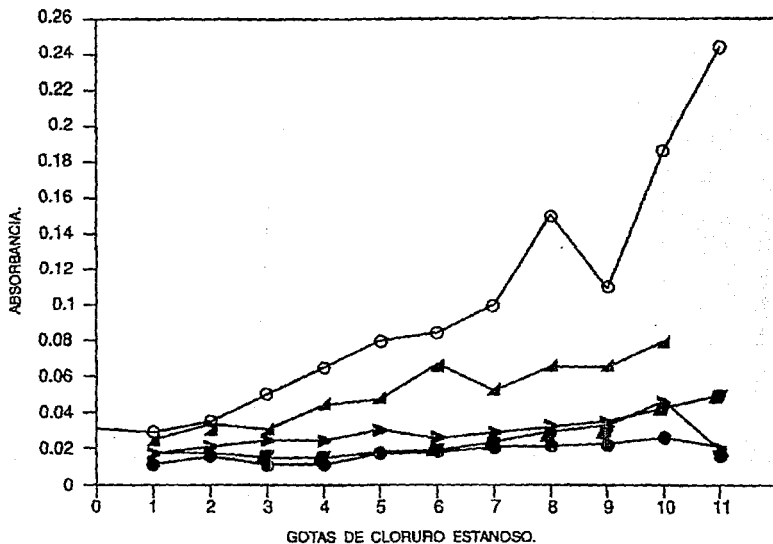
Tabla III. Optimización de los reactivos

Gotas de SnCl ₂	Mililitros de molibdato de amonio.				
	1	2	3	4	5
1	0.027	0.031	0.017	<u>0.018</u>	0.013
2	0.035	0.018	0.016	<u>0.016</u>	0.015
3	0.050	0.035	0.022	<u>0.015</u>	0.012
4	0.064	0.032	0.022	<u>0.012</u>	0.015
5	0.077	0.042	0.042	<u>0.029</u>	0.016
6	0.081	0.046	0.024	<u>0.017</u>	0.018
8	0.153	0.054	0.034	<u>0.031</u>	0.021
9	0.109	0.066	0.037	<u>0.034</u>	0.024
10	0.188	0.066	0.042	<u>0.047</u>	0.028
11	0.247	0.077	0.029	<u>0.022</u>	0.021

Tabla IV. Estabilidad del color desarrollado

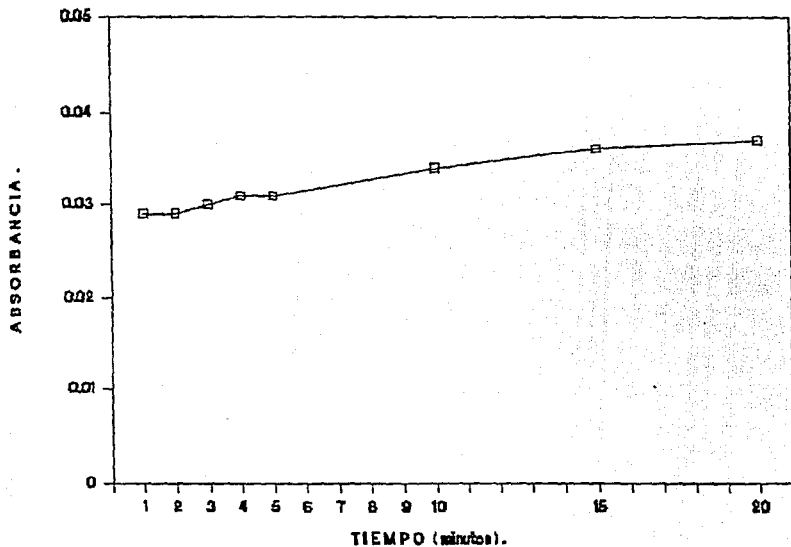
Tiempo (minutos)	Absorbancia
1	0.029
2	0.029
3	0.030
4	0.031
5	0.031
10	0.034
15	0.036
20	0.037

GRAFICA III. OPTIMIZACION DE REACTIVOS



MOLIBDATO DE AMONIO O GRAFICA 1 ml. ▲ GRAFICA 2 ml. ▼ GRAFICA 3 ml.
 ■ GRAFICA 4 ml. ● GRAFICA 5 ml.

GRAFICA IV. ESTABILIDAD DEL COLOR DESARROLLADO.



GRAFICA V. LINEALIDAD DEL SISTEMA DE MEDICION.

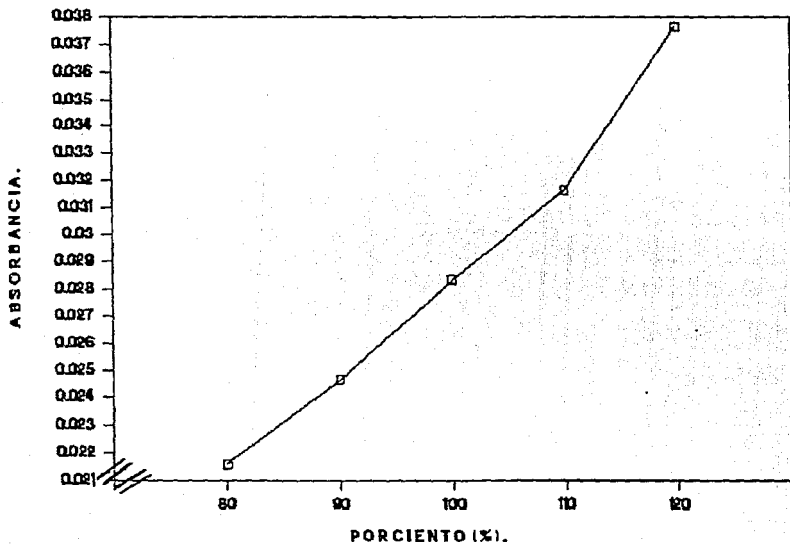


Tabla V. Linealidad del sistema de medición

Concentración mg/100ml	%	Absorbancias			\bar{A}
		1	2	3	
0.0015	60.0	0.022	0.021	0.022	0.021
0.0020	80.0	0.025	0.025	0.024	0.024
0.0025	100.0	0.032	0.032	0.028	0.030
0.0030	120.0	0.032	0.032	0.031	0.031
0.035	140.0	0.040	0.036	0.037	0.037

\bar{A} = promedio de absorbancia

Tabla Va. Análisis de varianza del sistema de medición

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Medida de Cuadrados	F.
Regresión	1	SCr=0.00033	0.00033	SCr/MCcr= =188.57
Error de Regresión	n - 2 = 8	SCer=0.000014	SCer/gler= 0.00000175	
Falta de Ajuste	(n-2)-t(r-1)	SCfa=0.000005	SCfa/glfa= 0.00000166	MCfa/MCep =0.9222
Error	t(r - 1) = 5	SCep= 0.000009	SCep/glep= 0.00000018	

F = Distribución de Fisher.

Tabla VI. Exactitud al 100% del Método de Medición

mg adicionados	mg recuperados	% recuperado
0.0025	0.0028	112.0
0.0025	0.0024	96.0
0.0025	0.0024	96.0
0.0025	0.0022	88.0
0.0025	0.0022	88.0
0.0025	0.0025	100.0
0.0025	0.0021	84.0
0.0025	0.002	88.0
0.0025	0.0024	96.0
0.0025	0.0023	92.0

Tabla VII. Linealidad del Método de Medición

Cantidad adicionada (mg/1).	%	Cantidad Recuperada %			Yi
		1	2	3	
0.0015	60	62.05	55.20	65.52	187.78
0.0020	80	75.87	65.52	79.31	220.70
0.0025	100	86.20	96.56	89.66	272.42

Yi = Suma de Cantidad recuperada

Tabla VIIa. Análisis de la Varianza de la Linealidad del Método de Medición

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F
Regresión	1	SCr=1339.21	SCr	SCr/MCcr =41.78
Error de Regresión	7	SCer=224.37	224.37/7 = 32.052	
Falta de Ajuste	1	SCfa=10.67 10.67	SCfa/glfa =10.67	MCfa/MCep =0.2994
Error puro	6	SCep=213.79 = 35.63	SCep/glep	

F = Distribución de Fisher.

Tabla VIII. Precisión del sistema de medición

Cantidad adicionada	Cantidad Recuperada
0.0025	0.0023
0.0025	0.0023
0.0025	0.0024
0.0025	0.0026
0.0025	0.0025
0.0025	0.0025
0.0025	0.0023
0.0025	0.0023
0.0025	0.0021
0.0025	0.0020

Tabla IX. Precisión del Método de Medición.

		ANALISTA ABSORBANCIA	
D	1	0.028	0.025
		0.026	0.024
		0.027	0.025
I	2	0.022	0.032
		0.019	0.020
		0.022	0.023

Tabla IXa. Análisis de varianza de la Precisión del Método de Medición.

Fuente de Variación	Grados Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	F.
Analista	1	SCa=0.00002083	MCa=SCa/gl a =0.0000208	0.00002708 =0.07692
Día	2	SCd=0.00005416	Mcd=SCd/gl d	
Error	8	SCe=0.0000866	Mce=SCe/gle 0.00001825	=1.4838

F = Distribución de Fisher.

Tabla X. Resumen de Resultados de la Validación del Método

Propiedad Medida	Parámetro	Resultado
Linealidad del Sistema de Medición.	m	0.0002
	b	0.009
	r	0.9580
	Syx	0.00132
Exactitud al 100%	I.C.	99.76 - 88.23
Linealidad del Método de Medición	m	0.747
	b	15.34
	R	0.9254
	Syx	5.66
Precisión del Sistema	D.E.	0.0001
	c.v.	0.2145
Precisión del Método de Medición	Rep. del Método	100.00 - 99.99
	Rep. interdía	100.00 - 99.99
	Rep. interanalista	100.00 - 99.99

4.2. DISCUSION.

Dada la importancia que día con día está tomando la eutroficación en nuestro país, se validó el método del cloruro estanoso para la determinación del fósforo en agua, en forma de fosfatos a concentraciones menores de 0.003 mg/ml.

Diversos métodos han sido empleados en la determinación de fosfatos, de entre ellos fue seleccionado el del cloruro estanoso, ya que permite detectar concentraciones mínimas en un problema de eutroficación por fosfatos. Además de que el método es ventajoso, no requiere equipo especial y es factible de llevarse a cabo en cualquier laboratorio bajo las condiciones normales de operación.

En el estudio efectuado para investigar las condiciones óptimas del método del cloruro estanoso, pudo comprobarse que las cantidades citadas en el método corresponden a los valores óptimos - esto es, 4 ml de solución de molibdato de amonio y 10 gotas de solución de cloruro estanoso, la longitud de onda óptima es de 690 nm y la temperatura de 20 a 30 grados centígrados.

La curva de calibración se trazó a partir de concentraciones de 0.001 mg/l de fósforo que es el límite más bajo que cita la bibliografía (40), utilizando el método de la reducción automática del ácido ascórbico. La solución patrón se preparó a una concentración de 0.0025 mg/l de fósforo.

En lo referente a la estabilidad del color desarrollado, se comprobó que éstos son totalmente estables durante los dos primeros minutos de su preparación y del minuto 3 al 20 las variacio

nes de la lectura corresponden a una centésima de unidad como máximo. En general las lecturas deben ser tomadas entre el primero y segundo minuto.

La linealidad del sistema de medición presenta una relación altamente significativa entre la concentración y la propiedad medida. La ordenada al origen de la relación lineal simple, concentración - absorbancia, es estadísticamente igual a cero. El coeficiente de determinación de la relación lineal simple no es estadísticamente significativa.

En la determinación de la exactitud al 100%, el intervalo de confianza debió incluir el 100%, por lo que el método no es exacto. Esto significa que sólo alcanza a cubrir concentraciones mínimas de 0.0020 mg/l de fósforo; el método sólo es exacto, a partir del 99.76% que se obtiene como resultado. Los objetivos propuestos para resolver un problema de eutroficación, quedan cubiertos con el 99.76% de exactitud aún cuando no se haya alcanzado el 100%. Cuando se determinó la Linealidad del método de medición se encontró que la relación lineal simple, cantidad adicionada - cantidad recuperada es estadísticamente igual a cero. La pendiente de esta relación lineal es estadísticamente igual a uno. El coeficiente de determinación de la relación lineal es de 0.9254, y no existe falta de ajuste a la relación lineal simple cantidad adicionada - cantidad recuperada.

En la precisión del sistema de medición se encontró un coeficiente de variación menor o igual al 1.5%, que indica que el sistema de medición es preciso.

La desviación estandar de regresión y la desviación estandar del error puro, el coeficiente de variación total para la precisión del método de medición, la repetibilidad del método de medición, la repetibilidad inter-analista y la reproducibilidad inter-día - inter-analista, satisfacen los requisitos para el principio de medición y para la utilización del método.

CONCLUSIONES .

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se utilizó el método del cloruro estano- so en la determinación de fósforo (en forma de fosfatos) en agua y se validó por procedimientos estadísticos.

Se seleccionó el método del cloruro estano- so por presentar ven- tajas sobre otros, principalmente su rapidez y bajo costo ya que sólo requiere como equipo especial un espectrofotómetro sensible en el infrarrojo.

La desventaja que presenta este método, es la lectura de las muestras que deben llevarse a cabo entre el primero y segundo mi- nuto, después de los 10 minutos de haberse desarrollado el com- plejo colorido. Por lo tanto no se pueden determinar un gran nú- mero de muestras en una sola corrida.

Las cantidades de reactivos, las condiciones de temperatura am- biente, el tiempo del color desarrollado, la longitud de onda etc., resultaron de acuerdo con la bibliografía (40).

El método del cloruro estano- so si puede ser empleado en la de- terminación de fósforo en agua para concentraciones menores de 0.003 mg/l esto es de 0.0020 y 0.0025 mg/l, siempre y cuando se sigan las condiciones establecidas. Estas concentraciones de fósforo corresponden a los límites de eutroficación estableci- das por la O.M.S. que es la concentración mínima de fósforo en forma de fosfatos necesaria para el desarrollo de algas y bac- terias. El método estadístico utilizado en la validación con- cuerda con la Dirección General de Control de Insumos para la Salud de la Secretaría de Salud, del manual de C.S.E.B.I.O.F.A.R.

y el Colegio Nacional de Q.F.B., cumpliendo con las especificaciones. Esto quiere decir que fueron comprobados los siguientes parámetros: linealidad del sistema, exactitud al 100% del método de medición, linealidad del método, precisión del sistema de medición, precisión del método de medición.

El método es confiable, preciso, exacto al 99.76%, reproducible tanto para analistas y equipos diferentes, aún cuando el análisis se realice en diferentes días.

Los resultados del presente trabajo demuestran que el método es lo suficientemente confiable para detectar una posible contaminación del agua.

BIBLIOGRAFIA .

B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Albert Lilia, y colaboradores. "Plaguicidas organofosforados II". Rev. Soc. Q.M. 26(1) 35-44 1983.
- 2.- Alcántara Pineda Alejandro. CURSO DE VALIDACION DEL CSEBIOFAR AP. México 1989.
- 3.- Aspila K.I., et, al., "Interlaboratory quality control study No. 15 total phosphorus in natural water". Env. Canada, 52 (1) 1 - 11. Ontario 1978.
- 4.- Ayres H. Gilberth. ANALISIS QUIMICO CUANTITATIVO. Harper and Row Publishers INC. New York 1970.
- 5.- Baez Armando, et, al., "A rain collection method to determine the variations of chemical components in a rain water throughout a single rain event. Rev. Geofísica. 20(1) 5 - 7 1984.
- 6.- Brook D. Thomas. BIOLOGIA DE LOS MICROORGANISMOS. Editorial Omega. Barcelona 1978.
- 7.- Champan D. Homer. METODOS ANALITICOS PARA SUELO, PLANTAS Y AGUAS. Editorial Trillas. México 1973.
- 8.- Colegio Nacional de Q.F.B. REQUISITOS MINIMOS PARA LA VALIDACION DE METODOS ANALITICOS. México 1989.

- 9.- Contreras Francisco. MANUAL TECNICO HIDROBIOLOGICO. U.A.M. México 1984.
- 10.- De la Lanza Espino Guadalupe y colaboradores. "Disponibilidad de nutrimentos a partir de materia orgánica en un sistema lagunar. "CIENCIA". 37(1) 247 - 254 1986.
- 11.- Etzel E. James et. al., "Detergent phosphates ban yield" JWSW, 3(10) 91-92 1983.
- 12.- Flaschka A.H. INTRODUCCION A LOS PRINCIPIOS DE LA QUIMICA ANALITICA CUANTITATIVA. Cía Editorial Continental S.A. México 1978.
- 13.- Grant L. Eugene, Leavenworth, S. Richard. CONTROL ESTADISTICO DE LA CALIDAD. C.E.C.S.A. México 1988.
- 14.- Helman José. FARMACOTECNIA TEORICA Y PRACTICA. Tomo V. Ed. C.E.C.S.A. México 1984.
- 15.- Henriksen A., et. al., "Automatic method for determining orthophosphates and sewage and highly polluted water". ANA. 91 (1087) 652 - 653 1962.
- 16.- Hinchén J.D. ESTADISTICA PRACTICA PARA LA INVESTIGACION QUIMICA. Editorial El Manual Moderno. México 1976.
- 17.- Huerco Marquez Teresa y colaboradores, "Como disminuir la

- acción contaminante del detergente". EPOCA. 1(2) 10 - 20.
1987.
- 18.- Hutchinson A. TREATISE ON LIMNOLOGY. Vol. I John Wiley and
Sons INC. New York 1967.
- 19.- Jankovic G. Steven, et. al., "Measurement of phosphorus in
waste water. "JWSW. (12) 471 - 472 1967.
- 20.- Jonhson D.L., et, al., "Spectrophotometric determination
a method for arsenito, arsenato, and phosphorus in natural
water". ANACA. 58(1) 289 - 299 1972.
- 21.- Kafdash B. Gupta., et. al., "Total phosphorus analysis per
sulfate or ashing ." JWSW. 121(7) 74 - 77 1974.
- 22.- Kenneth G. Chapan. VALIDATION TERMINOLOGY. Marcel Dekker
INC. Nueva York 1984.
- 23.- Manual de Perkin - Elmer. ANALYTICAL METHODS FOR ABSORTION
ATOMIC SPECTROPHOTOMETRIC. Connecticutum 1982.
- 24.- Martin Alexander. INTRODUCTION TO SOUL MICROBIOLOGY. Second
edition. Follet publishing company, New York 1977.
- 25.- Mer Merrow L. AGUAS RESIDUALES. H. Blumé Ediciones. México
1977.

- 26.- Merck Frankfurter. MANUAL DE TEST RAPIDO. R.F. Alemania - 1987.
- 27.- Murphy J., Et. Al., "A modified single solution method for the determination of phosphorus in natural waters" ACA. 27(1) 31-37 1967.
- 28.- Neos Charles and Varma M. "The removal of phosphorus by algae" WSWS. 113(12) 456 - 460 1966.
- 29.- Noller R. Carl QUIMICA ORGANICA. Tercera edición. Ed. In teramericana. México 1977.
- 30.- Norma Oficial Mexicana. NOM - AA - 29 - 1981. DETERMINA-- CION DEL FOSFORO TOTAL. 1981.
- 31.- Odum R. Eugene. ECOLOGIA. Tercera Edición. Editorial In- teramericana. España 1971.
- 32.- O.M.S. SISTEMA MUNDIAL DE MONITOREO DEL AMBIENTE. Ginebra 1978.
- 33.- Ostle Bernard. ESTADISTICA APLICADA. Ed. Limusa. México 1983.
- 34.- Pasteenlick A. Louis. ANALYTICAL METHODS VALIDATION. Mar- cel Dekker INC. Nueva York 1984.

- 35.- Pesson P. LA CONTAMINACION DE LAS AGUAS CONTINENTALES. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid 1979.
- 36.- Petrucci Ralp. QUIMICA GENERAL. Fondo Educativo interamericano. México 1980.
- 37.- Rast Walter, et al., "Predictive capability of United States Organization for Economic Cooperation and Development, - - loading eutrophication response models". JWPCF. 55(7) 1983.
- 38.- Reithel. CONCEPTOS DE QUIMICA. Mc. Graw-Hill. México 1970.
- 39.- Rhodes Thussell. METHODS STANDARS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER. 16th Edition, APHA, AWWA, WPP. CF. New York 1985.
- 40.- Sanning D.E. et. al., "Phosphorus determination a method of evaluation". JWSW. 114(4) 131 - 133 1967.
- 41.- Samuel Y., et. al., "Evaluation of ascorbic acid method for determination of orthophosphates", JWPCF. 49(9) 689 - 692 1977.
- 42.- Secretaría de Salud. Dirección General de Salud. COMITE DE ELABORACION DE GUIAS OFICIALES DE VALIDACION. México 1989.
- 43.- Steiger Gerald, et. al., "Determination of phosphorus in

- process of cheese". JAAC: 68(1) 1985.
- 44.- Strickland H.D. A PRACTICAL HANDBOOK OF SEA WATER ANALYSIS.
Ed. Fisheries research board of Canada Ottawa 1968.
- 45.- Strobel A.H. INSTRUMENTACION QUIMICA. Ed. Limusa. México
1982.
- 46.- Thomas S.A., et. al., "The effect of heating time in the
determination of phosphorus by wet digest". TALANTA.29(1)
641 - 642 1982.
- 47.- Turk, Wittes. TRATADO DE ECOLOGIA. Ed Interamericana. Mé-
xico 1979.
- 48.- Valcarcel Casas M. TEORIA Y PRACTICA DE LA EXTRACCION LI-
QUIDO - LIQUIDO. Ed. Alhambra. México 1984.
- 49.- Van Staden Jacobus, et. al., "Simultaneous determination of
protein, nitrogen, phosphorus and calcium in animals feeds
tuffs by multichannel flow-injection analyst" JAAC. 166
(3) 1983.
- 50.- Waayne W. Daniel. BIOESTADISTICA. Ed. Limusa. México - 1987.
- 51.- Webber J. Walter. CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA EN PROCESOS
FISICOQUIMICOS. Ed. Reverté; S.A. Barcelona - México 1979.

52.- Wetzel G. Robert. LIMNOLOGIA. Ed. Omega. Barcelona 1976.

53.- Zuwayliffh Fadil. ESTADISTICA GENERAL APLICADA. Addison-
Wasley Iberoamericana. México 1974.