

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA**

**IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE VALIDACIÓN DE  
MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISIS DE: ACEITES Y  
GRASAS, CLORUROS, FÓSFORO TOTAL Y NITRATOS EN  
MUESTRAS DE AGUA**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA QUÍMICA**

**LIDIA ALEXANDRA REISANCHO REISANCHO**  
**alexlidia9@yahoo.com**

**DIRECTOR: ING. LUIS JARAMILLO**  
**luis.jaramillo@epn.ec**

**QUITO, SEPTIEMBRE 2009**

© Escuela Politécnica Nacional 2009  
Reservados todos los derechos de reproducción

## **DECLARACIÓN**

Yo, Lidia Alexandra Reisancho Reisancho, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluye en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Lidia Alexandra Reisancho Reisancho

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Señorita Lidia Alexandra Reisancho Reisancho, bajo mi supervisión.

---

Ing. Luis Jaramillo  
**DIRECTOR DE PROYECTO**

## **AUSPICIO**

La presente investigación contó con el auspicio financiero del proyecto: implementación de un Sistema de Validación de Métodos Físico-Químicos para análisis de: aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos en muestras de agua, que se ejecuta en el Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>PÁGINA</b>
<b>RESUMEN</b> .....	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	xv
<b>1 PARTE TEÓRICA</b> .....	1
1.1 La validación en la norma NTE INEN-ISO/ICE 17025:2006 .....	1
1.1.1 Grado de validación .....	2
1.1.2 Requisitos analíticos .....	3
1.1.3 Parámetros de desempeño de un método .....	4
1.1.3.1 Selectividad, especificidad y confirmación de la identidad .....	4
1.1.3.2 Función de respuesta .....	5
1.1.3.3 Sensibilidad .....	5
1.1.3.4 Límite de detección .....	6
1.1.3.5 Límite de cuantificación .....	7
1.1.3.6 Intervalo de trabajo e intervalo lineal .....	7
1.1.3.7 Robustez .....	8
1.1.4 Herramientas de la validación .....	8
1.1.4.1 Blancos .....	8
1.1.4.2 Muestras .....	9
1.1.4.3 Materiales fortificados .....	9
1.1.4.4 Materiales adicionados .....	9
1.1.5 Control de calidad interno .....	10
1.1.6 Control de calidad externo .....	10
1.2 Conceptos estadísticos básicos .....	10
1.2.1 Incertidumbre .....	10
1.2.1.1 Definición y proceso de cálculo .....	10
1.2.1.2 Especificación .....	11

1.2.1.3	Identificación de las fuentes de incertidumbre.....	13
1.2.1.4	Cuantificación .....	13
1.2.1.5	Conversión .....	16
1.2.1.6	Combinación .....	20
1.2.1.7	Incertidumbre expandida.....	22
1.2.1.8	Reporte de la incertidumbre expandida .....	26
1.2.2	Exactitud.....	26
1.2.2.1	Veracidad .....	28
1.2.2.2	Mediciones de sesgo .....	29
1.2.2.3	Recuperación.....	30
1.2.3	Precisión.....	30
1.2.3.1	Repetibilidad.....	31
1.2.3.2	Reproducibilidad .....	32
1.2.3.3	Desviación estándar, varianza y coeficiente de variación .....	32
1.2.3.4	Pruebas de significación .....	33
1.2.4	Trazabilidad.....	37
1.2.4.1	Jerarquía de referencias.....	38
1.2.4.2	Verificación de la trazabilidad en medidas químicas .....	40
1.3	Materiales de referencia certificados .....	41
1.3.1	Material de referencia .....	42
1.3.1.1	Tipos de materiales de referencia .....	42
1.3.1.2	Requisitos de los materiales de referencia .....	43
<b>2</b>	<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>45</b>
2.1	Puesta a punto.....	45
2.1.1	Necesidad analítica .....	45
2.1.2	Revisión y elección del método apropiado .....	45

2.1.2.1	Revisión y elección del método apropiado para la determinación de aceites y grasas .....	46
2.1.2.2	Revisión y elección del método apropiado para la determinación de cloruros .....	49
2.1.2.3	Revisión y elección del método apropiado para la determinación de fósforo total.....	55
2.1.2.4	Revisión y elección del método apropiado para la determinación de nitratos .....	61
2.1.3	Procedimientos de análisis .....	66
2.1.3.1	Método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas .....	66
2.1.3.2	Método argentométrico para la determinación de cloruros.....	69
2.1.3.3	Método de digestión y colorimetría para la determinación de fósforo total.....	72
2.1.3.4	Método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para la determinación de nitratos.....	75
2.1.4	Instructivo de calibración de los equipos utilizados .....	77
2.1.4.1	Instructivo de calibración para espectrofotómetro HACH DR 2800 .....	78
2.1.4.2	Instructivo de calibración para espectrofotómetro uv-visible UV- 1601 Shimadzu.....	80
2.1.5	Preparación de los objetos de ensayo.....	82
2.1.5.1	Material de referencia certificado .....	82
2.1.5.2	Material de referencia interno.....	84
2.2	Sistema de validación de los métodos.....	86
2.2.1	Elección de los parámetros de validación .....	86
2.2.2	Fijación de objetivos para los parámetros de validación .....	86
2.2.2.1	Determinación de aceites y grasas .....	86
2.2.2.2	Determinación de cloruros .....	87



2.2.2.3	Determinación de fósforo total.....	88
2.2.2.4	Determinación de nitratos .....	89
2.2.3	Diseño experimental y estadístico .....	90
2.2.3.1	Diseño experimental y estadístico para aceites y grasas.....	91
2.2.3.2	Diseño experimental y estadístico para cloruros .....	92
2.2.3.3	Diseño experimental y estadístico para fósforo total.....	93
2.2.3.4	diseño experimental y estadístico para nitratos.....	95
2.2.4	Ejecución de los ensayos diseñados.....	97
2.2.4.1	Modelo matemático para determinar los parámetros de validación .....	97
2.2.4.2	Modelo matemático para determinar la función de respuesta y linealidad.....	98
2.2.4.3	Modelo matemático para determinar el límite de detección .....	102
2.2.4.4	Modelo matemático para determinar el límite de cuantificación .....	102
2.2.4.5	Modelo matemático para determinar la precisión: repetibilidad y reproducibilidad .....	103
2.2.4.6	Modelo matemático para evaluar la exactitud.....	106
2.2.4.7	Modelo matemático para determinar la incertidumbre expandida.....	108
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>128</b>
3.1	Tratamiento estadístico de los datos obtenidos .....	128
3.1.1	Pruebas previas .....	128
3.1.1.1	Método de análisis para la determinación de aceites y grasas.....	128
3.1.1.2	Método de análisis para la determinación de cloruros .....	131
3.1.1.3	Método de análisis para la determinación de fósforo total.....	134
3.1.1.4	Método de análisis para la determinación de nitratos .....	138
3.2	Discusión de resultados.....	142
3.2.1	Recuperación de los métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total en muestras de agua residual fortificada.....	142

3.2.1.1	Recuperación del método de análisis de aceites y grasas .....	142
3.2.1.2	Recuperación del método de análisis de cloruros.....	142
3.2.1.3	Recuperación del método de análisis de fósforo total .....	143
3.2.2	Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación de los métodos de análisis de aceites y grasa, cloruros, fósforo total y nitratos .....	144
3.2.2.1	Límite de cuantificación del método de análisis de aceites y grasas ....	144
3.2.2.2	Límite de cuantificación del método de análisis de cloruros .....	145
3.2.2.3	Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación del método de análisis de fósforo total. ....	146
3.2.2.4	Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación del método de análisis de nitratos.....	148
3.2.3	Evaluación de la precisión de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos .....	150
3.2.3.1	Evaluación de la precisión del método de análisis de aceites y grasas .....	150
3.2.3.2	Evaluación de la precisión del método análisis de cloruros.....	152
3.2.3.3	Evaluación de la precisión del método de análisis de fósforo total.....	154
3.2.3.4	Evaluación de la precisión para el método de análisis de nitratos.....	155
3.2.4	Evaluación de la exactitud de los métodos de análisis de fósforo total, cloruros, fósforo total y nitratos .....	157
3.2.4.1	Evaluación de la exactitud para el método de análisis de aceites y grasas .....	157
3.2.4.2	Evaluación de la exactitud para el método de análisis de cloruros .....	158
3.2.4.3	Evaluación de la exactitud para el método de análisis de fósforo total.....	158
3.2.4.4	Evaluación de la exactitud para el método de análisis de nitratos.....	159
3.2.5	Determinación de la incertidumbre de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos	160

3.2.5.1	Determinación de la incertidumbre del método de análisis de aceites y grasas .....	160
3.2.5.2	Determinación de la incertidumbre del método de análisis de cloruros .....	160
3.2.5.3	Determinación de la incertidumbre del método de análisis de fósforo total.....	161
3.2.5.4	Determinación de la incertidumbre del método de análisis de nitratos .....	162
3.2.6	Determinación del intervalo de trabajo de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos .....	162
3.3	Elaboración del informe y declaración del método validado .....	163
4	Conclusiones y recomendaciones .....	168
4.1	Conclusiones.....	168
4.2	Recomendaciones .....	172
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	174
	<b>ANEXOS</b> .....	177

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabla 1:</b> Fijación de objetivos de validación para la determinación de aceites y grasas .....	87
<b>Tabla 2:</b> Fijación de objetivos de validación para la determinación de cloruros.....	88
<b>Tabla 3:</b> Fijación de objetivos de validación para la determinación de fósforo total .....	89
<b>Tabla 4:</b> Fijación de objetivos de validación para la determinación de nitratos.....	90
<b>Tabla 5:</b> Datos del material de referencia interno y certificado a una concentración de 2mg/l de aceites y grasa.....	128
<b>Tabla 6:</b> Prueba significativa para material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 2mg/l de aceites y grasas.....	129
<b>Tabla 7:</b> Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 2mg/l de aceites y grasas.....	129
<b>Tabla 8:</b> Peso de los balones para la extracción de aceites y grasas en función del tiempo de enfriamiento .....	130
<b>Tabla 9:</b> Comparación de la recuperación entre las concentraciones de 1 y 2 mg/l de aceites y grasas.....	131
<b>Tabla 10:</b> Datos observados del material de referencia interno y material de referencia certificado a la concentración de 5mg/l de cloruros, con 0,21 ml del blanco y 472 mg/l de AgNO <sub>3</sub> .....	132
<b>Tabla 11:</b> Prueba t para el material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 5 mg/l de cloruros .....	132
<b>Tabla 12:</b> Prueba F para material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 5 mg/l de cloruros .....	133
<b>Tabla 13:</b> Comparación de la recuperación entre las concentraciones de 1 y 5 mg/l de cloruros .....	134
<b>Tabla 14:</b> Datos observados de material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a la concentración 1 mg/l de fosfato .....	135
<b>Tabla 15:</b> Prueba significativa para el material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 1 mg/l de fosfato.....	135

<b>Tabla 16:</b> Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 1 mg/l de fosfato.....	136
<b>Tabla 17:</b> Comparación de dos métodos de digestión por plancha de calentamiento y autoclave .....	137
<b>Tabla 18:</b> Prueba significativa para el método de digestión en plancha y en autoclave .....	137
<b>Tabla 19:</b> Material de referencia interno (MRi) y certificado (CRM) a la concentración de 4,43 mg/l $\text{NO}_3^-$ .....	138
<b>Tabla 20:</b> Prueba significativa para el material de referencia interno (MRi) y certificado (CRM) a una concentración de 4,43 mg/l de $\text{NO}_3^-$ .....	139
<b>Tabla 21:</b> Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 4,43 mg/l de $\text{NO}_3^-$ .....	139
<b>Tabla 22:</b> Prueba significativa para datos observados de $\text{NO}_3\text{-N}$ a la concentración de 1, 10 y 30 mg/l .....	140
<b>Tabla 23:</b> Datos observados de 1, 20 y 50 mg de glucosa por litro de solución de 1 mg/L de $\text{NO}_3\text{-N}$ .....	141
<b>Tabla 24:</b> Evaluación de la recuperación en una muestra fortificada en una matriz de agua residual y un analito de 5mg/l de aceites y grasas de concentración .....	142
<b>Tabla 25:</b> Recuperación de muestra fortificada con una concentración de 5mg/l en una matriz de agua residual para 0,21 ml del blanco y 472 mg/l de $\text{AgNO}_3$ ...	143
<b>Tabla 26:</b> Recuperación de muestra fortificada con una concentración de 0,16 mg/l de fósforo total (P) en una matriz de agua residual .....	143
<b>Tabla 27:</b> Prueba significativa para comparar una media con un valor verdadero de aceites y grasas a una concentración de 2 mg/L.....	144
<b>Tabla 28:</b> Prueba significativa para comparar una media con un valor verdadero de cloruros a una concentración de 5 mg/L.....	145
<b>Tabla 29:</b> Análisis de curva de calibración de fósforo total .....	146
<b>Tabla 30:</b> Límites de confianza del método de análisis de fósforo total .....	147
<b>Tabla 31:</b> Análisis de la curva de calibración de nitratos.....	148
<b>Tabla 32:</b> Límites de confianza del método de análisis de nitratos .....	149

<b>Tabla 33:</b> Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 2, 25 y 50 mg/L de aceites y grasas .....	150
<b>Tabla 34:</b> Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 2, 25 y 50 mg/L de aceites y grasas .....	151
<b>Tabla 35:</b> Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 5, 50 y 100 mg/L de cloruros.....	152
<b>Tabla 36:</b> Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 5,50 y 100 mg/l de cloruros .....	153
<b>Tabla 37:</b> Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L de fósforo total.....	154
<b>Tabla 38:</b> Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L de fósforo total .....	155
<b>Tabla 39:</b> Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L de nitratos.....	156
<b>Tabla 40:</b> Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L de nitratos.....	157
<b>Tabla 41:</b> Determinación de la recuperación de aceites y grasas en los tres niveles de concentración .....	158
<b>Tabla 42:</b> Determinación de la recuperación de cloruros en los tres niveles de concentración .....	158
<b>Tabla 43:</b> Determinación de la recuperación de fósforo total en los cinco niveles de concentración.....	159
<b>Tabla 44:</b> Determinación de la recuperación de nitratos en los cinco niveles de concentración .....	159
<b>Tabla 45:</b> Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de aceites y grasas .....	160
<b>Tabla 46:</b> Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de cloruros .....	161
<b>Tabla 47:</b> Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de fósforo total .....	161
<b>Tabla 48:</b> Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de nitratos .....	162

<b>Tabla 49:</b> Intervalo de trabajo de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos. ....	163
---	-----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1:</b> Parámetros de calidad de un método analítico.(NTE INEN ISO/IEC 17025,2006).....	2
<b>Figura 2:</b> Elección, desarrollo y evaluación de método. (Eurachem, 1998) .....	3
<b>Figura 3:</b> Etapas a seguir para el cálculo de la incertidumbre. (Eurachem, 2000) .....	11
<b>Figura 4:</b> Propiedades de la distribución normal: i) aproximadamente 68% de los valores caen dentro de $\pm 1\sigma$ de la media ; ii) cerca del 95% de los valores se ubican dentro de $\pm 2\sigma$ de la media; iii) 99% de los valores se encuentra dentro de $\pm 2\sigma$ de la media.(Miller,1993).....	17
<b>Figura 5:</b> Forma gráfica de distribución rectangular .....	19
<b>Figura 6:</b> Forma gráfica de distribución triangular.....	19
<b>Figura 7:</b> Función t de Student .....	24
<b>Figura 8:</b> Error sistemático y aleatorio. Cada aspa (x) representa un valor medido. (Pallás,2006).....	27
<b>Figura 9:</b> Definición de exactitud. (APHA et al., 2005) .....	28
<b>Figura 10:</b> Tipos de sesgo (Eurachem ,1998) .....	29
<b>Figura 11:</b> Prueba de dos colas.....	36
<b>Figura 12:</b> Prueba de una cola .....	36
<b>Figura 13:</b> Diversas referencias utilizadas en medidas químicas para verificar la trazabilidad.(Maroto 2002) .....	39
<b>Figura 14:</b> Equipo para recuperación del hexano: 1. rotavapor; 2.baño de agua .....	67
<b>Figura 16:</b> Estufa Linberg /Blue .....	77
<b>Figura 15:</b> Espectrofotómetro HACH DR-2800.....	78
<b>Figura 17:</b> Espectrofotómetro UV-Visible UV-1601 Shimadzu .....	81
<b>Figura 18:</b> Regresión lineal de la función (P, L) .....	99
<b>Figura 19:</b> Esquema para el análisis simple de varianza.....	103
<b>Figura 20:</b> Cuadro de análisis simple de varianza ANOVA .....	105



## ÍNDICE DE ANEXOS

### PÁGINA

#### ANEXO I

Valor de  $t_p$  de la distribución  $t$  de Student para  $v$  grados de libertad; **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO II

Preparación de Reactivos ..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO III

Certificados de calibración emitidos por el INEN y certificados de análisis de los materiales de referencia..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO IV

Informe de calibración interna del espectrofotómetro ..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO V

Informe de calibración interna del espectrofotómetro ..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO VI

Preparación de soluciones para validación de fósforo total y nitratos. **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO VII

Estimación lineal mediante Excel..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO VIII

Especificaciones técnicas de Espectrofotómetro HACH DR 2800; **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO IX

Especificaciones técnicas del espectrofotómetro Shimadzu UV 1601 **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO X

Datos experimentales obtenidos del método de análisis de aceites y grasas ..... **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO XI

Datos experimentales obtenidos del método de análisis de cloruros...; **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO XII

Datos experimentales obtenidos del método de análisis de fósforo total; **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO XIII

Datos experimentales obtenidos del método de análisis de nitratos; **Error! Marcador no definido.**

#### ANEXO XIV

Análisis y gráfico de la curva de calibración de fósforo total; **Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XV**

Análisis y gráfico de la curva de calibración de nitratos .... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XVI**

Linealidad de función de respuesta del método de análisis de fósforo total;**¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XVII**

Linealidad de función de respuesta del método de análisis de nitratos;**¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XVIII**

Media, varianza, coeficiente de variación de los métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos ..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XIX**

Recuperación en cada nivel de concentración por día de los métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XX**

Diagrama causa-efecto y cálculo de la incertidumbre expandida del método analítico de aceites y grasas ..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XXI**

Diagrama causa-efecto y cálculo de la incertidumbre expandida del método analítico de cloruros..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XXII**

Diagrama causa-efecto y cálculo de la incertidumbre expandida del método analítico de fósforo total ..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XXIII**

Diagrama causa-efecto y cálculo de la incertidumbre expandida del método de análisis de nitratos ..... **¡Error! Marcador no definido.**

**ANEXO XXIV**

Instrucciones básicas para operar el espectrofotómetro UV-VIS 1601 Shimadzu;**¡Error! Marcador no def**

## RESUMEN

El presente proyecto ha sido desarrollado con el fin de validar los procedimientos de análisis para la determinación de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos en muestras de aguas claras y residuales.

En la parte teórica se realizó un breve estudio de los conceptos estadísticos, los cuales son de mucha utilidad para aplicar en el análisis de datos que se obtuvieron durante el desarrollo del proyecto.

En la parte experimental se investigaron diferentes métodos que podían realizarse en el laboratorio, consultando métodos normalizados para el análisis de aguas residuales y claras. Una vez elegido el método se procedió a realizar las mediciones de los parámetros, como son: la función de respuesta, la linealidad, el límite de detección, el límite de cuantificación, la exactitud, la precisión, la selectividad, incertidumbre.

En el método partición gravimétrica para el análisis de aceites y grasas se determinó un intervalo de trabajo de 2 a 50 mg/l. En el método argentométrico para la determinación de cloruros un intervalo trabajo de 5 a 100 mg/l, en el método de digestión y colorimétrico para el análisis de fósforo total un intervalo de trabajo de 0,12 a 0,82 mg/L, en el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para el análisis de nitratos un intervalo de trabajo de 0,30 a 44,27 mg/l

En la función de respuesta para fósforo total se obtuvo un coeficiente de determinación igual a 0,998 y para nitratos igual a 0,999 determinando así la linealidad en el intervalo de concentraciones estudiadas.

La incertidumbre expandida de los cuatro métodos desarrollados, se encontró dentro de los límites establecidos, menor al 35%. Los objetivos de los parámetros de validación se encontraron dentro del los límites establecidos por lo tanto la validación de los cuatro métodos fue aceptada.

## INTRODUCCIÓN

El Centro de Investigaciones y Control Ambiental (CICAM) siendo un laboratorio que ofrece sus servicios a la comunidad y es acreditado tiene como meta el mejoramiento de la calidad y de la competitividad.

El laboratorio como proveedor de servicios debe hacer los análisis con responsabilidad y brindar resultados fiables, para que el cliente esté seguro de las decisiones a tomar a cerca del tratamiento o disposición final de las aguas claras y residuales

Este proyecto se encamina a la validación de métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos.

La validación de estos procedimientos de ensayo da como resultado una mejor práctica de laboratorio para poder brindar un mejor servicio al cliente. El método de validación se basa en una serie de requerimientos tomando en cuenta los principios básicos para su desarrollo.

La definición de validación de acuerdo a la ISO: “es la confirmación, a través de un examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para establecer los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de las especificaciones que estén trabajando correctamente y están calibrados apropiadamente. El operador debe ser técnicamente competente para que sea capaz de tomar las decisiones adecuadas a medida que avanza el estudio.

## ABREVIATURAS

$c_i$ :	coeficiente de sensibilidad
Cnr:	correcciones no realizadas
CV:	coeficiente de variación
$H_0$ :	hipótesis nula
$H_1$ :	hipótesis alternativa
	factor de cobertura a partir de un nivel de confianza dado
k:	obtenido directamente
L est:	lecturas estimadas con la recta de regresión lineal
L:	lecturas obtenidas, eje y
$L_1, L_2, L_n$ :	resultados de la medición
Lo:	valor de la ordenada en el origen
n:	número de repeticiones
p:	probabilidad de cobertura
P:	valores asignados, eje x
Pi:	valores de los patrones conocidos
$\bar{P}$ :	media de los valores de patrones conocidos
$r_{ik}$ :	coeficiente de correlación
Rep.:	repeticiones u observaciones de una medida
s:	desviación estándar
$S_B$ :	desviación estándar del blanco
$S_{L,P}$ :	error tipo en la estimación de L
$S_L$ :	diferencia entre cuadráticas medias
Sr:	desviación estándar de repetibilidad
$S_R$ :	desviación estándar de reproducibilidad
$S_{P,L}$ :	desviación tipo de la recta
t:	valor de t Student de tablas con grados de libertad y nivel de confianza
u(xi):	incertidumbre estándar de magnitud de entrada x
u(y, $x_i$ ) :	incertidumbre en y que proviene de la incertidumbre en xi
U:	incertidumbre expandida
$u_c$ :	incertidumbre estándar combinada

$u_{c,rel}(y)$ :	incertidumbre combinada relativa
$u_i$ :	incertidumbre de la evaluación tipo A o Tipo B
$u(x_i, x_k)$ :	covarianza entre $x_i$ y $x_k$
$u_A$ :	incertidumbre debida al analista
$u_{MR}$ :	incertidumbre debida a la preparación de los niveles de concentración a partir del material de referencia
$u_R$ :	incertidumbre debida a la reproducibilidad del método
$\mu$ :	valor verdadero
$\nu$ :	número de grados de libertad
$\nu_{ef}$ :	número de grados de libertad efectivos
$\bar{x}$ :	media muestral
$X_i$ :	magnitudes de entrada
$x_i$ :	mejor estimado de $x_i$
$y(x_1, x_2, \dots)$ :	función de varios parámetros ( $x_1, x_2, \dots$ )
$Y$ :	magnitud de salida
$y$ :	mejor estimado de $y$
$y_B$ :	señal del blanco
$\alpha$ :	nivel de significancia

## **GLOSARIO**

### **Agua desionizada**

Agua donde se han eliminado las impurezas mediante resinas intercambiadoras de iones. (Costa, 2005)

### **Agua destilada**

Es aquella a la que se han eliminado las impurezas e iones mediante destilación. (Costa, 2005)

### **Agua residual**

Aguas procedentes de hogares o de la industria que se recogen y se transportan por el sistema de alcantarillado (tuberías o túneles). (Greenfacts, 2009)

### **Analito**

Componente de un material que se analiza. (Costa, 2005)

### **Calibración**

Conjunto de operaciones que establecen, en condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, o los valores representados por una medida materializada o por un material de referencia, y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones. (CEM, 2007)

### **Corrección**

Valor sumado algebraicamente al resultado sin corregir de una medición para compensar un error sistemático. (CEM, 2007)

### **Correlación**

Relación entre dos o más variables aleatorias dentro de una distribución de dos o más variables aleatorias. (CEM, 2007)

### **Deriva**

Variación lenta de una característica metrológica de un instrumento de medida. (CEM, 2007)



**Desviación**

Valor menos su valor de referencia. (CEM, 2007)

**Error (de medida)**

Resultado de una medición menos un valor verdadero del mensurando. (CEM, 2007)

**Error aleatorio**

Resultado de una medición menos la media de un número infinito de mediciones del mismo mensurando, efectuadas bajo condiciones de repetibilidad. (CEM, 2007)

**Error sistemático**

Media que resultaría de un número infinito de mediciones del mismo mensurando efectuadas bajo condiciones de repetibilidad, menos un valor verdadero del mensurando. (CEM, 2007)

**Exactitud de medida**

Grado de concordancia entre el resultado de una medición y valor verdadero del mensurando. (CEM, 2007)

**Incertidumbre de medida**

Parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando. (CEM, 2007)

**Magnitud**

Atributo de un fenómeno, cuerpo o sustancia, que es susceptible de ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente. (CEM, 2007)

**Medición**

Conjunto de operaciones que tienen por finalidad determinar un valor de una magnitud. (CEM, 2007)

**Mensurando**

Atributo sujeto a medición de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente. (Schmid y Lazos, 2004)

**Método de medida**

Sucesión lógica de operaciones, descritas de una forma genérica, utilizadas en la ejecución de las mediciones. (JCGM, 2008)

**Patrón**

Medida materializada, instrumento de medida, material de referencia o sistema de medida destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o varios valores de una magnitud para que sirvan de referencia. (CEM, 2007)

**Probabilidad**

Número real, entre 0 y 1, asociado a un suceso aleatorio. (CEM, 2007)

**Procedimiento de medida**

Conjunto de operaciones, descritas de forma específica, utilizadas en la ejecución de mediciones particulares según un método dado. (CEM, 2007)

**Resolución (de un dispositivo visualizador)**

La menor diferencia de indicación de un dispositivo visualizador que puede percibirse de forma significativa. (CEM, 2007)

**Resultado de una medición**

Valor atribuido a un mensurando, obtenido por medición. (CEM, 2007)

# **1 PARTE TEÓRICA**

## **1.1 LA VALIDACIÓN EN LA NORMA NTE INEN-ISO/ICE 17025:2006**

Todos los laboratorios deben desarrollar el método de validación para tener la seguridad que los métodos analíticos presentan resultados fiables, porque de ellos surgen decisiones importantes.

La definición de validación de acuerdo a la ISO: “es la confirmación, a través de un examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”. (NTE INEN-ISO/IEC 17025, 2006).

Los resultados obtenidos deben ser registrados así como el procedimiento utilizado y realizar una declaración sobre la aptitud del método para el uso previsto.

Los parámetros de desempeño en el proceso de validación se lo realiza usando equipos dentro de especificaciones, es decir que estén trabajando correctamente y que estén calibrados adecuadamente. De igual manera el operador que realiza la validación debe ser técnicamente competente y tener experiencia en ese campo para poder tomar decisiones adecuadas a medida que avanza el estudio.

Para la determinación del desempeño de un método se sugiere utilizar una o varias técnicas que se citan a continuación:

- Calibración con patrones de referencia o materiales de referencia
- Comparación de resultados derivados por otros métodos
- Comparaciones entre laboratorios
- Evaluación sistemática de los factores que influyen en el método
- Evaluación de la incertidumbre de los resultados en base al conocimiento científico de los principios teóricos del método y en la experiencia práctica

Los valores de parámetros de desempeño; incertidumbre de los resultados, el límite de detección, selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad o de reproducibilidad, la robustez contra influencias externas, y la sensibilidad cruzada frente a interferencias provenientes del objeto de ensayo, tal como fueron especificadas en los métodos validados, deben cumplir con las necesidades de los clientes. [NTE INEN ISO/IEC 17025, 2006; Eurachem 1998]

Los costos, los riesgos y las posibilidades técnicas deben estar en equilibrio en la validación, en la figura 1 se indican los parámetros de calidad de tipo estadístico y operativo.

<b>Tipo estadístico</b>	<b>Tipo operativo/económico</b>
✓ Veracidad, Trazabilidad	✓ Inversión
✓ Precisión, Incertidumbre	✓ Mantenimiento
✓ Representatividad	✓ Rapidez
✓ Sensibilidad	✓ Facilidad de uso
✓ Selectividad	✓ Simplicidad
✓ Límite de detección	
✓ Límite de cuantificación	
✓ Robustez	

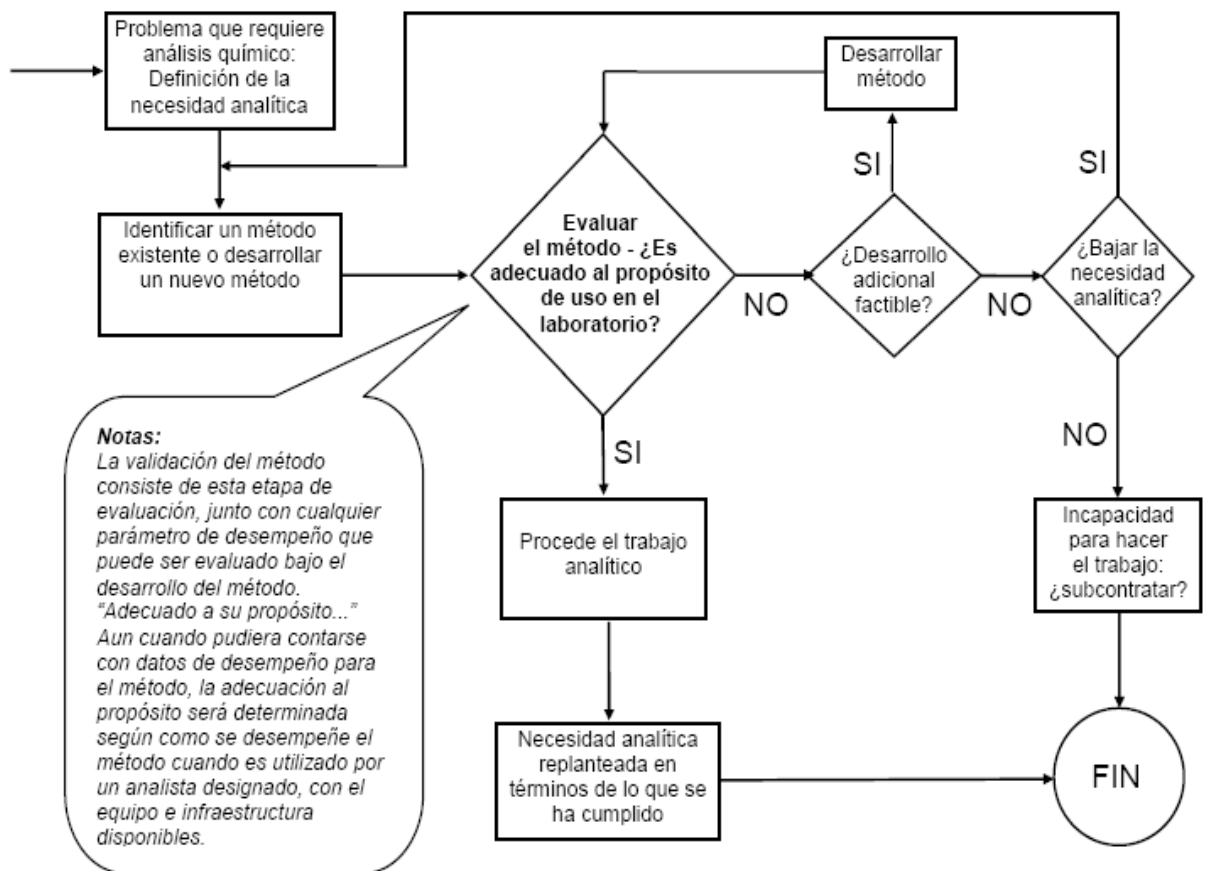
**Figura 1:** Parámetros de calidad de un método analítico.  
(NTE INEN ISO/IEC 17025, 2006)

### 1.1.1 GRADO DE VALIDACIÓN

El laboratorio debe definir que parámetros de desempeño van a caracterizarse con el fin de validar el método. Al empezar con una especificación analítica se debe tener una buena base sobre la cual plantear el proceso de validación. A menudo una serie específica de experimentos proporcionará información sobre varios parámetros, con una planeación cuidadosa puede minimizarse el esfuerzo requerido para obtener la información necesaria. (Eurachem, 1998)

### 1.1.2 REQUISITOS ANALÍTICOS

Ante un problema analítico el laboratorio debe ponerse de acuerdo con el cliente. Una necesidad analítica es la que define los requisitos de desempeño para resolver el problema analítico. El laboratorio puede evaluar si los métodos existentes son los apropiados o necesita desarrollar un nuevo método. El proceso iterativo de evaluación y el desarrollo continúa hasta que el método cumpla con las exigencias, como se indica en la figura 2.



**Figura 2:** Elección, desarrollo y evaluación de método.  
(Eurachem, 1998)

### **1.1.3 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DE UN MÉTODO**

Los parámetros de desempeño de un método son:

- Selectividad/ especificidad
- Función de respuesta /linealidad / sensibilidad
- Límite de cuantificación
- Límite de detección
- Intervalo de trabajo
- Robustez
- Incertidumbre
- Exactitud
- Precisión
- Trazabilidad

Las definiciones de la incertidumbre, la exactitud, la precisión y la trazabilidad se presentarán en el apartado 1.2 Conceptos estadísticos básicos.

#### **1.1.3.1 Selectividad, especificidad y confirmación de la identidad**

Los métodos analíticos pueden estar precedidos de una etapa de separación antes de una etapa medición. La confirmación de la identidad se establece cuando en la etapa de medición la señal producida u otra propiedad de medida atribuida al analito puede ser exclusivamente del analito en cuestión y no a algo similar o por coincidencia.

La selectividad describe la técnica de un procedimiento analítico para distinguir el analito entre varias sustancias en la muestra. La especificidad es la capacidad de evaluar el analito en presencia de componentes que se espera que estén presentes. Por lo general la especificidad se considera generalmente que es el 100% de la selectividad.

Las interferencias pueden producir varios efectos si el analista no está consciente de su presencia o no pueden separar el analito de interés. Las interferencias consiguen inhibir la confirmación, o también pueden incrementar la señal atribuida al analito, y como consecuencia disminuye o aumenta su concentración. La pendiente de la curva de calibración es afectada por las interferencias. El método de adiciones puede afectar la linealidad de la curva.

La selectividad de un método se prueba adicionando de manera deliberada a una muestra las interferencias específicas, es decir aquellas que tengan mayor probabilidad de estar presentes en las muestras. Si no se conoce a ciencia cierta la existencia o no de interferencias, se puede evaluar la selectividad del método por comparación con la aplicación de otro método. La selectividad también puede estar afectada por la existencia del analito en una muestra en más de una forma, como libre o enlazado, o en diferentes estados de oxidación. [OAA, 2003; Eurachem, 1998]

#### **1.1.3.2 Función de respuesta**

La función de respuesta instrumental se conoce comúnmente como recta de calibrado [ $L=f(P)$ ]. El analista prepara una serie de muestras, tres o cuatro y posiblemente cinco, en las que se conoce la concentración del analito, estas calibraciones estándar se miden en el instrumento analítico, en las mismas condiciones que se usa para muestras desconocidas, al determinar la gráfica de la calibración, se puede obtener la concentración del analito de la muestra desconocida por interpolación. (Miller, 1993)

#### **1.1.3.3 Sensibilidad**

La sensibilidad es la variación en la respuesta del instrumento que se relaciona con un cambio en la concentración del analito, es el gradiente de la función de respuesta. Para el intervalo lineal de un método, la sensibilidad corresponde a la

pendiente de la recta de calibración, y es un parámetro objeto de seguimiento cuando se efectúan calibraciones habituales. (Eurachem, 1998)

#### **1.1.3.4 Límite de detección**

El límite de detección (L.D.) se define como la mínima concentración o cantidad de un analito en una muestra que puede ser detectada confiablemente por un método analítico determinado, con una sola medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito.

La importancia de determinar L.D. se debe a que la probabilidad de detección no cambia de cero a la unidad repentinamente cuando se realiza la medición.

El límite de detección es el “valor mínimo detectable de la variable de estado definida” lo que en química se traduce como la “concentración mínima detectable”, otra definición más cautelosa “valor (verdadero) mínimo detectable” (Eurachem, 1998).

Los límites de detección se clasifican en límite de detección del instrumento, límite inferior de detección y límite de detección del método. El límite de detección del instrumento sirve como guía para la determinación del límite de detección del método. El límite de detección del instrumento es la concentración del componente que provoca una señal superior a tres desviaciones estándar del nivel del ruido.

El límite inferior de detección es la cantidad suficientemente grande que pueda detectarse el 99% de los análisis realizados con dicha cantidad. El límite de detección del método se produce cuando las muestras que tienen el analito de interés son procesadas a través del método analítico completo. El límite de detección del método produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco. El límite de detección del método puede ser obtenido con



equipos calibrados y con analistas experimentados. [APHA et al, 2005; Eurachem, 1998]

#### **1.1.3.5 Límite de cuantificación**

El límite de cuantificación es la mínima concentración de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de precisión (repetibilidad) y exactitud, dentro de las condiciones establecidas de ensayo.

Varias convenciones lo definen como la concentración de analito correspondiente al valor del blanco más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media de blancos. Este valor no deberá usarse en la toma de decisiones. La capacidad para cuantificar se expresa habitualmente en términos de señal del analito que originará estimaciones con una desviación estándar relativa especificada comúnmente del 10%. (Eurachem, 1998)

#### **1.1.3.6 Intervalo de trabajo e intervalo lineal**

Es necesario determinar el intervalo de concentraciones de analito dentro del cual se puede emplear el método; esto se refiere al intervalo de concentraciones de las disoluciones efectivamente medidas y no a las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentraciones el factor limitante es el valor del límite de detección y/o cuantificación; en el extremo superior el alcance depende de la respuesta del instrumento o de condiciones analíticas establecidas como óptimas.

El intervalo lineal es la parte de la función de calibración en la que la señal obtenida del analito responde linealmente a la concentración. Se verifica mediante la obtención de un coeficiente de correlación mayor o igual a 0,995.

La valoración del intervalo de trabajo y del intervalo lineal permiten definir qué grado de calibración se requerirá al usar el método; en el intervalo lineal puede ser suficiente un punto de calibración para establecer la pendiente de la línea de

calibración. En el resto del intervalo de trabajo será necesaria la calibración en múltiples puntos. La respuesta del instrumento a la concentración no tiene que ser perfectamente lineal para que el método sea efectivo, pero la curva debe ser repetible diariamente. El intervalo de trabajo y el intervalo lineal pueden ser diferentes para matrices diferentes según el efecto de las interferencias que aporte la matriz. [OAA ,2003; Eurachem, 1998]

#### **1.1.3.7 Robustez**

La robustez es una medida de la efectividad de un método analítico, que ante las condiciones establecidas se puede obtener resultados suficientemente exactos con alta seguridad, de manera que el método funcione confiablemente en otros laboratorios o después de intervalos largos de tiempo. Habitualmente este parámetro se aplica en el desarrollo del procedimiento, en el cual se realiza variaciones deliberadas al método y se cuantifica su efecto mediante el rendimiento, generalmente lo realiza el laboratorio que lo ha propuesto, antes de la colaboración de otros laboratorios. Las pruebas de robustez se realizan generalmente para investigar su efecto sobre la exactitud y precisión del método. [OAA ,2003; Eurachem, 1998]

### **1.1.4 HERRAMIENTAS DE LA VALIDACIÓN**

#### **1.1.4.1 Blancos**

“El uso de varios tipos de blancos permite al analista asegurar que los cálculos hechos para el analito puedan corregirse para eliminar cualquier contribución a la respuesta que no se le atribuya al analito”. (Eurachem, 1998), los cuales se citan a continuación:

- a) **Blanco de reactivos:** durante el proceso analítico se usan reactivos que deben ser analizados para determinar si contribuyen o no a la señal de medición. La señal de medición que surge del analito puede ser corregida

adecuadamente. El blanco de reactivos se debe analizar cuando se utilicen reactivos nuevos y con la frecuencia que lo requieran los métodos específicos.( APHA et al.,2005)

- b) **Blanco de muestra:** en la práctica son matrices sin analito, son necesarios para tener una estimación realista de las interferencias que pueden encontrarse en el análisis de las muestras de prueba.(Eurachem,1998)

#### **1.1.4.2 Muestras**

Los materiales de prueba tomados de muestras reales son útiles por la información que proporcionan acerca de las interferencias, que pueden hallarse en el trabajo diario. Si se conoce con exactitud el contenido del analito entonces se puede evaluar la exactitud del método. [OAA, 2003; Eurachem, 1998]

#### **1.1.4.3 Materiales fortificados**

Son materiales o soluciones que han sido fortificados con el analito de interés. La fortificación se hace por adición. Los materiales o disoluciones pueden contener el analito, así que se debe tener cuidado que la fortificación no sobrepase el intervalo de trabajo del método. La fortificación permite incrementar la respuesta al analito al ser medido y calculado en términos de la cantidad agregada, asumiendo 100% de recuperación, aún sin conocer las cantidades absolutas del analito en los materiales o soluciones antes de la fortificación. (Eurachem, 1998)

#### **1.1.4.4 Materiales adicionados**

Los materiales adicionados son parecidos a los materiales fortificados, pero la adición no se restringe solo al analito de interés. Podría incluirse cualquier sustancia con el propósito de medir el efecto de la adición. [OAA, 2003; Eurachem, 1998]

### **1.1.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO**

El control de calidad interno es realizado por el personal del laboratorio mediante una serie de procedimientos, para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y las calibraciones llevados a cabo con el fin de decidir si los resultados son lo suficientemente confiables como para ser emitidos.

Para el control de calidad interno se puede utilizar: blancos, calibrantes químicos, muestras adicionadas, muestras ciegas, replicas de análisis, muestras de control de calidad y cartas de control de calidad (para llevar un seguimiento de las muestras de control de calidad). [NTE INEN ISO/IEC 17025,2006; Eurachem, 1998]

### **1.1.6 CONTROL DE CALIDAD EXTERNO**

El control de calidad externo se realiza con pruebas de desempeño entre laboratorios para resaltar la reproducibilidad y errores sistemáticos, es decir el sesgo. Las pruebas de desempeño y otros tipos de intercomparaciones se aceptan como un medio importante para dar seguimiento a la trazabilidad a nivel tanto nacional como internacional. [NTE INEN ISO/IEC 17025,2006; Eurachem, 1998]

## **1.2 CONCEPTOS ESTADÍSTICOS BÁSICOS**

### **1.2.1 INCERTIDUMBRE**

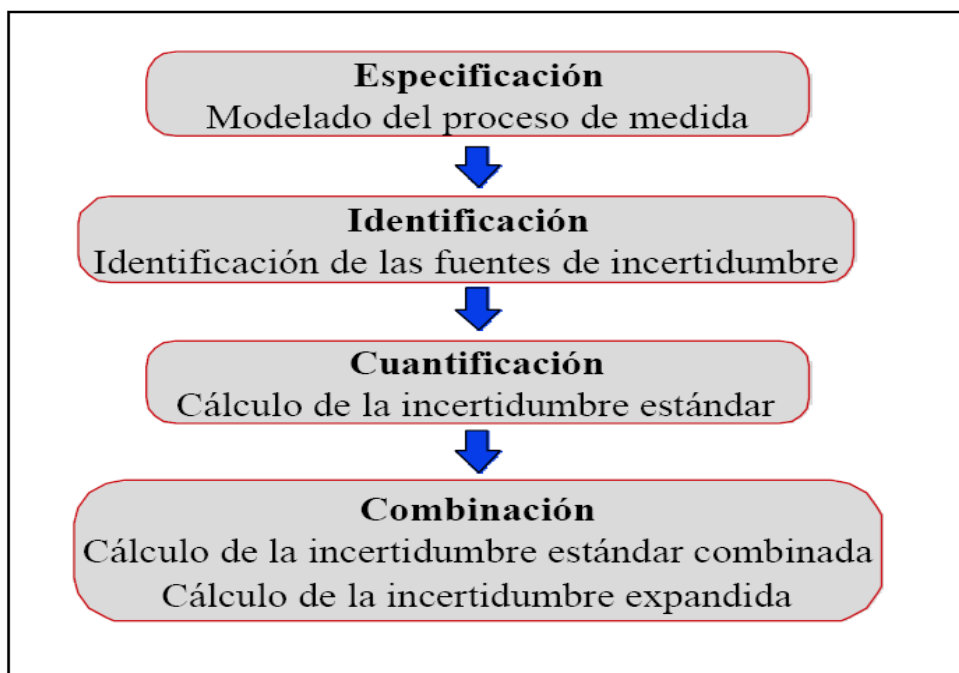
#### **1.2.1.1 Definición y proceso de cálculo**

Toda medición lleva implícita una incertidumbre, definida como “un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando” y mensurando “es el atributo sujeto a medición de un fenómeno,

cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente". (Schimid y Lazos, 2004)

La incertidumbre de una medición es un parámetro que proporciona una idea de la calidad del resultado, porque indica cuanto puede alejarse el resultado del valor considerado como verdadero. Los resultados deben ir siempre acompañados de su incertidumbre para poder tomar decisiones basadas en los resultados.

En la figura 3 se indica los pasos para calcular la incertidumbre: la especificación, la identificación, la cuantificación y la combinación.



**Figura 3:** Etapas a seguir para el cálculo de la incertidumbre.  
(Eurachem, 2000)

#### 1.2.1.2 Especificación

El principio, el método y el procedimiento de medición son precisos en la determinación de la incertidumbre de medición. El principio de la medición es el soporte científico usado para realizar una medición. El método y procedimiento de

medición son formas de llevar a cabo la medición; el método en forma genérica y el procedimiento en forma específica.

Un conocimiento insuficiente de ellos seguramente causará una estimación equivocada o incompleta de la incertidumbre de medición.

En esta etapa se establece la relación entre el resultado analítico y las magnitudes de las que depende. (Schmid y Lazos, 2004).

#### 1.2.1.2.1 Modelo matemático

En varios casos, un mensurando  $Y$  no es medido directamente, pero es determinado por otras cantidades  $X_1, X_2, X_N$ , a través de una relación funcional  $f$ . (JCGM 100,2008), que se describe en la siguiente ecuación:

$$Y = f(\{X_i\}) = f(X_1, X_2, \dots, X_N). \quad [1. 1]$$

Donde:

$X_i$ : magnitudes de entrada

$Y$ : magnitud de salida

La relación funcional puede estar representada por una tabla de valores correspondientes, una gráfica o una ecuación.

“El mejor estimado del valor del mensurando es el resultado de calcular el valor de la función  $f$  evaluada en el mejor estimado de cada magnitud de entrada”. (Schmid y Lazos, 2004), como se indica en la siguiente ecuación:

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_N) \quad [1. 2]$$

Donde:

$y$ : mejor estimado de  $Y$

$x_i$ : mejor estimado de  $X_i$

### 1.2.1.3 Identificación de las fuentes de incertidumbre

Previo a esta etapa debe estar determinados el mensurando, el principio, el método y el procedimiento de medición. Es conveniente utilizar el diagrama causa efecto para establecer las fuentes que influyen en la incertidumbre del resultado.

Como posibles fuentes de incertidumbre de una medida se tiene:

- Definición incompleta del mensurando
- Una muestra no representativa
- Variaciones de las condiciones ambientales
- Valor erróneo de materiales de referencia
- Valores erróneos de constantes y otros parámetros de fuentes externas
- Precisión total del método en un período largo de tiempo
- Características propias del instrumento como resolución, deriva, etc.
- Variación en observaciones repetidas del mensurando
- Reproducibilidad por cambio de analistas, instrumentos
- Calibración de un instrumento de medida

No se debe desechar alguna de las fuentes de incertidumbre por poco significativa que parezca, sin haber realizado una cuantificación previa de la contribución. Sin embargo debido a la experiencia, conocimiento y actitud crítica del metrólogo, una contribución se podría despreciar, tomando en cuenta las debidas consideraciones. (Schmid y Lazos, 2004; Eurachem, 2000).

### 1.2.1.4 Cuantificación

La cuantificación es el cálculo de las fuentes de incertidumbre identificadas. Para evaluar la incertidumbre existen dos métodos principales basados en distribuciones de probabilidad: el Método de Evaluación Tipo A (se basa en un análisis estadístico de una serie de mediciones) y el Método de Evaluación Tipo B (comprende todas las demás maneras de estimar la incertidumbre).

La evaluación de tipo A se basa en mediciones repetidas del mismo proceso de medición, mientras que la evaluación de tipo B se fundamenta en una distribución basada en experiencia o información externa al analista. (JCGM 100, 2008).

#### 1.2.1.4.1 Evaluación tipo A

La incertidumbre estándar Tipo A puede obtenerse por cualquier método estadístico que ofrezca un estimado válido de la dispersión de datos. (ECA, 2004)  
Se tiene cuatro casos de la evaluación Tipo A:

a) **Primer caso:** la incertidumbre de una magnitud de entrada  $X_i$  se obtiene a partir de  $n$  mediciones independientes  $L_j$ , bajo condiciones de repetibilidad.

Si  $X_i$  se determina por  $n$  mediciones independientes ( $L_1, L_2, L_n$ ) la media de los resultados individuales es igual a:

$$\bar{L} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n L_j \quad [1. 3]$$

La dispersión de resultados de la medición ( $L_1, L_2, L_n$ ), para la magnitud de entrada ( $X_i$ ) se enuncia por su desviación estándar experimental:

$$s(L) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (L_j - \bar{L})^2} \quad [1. 4]$$

A partir de la desviación estándar experimental de la media se obtiene finalmente la incertidumbre estándar  $u(x_i)$  de  $X_i$ :

$$u(x_i) = s(\bar{L}) = \frac{s(L)}{\sqrt{n}} = \frac{1}{\sqrt{n}} \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (L_j - \bar{L})^2} \quad [1. 5]$$

b) **Segundo caso:** Evaluación de la incertidumbre de la medición mediante el análisis estadístico de los datos obtenidos del diseño experimental. En este



caso, del llamado Análisis de Varianza (ANOVA), que si bien persigue otros objetivos también permite las evaluaciones tipo A de las componentes de la incertidumbre.

- c) **Tercer caso:** El ajuste por el método de los mínimos cuadrados de una curva  $Y=f(X_i)$  a partir de los datos experimentales.
- d) **Cuarto caso:** la incertidumbre estándar mancomunada o histórica, se aplica a las mediciones que se efectúen bajo control estadístico en el cual está determinada una desviación estándar del comportamiento de las mediciones mancomunadas o históricas ( $S_p$ ), puede utilizarse la siguiente ecuación:

$$u(x_i) = \frac{S_p}{\sqrt{n}} \quad [1. 6]$$

Donde: n es el número de replicas de mediciones en el caso particular (ECA, 2004)

#### 1.2.1.4.2 Evaluación tipo B

La evaluación Tipo B de la incertidumbre típica es el método de evaluar la incertidumbre en base a información externa u obtenida por experiencia. (JCGM 100, 2008).

La información se puede obtener de las siguientes fuentes:

- El conocimiento general del comportamiento de la propiedad, sustancia o instrumento es decir del sistema de medición
- Especificaciones y manuales del instrumento
- Conocimiento sobre las características o el desempeño del método
- Normas y literatura
- Certificados de los materiales de referencia
- Certificados de calibración, reportes e informes
- Incertidumbre tomada de manuales de referencia

- Datos experimentales anteriores
- Incertidumbre de la calibración de un instrumento de medida

El uso apropiado de la información disponible para una evaluación Tipo B de la incertidumbre típica de medición exige un juicio fundamentado en la experiencia y en conocimientos generales. (UNAM, 2008)

#### **1.2.1.4.2.1 Incertidumbre de la calibración de un instrumento de medida**

Cualquier instrumento de medida debe calibrarse para garantizar la trazabilidad de los resultados que proporciona.

La incertidumbre de la calibración puede darse de dos formas: calibración interna cuando la calibración la realiza el propio laboratorio o calibración externa cuando la calibra otro laboratorio.

La incertidumbre debida a la calibración tiene dos componentes: *uno sistemático* debido a la propia corrección de medida, que debe incluirse si la corrección calculada es significativa y *uno aleatorio* debido a la incertidumbre de dicha corrección. Se puede calcular la corrección a partir de la diferencia entre el valor medio de las medidas del patrón y el valor del patrón. (Maroto, *et al.*, 2001)

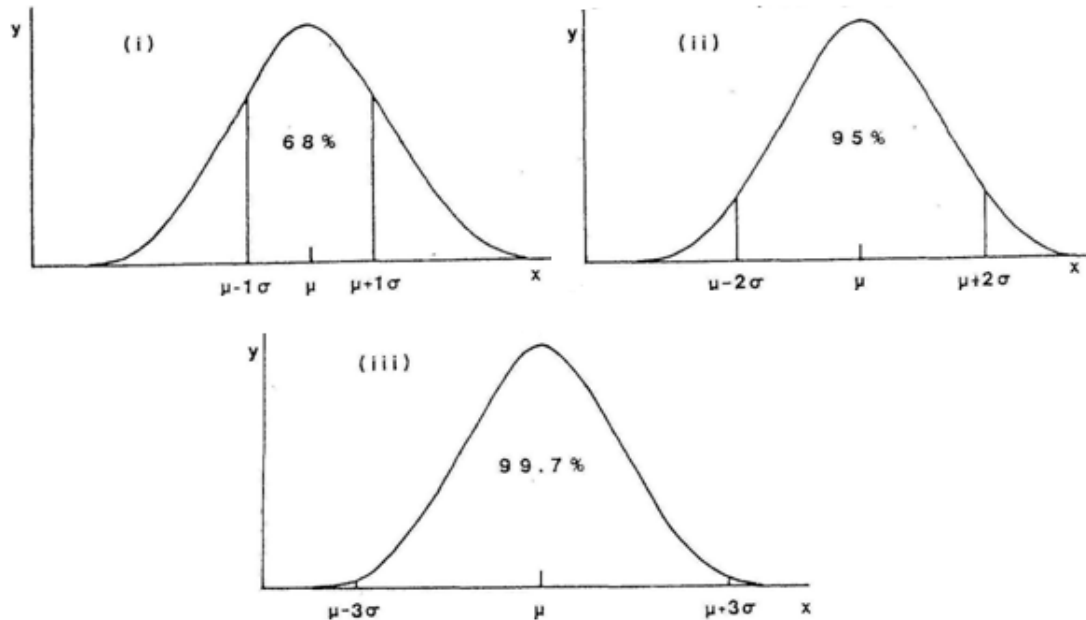
#### **1.2.1.5 Conversión**

Todas las contribuciones de la incertidumbre deben ser expresadas en incertidumbre estándar, es decir en desviación estándar; esto se realiza antes de seguir a la etapa de la combinación. En caso de ser requerido debe aplicarse la conversión a las medidas de dispersión. (Eurachem / Citac Guide, 2000)

Las distribuciones que aparecen con más frecuencia son la distribución normal, rectangular y triangular.

### 1.2.1.5.1 Distribución normal

Los datos experimentales repetidos y afectados por una o más magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen una distribución normal. En la figura 4 se presenta las propiedades de la distribución normal.



**Figura 4:** Propiedades de la distribución normal: i) aproximadamente 68% de los valores caen dentro de  $\pm 1\sigma$  de la media ; ii) cerca del 95% de los valores se ubican dentro de  $\pm 2\sigma$  de la media; iii) 99% de los valores se encuentra dentro de  $\pm 2\sigma$  de la media.  
(Miller, 1993)

Una distribución normal se presenta en los siguientes casos:

- En la incertidumbre indicada en los certificados de calibración, y la incertidumbre estándar se calcula como se indica en la siguiente ecuación:

$$u(xi) = \frac{U}{k} \quad [1.7]$$

Donde:

U: incertidumbre expandida

K: factor de cobertura a partir de un nivel de confianza dado u obtenido directamente

- En la incertidumbre representada en la forma de desviación estándar, y la incertidumbre estándar se calcula como se indica en la siguiente ecuación:

$$u(xi) = s \quad [1. 8]$$

Donde: s es la desviación estándar

- En la incertidumbre representada en la forma de desviación estándar relativa, y la incertidumbre estándar se calcula como se indica en la siguiente ecuación:

$$u(xi) = xi. (s/\bar{x}) \quad [1. 9]$$

Donde:  $\bar{x}$  es la media muestral

- En la incertidumbre representada en la forma de coeficiente de varianza, y la incertidumbre estándar se calcula como se indica en la siguiente ecuación:

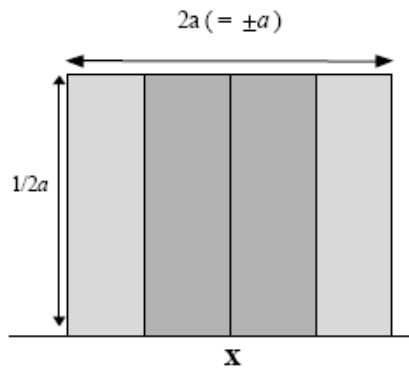
$$u(xi) = \frac{CV\%}{100} * xi \quad [1. 10]$$

Donde: CV es el coeficiente de varianza. [Schmid y Lazos, 2004; Eurachem / Citac Guide 2000]

#### 1.2.1.5.2 Distribución rectangular

En la distribución rectangular cada valor en un intervalo específico tiene la misma probabilidad, es decir la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo, como por ejemplo la resolución de un equipo de medición digital o la información técnica sobre tolerancias de un instrumento. [Schmid y Lazos, 2004; JCGM 100, 2008].

En la figura 5 se representa la forma gráfica de la distribución rectangular con un intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada  $[a_-, a_+]$ .



**Figura 5:** Forma gráfica de distribución rectangular

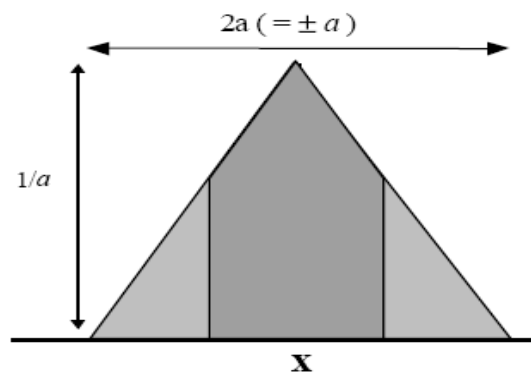
La incertidumbre estándar se calcula de la siguiente forma:

$$u(xi) = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad [1. 11]$$

Donde: a es el límite superior( $a_+$ ) menos límite inferior ( $a_-$ ) dividido para dos.

### 1.2.1.5.3 Distribución triangular

Además del límite superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para los valores del medio y se reduce hacia los límites, puede ser apropiado basar la incertidumbre de la medición en una distribución triangular. La forma gráfica de la distribución triangular con un intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada [ $a_-$ ,  $a_+$ ].se presenta en la figura 6.



**Figura 6:** Forma gráfica de distribución triangular

La incertidumbre estándar se calcula de la siguiente manera:

$$u(xi) = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad [1. 12]$$

Donde:

a: límite superior(a<sub>+</sub>) menos límite inferior (a<sub>-</sub>) dividido para dos.

[Schmid y Lazos, 2004; JCGM 100, 2008]

### 1.2.1.6 Combinación

En esta etapa se calcula la incertidumbre estándar combinada,  $u_c(y)$ , que es la combinación de las contribuciones de todas las fuentes,  $u_c(y)$  contiene toda la información esencial de la incertidumbre del mensurando  $Y$ .

$$u_i(y) = c_i * u(xi) \quad [1. 13]$$

Donde:

c<sub>i</sub>: coeficiente de sensibilidad

u(xi): incertidumbre estándar de la fuente

#### 1.2.1.6.1 Coeficiente de sensibilidad

El coeficiente de sensibilidad representa, como el valor del mensurando  $y$  varia con cambios de los parámetros  $x_1, x_2, \dots, x_N$ .

El coeficiente de sensibilidad se determina por la siguiente ecuación:

$$c_i = \partial y / \partial x_i \quad [1. 14]$$

Donde:

$\frac{\partial y}{\partial x}$  : Diferencial parcial de  $y$  (mensurando) con respecto a  $x_i$  (magnitud de entrada)

### 1.2.1.6.2 Propagación de la incertidumbre de magnitudes de entrada no correlacionadas

Para magnitudes de entrada no correlacionadas la relación general entre la incertidumbre estándar combinada  $u_c(\mathbf{y})$  del valor  $\mathbf{y}$ , y la incertidumbre de los parámetros independientes  $\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_n$ , es la siguiente:

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n u(y, x_i)^2} \quad [1. 15]$$

Donde:  $y(x_1, x_2, \dots)$  es una función de varios parámetros  $(x_1, x_2, \dots)$ ,  $c_i$ : es el coeficiente de sensibilidad y  $u(y, x_i)$  denota la incertidumbre en  $\mathbf{y}$  que proviene de la incertidumbre en  $\mathbf{x}_i$

La incertidumbre asociada se expresa como una desviación estándar multiplicada por el coeficiente de sensibilidad y todo esto elevado al cuadrado. La ecuación [1.15] se conoce como ley de propagación de incertidumbre. La incertidumbre combinada se calcula por la suma geométrica de las contribuciones particulares. (Eurachem/Citac Guide, 2000)

### 1.2.1.6.3 Propagación de la incertidumbre para magnitudes de entrada correlacionada

Para variables dependientes la relación es más compleja, se debe considerar las covarianzas entre las magnitudes correlacionadas.

$$u_c(y(x_{ij}, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 u(x_i)^2 + \sum_{\substack{i,k=1 \\ i \neq k}}^n c_i c_k u(x_i, x_k)} \quad [1. 16]$$

Donde:

$u(x_i, x_k)$ : Covarianza entre  $x_i$  y  $x_k$

$c_i$  y  $c_k$  : coeficientes de sensibilidad

La Covarianza entre  $x_i$  y  $x_k$  está dada por:

$$u(x_i, x_k) = u(x_i) \cdot u(x_k) \cdot r_{ik} \quad [1.17]$$

Donde:  $r_{ik}$  es el Coeficiente de correlación,  $-1 \leq r_{ik} \leq 1$

#### 1.2.1.6.4 Incertidumbre combinada relativa

La incertidumbre combinada relativa  $u_{c,rel}(y)$  se utiliza para modelos que aplican solamente un producto o una división  $y = (x_1 * x_2 * \dots * x_N)$  o  $y = x_1 / (x_2 * x_N \dots)$ , siendo  $y$  un producto o un cociente de las magnitudes de entrada  $(x_1, x_2, x_N)$ .

La incertidumbre combinada relativa  $u_{c,rel}(y)$  es igual a la suma geométrica de las incertidumbres relativas de las magnitudes de entrada y los coeficientes de sensibilidad son iguales a uno . [Schmid y Lazos, 2004; Eurachem/Citac Guide, 2000]

La ecuación de la incertidumbre combinada relativa es la siguiente:

$$u_{c,rel}(y) = \frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\sum_{i=1}^N [p_i \cdot u_{rel}(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left[ p_i \cdot \frac{u(x_i)}{x_i} \right]^2} \quad [1.18]$$

Donde:

$u(x_i)$ : incertidumbre estándar de magnitud de entrada  $x_i$

$x_i$ : magnitud de entrada

$p_i$ : son constantes positivas o negativas, un caso muy particular +1 o -1

#### 1.2.1.7 Incertidumbre expandida

El último paso para determinar la incertidumbre de una medición es calcular la incertidumbre expandida  $U$ , para lo cual se debe multiplicar la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura  $k$ .



El factor de cobertura  $k$  es un número mayor que uno, depende del tipo de distribución de probabilidad de la magnitud de salida en un modelo de medición y de la probabilidad de cobertura elegida, corresponde al valor de  $t_p(v_{ef})$ . (JCGM 200, 2008)

La ecuación para calcular la incertidumbre expandida es la siguiente:

$$U = k \cdot u_c = t_p(v_{ef}) \cdot u_c \quad [1. 19]$$

Donde:

$k$ : factor de cobertura

$u_c$ : incertidumbre estándar combinada

$t_p(v_{ef})$ : valor  $t$  de Student para grados de libertad  $v_{ef}$  y probabilidad de cobertura  $p$ , se obtiene por tablas, ver en el Anexo I.

Generalmente  $k$  es igual a 2 porque de esta forma se obtiene un intervalo donde existe aproximadamente un 95% de probabilidad de que se encuentre dentro de un valor verdadero. (Maroto, 2002).

Debe tomarse en cuenta que la incertidumbre no es el error estimado con o sin corrección, sino la expresión de duda alrededor de un resultado. No deben dedicar esfuerzos desproporcionados al proceso de estimación de la incertidumbre que puede ser largo y complicado. (Sáez, 2006)

#### **1.2.1.7.1 Factor de cobertura y probabilidad de cobertura**

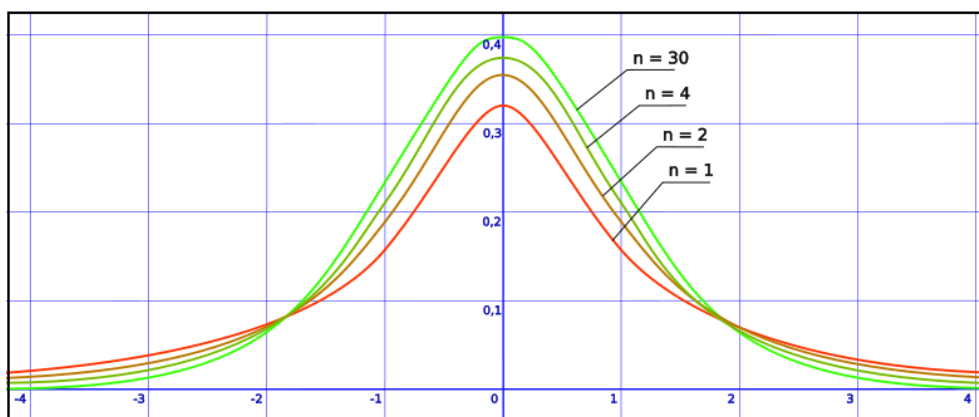
El factor de cobertura expande el intervalo de la incertidumbre dando una mayor probabilidad, ya que la incertidumbre estándar representa un intervalo centrado en el mejor estimado del mensurando con probabilidad de cobertura del 68% (aproximadamente). (Schmid y Lazos, 2004)

La probabilidad de cobertura se conoce como la probabilidad de que el conjunto de valores verdaderos de un mensurando este dentro de un intervalo especificado

conocido también como intervalo de cobertura. La incertidumbre expandida provee un intervalo de cobertura. (JCGM 200, 2008).

### 1.2.1.7.2 Distribución t de Student

La distribución t o distribución de Student es una distribución de probabilidad de una variable aleatoria continua  $t$ . Esta función depende de los grados de libertad  $\nu$ . Cuando el número de grados de libertad crece la distribución t se aproxima a la distribución normal., como se lo muestra en la figura 7.



**Figura 7:** Función t de Student

Los grados de libertad se determinan con la siguiente ecuación:

$$\nu = n - m$$

[1. 20]

Donde:

n: número de mediciones de una magnitud física

m: número parámetros estimados a partir de la muestra; es igual a 1 para una sola cantidad estimada por la media aritmética n observaciones independientes, y es igual a 2 cuando se estima la pendiente y la ordenada en el origen de una función lineal por mínimos cuadrados (JCGM 100, 2008)

Mediante la función de Student se obtiene el intervalo con la siguiente ecuación:  
(Fernández, 2000)

$$\mu = \bar{x} + \frac{t.S}{\sqrt{n}} \quad [1. 21]$$

Donde:

$\mu$ : valor verdadero, parámetro incognito, con un nivel de confianza  $p$

$t$ : parámetro conocido  $t$ , depende de nivel de confianza y de  $n$

$n$ : número de mediciones

$S$ : desviación estándar

$\bar{x}$  : media experimental

### 1.2.1.7.3 Grados de libertad

Los grados de libertad  $\nu$  asociados a una distribución de magnitud (Xi o Y), puede considerarse una medida de incertidumbre de esa magnitud, entre mayor sea  $\nu$  la estimación de la incertidumbre será más confiable.

El número efectivo de grados de libertad  $\nu_{ef}$  del mensurando toma en cuenta el número de grados de libertad de cada fuente de incertidumbre  $\nu_i$ , y se calcula con la siguiente ecuación:

$$\nu_{ef} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(y)}{\nu_i}} \quad [1. 22]$$

Donde:

$u_c$ : incertidumbre estándar combinada

$u_i$ : incertidumbre de la evaluación tipo A o Tipo B

Si  $u_i$  es obtenida de la evaluación tipo A, se determina  $\nu_i$  con la ecuación [1.20], y si  $u_i$  es obtenida de una evaluación tipo B, entonces  $\nu_i \rightarrow \infty$

[Schimid y Lazos, 2004; JCGM 100, 2008]

### 1.2.1.8 Reporte de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida indica un intervalo centrado en el mejor estimado  $y$  del mensurando. Se expresa el resultado de la medición con la siguiente ecuación:

$$Y=y \pm U \quad [1. 23]$$

Donde:  $U$  es la incertidumbre expandida,  $y$  es el mejor estimado del mensurando.

Los valores numéricos del resultado y su incertidumbre no se deberían reportar con un número excesivo de dígitos.

El número de cifras significativas debe ser consistente entre el mensurando y la incertidumbre. Generalmente en la expresión de la incertidumbre el número de cifras significativas es uno, o dos cuando la exactitud es alta, para impedir la pérdida de información útil se podría considerar una tercera cifra significativa. (Schmid y Lazos, 2004).

### 1.2.2 EXACTITUD

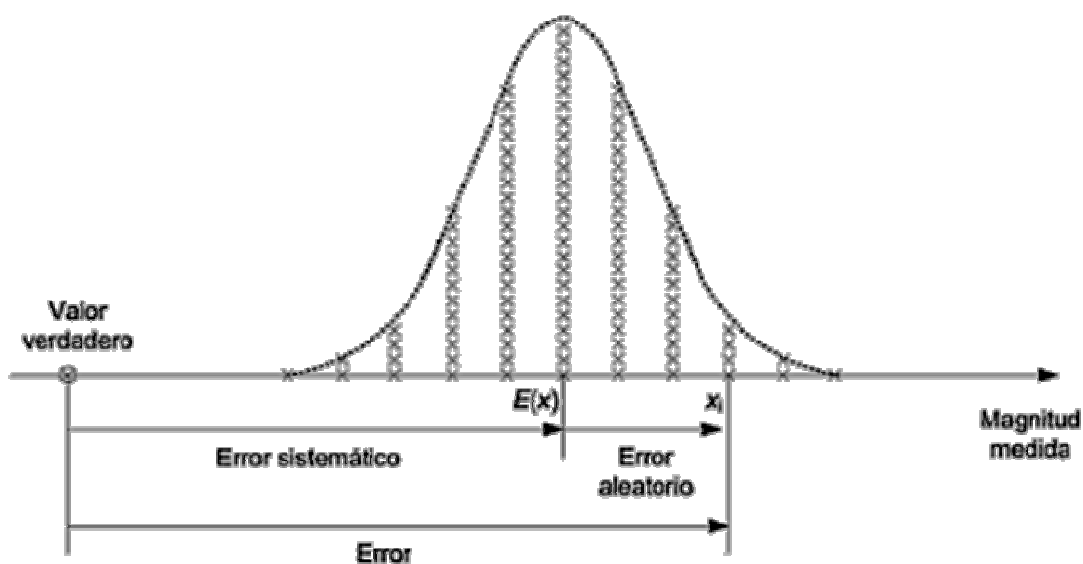
La exactitud “es la proximidad de la concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado”. El valor de referencia aceptado se ve afectado por un error asociado a su medición. (Eurachem, 1998).

Al aplicar el término de exactitud a una serie de datos de prueba, se considera los errores sistemáticos y también los errores aleatorios debido a que están presentes en el resultado de una medida. Por lo tanto la exactitud es la suma de dos conceptos veracidad y precisión. (Maroto, 2002)

Un resultado es veraz si está libre del error sistemático, la veracidad implica que el resultado es trazable al material de referencia utilizado. Los errores aleatorios aceptables se evalúan mediante la precisión, se suele aplicar las pruebas estadísticas por comparación de varianzas de dos métodos diferentes, se debe conocer en qué condiciones se obtuvieron las varianzas.

Los errores sistemáticos provocan que todos los resultados sean erróneos en el mismo sentido, estos errores afectan la proximidad al valor verdadero. Los errores aleatorios provocan que los resultados individuales caigan a ambos lados del valor medio. (Miller, 1993).

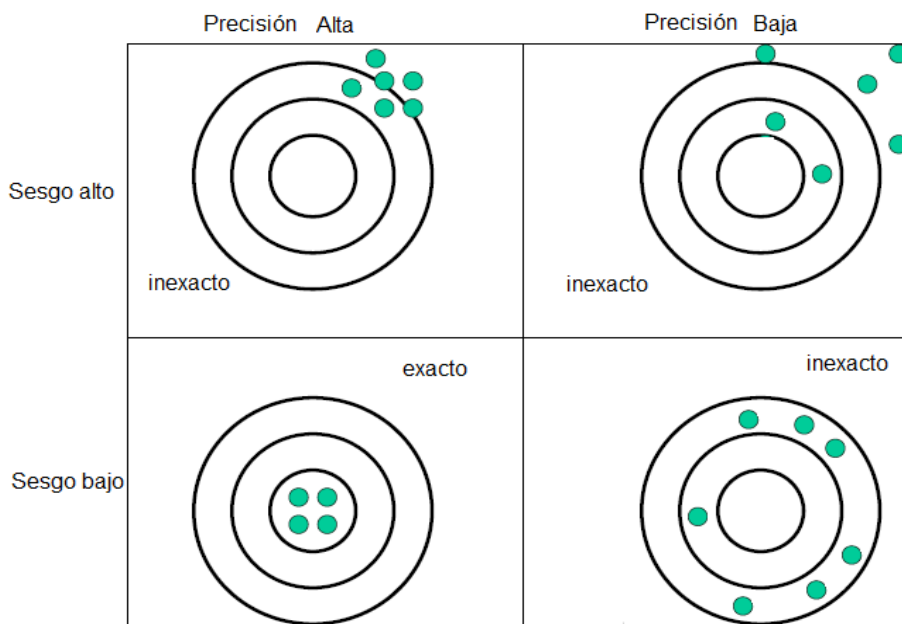
El error sistemático es la resta de la media aritmética de un número infinito de medidas del mismo valor de una magnitud, efectuadas en condiciones de repetibilidad y el valor verdadero de la magnitud. (Pallás, 2006). En la figura 8 se representa el error sistemático y aleatorio.



**Figura 8:** Error sistemático y aleatorio. Cada aspa (x) representa un valor medido. (Pallás, 2006)

La veracidad de un método es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados respecto al valor real. La veracidad se expresa en términos de sesgo. [Maroto 2002, Eurachem , 1998;].

La definición de exactitud combinando la precisión y el sesgo se representa gráficamente en la figura 9, para valores exactos se requiere alta precisión y un sesgo bajo.



**Figura 9:** Definición de exactitud.  
(APHA *et al.*, 2005)

### 1.2.2.1 Veracidad

La evaluación práctica de la veracidad se basa en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores de referencia. Los materiales de referencia son trazables a patrones internacionales.

Se verifica la veracidad determinando la media y la desviación estándar de una serie de replicas de una prueba y comparando con el valor caracterizado del material de referencia.

El material de referencia debe ser apropiado para su uso. Para trabajos normalizados debe usarse material de referencia certificado adecuado e idealmente de la misma matriz. Para métodos en trabajos internos a largo plazo se deberá emplear un material interno estable o un material de referencia

certificado. Para trabajos a corto plazo o no críticos a menudo es suficiente un patrón preparado por adición.

Para comprobar la veracidad de un método alternativo, se comparan los resultados de los dos métodos para la misma muestra o muestras. Estas pueden ser de materiales de referencia certificados, materiales de referencia preparados internamente o simplemente muestras típicas. Al utilizar material de referencia certificado existen ventajas puesto que tienen homogeneidad y estabilidad conocida, además dan una medida de sesgo con referencia a patrones internacionales, pero estos materiales de referencia son caros y pueden no ser representativos de las muestras típicas. [Maroto, 2002; Eurachem, 1998]

### 1.2.2.2 Mediciones de sesgo

El sesgo es una medida del error sistemático. Tiene dos componentes: el método y el laboratorio. El sesgo del método surge de los errores sistemáticos inherentes al método cualquiera que sea el laboratorio que lo usa. El sesgo del laboratorio surge de errores sistemáticos adicionales característicos del laboratorio y de su interpretación referente al método. En forma aislada, un laboratorio puede interpretar solamente el sesgo combinado. El sesgo total determinado en el proceso de validación por un laboratorio debe compararse con cualquier sesgo reportado para el método normalizado. (Eurachem, 1998).

En la figura 10 se presenta los tipos de sesgo, como se relaciona el sesgo de método y el sesgo del laboratorio.



**Figura 10:** Tipos de sesgo  
(Eurachem, 1998)

### 1.2.2.3 Recuperación

La recuperación se define como “la proporción de la cantidad de analito, presente o añadida a una muestra, que se extrae y se presenta para su medida”. (Maroto, 2002). La recuperación se puede obtener de dos formas distintas:

1. En la etapa de preconcentración o de extracción de método analítico, se expresa la proporción de analito recuperada, se conoce como recuperación
2. Para expresar la relación entre el analito encontrado con el método analítico frente al valor de referencia, se conoce como recuperación aparente.

El analito de interés presente en la muestra no siempre es medido en los métodos analíticos y puede encontrarse en varias formas, por esta razón se debe diseñar el método para detectar una sola forma específica del analito. La mejor manera de determinar la validez de extracción del método es adicionar diferentes concentraciones del analito a las muestras y procesarlas por el método analítico.

Una forma de determinar la eficiencia de extracción es adicionar a una matriz porciones de prueba con el analito a varias concentraciones, después se extraen las porciones de prueba fortificadas y se mide la concentración del analito., esta técnica dará una alta eficiencia de la extracción debido a que el analito no estará tan fuertemente ligado como aquel que se encuentra en forma natural en la matriz. Una alternativa es realizar las evaluaciones de recuperación sobre materiales de referencia adecuado es decir que hayan sido producidos a partir de materiales naturales. (Eurachem, 1998)

### 1.2.3 PRECISIÓN

La precisión se define como “la proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objetos, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas”. (JCGM 200, 2008)



La precisión solo depende de la distribución de los errores aleatorios y no tiene relación con el valor verdadero, es decir depende de errores en la preparación y análisis de la muestra. Este parámetro se determina por la desviación estándar o desviación estándar relativa de los datos experimentales. Para el cálculo de la precisión global se debe analizar la muestra por duplicado. (Eurachem, 1998).

Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y reproducibilidad, son series particulares de condiciones extremas. Tanto la repetibilidad como la reproducibilidad dependen generalmente de la concentración del analito y deben determinarse a varias concentraciones y deberá establecerse la relación entre la precisión y la concentración del analito.

#### **1.2.3.1 Repetibilidad**

La repetibilidad se define como “la precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad”, es decir dentro de un conjunto de condiciones que incluye: el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo. (JCGM 200, 2008)

La repetibilidad es una precisión de menor valor que la reproducibilidad, dará una idea de la clase de variabilidad cuando se realiza bajo las mismas condiciones la determinación de un método por un solo analista, con el mismo equipo y periodos de tiempo muy cortos.

Las medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo las condiciones de repetibilidad que se utilizan son: la desviación estándar de repetibilidad, la varianza de repetibilidad y el coeficiente de variación de repetibilidad.

### 1.2.3.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la precisión de medida bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, en condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, usando diferentes equipos, por diferentes operadores.

Para determinar la reproducibilidad se debe especificar las condiciones de prueba modificadas, y puede expresarse cuantitativamente en términos de dispersión de los resultados.

Las medidas de la dispersión de los resultados de una prueba bajo las condiciones de reproducibilidad que se utilizan son: la desviación estándar de reproducibilidad, la varianza de reproducibilidad y el coeficiente de variación de reproducibilidad. (Eurachem, 1998)

### 1.2.3.3 Desviación estándar, varianza y coeficiente de variación

En un análisis clásico se tiene situaciones habituales como es realizar mediciones repetidas de la misma cantidad, para analizar los resultados se usan dos criterios, el valor promedio y el grado de variabilidad o dispersión.

La *media* es el valor promedio  $\bar{x}$ , es igual a la suma de todas las mediciones dividido para el número de mediciones, ecuación [1.3].

La *desviación estándar* es la media más utilizada de la variabilidad, ecuación [1.4]

La *varianza* es el cuadrado de la desviación estándar, además se considera como un estadístico importante que se utiliza en algunos métodos estadísticos, como el análisis de varianza, las unidades de la varianza son diferentes a las unidades del conjunto original de datos.

El *coeficiente de variación CV* es conocido también como desviación estándar relativa, las unidades se expresan en porcentaje, es una estimación de error dividida para una estimación del valor absoluto de la cantidad medida, por lo que se considera un ejemplo de error relativo, (Miller, 1993) .

#### 1.2.3.4 Pruebas de significación

Una prueba estadística de significación sirve para decidir si la diferencia entre la cantidad medida y la cantidad conocida, se puede atribuir a efectos puramente aleatorios o se puede aplicar para determinar si las diferencias son significativas entre los dos resultado. Los errores aleatorios no permiten que la cantidad medida sea exactamente igual a la cantidad conocida incluso aunque no existiera error sistemático. (Miller, 1993)

Cuando una hipótesis define de forma explícita un valor específico de los parámetros involucrados, se denomina hipótesis simple. En una prueba  $H_0: \theta = \theta_0$  contra  $H_1: \theta = \theta_1$ , tanto la hipótesis nula  $H_0$  como la hipótesis alternativa  $H_1$  son hipótesis simples.

Una hipótesis nula ( $H_0$ ) quiere decir que un método no se encuentra sujeto a errores sistemáticos. La hipótesis nula se aprueba en forma directa, asumiéndola como verdadera, y luego de un análisis estadístico llegamos a una conclusión de rechazar o no rechazar la hipótesis nula. Al rechazar la hipótesis nula aceptaríamos la hipótesis alternativa ( $H_1$ ).

“Si la conclusión es que hay que rechazar una hipótesis que no es cierta, o que no hay que rechazar una hipótesis que lo es, no hay error. En otros casos, las conclusiones a que lleva la prueba pueden ser erróneas” (Bertrand y Prabhakar; 1990). Hay dos tipos de errores:

- Error de tipo I: rechazo de una hipótesis cierta, la probabilidad de cometer este tipo de error se representa con el símbolo  $\alpha$

- Error de tipo II: no rechazo de una hipótesis que no es cierta, la probabilidad de cometer este tipo de error se representa con el símbolo  $\beta$

Al realizar una prueba de significación se comprueba la veracidad de una hipótesis nula. [Miller, 1993; Fernández, 2000; Bertrand y Prabhakar, 1990]

#### 1.2.3.4.1 Comparación de una media experimental con un valor conocido

Se propone como hipótesis nula que no existe diferencia entre el valor conocido y el observado. Suponiéndose la hipótesis nula como verdadera, se puede utilizar la teoría estadística para calcular la probabilidad de que la diferencia observada entre la media muestral  $\bar{x}$  y el valor verdadero  $\mu$  se deba solamente al error aleatorio. Generalmente la hipótesis nula se rechaza cuando la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar sea menor del 5%, en este caso se dice que la diferencia es significativa a nivel de 0,05 (ó 5 %). [Miller, 1993; Fernández, 2000]

Para decidir si la diferencia entre  $\mu$  y  $\bar{x}$  es significativa se cuenta con la siguiente inequación:

$$t \geq \left| \frac{(\bar{x} - \mu)}{S_x} \right| \quad [1. 24]$$

Donde:

t: valor de t Student de tablas con grados de libertad y nivel de confianza

$\bar{x}$  : la media

$\mu$ : valor verdadero

Sx: desviación estándar de la media

Si el valor de t (obtenido por tablas) es mayor al valor del lado derecho de la inequación [1.24] la hipótesis nula se acepta como verdadera.

### 1.2.3.4.2 Comparación de las medias de dos muestras

En este caso se cuenta con dos métodos analíticos distintos para determinar un mismo analito, se tiene dos medias muestrales  $\bar{x}_1$  y  $\bar{x}_2$ . Si se supone como hipótesis nula que los dos métodos dan el mismo resultado, se debería comprobar que  $\bar{x}_1$  y  $\bar{x}_2$  no difieren significativamente de cero. Se puede calcular una estimación conjunta de la desviación estándar a partir de las dos desviaciones individuales que no sean significativamente diferente  $s_1$  y  $s_2$ . Se puede demostrar que  $t$  está dado por:

$$t \geq \left| \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s\sqrt{n_1 + n_2}} \right| \quad [1. 25]$$

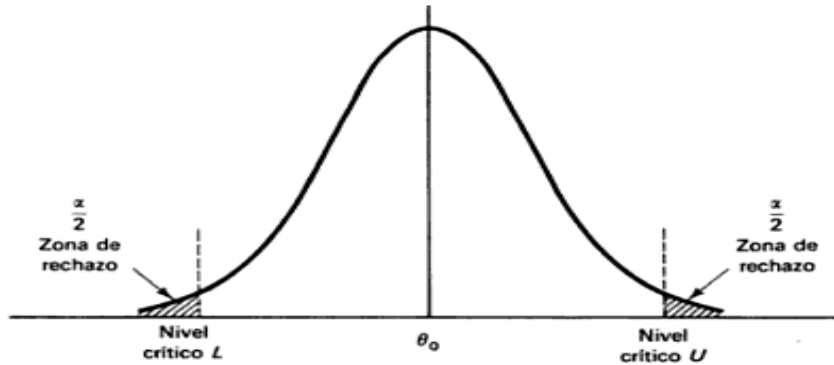
Donde:  $\bar{x}_1$  y  $\bar{x}_2$  son las medias muestrales

Por lo tanto  $t$  tiene los grados de libertad igual a  $\nu = n_1 + n_2 - 2$  [Miller, 1993; Fernández, 2000]

### 1.2.3.4.3 Prueba de una y dos colas

Las colas en una distribución son las regiones extremas limitadas por los valores críticos, ciertas pruebas de hipótesis incluyen dos colas, otras la cola derecha o la cola izquierda.

En la prueba de dos colas la región crítica o zona de rechazo se encuentra en dos regiones extremas bajo la curva ( $H_0: \theta = \theta_0$  contra  $H_1: \theta \neq \theta_1$ ), como se indica en la figura 11. En la prueba de dos colas, el nivel de significancia ( $\alpha$ ), está dividido para dos en cada cola y constituyen la región crítica o zona de rechazo. El nivel de significancia es la probabilidad de error de tipo I.



**Figura 11:** Prueba de dos colas

En la prueba de cola izquierda, la región crítica se encuentra en la región extrema izquierda bajo la curva ( $H_0: \theta = \theta_0$  contra  $H_1: \theta < \theta_1$ ) y en la prueba de cola derecha, la región crítica se encuentra en la región extrema derecha bajo la curva, como se indica en la figura 12. [Miller, 1993; Fernández, 2000; Bertrand y Prabhakar; 1990]



**Figura 12:** Prueba de una cola

#### 1.2.3.4.4 Prueba F para la comparación de desviaciones estándar

La prueba F se utiliza para comparar desviaciones estándar. Las desviaciones estándar son unos errores de naturaleza aleatoria de dos conjuntos de datos. En la prueba F se considera la razón de las dos varianzas muestrales, es decir la razón de los cuadrados de las desviaciones. F está dada por la siguiente ecuación:

$$F_{v_1 v_2} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad [1. 26]$$

Donde:

$s_1^2, s_2^2$  : Varianzas muestrales o desviaciones estándar al cuadrado

$v_1, v_2$ : grados de libertad

Como hipótesis nula se adopta que las poblaciones de donde provienen las muestras sean normales, y que sean iguales las varianzas de las poblaciones. Si la hipótesis nula es verdadera, entonces la razón de las varianzas debería estar próxima a 1. Si el valor de F calculado excede al F crítico entonces la hipótesis se rechaza. F crítico o tabulado depende del tamaño de la muestra, del nivel de significación y del tipo de prueba realizada. [Miller, 1993; Fernández, 2000]

#### **1.2.3.4.5 Análisis de varianza**

El método de análisis de varianza también conocido como ANOVA (Analysis of Variance) es una técnica estadística muy poderosa, sirve para identificar y cuantificar los efectos aleatorios individuales en un procedimiento de medición, como los efectos de instrumento, operador, laboratorio, muestreo o medición. Estos efectos pueden ser tomados en cuenta cuando se analiza la incertidumbre del resultado de una medición. (Fernández, 2000).

#### **1.2.4 TRAZABILIDAD**

La trazabilidad de acuerdo con el Vocabulario Internacional de Términos Fundamentales y Generales de Metrología se define como una “propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón, tal que este puede ser relacionado a referencias establecidas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas” (CENAM,2002)

La cadena de comparaciones permite tener confianza en los resultados, ya que estos son semejantes a una referencia, se puede aseverar que no se realiza un error sistemático significativo en ninguna de las etapas del método analítico.

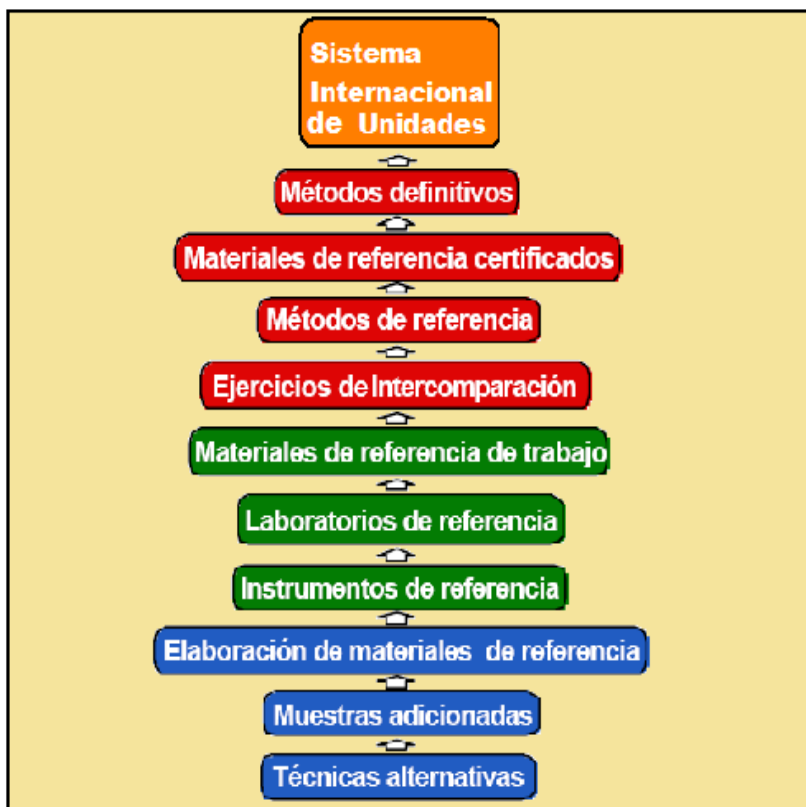
En el análisis químico es muy difícil llegar a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones de la unidad fundamental de materia en el sistema internacional de unidades (S.I.), *el mol*, debido a que en la mayoría de los procedimientos analíticos no es posible asegurar la trazabilidad de cada una de sus etapas. Esto se debe a que el tipo de muestra puede afectar mucho a los resultados. La alternativa en el análisis químico consiste en trazar globalmente los resultados obtenidos con el procedimiento analítico a un valor de referencia y evaluar si los resultados obtenidos con dicho procedimiento son comparables a los proporcionados por la referencia utilizada. (Maroto, 2002)

Al verificar la trazabilidad de los resultados, se está comprobando la ausencia de sesgo o del error sistemático.

#### **1.2.4.1 Jerarquía de referencias**

En los resultados analíticos se suele verificar su trazabilidad globalmente utilizando un valor de referencia. En orden de mayor a menor nivel de trazabilidad se encuentran: los métodos definidos, materiales de referencia certificados, métodos de referencia, ejercicios de intercomparación, materiales de referencia de trabajo, laboratorios de referencia, instrumentos de referencia, elaboración de materiales de referencia, muestras adicionadas y técnicas alternativas, esta jerarquía se la representa en la figura 13.





**Figura 13:** Diversas referencias utilizadas en medidas químicas para verificar la trazabilidad.  
(Maroto, 2002)

Los *métodos definitivos* son aquellos que están ligados al sistema internacional de medidas como lo son la volumetría, la gravimetría, espectrometría de masas con dilución isotópica, los cuales deben ser aplicados en condiciones rigurosas de garantías de calidad.

Un *material de referencia certificado* (está definido en el numeral 1.3) es usado para calibrar un aparato o instrumento, validar un método analítico o asignar valores a un material o sistema.

En los *ejercicios interlaboratorio* el nivel de trazabilidad logrado depende de cómo sea el tipo de ejercicio en que participa el laboratorio. Se considera tres tipos: ensayo de aptitud, ejercicio colaborativo y ejercicios de certificación. El objetivo del ensayo de aptitud es comparar la competencia de los laboratorios cuando cada uno de ellos analiza la muestra aplicando su propio método analítico. El

objetivo de ejercicios colaborativos es evidenciar la idoneidad de una nueva metodología analítica. El objetivo de los ejercicios de certificación es establecer el valor de referencia y la incertidumbre de la propiedad certificada en un material de referencia.

Los *métodos de referencia* es un método normalizado o un método oficial de análisis (validado por una organización prestigiosa y reconocida que utilizó ejercicios de interlaboratorio de tipo comparativo), las muestras representativas se analizan con el método que se quiere validar y con el método de referencia.

Las *muestras adicionadas* es la referencia que tiene un nivel de trazabilidad menor debido a que el analito adicionado puede tener un comportamiento diferente al que se encuentra en la muestra, sin embargo esta referencia es muy utilizada ya que muchas veces no se dispone de referencias con un nivel de trazabilidad mayor.(Maroto, 2002)

#### **1.2.4.2 Verificación de la trazabilidad en medidas químicas**

En este proceso debe comprobarse que los resultados obtenidos al analizar la muestra de referencia son comparables a su valor asignado, en la práctica existirá diferencia debida a errores aleatorios y tal vez a un error sistemático. Para comprobar que solo existen errores aleatorios es necesario aplicar pruebas estadísticas. La trazabilidad se puede verificar de diversas maneras dependiendo de que se verifique en un intervalo reducido o amplio de concentraciones y del tipo de referencia utilizado. Al verificar la trazabilidad, esta se podrá trasladar a los resultados que se obtenga sobre futuras muestras similares y además el laboratorio debería actuar bajo condiciones de aseguramiento de la calidad. (Maroto, 2002)

#### **1.2.4.2.1 Verificación de la trazabilidad en un intervalo reducido de concentraciones**

La trazabilidad de los resultados se puede verificar a un nivel de concentración, cuando el método se aplica a un intervalo reducido de concentraciones, se asume que el sesgo es el mismo para todas las concentraciones. (Maroto, 2002)

Dependiendo del tipo de referencia existen dos casos para verificar la trazabilidad:

- a) La trazabilidad de los resultados se verifica utilizando un método analítico de referencia, puede ser un método estándar, un método definitivo u otro tipo de método, siendo este método diferente al que se quiere validar.
- b) La trazabilidad de los resultados se verifica utilizando un valor de referencia puede ser utilizando un material de referencia, la cantidad de analito adicionada o el valor de consenso de un ejercicio interlaboratorio.

#### **1.2.4.2.2 Verificación de la trazabilidad en un intervalo amplio de concentraciones**

En este caso es necesario utilizar más de una muestra de referencia, debido a que no se puede asumir que el error sistemático sea el mismo en todo el intervalo de la aplicación del método.

Esto se debe a que existe la posibilidad de dos tipos de errores sistemáticos: uno constante y uno proporcional. El constante no depende de la concentración de la muestra y el proporcional depende de la concentración de la muestra y se expresa como factor de recuperación. (Maroto, 2002)

### **1.3 MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS**

La utilización de materiales de referencia certificados constituye la opción más sencilla para establecer la exactitud de un método analítico y detectar fácilmente las fuentes de error sistemático. (Valcárcel y Ríos, 1992)

El material de referencia certificado CRM, es un material de referencia que está respaldado por un certificado emitido por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de una o más de sus propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos. (JCGM 200, 2008)

La caracterización normalmente se efectúa usando varios métodos para que cualquier sesgo en la caracterización se elimine o se reduzca. (Eurachem ,1998).

### **1.3.1 MATERIAL DE REFERENCIA**

Material de referencia MR, es definido en la VIM (Vocabulario Internacional de Metrología) como un material suficientemente homogéneo y estable con respecto a sus propiedades especificadas, determinado como idóneo para ser usado en una medición o en un examen de propiedades cualitativas.

Otros autores prestigiosos introducen otras definiciones como: *Material de referencia interno* (IRM, Internal Reference Material), es aquel material preparado por un laboratorio para su exclusivo uso interno. *Material de referencia externo* (ERM, External Reference Material), es suministrado por un laboratorio ajeno al del usuario. *Material de Referencia Estándar* (SRM, Estándar Reference Material) es el material de referencia certificado por el National Institute of Standards and Technology (NIST) de EE.UU. Sustancia Patrón es un material de referencia cuya pureza está garantizada por la firma comercial que lo expende. (Valcárcel y Ríos, 1992)

#### **1.3.1.1 Tipos de materiales de referencia**

En el área química existen diferentes tipos de materiales de referencia:

- a) Materiales de referencia para propiedades físico-químicas

## b) Materiales de referencia químico-analíticos

Dentro de los materiales de referencia químico-analíticos están los estándares químicos (primario, secundario y de trabajo), comercializados como materiales de alta pureza. El material de referencia primario (PRM, *primary reference materials*), su nivel de trazabilidad es mayor debido a que sus valores de referencia se obtuvieron de métodos primarios. El material de referencia certificado o secundario, posee un nivel de trazabilidad menor debido a que sus resultados fueron suministrados por otros laboratorios que han utilizado varios métodos de referencia. Y finalmente el material de referencia de trabajo (WRM, *working reference materials*), la concentración de referencia la consigue un laboratorio acreditado que analizó el WRM con un solo método previamente validado. (Maroto, 2002)

El material de referencia se puede usar para los siguientes casos:

- Calibrar un aparato o instrumento
- Validar un método analítico
- Asignar valores a un material o sistema

El objetivo del material de referencia es evaluar si un sistema de medida se encuentra bajo control estadístico. En análisis rutinario se puede recurrir a materiales de referencia interno, preparados por el propio laboratorio a partir de materiales de referencia certificado. (Valcárcel y Ríos, 1992).

### 1.3.1.2 Requisitos de los materiales de referencia

Los materiales de referencia se preparan por necesidad o demanda de un laboratorio y debe cumplir los siguientes requisitos (Valcárcel y Ríos, 1992):

- a) **Homogeneidad:** se refiere a que para un mismo material, no existe diferencias en el valor certificado ni en la matriz entre y/o dentro de diferentes

frascos, ampollas, etc. La prueba de homogeneidad dependerá de la naturaleza del material y de los componentes que se van a certificar

- b) **Estabilidad:** el material preparado debe ser estable en el tiempo (fecha de caducidad) y al ser transportado. El cliente debe saber cuánto tiempo permanece estable desde su recepción hasta su uso. La estabilidad se extiende a los parámetros certificados y a la matriz. Para asegurar la estabilidad, los componentes no deben reaccionar entre sí ni con el envase, para esto el material debe ser apropiado en cada caso
  
- c) **Exactitud y trazabilidad:** estos valores deben dar la mejor aproximación al valor verdadero, los métodos empleados para la certificación serán aquellos que proporcionen la mayor exactitud posible.

## **2 METODOLOGÍA**

### **2.1 PUESTA A PUNTO**

#### **2.1.1 NECESIDAD ANALÍTICA**

El análisis adecuado de los parámetros de caracterización facilita la definición de calidad del agua para un uso determinado y permite visualizar los requerimientos económicos y de tratamiento para su aprovechamiento. (Romero J., 2002)

El Centro de Investigaciones y Control Ambiental CICAM para cumplir con la gestión de calidad y satisfacer las necesidades del cliente, ha utilizado las normas estandarizadas vigentes, en la realización de los procedimientos de ensayo para determinar aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos.

#### **2.1.2 REVISIÓN Y ELECCIÓN DEL MÉTODO APROPIADO**

Para la revisión de los métodos de análisis para aceites y grasa, cloruros, fósforo total y nitratos en muestras de agua, se recurrió a las siguientes fuentes bibliográficas:

- APHA, AWWA, WPCF, “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” (Standard methods for the examination of water and wastewater). Estos métodos de análisis recogen los mejores procedimientos empleados en la actualidad por analistas de aguas de EEUU.
- ASTM, Annual Book of ASTM Standards V.11 “Water and Environmental Technology”. Proporciona procedimientos estándar para analizar el agua
- HACH Company, “Manual del Procedimientos” para análisis del agua. La compañía HACH manufactura y distribuye instrumentos analíticos y reactivos para medir la calidad del agua. Algunos procedimientos analíticos son

adaptaciones de “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales”

Luego de la revisión se procedió a la elección del método adecuado para su desarrollo en el laboratorio.

### **2.1.2.1 Revisión y elección del método apropiado para la determinación de aceites y grasas**

#### **2.1.2.1.1 Introducción**

Los aceites y grasas son compuestos orgánicos formados principalmente por ácidos grasos de origen animal, vegetal e hidrocarburos de petróleo; poseen biodegradabilidad baja o en algunos casos nula. Tienen las siguientes características físicas: baja densidad y poca solubilidad en el agua, por tal razón tiende a separarse de la fase acuosa ocupando la superficie del líquido y se forman natas.

Los aceites y grasas se establecen cuantitativamente con grupos de sustancias con características físicas afines sobre la base de su solubilidad común en un solvente orgánico no polar.

“Los aceites y grasas son difíciles de transportar en las tuberías de alcantarillado, disminuyendo la cantidad de flujo de los conductos, son difíciles de atacar biológicamente y generalmente se requiere su remoción en plantas de pretratamiento”. (Romero, 2002).

De acuerdo a Ordenanza Metropolitana 213 del Distrito Metropolitano de Quito: Sustitutiva del Título V, "Del Medio Ambiente", Libro Segundo, del Código Municipal, Resolución N° 0002-DMA-2008 los límites máximos permisibles por cuerpo receptor para aceites y grasas para alcantarillado es 100 mg/l, y para el cauce de agua es 50 mg/l.



Se evaluaron los siguientes métodos para el análisis de aceites y grasas:

#### **2.1.2.1.2 Método partición infrarrojo**

El método partición infrarrojo se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 5520 C)

Para el proceso de este método, se requiere de un espectrofotómetro infrarrojo de doble haz y celdas de sílice infrarrojo próximo y se utiliza como solvente para la extracción triclorotrifluoroetano. Este solvente permite medir la absorbancia del enlace carbón-hidrogeno en el infrarrojo, y determinar la medida de aceites y grasas

En este método se estableció como ventaja que:

- Se obtiene mediciones con exactitud y se aplica a los hidrocarburos relativamente volátiles, como los destilados ligeros de petróleo, excepto la gasolina
- Se puede determinar concentraciones pequeñas como 0,2 mg/l.

En este método se determinó como desventaja que:

- El equipo requerido es costoso.
- El triclorofluoroetano es una sustancia agotadora de la capa ozono

#### **2.1.2.1.3 Método de extracción de Soxhlet**

El método de extracción de Soxhlet se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 5520 D) y en ASTM (D4281-83 Método B), el principio se asemeja en los dos casos.

El principio del método se basa en que los aceites y grasas sólidas se separan de la parte líquida por filtración, después de extracción de soxhlet con el disolvente

triclorotrifluoroetano, pesar el residuo que queda después de la evaporación del disolvente para determinar los aceites y grasas.

En este método se estableció como ventaja que:

- Para la obtención de resultados confiables se dispone de una balanza calibrada.

En este método se determinó como desventaja que:

- No se dispone de un aparato de extracción Soxhlet
- Interferencias: el disolvente orgánico no disolverá de forma selectiva aceites y grasas, sino también otras sustancias orgánicas, como por ejemplo azufre, complejos aromáticos, hidrocarburos, sulfuros, nitrógenos y cloro; y ciertos tintes orgánicos.
- El triclorofluoroetano es una sustancia agotadora de la capa ozono

Para obtener resultados confiables se debe regir estrictamente a los detalles del procedimiento.

#### **2.1.2.1.4 Método partición gravimétrica**

El método de partición gravimétrica se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 5520 B), y en ASTM (D4281-83 Método A), el principio del método se asemeja en los dos casos, pero en el método de ASTM utiliza el solvente fluorocarbon (1,1,2 Tricloro-1,2,2 Trifluoretano) para la extracción y en APHA utiliza el hexano como disolvente.

El principio del método se basa en que el aceite o grasa disuelta o emulsionada se extrae del agua por íntimo contacto con el disolvente orgánico (Hexano). Este método se basa en la diferencia de pesos inicial y final del material volumétrico destinado para contener la extracción de aceites y grasas.

En este método se adoptó como ventaja que:

- Se cuenta con equipo necesario como balanza calibrada, material volumétrico y rotavapor.
- Se puede recuperar el disolvente con el rotavapor, y se reducen: las emisiones de vapor a la atmosfera y también los costos
- No hay ninguna evidencia de que n –hexano produzca cáncer en seres humanos o animales. Se evapora fácilmente en el aire.

En este método se decidió como desventaja que:

- Presenta interferencias similares al método de Soxhlet, porque el proceso de extracción se lo realiza con un disolvente orgánico.
- Para obtener resultados confiables se debe regir estrictamente a los detalles del procedimiento.

Se eligió este Método de APHA (Método 5520 B) por las ventajas que presenta el método.

### **2.1.2.2 Revisión y elección del método apropiado para la determinación de Cloruros**

#### **2.1.2.2.1 Introducción**

El ión cloruro es un anión inorgánico de importancia en aguas naturales y residuales. La concentración de cloruros es una medida específica de la salinidad. El incremento de cloruro en agua ocasiona el aumento de la corrosividad del agua.

Los cloruros en aguas residuales se da por los desechos orgánicos generados por el hombre (el excremento y la orina) debido a que el cloruro de sodio forma parte de la alimentación diaria. El aporte de cloruros a las aguas residuales también se da por los distintos procesos industriales. En concentraciones mayores a 250 mg/l produce un sabor salado el cual es rechazado por el consumidor.

En las aguas naturales el poder disolvente del cloruro penetra la capa vegetal y las formaciones más profundas. En las aguas subterráneas en áreas adyacentes al océano se encuentran en equilibrio hidrostático con el mar. El agua de mar se introduce en el agua subterránea cuando se realiza un sobrebombeo. (Romero, 2002).

Los métodos estudiados para analizar cloruros son los siguientes:

#### **2.1.2.2.2 Método del nitrato mercúrico**

El método del nitrato mercúrico se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500 Cl<sup>-</sup> C), y en ASTM (D512-81 Método A), el principio se asemeja en los dos casos.

El principio del método se basa en que el cloruro se valora con el nitrato mercúrico  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , y se forma cloruro mercúrico soluble, ligeramente dissociado. El punto final de la titulación se determina con el indicador difenilcarbazona en la zona pH 2,3 a 2,8, y como resultado da un complejo color púrpura con iones mercúricos en exceso.

En este método se determinó como ventaja que:

- Aumentando la concentración del titulante y modificando las mezclas indicadoras, se puede aumentar el rango de medición de cloruros.

En este método se estableció como desventaja que:

- El bromuro y yoduro también se valoran con nitrato mercúrico. Los iones cromato, férrico y sulfito interfieren en concentraciones superiores a 10 mg/L.
- El reactivo nitrato de mercurio es una sustancia tóxica y perjudicial para el medio ambiente y la salud.

### 2.1.2.2.3 Método potenciométrico

Este método se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500 Cl<sup>-</sup> D). El principio del método se basa en que el cloruro se determina potenciométricamente por la titulación con una solución de nitrato de plata y un sistema de *electrodos de vidrio y plata-cloruro de plata*, durante la titulación se mide el cambio de voltaje con un voltímetro. El punto final de valoración es el cambio máximo de voltaje para un incremento pequeño pero constante de nitrato de plata.

En este método se estableció como ventaja que:

- El sistema de electrodos que se utiliza para la medición no requiere de reactivos que generen contaminación

En este método se determinó como desventaja que:

- El yoduro y bromuro también se valoran con este método
- El ferrocianuro debe ser eliminado porque produce valores elevados
- El cromato y dicromato interfieren y se deben reducir a estado crómico o eliminarse
- El ion férrico interfiere a cantidades mayores que el cloruro. Las aguas muy contaminadas requieren tratamiento previo

### 2.1.2.2.4 Método del electrodo de ion-selectivo

Este método se encuentra especificado en ASTM (D512-81 Método D). El principio del método se basa en que el cloruro se mide potenciométricamente usando un electrodo ion-selectivo de cloruro y un electrodo de referencia de doble junción. Medir el potencial con un pHmetro en escala de milivoltios o un analizador de ion-selectivo da una concentración directa de cloruro.

En este método se estableció como ventaja que:

- Se puede analizar de 2 a 1000 mg/l de cloruro

En este método se determinó como desventaja que:

- Se presenta las interferencia de sulfuro en concentraciones mayores a 500 mg/l, bromuro y yoduro a concentraciones mayores a 1000 mg/l o 1000 mg/l de amonio
- No se cuenta con los electrodos requeridos

#### **2.1.2.2.5 Método automatizado de ferrocianuro**

En el método automatizado de ferrocianuro descrito en los Métodos de APHA (Método 4500-Cl<sup>-</sup>E) se usa el equipo analítico automatizado de flujo continuo para la medición del analito.

El principio del método se basa en que, el tiocianato mercúrico  $Hg(SCN)_2$  reacciona con el ion cloruro, formando cloruro mercúrico soluble y el ion tiocianato se libera. En presencia de ion férrico, el ion tiocianato libre forma tiocianato férrico cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de cloruro.

En este método se determinó como ventaja que:

- Se puede aplicar a aguas superficiales, salinas, potables, residuales y domésticas.

En este método se estableció como desventaja que

- No se cuenta con el equipo analítico automatizado de flujo continuo.
- El tiocianato de mercurio es un compuesto muy tóxico y peligroso para el medio ambiente

#### **2.1.2.2.6 Método de tiocianato de mercurio por Análisis de flujo por inyección**

Este método se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500-Cl<sup>-</sup>G) y se requiere de un equipo de análisis de flujo por inyección.

Una muestra de agua que contiene cloruro se inyecta en una corriente que transporta tiocianato de mercurio y nitrato férrico. El principio del método se basa en que el cloruro forma un complejo con Hg(II) desplazando el anión tiocianato, el cual forma un complejo altamente coloreado de tiocianato férrico. El pico máximo está en la absorbancia de 480 nm. El área bajo el pico es proporcional a la concentración de cloruro de la muestra original.

En este método se estableció como ventaja que

- Se puede aplicar a aguas superficiales, salinas, potables, residuales y domésticas.

En este método se determinó como desventaja que

- No se cuenta con el equipo analítico automatizado de flujo continuo.
- El tiocianato de mercurio es un compuesto muy tóxico y peligroso para el medio ambiente

#### **2.1.2.2.7 Método tiocianato de mercurio**

Este método se encuentra especificado en los procedimientos de HACH (Método 8113), el principio se parece al método automatizado de ferricianuro y al método tiocianato de mercurio por análisis de flujo por inyección. El equipo que se emplea es el espectrofotómetro HACH DR-2800, con celdas de una pulgada cuadrada y 10 mililitros de volumen.

Después de añadir a la muestra los reactivos provistos por la compañía HACH; la solución de tiocianato de mercurio y la solución de ion férrico, se agita y se lee en el equipo, el resultado da en unidades de mg/L Cl.

En este método se estableció como ventaja que

- Se puede aplicar a aguas superficiales, salinas, potables, residuales y domésticas.
- Se dispone del equipo espectrofotómetro HACH DR-2800

En este método se determinó como desventaja que

- El tiocianato de mercurio es un compuesto muy tóxico y peligroso para el medio ambiente.

#### **2.1.2.2.8 Método argentométrico**

El método argentométrico de Mohr se encuentra descrito en los Métodos de APHA, 2005 (Método 4500 Cl<sup>-</sup> B) y en ATSM (D512-81 Método B), el principio del método se asemeja en los dos casos.

En el método de Mohr para la determinación argentométrica del ion Cl<sup>-</sup>, se utiliza el indicador cromato de potasio (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>), para visualizar el punto final o de equivalencia como titulante, el nitrato de plata. El método se basa en que la titulación del ion cloruro que precipita como cloruro de plata blanco produciendo en la solución un cambio de color amarillo-rojizo.

En este método se estableció como ventaja que:

- Se cuenta con el material de vidrio requerido para el desarrollo del método
- Se puede aplicar a aguas residuales y naturales.
- Los iones sulfuro, tiosulfato y sulfito interfieren en el análisis pero se puede hacer un tratamiento previo con agua oxigenada. El color también interfiere el cual podría ser tratado con carbón activado.

En este método se establece como desventaja que:

- El bromuro, yoduro y cianuro se registran como concentraciones equivalentes de cloruro.
- El ortofosfato a concentraciones mayores a 25 mg/l precipita como fosfato de plata. A concentraciones mayores a 10 mg/l de hierro se enmascara el punto final.
- La solución indicadora de cromato de potasio puede causar sensibilización por el contacto con la piel.



Se eligió este método propuesto por APHA (Método 4500 Cl<sup>-</sup> B) porque las "titulaciones se encuentran entre los métodos más precisos" (Skoog, 2005) y se dispone del material de vidrio requerido, se sugiere usar protección personal durante el desarrollo del método.

### **2.1.2.3 Revisión y elección del método apropiado para la determinación de Fósforo total**

#### **2.1.2.3.1 Introducción**

El fósforo se conoce como un elemento esencial en el crecimiento de plantas y animales; porque es uno de los nutrientes esenciales para la vida. Su exceso en el agua provoca eutrofización.

El fósforo se encuentra tanto en aguas naturales como en aguas residuales en su mayoría como fosfatos clasificados en: ortofosfatos, fosfatos condensados, piro, meta y otros polifosfatos, también los ligados orgánicamente. Se encuentra en forma de solución, partículas, residuos o también en organismos acuáticos.

Una de las causas de contaminación de fósforo en agua residual y domésticas se debe al uso de grandes cantidades de detergentes, los cuales contienen fosfatos.

De acuerdo a Ordenanza Metropolitana 213 del Distrito Metropolitano de Quito: Sustitutiva del Título V, "Del Medio Ambiente", Libro Segundo, del Código Municipal, Resolución N° 0002-DMA-2008 los límites máximos permisibles por cuerpo receptor para fósforo total para el alcantarillado es 15 mg/l, y para el cauce de agua es 10 mg/l.

Debido a que el fósforo se puede presentar en una combinación con la materia orgánica, se realiza previamente un método de digestión, este método debe ser capaz de oxidar la materia orgánica eficazmente para convertir la forma fosforada

en ortofosfato disuelto y posteriormente analizar el ortofosfato disuelto por un método colorimétrico.

Los métodos de digestión y colorimétricos para la determinación de fósforo total son los siguientes:

#### **2.1.2.3.2 Digestión con ácido perclórico**

El método de digestión con ácido perclórico se encuentra especificado en los Métodos de APHA (Método 4500-P B,3).

El procedimiento es el siguiente: la muestra a tratar colocar en un erlenmeyer, añadir los reactivos principales para la digestión (ácido nítrico y el ácido perclórico), luego colocar el erlenmeyer en una plancha de calentamiento, y evaporar lentamente hasta que empiecen a aparecer los humos blancos del ácido perclórico.

En este método se estableció como ventaja que:

- El método del ácido perclórico se considera como el procedimiento más lento y drástico, para muestras difíciles como los sedimentos.

En este método se determinó como desventaja que:

- Las mezclas calentadas de ácido perclórico y materia orgánica pueden reaccionar violentamente

#### **2.1.2.3.3 Digestión con ácido sulfúrico y ácido nítrico**

El método de digestión con ácido sulfúrico y ácido nítrico se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-P B, 4).

El procedimiento es el siguiente: en un matraz micro-kjeldahl colocar la muestra de agua, añadir el ácido sulfúrico y el ácido nítrico, colocar en una gradilla de

digestión con calefacción eléctrica o por gas con extractor de humo, digerir hasta un volumen de 1ml y continuar hasta que la solución se vuelva incolora para eliminar el  $\text{HNO}_3$ .

En este método se estableció como ventaja que:

- Se recomienda para la mayoría de muestras.
- Es un procedimiento largo y requiere vigilancia constante

#### **2.1.2.3.4 Digestión con persulfato**

El método de digestión con persulfato se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-P B, 4) y en el Manual de Procedimientos de HACH (Método 8190), el principio del método se asemeja en los dos casos.

El procedimiento es el siguiente: en un material de vidrio adecuado colocar una porción adecuada de una muestra, añadir ácido sulfúrico y persulfato de potasio, y colocar en una plancha de calentamiento o en una autoclave, por un tiempo determinado, enfriar y neutralizar la muestra digestada.

En este método se estableció como ventaja:

- Se trata de una técnica sencilla y rápida
- Se recomienda para la mayoría de las muestras

Se realizaron pruebas previas para determinar si existían diferencias significativas en utilizar autoclave o una plancha de calentamiento, dando como resultado la no existencia de diferencias significativas. Se escogió la alternativa de digestión en plancha de calentamiento en el Manual de Procedimiento de HACH (Método 8190)

### **2.1.2.3.5 Método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico**

El método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500-P C) y en ASTM (D 515-82 Método C), el principio del método se asemeja en los dos casos.

Para el desarrollo del método colorimétrico se requiere de un espectrofotómetro en una longitud de onda de 400 a 490 nm. El principio de este método se basa en que el molibdato amónico en condiciones ácidas reacciona con una solución diluida de ortofosfato, para formar un heteropoliácido, ácido molibdofosfórico. En presencia de vanadio se forma ácido vanadomolibdofosfórico amarillo. La intensidad de color amarillo es proporcional a la concentración de fósforo.

En este método se estableció como ventaja:

- Se puede detectar una concentración mínima de 200 µg P /l en celdas de 1 cm.

En este método se determinó como desventaja:

- Se presentan interferencias: la sílice y el arseniato en forma positiva. El fluoruro, bismuto, sulfuro, tiosulfato, tiocianato o exceso de molibdato produce interferencia negativa.

### **2.1.2.3.6 Método colorimétrico del cloruro estagnoso**

El método colorimétrico del cloruro estagnoso se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-P D).

Para el desarrollo del método se requiere de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm. El principio del método se basa en que; luego de formarse el ácido molibdofosfórico, éste se reduce con cloruro estagnoso, a azul de molibdeno de color intenso.

En este método se estableció como ventaja que:

- Se puede detectar una concentración mínima de 3 µg P /l aproximadamente.
- Este método se presenta más sensible que el método anterior.

#### **2.1.2.3.7 Método automatizado de reducción de ácido ascórbico**

El desarrollo del método colorimétrico automatizado de reducción de ácido ascórbico se encuentra en los Métodos de APHA (Método 4500-P F).

Para realizar este método se requiere de un equipo analítico automatizado. El principio del método se basa en que el molibdato de amonio y tartrato antimonílico potásico reaccionan con ortofosfato en medio ácido para formar un complejo antimonio-fosfomolibdato que al reducirse a ácido ascórbico da una coloración azul.

En este método se estableció como ventaja que:

- Se tiene un rango de medición de 0,001 a 10 mg/L para determinar ortofosfato en agua potable, superficial y salina, también en agua residuales e industriales

En este método se determinó como desventaja que:

- No se cuenta con el equipo necesario
- Se tienen interferencias tolerables hasta 50 mg Fe +3 /l, 10 mg Cu/l y 10 mg SiO<sub>2</sub> /l, una concentración elevada de sílice produce una interferencia positiva

#### **2.1.2.3.8 Método de análisis de flujo por inyección para ortofosfato**

El método de análisis de flujo por inyección para ortofosfato se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-P G).

Tiene el mismo principio del método automatizado de reducción de ácido ascórbico. Para el desarrollo de este método se requiere de un equipo de análisis de flujo por inyección y un detector de absorbancia a 880 nm.

En este método se estableció como desventaja que:

- Se tienen la interferencia del sílice aunque es insignificante a 30 mg/l produce un error de 0,005 mg/L. A concentraciones mayores de 50 mg/l de ion férrico produce un error negativo
- No se dispone del equipo

#### **2.1.2.3.9 Método colorimétrico de reducción de amonio**

El método colorimétrico de reducción de amonio se encuentra especificado en ASTM (D515-82 Método B).

El principio del método se basa en que el ortofosfato reacciona con el molibdato de amonio en medio ácido para formar molidofosfato y se reduce a molibdeno un complejo color azul con amino-napto-ácido sulfónico. El color es proporcional a la concentración de ortofosfato. Se necesita un espectrofotómetro a una longitud de onda de 650 nm.

En este método se determinó como desventaja que:

- Se tiene interferencia a concentraciones mayores de 40 mg/L de hierro, 75 mg/l de cromato.

#### **2.1.2.3.10 Método del ácido ascórbico**

El método del ácido ascórbico se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-P E), en ASTM (D512-82 Método A) y en el Manual del Procedimientos de HACH (Método 8048). El principio del método se parece en los tres casos. Para el desarrollo de este método se requiere un espectrofotómetro a una longitud de onda de 880 nm. El principio de este método se basa en que: el molibdato amónico y el tartrato antimonílico potásico reaccionan en medio ácido con ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico que se reduce a azul de molibdeno, el color intenso se da por el ácido ascórbico.

En este método se estableció como ventaja que:

- Se puede detectar la cantidad mínima de 10 µg P/l según el método de APHA *et al.*
- Según el procedimiento de HACH se tiene un rango de medición de 0,02 a 2,5 mg/L de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>
- Se posee el espectrofotómetro HACH DR 2800 para la medición

En este método se determinó como desventaja que:

- Entre las interferencias se encuentran los arseniatos en concentraciones de 0,1 mg As/l, el cromo hexavalente y nitritos
- Las interferencias por el método de HACH son: aluminio más de 200 mg/l, arseniato en cualquier concentración, cromo más de 100 mg/l, cobre más de 10 mg/l, sulfuro de hidrógeno a cualquier nivel, hierro a más de 100 mg/l, níquel a más de 300 mg/l, sílica a más de 50 mg/l, silicato a más de 10 mg/l, la turbidez en grandes cantidades.

Se escogió este método presentado en el Manual de Procedimientos de HACH (Método 8048), por sus ventajas y porque se lo ha venido usando en el laboratorio obteniendo buenos resultados.

#### **2.1.2.4 Revisión y elección del método apropiado para la determinación de Nitratos**

##### **2.1.2.4.1 Introducción**

A pesar de que los nitratos son un producto normal del metabolismo humano, el agua con altas concentraciones en nitratos representa un riesgo para la salud, especialmente en los niños. Si se bebe agua con elevadas concentraciones de nitratos la acción de determinados microorganismos en el estómago puede transformar los nitratos en nitritos, que al ser absorbido en la sangre convierte a la hemoglobina en metahemoglobina. La metahemoglobina se caracteriza por inhibir el transporte de oxígeno en la sangre. Aunque la formación de metahemoglobina es un proceso reversible, si puede llegar a provocar la muerte, especialmente en niños ("síndrome del bebé azul"). Pero también los nitratos pueden formar nitrosaminas y nitrosamidas compuestos que pueden ser cancerígenos.

Los nitratos actualmente constituyen la principal fuente de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas.

Los métodos revisados para la determinación de nitratos son los siguientes

#### **2.1.2.4.2 Método electrodo de nitrato**

El método electrodo de nitrato se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> D)

Para el desarrollo de este método se requiere de un electrodo de ion nitrato, el cual es un sensor selectivo que desarrolla un potencial a través de una membrana delgada porosa inerte que se mantiene en posición en un intercambiador iónico en un líquido inmiscible en el agua. También se requiere de un electrodo de referencia de doble unión y un medidor de pH de escala expandida o digital.

En este método se tiene como ventaja que:

- El rango de medición va desde 0,14 a 1400 mg/l.
- No utiliza reactivos perjudiciales para la salud del analista y ni reactivos que contaminen el medio ambiente

En este método se tiene como desventaja que:

- Interfieren los iones cloruro, bicarbonato, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> y ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>.
- Se han observado que se produce respuestas erráticas cuando el pH no se mantiene constante.
- No se dispone del equipo requerido para el desarrollo del método

#### **2.1.2.4.3 Método reducción de cadmio**

El método de reducción de cadmio se encuentra definido en los Métodos de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> E) y en los procedimientos de HACH (Método 8039), el principio del método se parece en los dos casos:



El principio del método se basa en que el nitrato se reduce a nitrito cuando pasa a través de una columna de cadmio-cobre. El nitrito (presente originalmente junto con el nitrato reducido) se determina por diazotado con sulfanilamida y apareamiento con dicloridrato de N-(1 naftil)-etilendiamina para formar un colorante azo de color intenso para medir colorimétricamente. Para este método se necesita una columna de reducción y un espectrofotómetro.

En este método se estableció como ventaja:

- Se puede aplicar un rango de medida de 0,01 a 1 mg/L de  $\text{NO}_3\text{-N}$

En este método se determinó como desventajas:

- Las concentraciones de hierro, u otros metales reducen la eficacia de la reducción.
- El aceite y la grasa recubrirán la superficie de cadmio.
- El cloro puede interferir por oxidación de la columna de cadmio.
- El cadmio es perjudicial para la salud del analista

Se realizó pruebas previas con el procedimiento de HACH (Método 8039), en el apartado 3.2.1.4.3, y no cumplió con los requerimientos, por lo que se optó por otra alternativa.

#### **2.1.2.4.4 Método automatizado reducción de cadmio**

El método automatizado reducción de cadmio se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500- $\text{NO}_3\text{-F}$ )

Este método el principio se asemeja al principio del método reducción de cadmio. Se requiere de un equipo analítico automatizado para el desarrollo del método.

En este método se estableció como ventajas:

- Se puede determinar nitrato o nitrito, aislado o juntos en agua potable, superficial, salina, residual doméstica o industrial en un rango de 0,5 a 10 mg/l.

En este método se determinó como desventajas:

- En este método puede interferir la turbidez y el color de la muestra.
- No se dispone el equipo requerido

#### **2.1.2.4.5 Método automatizado de reducción de hidracina**

El método automatizado reducción de hidracina se encuentra especificado en los Métodos de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>H)

El principio del método se basa en que el nitrato se reduce a nitrito con sulfato de hidracina. El nitrito (presente originalmente junto con el nitrato reducido) se determina por diazotado con sulfanilamida y apareamiento con dicloridrato de N-(1 naftil)-etilendiamina para formar un colorante azo de color intenso para medir colorimétricamente. Se requiere de un equipo analítico automatizado de flujo continuo.

En este método se estableció como ventajas:

- Se puede aplicar el método para agua potable, superficial, residual doméstica e industrial en el rango de 0,01 a 10 mg/l

En este método se determinó como desventajas:

- Interfieren las concentraciones inferiores a 10 mg/L de ion sulfuro
- Interfiere en color de la muestra que absorba en el rango fotómetro utilizado
- No se dispone del equipo para análisis requerido

#### **2.1.2.4.6 Método reducción de cadmio de flujo por inyección**

El método automatizado reducción de hidracina se encuentra descrito en los Métodos de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> I)

El principio de este método se parece al método de reducción de cadmio. Para el desarrollo de este método se requiere de un equipo de análisis de flujo por inyección y un detector de absorbancia 540 nm.

En este método se estableció como desventaja:

- El cloro residual puede interferir en la oxidación de la columna de reducción de cadmio
- No se dispone del equipo de análisis de flujo por inyección

#### **2.1.2.4.7 Método espectrofotométrico ultravioleta selectivo**

El método espectrofotométrico ultravioleta selectivo se encuentra especificado en los Métodos de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> B)

Se requiere un espectrofotómetro para la medición. A 220 nm se determina los NO<sub>3</sub><sup>-</sup> al igual que la materia orgánica, pero a 275 nm se determina solo la materia orgánica. Para obtener el valor de concentración de nitratos se debe realizar la diferencia entre las dos absorbancias de las dos longitudes de onda antes mencionada.

En este método se determinó como ventaja:

- La curva de calibración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> verifica la ley de Beer hasta los 11 mg N/l
- Se dispone de un espectrofotómetro UV- Visible UV-1601 Shimadzu
- No se utiliza reactivos perjudiciales para la salud del analista

En este método se estableció como desventaja:

- Este método solo sirve para muestras con bajo contenido de materia orgánica, es decir aguas naturales no contaminadas y suministros de agua potable.

Se eligió este Método de APHA (Método 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> B) por las ventajas que presenta.

## **2.1.3 PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS**

### **2.1.3.1 Método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas**

#### **2.1.3.1.1 Alcance del método**

El método de partición gravimétrica tiene como principio la extracción del aceite o grasa del agua con un disolvente orgánico y por diferencia de pesos se obtiene la concentración del analito. En este método se determina cuantitativamente grupos de sustancias con características físicas similares sobre la base de solubilidad común. Se aplica a aguas residuales y naturales. La técnica se emplea para un rango de concentración de 2 a 100 mg/l de aceites y grasas. El tamaño mínimo de la muestra para analizar es de un litro.

#### **2.1.3.1.2 Instrumental**

Utilizar el siguiente material de vidrio y los equipos para el desarrollo del método:

- Embudo de separación 1 L con llave de teflón
- Balón de vidrio con filo esmerilado 500 ml (rotavapor)
- Balón de vidrio con filo esmerilado de 100 ml (rotavapor)
- Balón aforado de 1000 ml
- Embudo de vidrio
- Baño de agua a 60 °C
- Rotavapor
- Estufa
- Balanza analítica
- Desecador

Los equipos utilizados para recuperar el hexano son el rotavapor y el baño de agua, se representan en la figura 14.



**Figura 14:** Equipo para recuperación del hexano: 1. rotavapor; 2. baño de agua

#### 2.1.3.1.3 Reactivos

Utilizar los siguientes reactivos para el desarrollo del método:

- n-Hexano
- Ácido sulfúrico o ácido clorhídrico 1:1
- Alcohol isopropílico

#### 2.1.3.1.4 Procedimiento del método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas

Para la determinación de aceites y grasas realizar los siguientes pasos:

1. Verificar el buen estado de la balanza analítica, del rotavapor y la estufa
2. Enjuagar todos los recipientes a usar con n-hexano para eliminar los residuos de aceites y grasas.
3. Colocar 1000 ml de la muestra en un embudo de separación
4. Acidificar la muestra hasta un pH menor a 2 con 2 ml de ácido sulfúrico 1:1
5. Añadir a la muestra 30 ml de hexano.

6. Agitar el embudo de separación con la muestra (por dos minutos aproximadamente) para que el hexano extraiga todo el contenido de aceite y grasa de la muestra. Abrir la llave para que salgan los gases.
7. Esperar media hora para que se separen las capas en dos fases. Al observar la formación de una emulsión colocar 5ml de alcohol isopropílico para romper la emulsión.
8. Enjuagar con una pequeña cantidad de hexano el balón de vidrio de 100 ml. para eliminar todo el residuo de aceite y grasa.
9. Tarar el balón de vidrio de 100 ml en una estufa a 105 °C por una hora y colocar en un desecador por tres horas. Pesarse el balón para tener el peso inicial
10. Recoger en un balón de 1000 ml la fase acuosa localizada en la parte inferior del embudo de separación
11. Colocar abajo del embudo de separación un balón de 100 ml con un embudo de vidrio y algodón enjuagado con hexano para recoger la extracción.
12. Realizar por segunda vez la extracción, con la fase acuosa de la primera extracción repitiendo los dos pasos anteriores y enjuagar el balón de 1000 ml con hexano.
13. Colocar el balón de 100 ml con la extracción en el rota vapor y en el baño de agua a la temperatura de 60 °C, los primeros 10 minutos a velocidad máxima de rotación luego de este tiempo disminuir la velocidad a la mitad.
14. Colocar un balón de 500 ml en otro extremo del rota vapor para recoger el hexano destilado
15. Sacar el balón de 100 ml al terminar la destilación y secar en la estufa a 60 °C
16. Colocar el balón de 100 ml en el desecador por dos horas y pesarse para obtener el peso final.

#### **2.1.3.1.5 Cálculos para determinar la concentración de aceites y grasas**

Para determinar la concentración de aceites y grasas se empleó la diferencia del peso inicial y final del balón de 100 ml y se calculó con la siguiente ecuación:

$$\frac{mg \text{ aceite y grasa}}{L} = \frac{W_r}{V_s} \quad [2. 1]$$

Donde:

Wr: peso total del frasco y residuo, menos el peso de tara del frasco (miligramos)

Vs: volumen de la muestra inicial (litros)

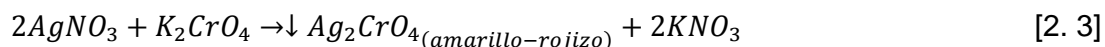
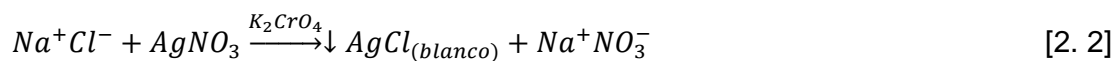
### 2.1.3.2 Método argentométrico para la determinación de cloruros

#### 2.1.3.2.1 Alcance del método

El método argentométrico sirve para determinar cloruros en muestras de aguas, para lo cual se debe titular con nitrato de plata  $AgNO_3$  usando el indicador cromato de potasio  $K_2CrO_4$ .

Se puede aplicar a aguas naturales y residuales, en un intervalo de concentración de 5 a 50 mg/l de cloruros. El tamaño mínimo de la muestra para analizar es de 50 ml. El bromuro, yoduro y cianuro se registran como concentraciones equivalentes de cloruro. El ortofosfato a concentraciones mayores a 25 mg/l precipita como fosfato de plata. A concentraciones mayores a 10 mg/l de hierro enmascara el punto final.

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  $Ag_2CrO_4$ , y se representa en las siguientes ecuaciones:



Para llevar a cabo el análisis de cloruros el pH óptimo es de 7,0 a 8,3; debido a que a pH mayores a 8,3, el ión  $Ag^+$  precipita en forma de  $Ag(OH)$ ; a pH menor que 7,0 el cromato de potasio se oxida a dicromato, con esto afectaría el viraje del indicador.

### **2.1.3.2.2 Reactivos**

Para el desarrollo del método utilizar los siguientes reactivos:

- Solución indicadora de cromato de potasio
- Titulante de nitrato de plata patrón (0,0141 N o 500 mg/L)
- Solución estándar de cloruro (0,00141 N o 50 mg/L)
- Peróxido de hidrogeno al 30%

La preparación de los reactivos se indica en el Anexo II

### **2.1.3.2.3 Instrumental**

Para el desarrollo del método utilizar el siguiente material de vidrio y equipo:

- Erlenmeyer de 125 ml
- Bureta de 10 ml con divisiones de 0,05ml
- Agitador magnético y barra agitación

### **2.1.3.2.4 Procedimiento para la preparación de la muestra**

Antes de empezar la titulación preparar la muestra:

1. Verificar el buen estado del material de vidrio, especialmente de la bureta
2. Tomar un volumen de 50 ml de la muestra de agua
3. Añadir 3 ml de la suspensión de hidróxido de aluminio (ver la preparación en Anexo II) si la muestra presenta mucho color, mezclar y dejar sedimentar. (También se puede realizar un tratamiento con carbón activado)
4. Añadir un mililitro de peróxido de hidrógeno y agitar durante un minuto para eliminar las interferencias por el sulfuro, sulfito o tiosulfito
5. Ajustar el pH de 7,0 a 8,3; añadir dos gotas de fenoftaleína y dos gotas de hidróxido de sodio 0,1 N (color rosado), agregar unas gotas de ácido sulfúrico 0,1 N hasta que se torne la solución incolora.



### 2.1.3.2.5 Titulación

Para la titulación de la muestra realizar los siguientes pasos:

1. Añadir un mililitro de la solución indicadora de cromato de potasio. Titular con nitrato de plata patrón hasta el punto final amarillo rojizo, para tener un criterio constante relativo al punto final se debe titular primero el blanco de reactivos
2. Estandarizar el titulante nitrato de plata y establecer el valor del blanco de reactivos por el método de titulación descrito anteriormente.

### 2.1.3.2.6 Estandarización de nitrato de plata

A 50 ml de una solución estándar de cloruro 50 mg Cl<sup>-</sup>/l (0,00141 N) añadir 1 ml de peróxido de hidrógeno, y realizar el procedimiento de titulación descrito anteriormente.

Para calcular la concentración de nitrato de plata estandarizado se aplicó la siguiente ecuación:

$$C_2 = \frac{V_1 * C_1}{V_2} \quad [2.$$

4]

Donde:

C<sub>2</sub>: concentración de nitrato de plata

C<sub>1</sub>: concentración de la solución estándar de cloruro

V<sub>2</sub>: volumen gastado en titulación

V<sub>1</sub>: volumen de la solución estándar de cloruro

### 2.1.3.2.7 Blanco de reactivo

En 50 ml de agua destilada colocar 1 ml de peróxido de hidrogeno y realizar el procedimiento de titulación.

### 2.1.3.2.8 Cálculos para determinar la concentración de cloruros

Para determinar la concentración de cloruros en mg/l aplicar la siguiente ecuación:

$$\frac{mg\ Cl^-}{L} = \frac{(A-B)*C_{AgNO_3}}{ml-muestra} \quad [2. 5]$$

Donde:

A: ml. de valoración para muestra

B: ml. de valoración para el blanco

C<sub>AgNO<sub>3</sub></sub>: concentración de nitrato de plata (mg/L)

### 2.1.3.3 Método de digestión y colorimetría para la determinación de fósforo total

#### 2.1.3.3.1 Alcance del método

Para analizar el fósforo total en muestras de agua se debe realizar dos pasos: la digestión (conversión de la forma fosforada en ortofosfato disuelto) y la determinación colorimétrica.

Como se indicó en el numeral 2.1.2.3.4 y 2.1.2.3.10 se optó por realizar la determinación de fósforo total por método presentado por HACH (Método 8190 y 8048), con el espectrofotómetro HACH DR-2800. Se usó para la digestión y para el método colorimétrico los reactivos provistos por la compañía HACH.

Se utiliza esta técnica para muestras de aguas residuales y naturales. La técnica se emplea para determinar el intervalo de concentración de 0,16 a 0,82 mg /l de fósforo total. El mínimo tamaño de muestra para analizar es de 25 ml y el pH recomendado es de 2-10.

Las interferencias del método son: aluminio más de 200 mg/l, arseniato en cualquier concentración, cromo más de 100 mg/l, cobre más de 10 mg/l, sulfuro

de hidrogeno a cualquier nivel, hierro a más de 100 mg/l, níquel a más de 300 mg/l, sílica a más de 50 mg/l, silicato a más de 10 mg/l, la turbidez en grandes cantidades.

#### **2.1.3.3.2 Instrumental**

Para el desarrollo del método utilizar el siguiente instrumental:

- Espectrofotómetro HACH DR-2800
- Celdas de cuarzo
- Erlenmeyers de 50 ml
- Balón de 25 ml aforado

#### **2.1.3.3.3 Reactivos**

Utilizar los siguientes reactivos para el desarrollo del método:

- Potassium persulfate powder pillow
- PhosVer 3 phosphate powder pillow
- Acido sulfúrico 5.25 N, 1N
- Hidróxido de sodio 5N

#### **2.1.3.3.4 Procedimiento para realizar el método de la digestión**

En el procedimiento de digestión realizar los siguientes pasos:

1. Verificar que el material de vidrio este en buenas condiciones.
2. Verificar el buen funcionamiento de la plancha de calentamiento
3. Colocar 25 ml de muestra en un erlenmeyer de 50 ml.
4. Añadir a la muestra el contenido de un potassium persulfate powder pillow, y mezclar
5. Añadir a la solución 2 ml de solución de ácido sulfúrico 5.25 N

6. Colocar el erlenmeyer con la solución sobre una plancha de calentamiento por 30 min en ebullición. Mantener el volumen cerca de 20ml, añadir pequeñas cantidades de agua desionizada
7. Enfriar la muestra en un lugar fresco
8. Añadir una gota de fenolftaleína y dos ml. de NaOH 5N hasta que de una coloración rosada, luego añadir ácido sulfúrico 1N hasta que se haga incoloro, para que el pH sea neutro.
9. Colocar la muestra en un balón aforado de 25 ml, aforar y analizar.

Nota: Para el lavado del material de vidrio, debe evitarse el uso de detergentes comerciales que contengan fosfatos, lavar el material con ácido clorhídrico diluido caliente y enjuagar bien con agua destilada. Para muestras muy turbias o coloreadas añadir el contenido de un sobre de phosphate pretreatment powder pillows en una muestra de 25 ml y mezclar bien.

#### **2.1.3.3.5 Procedimiento para realizar el método colorimétrico**

El método colorimétrico con el espectrofotómetro HACH DR-2800 realizar los siguientes pasos:

1. Verificar que el espectrofotómetro HACH DR-2800 se encuentre en buen funcionamiento
2. Presionar la opción "stored programs"
3. Seleccionar el test "490 p React. PV" y presionar la tecla "Start"
4. Llenar la celda con 10 ml. de muestra
5. Preparar la muestra: y añadir el contenido de un sobre de PhosVer 3 Phosphate powder pillow en la celda. Tapar inmediatamente y agitar vigorosamente por 30 segundos.
6. Presionar la opción "timer >OK" y escoger la opción del tiempo general de 10 minutos.
7. Preparar el blanco, llenar una segunda celda con 10 ml de muestra
8. Al término del tiempo, limpiar la celda y colocar en el compartimiento. Presionar la opción "Zero" y en la pantalla aparece 0.00 mg/L  $\text{PO}_4^{3-}$

9. Limpiar la celda con la muestra preparada e insertar en el compartimiento de la celda. Presionar "Read" y el resultado da en  $\text{mg/L PO}_4^{3-}$ . Presionar "Options" y presionar "Abs % Trans" y registrar los datos.

#### **2.1.3.3.6 Cálculos para determinar la concentración de fósforo total**

Para obtener el resultado de fósforo total en  $\text{mg/l}$ : el valor emitido por el espectrofotómetro en  $\text{mg/L PO}_4^{3-}$  se debe multiplicar por un factor igual a 0,3261.

#### **2.1.3.4 Método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para la determinación de nitratos**

##### **2.1.3.4.1 Alcance del método**

El Método espectrofotométrico ultravioleta selectivo sirve para determinar nitratos en muestras de agua. Para determinar  $\text{NO}_3^-$  se debe medir la absorbancia en la región ultravioleta visible a 220 nm. La materia orgánica también puede absorber a 220 nm pero no a 275 nm, se puede utilizar la segunda medida para corregir el valor de  $\text{NO}_3^-$ . Esta técnica se aplica a aguas naturales incontaminadas y suministros de agua potable. El intervalo de concentración es de 4 a 44  $\text{mg/l}$  de  $\text{NO}_3^-$ . El tamaño mínimo de la muestra es de 50 ml.

##### **2.1.3.4.2 Instrumental**

Emplear el siguiente instrumental para el desarrollo del método:

- Balón de 1000 ml
- Bureta de 10 ml
- Balón 100 ml
- Espectrofotómetro UV-Visible

### **2.1.3.4.3 Reactivos**

Usar los siguientes reactivos para el desarrollo del método:

- Agua destilada exenta de nitratos
- Solución madre de nitratos (ver la preparación en el numeral 2.1.5.2.4)
- Solución de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico 1N

### **2.1.3.4.4 Procedimiento para realizar el tratamiento de la muestra**

En 50 ml de muestra transparente (filtrar la muestra cuando presentaba partículas en suspensión), añadir un mililitro de HCl 1N y mezclar bien.

### **2.1.3.4.5 Preparación de la curva patrón**

Preparar estándares para construir la curva de calibración 0; 1; 2,5; 5; 7,5; 10 mg NO<sub>3</sub>-N/l con la solución madre, para convertir NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> multiplicar por el factor 4,427. Tratar a los patrones del mismo modo que la muestra.

### **2.1.3.4.6 Medida espectrofotométrica**

Ajustar la absorbancia del blanco (agua redestilada o desionizada) a cero, leer la absorbancia de la muestra frente al blanco, a 220 nm para determinar NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y a 275 nm para determinar las interferencias.

### **2.1.3.4.7 Cálculos**

Para obtener la absorbancia debida a nitratos de las muestras y de los patrones multiplicar dos veces la absorbancia a 275nm y restar de la absorbancia a 220nm. Trazar la curva patrón de la absorbancia debida a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> con la concentración NO<sub>3</sub><sup>-</sup> patrón.

#### 2.1.4 INSTRUCTIVO DE CALIBRACIÓN DE LOS EQUIPOS UTILIZADOS

La calibración de los equipos es importante para el aseguramiento de la calidad, y está determinado en la norma ISO 17025: “el laboratorio debe establecer un programa y un procedimiento para la calibración de equipos”. El resultado de la calibración sirve para la estimación de la incertidumbre de medida.

Se efectuó la calibración externa de determinados equipos y del material de vidrio utilizado para el proceso de validación, la calibración la realizó el INEN (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización), esta institución emitió los respectivos certificados de calibración que se indica en el ANEXO III.

Los materiales de vidrio calibrados por INEN son los siguiente: bureta LMS de 10 ml, balón aforado Glaswerk Wertheim de 1000 ml, balón aforado Glaswerk Wertheim de 500 ml, balón aforado LMS de 100 ml, balón aforado LMS de 50 ml, balón aforado LMS de 25 ml, pipeta graduada LMS de 5 ml, pipeta aforada LMS de 10 ml, pipeta aforada LMS de 2ml, probeta de vidrio Pyrex de 500 ml, probeta de vidrio Duran de 50 ml.

Los equipos calibrados por INEN son los siguiente: balanza analítica Mettler Toledo y la estufa Linberg /Blue. La estufa se la representa en la figura 15.



**Figura 15:** Estufa Linberg /Blue

Se realizó una calibración interna con procedimientos internos de los siguientes equipos: el espectrofotómetro HACH DR-2800 y el espectrofotómetro UV-Visible UV-1601Shimadzu.

Para calibrar los espectrofotómetros se realizó la curva de calibración que es la “representación gráfica de la señal de medición como una función de la cantidad de analito” (Eurachem, 1998)

#### **2.1.4.1 Instructivo de calibración para espectrofotómetro HACH DR 2800**

##### **2.1.4.1.1 Descripción general**

La calibración interna del espectrofotómetro HACH DR-2800 para determinar fósforo total se realiza con los métodos de digestión y colorimétricos tomados del Manual de procedimientos de HACH (con base a “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” APHA, *et al*), a una longitud de onda de 880 nm; el Método N° 8190 para la digestión y el Método N° 8048 para colorimetría, con un rango de medición de 0,16 a 0,83 mg/L de fósforo total. El espectrofotómetro HACH DR-2800 se representa en la figura 16.



**Figura 16:** Espectrofotómetro HACH DR-2800



#### **2.1.4.1.2 Materiales a utilizar durante la calibración y su preparación**

Para calibrar el equipo utilizar material de referencia certificado, en este caso el estándar Nutrients QCI-042-2. Para preparar el estándar tomar un balón aforado de 1000 ml. Abrir la ampolla con mucho cuidado y transferir 1 ml del contenido al balón. Aforar el balón con agua de grado reactivo y mezclar bien. A partir de esta solución madre preparar las soluciones intermedias.

#### **2.1.4.1.3 Proceso de calibración**

Para calibrar el Espectrofotómetro HACH DR 2800, realizar los siguientes pasos:

- Tomar cinco medidas de concentración observada  $\text{PO}_4^{3-}$  para cada concentración a calibrar: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mg/l  $\text{PO}_4^{3-}$ , realizar la medición por cinco días. Para transformar a fósforo total multiplicar por el factor 0,3261, estos datos también sirven para calcular  $S_R$
  - Realizar los pasos descritos en el procedimiento del numeral 2.1.3.3
  - Registrar los valores de las concentraciones y absorbancias correspondientes a cada medida.
  - Realizar la curva de calibración (Fósforo teórico vs. Fósforo observado) [mg/l]
- El tratamiento estadístico realizar con los resultados obtenidos, efectuar los cálculos para la estimación de la incertidumbre. (Ver el informe en el ANEXO IV)

#### **2.1.4.1.4 Proceso de verificación**

Cada vez que se enciende el instrumento, se ejecuta automáticamente una serie de pruebas de auto diagnóstico para asegurar el correcto funcionamiento de los principales componentes del sistema.

Este procedimiento dura dos minutos aproximadamente, comprueba el sistema, la lámpara, el ajuste de los filtros, la calibración de las longitudes de onda y el voltaje. Al completar el diagnóstico aparece el “Menú principal”.

Nota: Si el instrumento detecta alguna desviación relativa a la última calibración, es recomendable llevar a cabo verificación del sistema. Para esto quitar la cubeta de compartimiento de cubetas. Cerrar la tapa y pulsar “Inicio”. La verificación se llevará a cabo durante 6 minutos.

#### **2.1.4.1.5 Proceso de ajuste**

Para realizar el proceso de ajuste realizar los siguientes pasos:

- Preparar una solución patrón de concentración 2mg/l de fosfato. Para ajustar la curva de calibración usando el valor obtenido de la solución estándar presionar “Options” y “More” en el menú de programa actual. Presionar “Standard Adjust”.
- Presionar ON, presionar luego “Adjust” para aceptar la concentración que aparece en la pantalla.

Nota: Si la concentración no es la correcta presionar el casillero donde se encuentra el valor de la concentración ajustar y presionar OK y después ADJUST

#### **2.1.4.2 Instructivo de calibración para espectrofotómetro UV-visible UV- 1601 Shimadzu**

##### **2.1.4.2.1 Descripción general**

Para calibrar el espectrofotómetro UV-visible UV-1601 hacer con el Método espectrométrico ultravioleta selectivo (4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> B) tomado de “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” APHA, *et al* para determinar nitratos, con un rango de medición de 4 a 44 mg/l de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. En el

ANEXO XXIV se encuentra las instrucciones básicas para operar el equipo. El espectrofotómetro UV-Visible UV-1601 Shimadzu se representa en la figura 17.



**Figura 17:** Espectrofotómetro UV-Visible UV-1601 Shimadzu

#### **2.1.4.2.2 Materiales a utilizar durante la calibración**

Para calibrar el equipo utilizar material de referencia, su preparación se especifica en el apartado 2.1.5.2.4. A partir de esta solución preparar las soluciones intermedias.

#### **2.1.4.2.3 Proceso de calibración**

Para calibrar el Espectrofotómetro UV-visible UV-1601 Shimadzu, realizar los siguientes pasos:

- Tomar cinco medidas para cada concentración de las soluciones intermedias: 0; 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/l de  $\text{NO}_3^-$ , realizar la medición por cinco días, estos datos también sirven para calcular  $S_R$
- Realizar los pasos descritos en el procedimiento del numeral 2.1.3.4
- Registrar los valores de las absorbancias correspondientes a cada medida

El tratamiento estadístico realizar con los resultados obtenidos, efectuar los cálculos para la estimación de la incertidumbre. (Ver el informe de calibración en Anexo V)

#### **2.1.4.2.4 Procedimiento de verificación**

Cada vez que se enciende el instrumento, se ejecuta automáticamente una serie de pruebas de auto diagnóstico para asegurar el correcto funcionamiento de los principales componentes del sistema.

Tiempo requerido para la inicialización es de 3 minutos y 30 segundos, si se verifican todos los temas adecuadamente. Cada tema se ilumina a medida que el equipo va iniciándolos, al terminar la inicialización se ilumina la estrella que se encuentra a su lado. Se verifican: las memorias Rom y Ram, el origen de los filtros, el origen de las lámparas, el origen de longitud de onda, la energía de las lámparas y verifica la longitud de onda. Si ocurre alguna anomalía la estrella no se ilumina. Ver manual de Instalación y Servicio

### **2.1.5 PREPARACIÓN DE LOS OBJETOS DE ENSAYO**

Los objetos de ensayo son: el material de referencia certificado, el material de referencia interno, la muestra y el blanco

#### **2.1.5.1 Material de referencia certificado**

Para realizar la validación de los métodos analíticos se dispone de un material de referencia certificado correspondiente a cada método, los cuales fueron preparados de acuerdo a las instrucciones de preparación proporcionadas por el fabricante. A partir de la concentración del estándar o solución madre se preparó soluciones intermedias con la siguiente ecuación:

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot V_1}{V_2} \quad [2. 6]$$

$C_1$ : concentración solución madre

$V_1$ : volumen de solución madre

$V_2$ : volumen de solución diluida

$C_2$ : concentración de solución diluida

#### **2.1.5.1.1 Material de referencia certificado para aceites y grasas**

Para determinar el analito de aceite y grasa se usó el material de referencia certificado número OG-1000, con el solvente n-propanol, con una concentración de 1000 +/- 1,00 ug/ml de aceites y grasas. No requiere preparación. El certificado de análisis se encuentra en el Anexo III.

#### **2.1.5.1.2 Material de referencia certificado para cloruros**

Para determinar el analito cloruro se utilizó la solución estándar de cloruro de 1000 ± 5,1 ug/ml, solvente agua. No requiere preparación previa. El certificado de análisis se encuentra en el Anexo III.

#### **2.1.5.1.3 Material de referencia certificado para fósforo total**

El material de referencia certificado utilizado para fósforo total fue el estándar Nutrients QCI-042-2, con una concentración de fósforo total de 1,75 ± 0,009 mg/L. Su preparación se encuentra en el numeral 2.1.4.1.2 y en el Anexo III se encuentra el certificado de análisis.

#### **2.1.5.1.4 Material de referencia certificado para nitratos**

El material de referencia certificado utilizado para nitratos fue el estándar Nutrients QCI-042-1, con una concentración de  $\text{NO}_3^-$  como N de 2,00 ± 0,011

mg/L, abrir la ampolla y colocar 10 ml del concentrado en un frasco de 1000 ml, aforar con agua destilada y mezclar. La concentración inicial es de 200 mg/l de  $\text{NO}_3\text{-N}$ . Si la muestra no se analiza inmediatamente dentro de dos días preservar la muestra con 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado y almacenar a 4 °C, puede almacenarse por 28 días. En el Anexo III se encuentra el certificado de análisis.

#### **2.1.5.2 Material de referencia interno**

Se preparó el material de referencia interno para verificar si no tienen diferencias significativas con el material de referencia certificado, y poder utilizarlo para el control de calidad interno.

Para desarrollar el material de referencia interno para cada método analítico con base a APHA, AWWA, WPCF, "Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales" se tiene un determinado reactivo para preparar las soluciones patrón.

##### **2.1.5.2.1 Material de referencia interno para aceites y grasas**

Se preparo aceite vegetal, se peso 0,1 gramos en un balón aforado de 100 ml y se aforo con n-hexano, y se mezcló, obteniendo como resultado 1000 mg/L.

##### **2.1.5.2.2 Material de referencia interno para cloruros**

Se secó cloruro de sodio patrón a 105 °C por dos horas, se enfrió en el desecador, se peso 0,8268 gramos, se colocó en un balón de 1000 ml y se aforó con agua destilada se obtuvo una solución de 500 mg/L.

##### **2.1.5.2.3 Material de referencia interno de fósforo total**

Se secó fosfato diácido de potasio a 105 °C por veinte y cuatro horas, se enfrió en el desecador, se pesó 0,7198 gramos, se colocó en un balón de 1000 ml y se

aforó con agua destilada y se obtuvo una solución de 500 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$ . ( Para transformar a fosforo total multiplicar por el factor 0,3261)

#### **2.1.5.2.4 Material de referencia interno de nitratos**

Se secó nitrato de potasio a 105 °C por dos horas, se enfrió en el desecador, se pesó 0,7294 gramos, se colocó en un balón de 500 ml y se aforó con agua destilada y se obtuvo una solución de 200 mg/L de  $\text{NO}_3^-$ -N. ( Para transformar a nitrato multiplicar por el factor 4,427). El material de referencia interno se utilizo para la validación del método porque se comprobó que no tiene diferencias significativas con el material de referencia certificado.

#### **2.1.5.2.5 Muestras**

Para obtener los materiales de prueba se partió de muestras reales proporcionadas por el laboratorio.

#### **2.1.5.2.6 Materiales fortificados**

Las soluciones han sido fortificadas con el analito de interés. La fortificación se lo hizo por adición. Las disoluciones contenían concentraciones bajas del analito y se tuvo cuidado de que la fortificación no sobrepase el intervalo de trabajo del método.

#### **2.1.5.2.7 Blanco**

El blanco de los métodos para determinar cloruros, fósforo total y nitratos se utilizó agua desionizada.

### **2.1.5.2.8 Equipo**

El equipo correspondiente a cada método, especificado en el apartado 2.1.3 *Procedimientos de análisis*, debe ser verificado para comprobar su buen funcionamiento antes de empezar con el método de análisis.

## **2.2 SISTEMA DE VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS**

### **2.2.1 ELECCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN**

Para cada método se realizó la elección de los parámetros de validación. Los parámetros fueron definidos de acuerdo al alcance del método de ensayo a validar. Los métodos a validar son determinaciones cuantitativas de un componente. Los parámetros de validación elegidos son: selectividad/especificidad, linealidad/función de respuesta, límite de detección, límite de cuantificación, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, incertidumbre e intervalo de trabajo. La selectividad se encuentra determinada en el respectivo método normalizado. (El modelo matemático para el cálculo de los parámetros de validación se encuentra en el apartado 2.2.4.1)

### **2.2.2 FIJACIÓN DE OBJETIVOS PARA LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN**

La fijación de objetivos para la validación de los métodos se realizó con base a la experiencia del laboratorio con el OAE (Organismo de Acreditación Ecuatoriano) en las auditorías para la acreditación del mismo y necesidades del cliente.

#### **2.2.2.1 Determinación de aceites y grasas**

El procedimiento de ensayo para la determinación de aceites y grasa se realizó con el método de partición gravimétrica. Para el desarrollo del procedimiento analítico se empleó un método no instrumental por lo cual la linealidad/función de



respuesta y el límite de detección no aplica. Los objetivos de los parámetros se presentan en la Tabla 1:

**Tabla 1:** Fijación de objetivos de validación para la determinación de aceites y grasas

<b>PARÁMETRO</b>	<b>OBJETIVO</b>
<b>Selectividad/ Especificidad</b>	La selectividad/ especificidad se encuentra determinada en APHA en el método 5520 B. Aplicable a aguas claras y residuales. Interferencia del método otras sustancias orgánicas como por ejemplo azufre, complejos aromáticos, hidrocarburos, sulfuros, nitrógenos y cloro; y ciertos tintes orgánicos.
<b>Linealidad / Función de respuesta</b>	No aplica
<b>Límite de Detección</b>	1 mg/l
<b>Límite de Cuantificación</b>	2 mg/L
<b>Precisión (repetibilidad y /o reproducibilidad)</b>	CVr≤15% CVR ≤20%
<b>Incertidumbre</b>	≤ 35%
<b>Exactitud</b>	≤15%
<b>Intervalo de trabajo</b>	2 – 50 mg/l

#### 2.2.2.2 Determinación de cloruros

El procedimiento de ensayo para la determinación de cloruros se lo realizó con el método argentométrico. Para el desarrollo de la técnica analítica se empleó un método no instrumental por lo cual la linealidad/función de respuesta y el límite de detección no aplica. Los parámetros de validación se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Fijación de objetivos de validación para la determinación de cloruros

PARÁMETRO	OBJETIVO
<b>Selectividad/ Especificidad</b>	La selectividad /especificidad se encuentra descrita en APHA en el método 4500 Cl-B. Aplicable a aguas claras y residuales. El bromuro, ioduro, cianuro se registran en concentraciones equivalentes. El ortofosfato, sulfuro, tiosulfato, sulfitos se pueden eliminar con peróxido de hidrógeno. El ortofosfato y el hierro interfieren a concentraciones mayores de 25mg/l y 10 mg/l respectivamente.
<b>Linealidad / Función de respuesta</b>	No aplica
<b>Límite de Detección</b>	1 mg/l
<b>Límite de Cuantificación</b>	5 mg/L
<b>Precisión (repetibilidad y /o reproducibilidad)</b>	CVr $\leq$ 15% CVR $\leq$ 20%
<b>Incertidumbre</b>	$\leq$ %35
<b>Exactitud</b>	$\leq$ % 15
<b>Intervalo de trabajo</b>	5 – 100 mg/l

### 2.2.2.3 Determinación de fósforo total

El procedimiento de ensayo para la determinación de fósforo total se realizó por el método de digestión y colorimétrico presentado por HACH (Método 8190 y 8048), con el espectrofotómetro HACH DR-2800 y los reactivos proporcionados por la compañía.

Los parámetros de validación selectividad/ especificidad, linealidad/función de respuesta, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, incertidumbre e intervalo de trabajo se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3:** Fijación de objetivos de validación para la determinación de fósforo total

PARÁMETRO	OBJETIVO
<b>Selectividad/ Especificidad</b>	La selectividad /especificidad se encuentra fijada en el método de HACH 8048. Aplicable a aguas claras y residuales. Las interferencias se determinan a concentraciones mayores a 200 mg/l de aluminio, 100 mg/l de cromo, 10 mg/l de cobre, 100 mg/l de hierro, 300 mg/l níquel, 50 mg/l de sílica, 10 mg/l de silicato, 80 mg/l de zinc. El arseniato y sulfuro de hidrógeno en todas las concentraciones. La turbidez en grandes cantidades y pH, exceso de tamponaje.
<b>Linealidad / Función de respuesta</b>	$R^2 \geq 0,99$ $C_{ex.} = m * C_{teórica} + b$
<b>Límite de Detección</b>	0,048 mg/L
<b>Límite de Cuantificación</b>	0,16 mg/L
<b>Precisión (repetibilidad y /o reproducibilidad)</b>	$CV_r \leq 15\%$ $CVR \leq 20\%$
<b>Incertidumbre</b>	$\leq 35\%$
<b>Exactitud</b>	$\leq 15\%$
<b>Intervalo de trabajo</b>	0,16- 0,83 mg/L

M: pendiente de la función de respuesta

B: ordenada en el origen

C ex.: concentración obtenida experimentalmente

#### 2.2.2.4 Determinación de nitratos

El procedimiento de ensayo para la determinación de nitratos se realizó con el método espectro métrico ultravioleta selectivo. Se lo realizó con el espectrofotómetro UV- Visible UV-1601 Shimadzu.

Los parámetros de validación selectividad/ especificidad, linealidad/función de respuesta, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, incertidumbre e intervalo de trabajo se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4:** Fijación de objetivos de validación para la determinación de nitratos

PARÁMETRO	OBJETIVO
<b>Selectividad/ Especificidad</b>	La selectividad /especificidad se encuentra determinada en APHA en el método 4500 NO <sub>3</sub> .B. Aplicable a aguas claras. Se determinan las interferencias por: materia orgánica disuelta, los surfactantes, NO <sub>2</sub> y Cr <sup>6+</sup> . Iones inorgánicos clorito y clorato.
<b>Linealidad / Función de respuesta</b>	$R^2 \geq 0,99$ $ABS = m * C_{teórica} + b$
<b>Límite de Detección</b>	1,2 mg/l
<b>Límite de Cuantificación</b>	4 mg/l
<b>Precisión (repetibilidad y /o reproducibilidad)</b>	$CV_r \leq 15\%$ $CVR \leq 20\%$
<b>Incertidumbre</b>	$\leq 35\%$
<b>Exactitud</b>	$\leq 15\%$
<b>Intervalo de trabajo</b>	4- 44 mg/l

m: pendiente de la función de respuesta

b: ordenada en el origen

ABS: absorbancia obtenida experimentalmente

### 2.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO

La mayor parte de químicos consideran que las pruebas estadísticas solo sirven para juzgar los resultados de un experimento concluido, sin embargo un resultado cuantitativo debe ir acompañado de una estimación de errores. Antes de comenzar el experimento, hay que esforzarse por identificar las fuentes de error, de manera que el experimento pueda diseñarse para minimizar tales errores.

El término diseño experimental se utiliza para describir las etapas:

- Identificación de aquellos factores que pueden influir en resultado de un experimento
- Diseño del experimento de modo que se minimicen los efectos de factores incontrolados

- Aplicación del análisis estadístico para separar los efectos de los diferentes factores implicados. (Miller, 1993)

### **2.2.3.1 Diseño experimental y estadístico para aceites y grasas**

#### **2.2.3.1.1 Diseño experimental**

Para desarrollar el procedimiento de validación se utilizó el material de referencia certificado, a tres niveles de concentración. Los valores de los niveles bajo, medio y alto son: 2; 25 y 50 mg/l. Se repitió cinco veces cada nivel, por tres días.

#### **2.2.3.1.2 Muestras**

Las muestras que se utilizaron para la validación son las siguientes:

- Material de referencia certificado a una concentración de 1000 mg/l de aceites y grasas, a partir del cual se preparó tres niveles de concentración.
- Material de referencia interno, se determinó las diferencias significativas con el material de referencia certificado para que pueda ser usado posteriormente para el control de calidad interno.
- Matriz agua clara y agua residual

#### **2.2.3.1.3 Procesamiento**

Se realizó en forma simultánea el análisis de las 15 unidades por día en condiciones de repetibilidad y en condiciones de reproducibilidad con el material de referencia certificado. El método completo se aplicó a todas las muestras.

#### **2.2.3.1.4 Lectura**

Se tomó la lectura del peso inicial y peso final del balón utilizado para la extracción que produce cada muestra en el sistema de medida.

### **2.2.3.1.5 Cálculos**

Se calculó la concentración de aceites y grasas en mg/l sobre la muestra utilizando la ecuación [2.1]

### **2.2.3.1.6 Tratamiento estadístico**

Con el tratamiento estadístico se determinó:

- La precisión mediante el análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos
- La exactitud con el cálculo de la recuperación en cada nivel.
- Intervalo de trabajo y determinar la incertidumbre en cada nivel y global.

### **2.2.3.2 Diseño experimental y estadístico para cloruros**

#### **2.2.3.2.1 Diseño experimental**

Para el procedimiento de validación se empleó el material de referencia certificado a tres niveles de concentración. Los valores de los niveles bajo, medio y alto son: 5; 50 y 100 mg/l. Se repitió cinco veces cada nivel, por tres días.

#### **2.2.3.2.2 Muestras**

Las muestras que se emplearon para la validación son las siguientes:

- Material de referencia certificado a una concentración de 1000 mg/l de cloruros, a partir del cual se prepararon los tres niveles de concentración.
- Material de referencia interno, se determinó las diferencias significativas con el material de referencia certificado para que pueda ser usado posteriormente para el control de calidad interno.
- Matriz agua clara y agua residual
- Blanco, se utilizó agua desionizada

### **2.2.3.2.3 Procesamiento**

Se realizó en forma simultánea el análisis de las 15 unidades por día en condiciones de repetibilidad y en condiciones de reproducibilidad por tres días con el material de referencia certificado. El método completo se aplicó a las muestras.

### **2.2.3.2.4 Lectura**

Se tomó la lectura del gasto del titulante que ocasionó cada muestra en el sistema de medida.

### **2.2.3.2.5 Cálculos**

Se calculó la concentración de cloruros en mg/l sobre la muestra utilizando la ecuación [2.3]

### **2.2.3.2.6 Tratamiento estadístico**

Con el tratamiento estadístico se determinó:

- La precisión mediante el análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos
- La exactitud con el cálculo de la recuperación en cada nivel.
- Intervalo de trabajo y determinar la incertidumbre en cada nivel y global.

## **2.2.3.3 Diseño experimental y estadístico para fósforo total**

### **2.2.3.3.1 Diseño experimental**

Para el procedimiento de validación se empleó el material de referencia certificado, a seis niveles de concentración incluido el blanco. Los valores de los

niveles son: 0; 0,16; 0,33; 0,45; 0,65; 0,82 mg/l de fósforo total, se repitió cinco veces cada nivel, por cinco días.

#### **2.2.3.3.2 Muestras**

Las muestras que se utilizaron para la validación son las siguientes:

- Material de referencia certificado a una concentración de 1,75 mg/l de fósforo total, a partir del cual se preparó los cinco niveles de concentración. (Ver la preparación de soluciones en Anexo VI).
- Material de referencia interno, se determinó las diferencias significativas con el material de referencia certificado para que pueda ser usado posteriormente para el control de calidad interno.
- Matriz agua clara y agua residual
- Blanco, se utilizó agua desionizada

#### **2.2.3.3.3 Procesamiento**

Se realizó en forma simultánea el análisis de las 25 unidades por día en condiciones de repetibilidad y en condiciones de reproducibilidad por cinco días con el material de referencia certificado. El método completo se aplicó a las muestras.

#### **2.2.3.3.4 Lectura**

Se tomó la lectura de la absorbancia y la concentración que causó cada muestra en el sistema de medida.

#### **2.2.3.3.5 Función de respuesta**

La función de respuesta ( $C_{ex.} = m \cdot C_{teórica} + b$ ) se obtuvo cada día de acuerdo al diseño experimental. Se determinó el coeficiente de correlación lineal.



#### **2.2.3.3.6 Interpolación y cálculos**

Se realizó la estimación lineal con Excel por bloque (150 datos), se determinó la región de confianza, la desviación estándar de la regresión, el procedimiento de la estimación lineal con Excel se encuentra en el ANEXO VII.

#### **2.2.3.3.7 Tratamiento estadístico**

Con el tratamiento estadístico se determinó:

- La precisión mediante el análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos.
- La exactitud con el cálculo de la recuperación en cada nivel.
- El intervalo de trabajo, la incertidumbre en cada nivel y la incertidumbre global.

#### **2.2.3.4 Diseño experimental y estadístico para nitratos**

##### **2.2.3.4.1 Diseño experimental**

Para el procedimiento de validación se empleó el material de referencia material de referencia interno una vez comprobado que no tiene diferencia significativa con el material de referencia certificado. Los niveles de concentración son seis incluido el blanco. Los valores de los niveles son: 0; 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/l de  $\text{NO}_3^-$ . Se repitió cinco veces cada nivel de concentración, por cinco días.

##### **2.2.3.4.2 Muestras**

Las muestras que se usaron para la validación son:

- Material de referencia certificado a una concentración de 200 mg/l de  $\text{NO}_3^-$

- Material de referencia interno, se determinó las diferencias significativas con el material de referencia certificado para que pueda ser usado posteriormente para el control de calidad. Se preparó a la misma concentración del material de referencia certificado y al no existir diferencias significativas entre los dos materiales, se tomó el mismo el valor de la incertidumbre del material de referencia certificado. Se preparó cinco niveles de concentración. La preparación de soluciones se encuentra en el Anexo VI.
- Matriz agua clara y agua residual
- Blanco, se utilizó agua desionizada

#### **2.2.3.4.3 Procesamiento**

Se realizó en forma simultánea el análisis de las 25 unidades por día en condiciones de repetibilidad y en condiciones de reproducibilidad por cinco días con el material de referencia certificado. Las muestras deben seguir el método completo.

#### **2.2.3.4.4 Lectura**

Se tomó la lectura de la absorbancia que proporcionó cada muestra en el sistema de medida.

#### **2.2.3.4.5 Función de respuesta**

La función de respuesta ( $ABS = m \cdot C_{\text{teórica}} + b$ ) se obtuvo cada día de acuerdo al diseño experimental. Se determinó el coeficiente de correlación lineal.

#### **2.2.3.4.6 Interpolación y cálculos**

Se realizó la estimación lineal mediante Excel por bloque 150 datos, se determinó la región de confianza, la desviación estándar de la regresión. El procedimiento de estimación lineal en Excel se encuentra en el Anexo VII.

Se calculó la concentración sobre la muestra y se determinó la exactitud

#### **2.2.3.4.7 Tratamiento estadístico**

Con el tratamiento estadístico se determinó:

- La precisión mediante el análisis de varianza simple (ANOVA) de los resultados obtenidos.
- La exactitud con el cálculo de la recuperación en cada nivel.
- El intervalo de trabajo, la incertidumbre en cada nivel y la incertidumbre global.

### **2.2.4 EJECUCIÓN DE LOS ENSAYOS DISEÑADOS**

Una vez establecido en cada procedimiento de ensayo: el diseño experimental, las muestras que se dispone para la validación, el procesamiento la lectura del mensurando, la función de respuesta (cuando se requiera), la interpolación, cálculos y el tratamiento estadístico, se procede al desarrollo de las fases del diseño experimental y estadístico.

#### **2.2.4.1 MODELO MATEMÁTICO PARA DETERMINAR LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN**

A continuación se indica los modelos matemáticos para el cálculo de los parámetros de validación.

#### 2.2.4.2 Modelo matemático para determinar la función de respuesta y linealidad

La función de respuesta lineal se determinó para los métodos de análisis fósforo total y nitratos.

La linealidad mide el grado en que la respuesta analítica respecto a la concentración o cantidad del analito se ajusta a una función lineal. El coeficiente de correlación lineal ( $r$ ) que se utiliza para considerar la linealidad de una función de respuesta, debe ser  $r > 0,99$ .

La función de respuesta [ $L=f(P)$ ] se prepara con al menos seis valores de patrones de trabajo limpios de valor teórico conocido, incluido el blanco. La concentración de los patrones debe cubrir el intervalo de trabajo para desarrollar el método analítico, como se indica en el diseño experimental de fósforo total y nitratos.

Si los datos se ajustan a una recta, la ecuación de la función será:

$$L = m P + L_0 \quad [2. 7]$$

Donde:

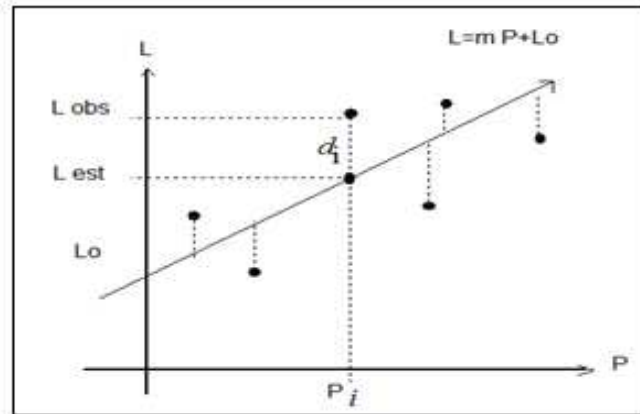
L: valores observados, eje y

$L_0$ : valor de la ordenada en el origen

m: pendiente de la recta

P: valores asignados, eje x

Los valores de m y  $L_0$  deben ser calculados por mínimos cuadrados. En la figura 18 se indica el esquema de la regresión lineal



**Figura 18:** Regresión lineal de la función (P, L)

Se debe evaluar el grado de ajuste de la recta estimada a los valores de L obtenidos, para lo cual se calcula la desviación tipo de m ( $S_m$ ) y la desviación tipo de  $L_o$  ( $S_{L_o}$ ) que no deberían superar unos valores prefijados, y con esto considerar que la función es lineal en el intervalo de concentraciones de estudio.

Los errores aleatorios de los valores de la pendiente y la ordenada en el origen son importantes, la ecuación para calcular la desviación estándar de la pendiente  $S_m$  es la siguiente:

$$S_m = \frac{S_{L,P}}{\sqrt{\sum(P_i - \bar{P})^2}} \quad [2. 8]$$

Donde:

$S_{L,P}$ : error tipo en la estimación de L

$P_i$ : valor asignado de un patrón

$\bar{P}$ : Media de los valores de patrones conocidos

La desviación estándar para la ordenada en el origen  $S_{L_o}$ :

$$S_{L_o} = S_m \sqrt{\frac{\sum P_i^2}{n \sum (P_i - \bar{P})^2}} \quad [2. 9]$$

Donde:

n: número de pares de valores

La desviación estándar de la regresión o el error tipo de la estimación de L a partir de los valores de P es:

$$S_{L,P} = \sqrt{\frac{\sum(L_{obs}-L_{est})^2}{n-2}} \quad [2. 10]$$

Donde:

Lobs: lecturas observadas

L est: lecturas estimadas con la recta de regresión lineal  $L= m P + L_0$

n: número de pares de valores

La desviación tipo de la recta es:

$$S_{P,L} = \frac{S_{L,P}}{m} \quad [2. 11]$$

Si  $S_m$  y  $S_{L_0}$  se puede utilizar de manera usual para estimar los límites de confianza para la pendiente y la ordenada en el origen. (Miller, 1993)

#### **2.2.4.2.1 Modelo matemático para determinar el intervalo confianza y los límites de confianza**

El intervalo de confianza es el intervalo dentro del cual con cierta probabilidad se encuentra el valor verdadero, y los valores extremos de dicho valor se llaman límites de confianza. (Miller, 1993)

Los límites de confianza para la pendiente  $m_{límite\ de\ confianza}$  están dados por:

$$m_{límite\ de\ confianza} = m \pm t \times S_m \quad [2. 12]$$

Los límites de confianza para la ordenada en el origen  $Lo_{límite\ de\ confianza}$  están dados por:

$$Lo_{límite\ de\ confianza} = Lo \pm t \times S_{L,P} \quad [2. 13]$$

Donde:

$S_m$ : desviación estándar de la pendiente

$S_{L,P}$ : desviación estándar de la regresión o el error tipo de la estimación de L

t : es la t de Student para los grados de libertad n-2 y el nivel de significación correspondiente.

Los límites de confianza superior  $Y_{superior}$ : del método se determinan con la siguiente ecuación:

$$Y_{superior} = (Lo + t * S_{L,P}) + (m)Pi \quad [2. 14]$$

Donde:

Pi: valores de los patrones conocidos

Los límites de confianza inferior  $Y_{inferior}$ : del método se determinan con la siguiente ecuación:

$$Y_{inferior} = (Lo - t * S_{L,P}) + (m)Pi \quad [2. 15]$$

Donde:

Pi: valores de los patrones conocidos

Con los límites de confianza superior e inferior se determina el intervalo o región de confianza.

### 2.2.4.3 Modelo matemático para determinar el límite de detección

El límite de detección para los métodos de análisis de fósforo total y nitratos se determinó con la siguiente ecuación:

$$LD = y_B + 3 S_B \quad [2. 16]$$

Donde:

$y_B$ : señal del blanco

$S_B$ : es la desviación estándar del blanco

Es apropiado utilizar  $S_{L,P}$  en lugar de  $S_B$ . El valor de  $L_0$ , la ordenada en el origen calculada, puede utilizarse como una estimación de  $y_B$ , la propia señal del blanco. (Miller, 1993).

Los límites de detección de aceites y grasas y cloruros se determinaron con la medición de la cantidad más pequeña del analito detectada en una muestra, sin presentar exactitud en la cuantificación, los resultados se indican en el apartado 3.1.1.1.3 y 3.1.1.1.2.2 respectivamente.

### 2.2.4.4 Modelo matemático para determinar el límite de cuantificación

El límite de cuantificación para los métodos de análisis de fósforo total y nitratos se calculo con la siguiente ecuación:

$$LC = y_B + 10 S_B \quad [2. 17]$$

Donde:

$y_B$ : señal del blanco

$S_B$ : desviación estándar del blanco



Es apropiado usar  $S_{L,P}$  en lugar de  $S_B$ . El valor de  $L_0$ , la ordenada en el origen calculada, puede usarse como una estimación de  $y_B$ , la propia señal del blanco. (Miller, 1993)

Los límites de cuantificación de los métodos de análisis de aceites y grasas y cloruros se determinaron con la cuantificación de la cantidad más pequeña del analito en una muestra con exactitud aceptable, los resultados se indican en el apartado 3.1.1.1.3 y 3.1.1.1.2.2 respectivamente.

#### 2.2.4.5 Modelo matemático para determinar la precisión: repetibilidad y reproducibilidad

Para determinar la precisión de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos se utilizó el análisis de varianzas simple ANOVA.

Para métodos de aceites y grasa y cloruros, cada uno de los tres niveles de concentración con cinco observaciones cada día, por tres días.

Para métodos de fósforo total y nitratos, son seis niveles de concentración incluido el blanco, cada nivel de concentración con cinco observaciones cada día, por cinco días. En la figura 19 se indica cómo deben ir los datos obtenidos, **D1**, **D2**, etc. son los días (condiciones de reproducibilidad), las observaciones **1,2**, etc., son las repeticiones que se realizan en un día y **Ci** representa el nivel de concentración.

Nivel concentración	Observaciones	Días de análisis						
		D1	D2	...	i	...	Dk-1	k
Ci	1							
	2							
	...							
	J				$X_{ij}$			
	p-1							
	p							$X_{kp}$

**Figura 19:** Esquema para el análisis simple de varianza

Las medias de cada grupo muestral está determinadas por:

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{j=1}^p x_{ij}}{p} \quad [2. 18]$$

Donde:

p: representa el tamaño del grupo muestral

La media general es:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p x_{ij}}{n} = \frac{\sum_{i=1}^k p \bar{x}_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^k p \bar{x}_i}{k} \quad [2. 19]$$

Donde:

k: representa los grupos muestrales

Las sumas de diferencias cuadráticas entre grupos:

$$SDC_B = \sum_{i=1}^K p(x_i - \bar{x})^2 \quad [2. 20]$$

Las sumas de diferencias cuadráticas dentro del grupo:

$$SDC_W = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x})^2 \quad [2. 21]$$

Diferencias cuadráticas medias entre grupos:

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{k-1} \quad [2. 22]$$

Diferencias cuadráticas medias dentro del grupo:

$$DCM_W = \frac{SDC_W}{n-k} \quad [2. 23]$$

En la figura 20 se representa el análisis simple de varianza ANOVA, con el origen de la varianza entre grupos (Between) y dentro del grupo (Within), las sumas de diferencias cuadráticas y diferencias cuadráticas medias,  $k$  representa los grupos muestrales, de tamaño respectivo  $p$ , siendo  $n$  el número total de elementos muestrales.

Origen de la varianza	Grados de libertad ( $\nu$ )	Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)	Diferencias cuadráticas medias (DCM = SDC/ $\nu$ )
Entre grupos (Between)	$\nu_1 = k - 1$	$SDC_B = \sum_{i=1}^k p(\bar{L}_i - \bar{L})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{k - 1}$
Dentro del grupo (Within)	$\nu_2 = n - k$	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p (L_{ij} - \bar{L}_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n - k}$

**Figura 20:** Cuadro de análisis simple de varianza ANOVA

Para aceptar los grupos estudiados como no diferentes, se debe comparar el valor estimado de F con el valor tabulado de F.

El valor estimado de F es igual a:

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W} \quad [2. 24]$$

El valor tabulado de F es igual al valor correspondiente de la tabla de valores, con  $\alpha$  (nivel de significación) prefijado,  $\nu_1 = k - 1$  y  $\nu_2 = n - k$  ( $\nu_1$  y  $\nu_2$ ) son los grados de libertad.

Si el F tabulado es mayor que el F estimado no existen diferencias significativas entre los distintos grupos muestrales. Si ocurre lo contrario se deberá considerar al menos dos medias del grupo que son distintas entre sí.

La desviación estándar de repetibilidad ( $S_r$ ) es igual a:

$$S_r = \sqrt{DCM_w} \quad [2. 25]$$

La desviación estándar de reproducibilidad ( $S_R$ ) es igual a:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2} \quad [2. 26]$$

La diferencia entre cuadráticas medias ( $S_L$ ) es igual a:

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_w}{p} \quad [2. 27]$$

Donde:

p: representa el tamaño del grupo muestral o el número de observaciones por día

El coeficiente de variación se calcula con la siguiente ecuación:

$$\%CV = \frac{S}{\bar{x}} * 100\% \quad [2. 28]$$

Donde:

$\bar{x}$ : media del grupo muestral

S: desviación estándar

#### 2.2.4.6 Modelo matemático para evaluar la exactitud

La exactitud se evaluó con la determinación de la recuperación en cada nivel de concentración para establecer el grado de concordancia entre el valor obtenido y el valor verdadero, la recuperación se debe encontrar entre los valores de 85% y 115%. Se calculó con la siguiente ecuación:

$$Recuperación (\%) = \frac{x}{\mu} \times 100 \quad [2. 29]$$

Donde:

x: valor medido del mensurando

$\mu$ : valor verdadero.

La recuperación global de método se calculó a partir de la media muestral  $\bar{x}$  en cada nivel de concentración, como se indica en la siguiente ecuación:

$$\text{Recuperación}_{global} (\%) = \frac{\bar{x}}{\mu} \times 100 \quad [2. 30]$$

Donde:

$\bar{x}$  : media del grupo muestral

$\mu$ : valor verdadero

Para determinar la capacidad de los métodos de análisis aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos, se confirmó la identidad del analito en una muestra de agua residual, se agregó una mínima cantidad conocida de analito y se determinó la recuperación, en un nivel de concentración para cada método de análisis, puesto que “cuando el método se aplica a un intervalo reducido de concentraciones, se asume que el sesgo es el mismo para todas las concentraciones”. (Maroto, 2002)

Se calculó el porcentaje de la recuperación en una muestra fortificada con la siguiente ecuación:

$$\text{Recuperación} (\%) = \frac{(C1-C2)}{C3} * 100 \quad [2. 31]$$

Donde:

C1: concentración determinada en la muestra fortificada

C2: concentración determinada en la muestra no fortificada

C3: concentración de fortificación

### 2.2.4.7 Modelo matemático para determinar la incertidumbre expandida

Para establecer el valor de la incertidumbre expandida de los métodos para determinar aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos se realizó los diagramas causa y efecto, se efectuó el cálculo con base al apartado 1.2.1.7 *Incertidumbre expandida*. El factor de cobertura se determinó con la ecuación [1.19], los grados efectivos de calidad se determinaron con la ecuación [1,22] y se utilizó la tabla de t Student que se encuentra en el Anexo I

#### 2.2.4.7.1 Modelo matemático para la determinación de la incertidumbre del método de análisis de aceites y grasas

a) La **Incertidumbre expandida** (U), se determinó con la siguiente ecuación:

$$U = k * u_{\text{método}-xi} \quad [2. 32]$$

Donde:

k : factor de cobertura

$u_{\text{método}-xi}$  : Incertidumbre del método en cada nivel de concentración

Para determinar las correcciones no realizadas se utilizó la siguiente ecuación:

b) La **Incertidumbre del método en cada nivel de concentración** ( $u_{\text{método}-xi}$ ), se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{método}-xi}^2 = u_{\text{analista}}^2 + u_{\text{procedimiento}}^2 + u_{MR}^2 \quad [2. 33]$$

Donde:

$u_{\text{analista}}$ : Incertidumbre debida al analista (1)

$u_{\text{procedimiento}}$  : Incertidumbre debida a procedimiento de ensayo para la determinación de aceites y grasas (2)

$u_{MR}$  : Incertidumbre debida material de referencia para la preparación de los niveles de concentración (3)

Cada término de la ecuación [2.33] se calculó de la siguiente manera:

1. **Incertidumbre debida al analista** ( $u_{analista}$ ): es una incertidumbre tipo A se evalúa la incertidumbre de la medición mediante el análisis estadístico ANOVA de los datos obtenidos del diseño experimental, es igual la siguiente ecuación:

$$u_{analista} = S_R \quad [2. 34]$$

Donde:  $S_R$  es la desviación por reproducibilidad

2. **Incertidumbre debida al procedimiento de ensayo para la determinación de aceites y grasas** ( $u_{procedimiento}$ ), se partió de la siguiente ecuación:

$$c = \frac{W}{V} \quad [2. 35]$$

Donde:  $c$  es la concentración de aceites y grasas [mg/l],  $w$  es la diferencia de pesos del balón (final menos inicial) [mg],  $v$  es el volumen de muestra [L]

Se realizó la derivada parcial de la ecuación [2.35] para determinar los coeficientes de sensibilidad A y B

$$\frac{\partial c}{\partial W} = \frac{1}{V} = A \quad [2. 36]$$

$$\frac{\partial c}{\partial V} = -\frac{W}{V^2} = B \quad [2. 37]$$

$$u_{procedimiento}^2 = A^2 u_W^2 + B^2 u_V^2 \quad [2. 38]$$

Donde:  $u_W$  es la incertidumbre debida al peso,  $u_V$  es la incertidumbre debida al volumen de muestra

- Incertidumbre debida al peso: es indispensable la calibración de la balanza. El INEN realizó una calibración externa, se considera la resolución, deriva del equipo y la incertidumbre de calibración que consta en el certificado. “En esta expresión no se ha considerado el efecto del aire ya que suele ser despreciable porque la densidad de las muestras normalmente es mucho mayor que la densidad el aire. Este efecto es consecuencia directa del principio de Arquímedes y hace que los valores proporcionados por la balanza sean inferiores a su verdadero valor”. (Maroto, 2001). Se aplicó la siguiente ecuación:

$$u_w^2 = u_{\text{calibración equipo}}^2 + u_{\text{resolución}}^2 + u_{\text{deriva}}^2 \quad [2. 39]$$

Donde:

$u_{\text{calibración equipo}}$  : Incertidumbre debida a la calibración de la balanza, se encuentra en el certificado de calibración (mg)

$u_{\text{resolución}}$  : Incertidumbre debida a la resolución del equipo (mg)

$u_{\text{deriva}}$  : Incertidumbre debida a la deriva del equipo (mg)

- Incertidumbre debida a la calibración de la balanza, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación:

$$u_{\text{calibración equipo}} = \frac{U}{k} \quad [2. 40]$$

Donde: U es la Incertidumbre de calibración de la balanza (se encuentra en el certificado de calibración) y k es el factor de cobertura

- Incertidumbre debida a la resolución de equipo, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación:

$$u_{\text{resolución}} = \frac{\text{resolución}}{\sqrt{3}} \quad [2. 41]$$



- Incertidumbre debida a la deriva del equipo, la deriva del equipo considera el error sistemático debido a que la balanza se va descalibrando con el paso del tiempo y a la diferencia entre la temperatura a la que se realiza la medida y la temperatura a la que se ha calibrado el equipo. Cuando inicialmente se desconoce ésta, se puede sustituir por la exactitud del equipo dividida para  $\sqrt{3}$ . La incertidumbre por diferencia de calibraciones se calcula como la diferencia entre las correcciones obtenidas entre ambas calibraciones, dividida para  $\sqrt{3}$ . La incertidumbre debida a la diferencia entre la temperatura de calibración y medida debe calcularse con la siguiente expresión (Maroto *et al.*, 2001) :

$$u_{\text{deriva}} = \frac{\text{exactitud}}{\sqrt{3}} \quad [2. 42]$$

La incertidumbre debida a la deriva de temperatura se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{deriva temperatura}} = \frac{\Delta T * m \text{ patrón} * \alpha}{\sqrt{3}} = \frac{(T_{\text{calibración}} - T_{\text{medida}}) * m \text{ patrón} * \alpha}{\sqrt{3}} \quad [2. 43]$$

Donde:

T calibración: Condición ambiental de ensayo al momento de la calibración

T medida: Condición ambiental de ensayo del laboratorio

m patrón : valor referencia de la masa patrón, 10 mg/l

$\alpha$ : deriva de temperatura  $2 \times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$

- Incertidumbre debida al volumen de muestra: para el cálculo se tomó en cuenta el error de medición y la incertidumbre de calibración que consta en el certificado, para el cálculo de la incertidumbre por temperatura se tomó en cuenta la temperatura de trabajo del laboratorio y la temperatura que se calibró el material volumétrico.

$$u_V^2 = u_{\text{calibración material volumétrico}}^2 + u_{\text{error de medición}}^2 + u_{\text{temperatura}}^2 \quad [2. 44]$$

- Incertidumbre debida a la calibración del material volumétrico, se encuentra en el certificado de calibración, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación, donde k es el factor de cobertura:

$$u_{\text{calibración material volumétrico}} = \frac{U}{k} \quad [2. 45]$$

- Incertidumbre debida al error de medición del material volumétrico, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación

$$u_{\text{error de medición}} = \frac{\text{error}}{\sqrt{3}} \quad [2. 46]$$

- Incertidumbre debida a la temperatura, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación

$$u_{\text{temperatura}} = \frac{\Delta T * V * \alpha}{\sqrt{3}} = \frac{(T_{\text{calibración}} - T_{\text{medida}}) * V * 2.1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}}{\sqrt{3}} \quad [2. 47]$$

Donde:

T calibración: Condición ambiental de ensayo al momento de la calibración

T medida: Condición ambiental de ensayo del laboratorio

V : Volumen del material volumétrico

$\alpha$  : Coeficiente de expansión térmica del agua.  $2,1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$  (Castellan, 1996)

3. **Incertidumbre debida al material de referencia** ( $u_{MR}$ ), a partir del material de referencia se prepara los diferentes niveles de concentración de aceites y grasas, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación

$$C_{MR} * V_{MR} = C_{Xi} * V_{Xi} \quad [2. 48]$$

Donde:

$C_{MR}$ : Concentración del material de referencia para preparar los diferentes niveles de concentración de aceites y grasas

$C_{Xi}$ : Concentración de aceites y grasas para preparar a partir del material de referencia

$V_{MR}$ : Volumen de material de referencia para preparar los diferentes niveles de concentración

$V_{Xi}$ : Volumen de la solución preparada de aceites y grasas a partir del material de referencia

De la ecuación [2.48] se despeja  $C_{Xi}$  para realizar la derivada parcial y obtener los coeficientes de sensibilidad C, D y E

$$C_{Xi} = \frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Xi}} \quad [2. 49]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial C_{MR}} = \frac{V_{MR}}{V_{Xi}} = C \quad [2. 50]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial V_{MR}} = \frac{C_{MR}}{V_{Xi}} = D \quad [2. 51]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial V_{Xi}} = -\frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Xi}^2} = E \quad [2. 52]$$

$$u_{C_{Xi}}^2 = C^2 * u_{C_{MR}}^2 + D^2 * u_{V_{MR}}^2 + E^2 * u_{V_{Xi}}^2 = u_{MR}^2 \quad [2. 53]$$

Donde:

$u_{C_{MR}}$  : Incertidumbre debida al material de referencia

$u_{V_{MR}}$  : Incertidumbre debida al volumen tomado del material de referencia

$u_{V_{Xi}}$ : Incertidumbre debida al volumen de la concentración preparada de aceites y grasas

Las incertidumbres  $u_{V_{MR}}$  y  $u_{V_{Xi}}$  se calculó con la ecuación [2.44], [2.45], [2.46], [2.47]

- Incertidumbre debida al material de referencia, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación:

$$u_{CMR} = \frac{U}{\sqrt{3}} \quad [2. 54]$$

Donde:

U: Incertidumbre expandida se encuentra en el certificado de análisis (mg/l)

#### 2.2.4.7.2 Modelo matemático para la determinación de la incertidumbre del método de análisis de cloruros

a) La **Incertidumbre expandida** U, se determinó con la siguiente ecuación:

$$U = k * u_{\text{método}-xi} \quad [2. 55]$$

Donde:

k : factor de cobertura

$u_{\text{método}-xi}$  : Incertidumbre del método en cada nivel de concentración

b) La **Incertidumbre del método en cada nivel de concentración** ( $u_{\text{método}-xi}$ ), se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{método}-xi}^2 = u_{\text{analista}}^2 + u_{\text{procedimiento}}^2 + u_{MR}^2 \quad [2. 56]$$

Donde:

$u_{\text{analista}}$  : Incertidumbre debida al analista (1)

$u_{\text{procedimiento}}$  : Incertidumbre debida al procedimiento de ensayo para la determinación de cloruros (2)

$u_{MR}$  : Incertidumbre debida del material de referencia para la preparación de los niveles de concentración (3)

Cada término de la ecuación [2.56] se calculó de la siguiente forma:

1. **Incertidumbre debida al analista** ( $u_{\text{analista}}$ ): es una incertidumbre tipo A se evalúa la incertidumbre de la medición mediante el análisis estadístico ANOVA de los datos obtenidos del diseño experimental, es igual a la suma de la

desviación por reproducibilidad del método  $S_R$ , desviación por reproducibilidad del  $\text{AgNO}_3$  estandarizado  $S_{R \text{ AgNO}_3}$  y desviación por reproducibilidad del Blanco  $S_{R \text{ Blanco}}$ , se indica en la siguiente ecuación:

$$u_{analista} = S_R + S_{R \text{ AgNO}_3} + S_{R \text{ BLANCO}} \quad [2. 57]$$

2. **Incertidumbre debida al procedimiento de ensayo para la determinación de cloruros** ( $u_{procedimiento}$ ), se calculó a partir de la concentración de cloruros con la siguiente ecuación:

$$c = \frac{V_G * C_{\text{AgNO}_3}}{V_m} \quad [2. 58]$$

Donde:  $c$  es la concentración de cloruros [mg/l],  $V_G$  es el volumen de gasto [ml],  $C_{\text{AgNO}_3}$  es la concentración del nitrato de plata estandarizado [mg/l],  $V_m$  es el volumen de la muestra a titular

La ecuación [2.58] se realizó la derivación parcial para obtener los coeficientes de sensibilidad A; B y C

$$\frac{\partial c}{\partial V_G} = \frac{C_{\text{AgNO}_3}}{V_m} = A \quad [2. 59]$$

$$\frac{\partial c}{\partial C_{\text{AgNO}_3}} = \frac{V_G}{V_m} = B \quad [2. 60]$$

$$\frac{\partial c}{\partial V_m} = -\frac{V_G * C_{\text{AgNO}_3}}{V_m^2} = C \quad [2. 61]$$

$$u_{procedimiento}^2 = A^2 u_{V_G}^2 + B^2 u_{C_{\text{AgNO}_3}}^2 + C^2 u_{V_m}^2 \quad [2. 62]$$

Donde:

$u_{V_G}$  : Incertidumbre debida al volumen de gasto

$u_{C_{\text{AgNO}_3}}$  : Incertidumbre debida a la concentración de nitrato de plata estandarizado

$u_{Vm}$  : Incertidumbre debida al volumen de muestra

- Incertidumbre debida al volumen de gasto: para determinar el volumen del gasto se utilizó una bureta se tomó en cuenta el criterio de medida (al momento de medir el volumen del titulante la base del menisco se situó en la mitad de las líneas de división de la escala). para el cálculo de la incertidumbre por temperatura se tomó en cuenta la temperatura de trabajo en el laboratorio y la temperatura que se calibró el material de vidrio. También se tomo en cuenta el error de medición y la incertidumbre debida a la calibración, estos valores se encuentran en el certificado de calibración, se aplicó la siguiente ecuación.

$$u_{VG}^2 = u_{calibración\ bureta}^2 + u_{error\ de\ medición}^2 + u_{criterio\ de\ medida}^2 + u_{temperatura}^2 \quad [2. 63]$$

- La incertidumbre debido a la calibración de la bureta ( $u_{calibración\ bureta}$ ) se calculó con la ecuación [2.45].
- La incertidumbre debida al error de medición se calculo con la ecuación [2.46].
- La incertidumbre debido a la temperatura ( $u_{temperatura}$ ) se calculó con la ecuación [2.47]
- La incertidumbre debida al criterio de medida se calculó con la siguiente ecuación

$$u_{criterio\ de\ medida} = \frac{\text{menor división escala}}{\sqrt{6}} \quad [2. 64]$$

- Incertidumbre debida al volumen de la muestra ( $u_{Vm}$ ), se empleó un balón de 50 ml, se utilizó las ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46], y [2.47] para determinar la incertidumbre.

- Incertidumbre debida a la concentración del nitrato de plata estandarizado ( $u_{C_{AgNO_3}}$ ), se partió de la siguiente ecuación:

$$C_{AgNO_3} = \frac{C_{SP\ Cl^-} * V_{SP\ Cl^-}}{V_{AgNO_3}} \quad [2. 65]$$

Donde:

$C_{AgNO_3}$  : Concentración de nitrato de plata estandarizado [mg/l]

$C_{SP\ Cl^-}$  : Concentración de solución preparada de cloruro a partir del material de referencia

$V_{SP\ Cl^-}$ : Volumen de la solución preparada de cloruro

$V_{AgNO_3}$  : Volumen de gasto de nitrato de plata

A la ecuación [2.65] se realizó las derivadas parciales para obtener los coeficientes de sensibilidad D; E y F

$$\frac{\partial C_{AgNO_3}}{\partial C_{SP\ Cl^-}} = \frac{V_{SP\ Cl^-}}{V_{AgNO_3}} = D \quad [2. 66]$$

$$\frac{\partial C_{AgNO_3}}{\partial V_{SP\ Cl^-}} = \frac{C_{SP\ Cl^-}}{V_{AgNO_3}} = E \quad [2. 67]$$

$$\frac{\partial C_{AgNO_3}}{\partial V_{AgNO_3}} = -\frac{V_{SP\ Cl^-} * C_{SP\ Cl^-}}{V_{AgNO_3}^2} = F \quad [2. 68]$$

$$u_{C_{AgNO_3}}^2 = D^2 * u_{C_{SP\ Cl^-}}^2 + E^2 * u_{V_{SP\ Cl^-}}^2 + F^2 * u_{V_{AgNO_3}}^2 \quad [2. 69]$$

Donde:

$u_{C_{SP\ Cl^-}}$ : Incertidumbre debida a la concentración de solución preparada de cloruro a partir del material de referencia [mg/l]

$u_{V_{SP\ Cl^-}}$ : Incertidumbre debida al volumen tomado para la titulación de la solución preparada de cloruro [ml]

$u_{V_{AgNO_3}}$  : Incertidumbre debida al volumen de gasto de nitrato de plata [ml]

- Incertidumbre debida a la concentración de solución preparada de cloruros a partir del material de referencia ( $u_{C_{SP Cl^-}}$ ), se partió de la siguiente ecuación:

$$C_{SP Cl^-} = \frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Cl^-}} \quad [2.70]$$

Donde:

$C_{SP Cl^-}$ : Concentración solución preparada de cloruro [mg/l]

$C_{MR}$ : Concentración del material de referencia [mg/l]

$V_{MR}$  : Volumen del material de referencia [ml]

$V_{Cl^-}$  : Volumen para preparar la solución de cloruro [ml]

A la ecuación [2.70] se aplicó las derivadas parciales para obtener los coeficientes de sensibilidad G; H; e I

$$\frac{\partial C_{SP Cl^-}}{\partial C_{MR}} = \frac{V_{MR}}{V_{Cl^-}} = G \quad [2.71]$$

$$\frac{\partial C_{SP Cl^-}}{\partial V_{MR}} = \frac{C_{MR}}{V_{Cl^-}} = H \quad [2.72]$$

$$\frac{\partial C_{SP Cl^-}}{\partial V_{Cl^-}} = -\frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Cl^-}^2} = I \quad [2.73]$$

$$u_{C_{SP Cl^-}}^2 = G^2 * u_{MR}^2 + H^2 * u_{V_{MR}}^2 + I^2 * u_{V_{Cl^-}}^2 \quad [2.74]$$

Donde:

$u_{MR}$ : Incertidumbre debida al material de referencia para preparar la solución de cloruro.

$u_{V_{MR}}$ : Incertidumbre debida al volumen del material de referencia

$u_{V_{Cl^-}}$ : Incertidumbre debida al volumen de preparación de la solución de cloruro



- La incertidumbre debida al material de referencia para preparar la solución de cloruro ( $u_{MR}$ ), se calculó con la ecuación [2.54]
  - La incertidumbre debida al volumen del material de referencia ( $u_{VMR}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
  - Incertidumbre debida al volumen de preparación de la solución de cloruro ( $u_{VCL-}$ ), se utilizó un balón aforado de 1000 ml y para el cálculo de la incertidumbre se aplicó las siguientes ecuaciones: [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
  - Incertidumbre debida al volumen de la solución preparada de cloruro ( $u_{VSP CL-}$ ), se utilizó un balón de 50 ml, esta incertidumbre es similar a la incertidumbre debida al volumen de muestra ( $u_{Vm}$ ), por esta razón no debe tomarse en cuenta, para evitar contribuciones duplicadas
  - Incertidumbre debida al volumen de gasto de nitrato de plata ( $u_{VAgNO3}$ ), para su cálculo se aplicó las siguientes ecuaciones: [2.63], [2.44], [2.46], [2.47] y [2,64]
3. **Incertidumbre debida material de referencia** ( $u_{MR}$ ) para la preparación de los niveles de concentración.

$$C_{MR} * V_{MR} = C_{Xi} * V_{Xi} \quad [2. 75]$$

Donde:

$C_{MR}$ : Concentración del material de referencia para preparar los diferentes niveles de concentración cloruros

$C_{Xi}$ : Concentración de cloruros para preparar a partir del material de referencia

$V_{MR}$ : Volumen de material de referencia para preparar los diferentes niveles de concentración

$V_{Xi}$ : Volumen de la solución preparada de cloruros a partir del material de referencia

De la ecuación [2.75] se despeja  $C_{xi}$  para realizar la derivada parcial y obtener los coeficientes de sensibilidad J, K y L

$$C_{Xi} = \frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Xi}} \quad [2. 76]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial C_{MR}} = \frac{V_{MR}}{V_{Xi}} = J \quad [2. 77]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial V_{MR}} = \frac{C_{MR}}{V_{Xi}} = K \quad [2. 78]$$

$$\frac{\partial C_{Xi}}{\partial V_{Xi}} = -\frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{Xi}^2} = L \quad [2. 79]$$

$$u_{C_{Xi}}^2 = J^2 * u_{C_{MR}}^2 + K^2 * u_{V_{MR}}^2 + L^2 * u_{V_{Xi}}^2 \quad [2. 80]$$

Donde:

$u_{C_{MR}}$  : Incertidumbre debida al material de referencia

$u_{V_{MR}}$  : Incertidumbre debida al volumen tomado del material de referencia

$u_{V_{Xi}}$ : Incertidumbre debida al volumen de la concentración preparada de cloruros

$u_{V_{MR}}$  y  $u_{V_{Xi}}$  se calculó con la ecuación [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]

- Incertidumbre debida al material de referencia, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación

$$u_{C_{MR}} = \frac{U}{k} \quad [2. 81]$$

Donde:

U: Incertidumbre expandida en porcentaje, del certificado de análisis (mg/l)

k: factor de cobertura igual a 1,96

### 2.2.4.7.3 Modelo matemático para la determinación de la incertidumbre del método de análisis de fósforo total

- a) La **Incertidumbre expandida**  $U$ , se determinó con la ecuación [2.32]
- b) La **Incertidumbre del método en cada nivel de concentración** ( $u_{\text{método}-xi}$ ), se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{método}-xi}^2 = u_{\text{analista}}^2 + u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{procedimiento}}^2 + u_{\text{deriva}}^2 \quad [2. 82]$$

Donde:

$u_{\text{analista}}$  : Incertidumbre debida al analista (1)

$u_{\text{calibración}}$  : Incertidumbre debida a la calibración del equipo (2)

$u_{\text{procedimiento}}$  : Incertidumbre debida a procedimiento de ensayo para determinar fósforo total (3)

$u_{\text{deriva}}$ : Incertidumbre debida a la deriva del equipo (4)

Cada término de la ecuación [2.82] se determinó de la siguiente forma:

1. **La incertidumbre debida al analista** ( $u_{\text{analista}}$ ) es una incertidumbre tipo A se evalúa la incertidumbre de la medición mediante el análisis estadístico ANOVA de los datos obtenidos del diseño experimental, es igual a la ecuación [2.34]
2. **Incertidumbre debida a la calibración del equipo** ( $u_{\text{calibración}}$ ), el equipo que se utilizó fue el espectrofotómetro HACH DR 2800, se tomó en cuenta la desviación tipo (se calculó la ecuación [2.11]) y la resolución del equipo (ver en Anexo XIV y calcular con la ecuación [2.49] ), la incertidumbre se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{calibración}}^2 = u_{\text{MRD}}^2 + u_{\text{resolución espect}}^2 + S_{x,y}^2 \quad [2. 83]$$

Donde:  $u_{MRD}$  es la incertidumbre debida al material de referencia diluido y  $S_{x,y}$  es la desviación tipo de la recta de calibración

- Incertidumbre debida al material de referencia diluido ( $u_{MRD}$ ), el material de referencia diluido se preparará para los diferentes niveles de concentración, a partir de la siguiente ecuación:

$$C_{MRD} = \frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{MRD}} \quad [2. 84]$$

A la ecuación [2.84] se realizó derivadas parciales para obtener los coeficientes de sensibilidad A, B y C

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial C_{MR}} = \frac{V_{MR}}{V_{MRD}} = A \quad [2. 85]$$

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial V_{MR}} = \frac{C_{MR}}{V_{MRD}} = B \quad [2. 86]$$

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial V_{MRD}} = -\frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{MRD}^2} = C \quad [2. 87]$$

$$u_{MRD}^2 = A^2 * u_{MR}^2 + B^2 * u_{V_{MR}}^2 + C * u_{V_{MRD}}^2 \quad [2. 88]$$

Donde:

$u_{MR}$ : Incertidumbre debida al material de referencia

$u_{V_{MR}}$  : Incertidumbre debida al volumen del material de referencia

$u_{V_{MRD}}$ : Incertidumbre debida al volumen del material de referencia diluido

- Incertidumbre debida al material de referencia ( $u_{MR}$ ), debido a que el material de referencia parte de una preparación previa, se debe sumar en forma relativa las contribuciones de la incertidumbre del certificado de análisis y material volumétrico utilizado para tomar la alícuota y para aforar. Se aplicó la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{u_{MR}}{\text{concentraciónMR}}\right)^2 = \left(\frac{U\%}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{u_{MValicuota}}{\text{ml alicuota}}\right)^2 + \left(\frac{u_{MVaforo}}{\text{ml aforo}}\right)^2 \quad [2. 89]$$

Donde:

U%: Incertidumbre expandida del material de referencia

$u_{MValicuota}$ : Incertidumbre debida al material volumétrico para la alícuota

$u_{MVaforo}$  : Incertidumbre debida al material volumétrico para el aforo

- Incertidumbre debida al material volumétrico para la alícuota ( $u_{MValicuota}$ ) y la incertidumbre debida al material volumétrico para el aforo ( $u_{MVaforo}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
  - Incertidumbre debida al volumen del material de referencia ( $u_{VMR}$ ) es similar a la incertidumbre debida al material volumétrico para el aforo ( $u_{MVaforo}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
  - Incertidumbre debida al volumen del material de referencia diluido ( $u_{VMRD}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
3. **Incertidumbre debida a procedimiento de ensayo para la determinación de fósforo total** ( $u_{procedimiento}$ ), en el procedimiento se realiza una digestión previa y luego se procede a realizar las lecturas de la concentración mediante el espectrofotómetro DR-2800, para determinarla se aplicó la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{u_{procedimiento}}{\text{Concentración nivel}}\right)^2 = u_{volumen-digestión}^2 + u_{aforo}^2 + u_{volumen-colorimetría}^2 \quad [2. 90]$$

Donde:

$u_{volumen-digestión}$ : Incertidumbre debida al volumen de muestra para digerir

$u_{aforo}$ : Incertidumbre debida al aforo de la muestra después de la digestión

$u_{volumen-colorimetría}$  : Incertidumbre debida al volumen de muestra digerida para proceder al método de colorimetría.

- Incertidumbre debido al volumen de muestra para digerir ( $u_{\text{volumen-digestión}}$ ) y la incertidumbre debida al aforo de la muestra ( $u_{\text{aforo}}$ ), se lo realizó con un balón aforado de 25 ml por esta razón solo se tomó en cuenta una incertidumbre para evitar duplicación por contribución y se calculó con las ecuaciones: [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
- Incertidumbre debida al volumen de muestra digerida para proceder al método de colorimetría ( $u_{\text{volumen-colorimetría}}$ ), se empleó una pipeta aforada de 10 ml, y se calculó la incertidumbre con las ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]

En la ecuación [2.90] se eliminó la contribución de la incertidumbre debida al aforo y se tiene la siguiente ecuación para el cálculo de la incertidumbre debida al procedimiento:

$$\left(\frac{u_{\text{procedimiento}}}{\text{Concentración nivel}}\right)^2 = u_{\text{volumen-digestión}}^2 + u_{\text{volumen-colorimetría}}^2 \quad [2.91]$$

La ecuación [2.90] se deriva en la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{u_{\text{procedimiento}}}{\text{Concentración nivel}}\right)^2 = \left(\frac{u_{MV \text{ balón } 25 \text{ ml}}}{\text{volumen}}\right)^2 + \left(\frac{u_{MV \text{ pipeta } 10 \text{ ml}}}{\text{volumen}}\right)^2 \quad [2.92]$$

4. **Incertidumbre debida a la deriva del equipo**, se utilizó la exactitud para  $\sqrt{3}$ ,

#### 2.2.4.7.4 Modelo matemático para la determinación de la incertidumbre del método de análisis de nitratos

- a) La **Incertidumbre expandida U**, se determinó con la ecuación [2.32]
- b) La **Incertidumbre del método en cada nivel de concentración** ( $u_{\text{método-xi}}$ ), se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{\text{método-xi}}^2 = u_{\text{analista}}^2 + u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{procedimiento}}^2 + u_{\text{deriva}}^2 \quad [2.93]$$

Donde:

$u_{analista}$  : Incertidumbre debida al analista (1)

$u_{calibración}$  : Incertidumbre debida a la calibración del equipo (2)

$u_{procedimiento}$  : Incertidumbre debida a procedimiento de ensayo para determinar nitratos (3)

$u_{deriva}$  : Incertidumbre debida a la deriva del equipo (4)

Cada término de la ecuación [2.93] se calculó de siguiente forma:

1. **Incertidumbre debida al analista** ( $u_{analista}$ ) es una incertidumbre tipo A se evalúa la incertidumbre de la medición mediante el análisis estadístico ANOVA de los datos obtenidos del diseño experimental, es igual a la ecuación [2.34]
2. **Incertidumbre debida a la calibración del equipo** ( $u_{calibración}$ ), el equipo que se utilizó fue el espectrofotómetro UV-VISIBLE 1601 Shimadzu, se tomó en cuenta resolución del equipo y la desviación tipo, la incertidumbre se calculó con la siguiente ecuación:

$$u_{calibración}^2 = u_{MRD}^2 + S_{x,y}^2 + u_{resolución\ espect}^2 \quad [2.94]$$

Donde:  $u_{MRD}$  es la incertidumbre debida al material de referencia diluido,  $S_{x,y}$  es el desviación tipo de la recta de calibración

- Incertidumbre debida al material de referencia diluido ( $u_{MRD}$ ), el material de referencia diluido se preparará para los diferentes niveles de concentración, a partir de la siguiente ecuación:

$$C_{MRD} = \frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{MRD}} \quad [2.95]$$

A la ecuación [2.95] se realizó derivadas parciales para obtener los coeficientes de sensibilidad A, B y C

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial C_{MR}} = \frac{V_{MR}}{V_{MRD}} = A \quad [2.96]$$

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial V_{MR}} = \frac{C_{MR}}{V_{MRD}} = B \quad [2.97]$$

$$\frac{\partial C_{MRD}}{\partial V_{MRD}} = -\frac{C_{MR} * V_{MR}}{V_{MRD}^2} = C \quad [2.98]$$

$$u_{MRD}^2 = A^2 * u_{MR}^2 + B^2 * u_{V_{MR}}^2 + C * u_{V_{MRD}}^2 \quad [2.99]$$

Donde:

$u_{MR}$ : Incertidumbre debida al material de referencia

$u_{V_{MR}}$  : Incertidumbre debida al volumen del material de referencia

$u_{V_{MRD}}$ : Incertidumbre debida al volumen del material de referencia diluido

- Incertidumbre debida al material de referencia ( $u_{MR}$ ), se calculó con la siguiente ecuación:

$$\left( \frac{u_{MR}}{\text{concentraciónMR}} \right)^2 = \left( \frac{U\%}{\sqrt{3}} \right)^2 + \left( \frac{u_{\text{peso}}}{\text{peso}} \right)^2 + \left( \frac{u_{MV\text{aforo}}}{\text{ml aforo}} \right)^2 \quad [2.100]$$

Donde:

U%: Incertidumbre expandida del material de referencia certificado

$u_{\text{peso}}$ : Incertidumbre debida al peso del material de referencia interno

$u_{MV\text{aforo}}$  : Incertidumbre debida al material volumétrico para el aforo

La incertidumbre debida al peso, se empleó las siguientes ecuaciones [2.39], [2.40], [2,41],[2,42] y [2,43]

La incertidumbre debida al aforo, se utilizó las siguientes ecuaciones [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]



- La incertidumbre debida al volumen del material de referencia ( $u_{VMR}$ ) y la incertidumbre debida al volumen del material de referencia diluido ( $u_{VMRD}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones: [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]

3. **Incertidumbre debida a procedimiento de ensayo para determinar nitratos** ( $u_{procedimiento}$ ), para el procedimiento se utilizó una pipeta graduada de 5 ml, y se calculó con la siguiente ecuación:

$$\left(\frac{u_{procedimiento}}{Concentración\ nivel}\right)^2 = u_{volumen\ muestra}^2 = \left(\frac{u_{MV\ pipeta\ 5ml}}{volumen\ 4ml}\right)^2 \quad [2.101]$$

- La incertidumbre debida al material volumétrico ( $u_{material\ volumétrico}$ ), se calculó con las siguientes ecuaciones: [2.44], [2.45], [2.46] y [2.47]
4. **Incertidumbre debida a la deriva del equipo**, en las especificaciones del equipo se tiene el valor de la deriva de línea base para  $\sqrt{3}$ . (ver en Anexo VIII las especificaciones del equipo)

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS

##### 3.1.1 PRUEBAS PREVIAS

##### 3.1.1.1 Método de análisis para la determinación de aceites y grasas

##### 3.1.1.1.1 Material de referencia interno comparado material de referencia certificado

En la Tabla 5 se presentan los datos obtenidos del material de referencia interno y material de referencia certificado de aceites y grasas a una concentración de 2 mg/L.

**Tabla 5:** Datos del material de referencia interno y certificado a una concentración de 2mg/l de aceites y grasa.

Rep.	Material de referencia certificado			Material de referencia interno		
	peso inicial (g)	peso final (g)	C. exp. (mg/l)	peso inicial (g)	peso final (g)	C. exp. (mg/l)
1	64,8104	64,8127	2,3	73,1636	73,1653	1,7
2	69,1351	69,1370	1,9	57,9208	57,9228	2
3	70,6107	70,6129	2,2	62,2519	62,2543	2,4
4	58,3315	58,3336	2,1	67,352	67,3538	1,8
5	73,1638	73,1661	2,3	64,8095	64,8116	2,1

C. exp.: concentración experimental de aceites y grasas

Se realizó la prueba de diferencia significativa de comparación de dos medias, como hipótesis nula se estableció que no existe diferencias significativas entre las medias de los materiales de referencia, con los datos de concentración experimental de aceites y grasas presentados en la Tabla 5. Se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en la Tabla 6 se presentan los resultados.

**Tabla 6:** Prueba significativa para material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 2mg/l de aceites y grasas

Parámetros	Material de referencia certificado	Material de referencia interno
Media	2,160	2,000
Varianza	0,028	0,075
Observaciones	5,000	5,000
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	8,000	
Estadístico t (calculado)	1,115	
Valor crítico de t (una cola)	1,859	
Valor crítico de t (dos colas)	2,306	

Se puede observar en los resultados presentados en la Tabla 6 que el valor absoluto del estadístico t calculado, igual a 1,115; es menor que el t tabulado o valor crítico de una cola, igual a 1,859; y de dos colas, igual a 2,306; para un nivel de confianza de 95%, por lo tanto se acepta la hipótesis nula, no existe diferencias significativas entre las medias del material de referencia interno y material de referencia certificado.

Se realizó la prueba F para comparar varianzas de los materiales de referencia y determinar que no existen diferencias significativas, se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba F para varianzas de dos muestras, los resultados se presentan en la Tabla 7.

**Tabla 7:** Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 2mg/l de aceites y grasas

Parámetros	MRi	CRM
Media	2,000	2,160
Varianza	0,075	0,028
Observaciones	5,000	5,000
Grados de libertad	4,000	4,000
F calculado	2,679	
Valor crítico para F (una cola)	6,388	

Los datos presentados en la Tabla 7, denotan que el valor de **F** calculado, igual a 2,679; es menor que el **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 6,388; para un nivel de confianza del 95%, por lo tanto la diferencia entre las varianzas del material de referencia interno y material de referencia certificado no es significativa, y la diferencia se debe únicamente a efectos aleatorios.

### 3.1.1.1.2 Tiempo de enfriamiento del material volumétrico para extracción

Para determinar el tiempo de enfriamiento previamente se colocó en la estufa el material de vidrio a 105°C por una hora, para esta prueba se uso balones de vidrio de 100 ml, a las tres horas de enfriamiento se estabilizó el peso de los balones, los datos de los pesos de los balones en función del tiempo se presentan en la Tabla 8.

**Tabla 8:** Pesos de los balones para la extracción de aceites y grasas en función del tiempo de enfriamiento

Rep.	1,5 (h)	2,0 (h)	2,5 (h)	3,0 (h)
	Peso <sub>1</sub> (g)	Peso <sub>2</sub> (g)	Peso <sub>3</sub> (g)	Peso <sub>4</sub> (g)
1	66,8252	66,8255	66,8257	66,8258
2	63,0128	63,0133	63,0134	63,0134
3	68,2722	68,2726	68,2731	68,2731
4	62,2512	62,2517	62,2520	62,2520
5	67,3518	67,3520	67,3524	67,3524

h: horas

g: gramos

### 3.1.1.1.3 Límite de detección y límite de cuantificación

Para determinar el límite de detección y cuantificación del método de análisis de aceites y grasas se estableció la recuperación de dos concentraciones, los resultados se presentan en la Tabla 9. Los datos experimentales de los pesos de los balones se encuentran en el Anexo X, en la Tabla A.6.

**Tabla 9:** Comparación de la recuperación entre las concentraciones de 1 y 2 mg/l de aceites y grasas

<b>Rep.</b>	<b>1mg/l</b>	<b>2mg/l</b>
<b>1</b>	1,50	2,30
<b>2</b>	1,70	1,90
<b>3</b>	1,80	2,20
<b>Promedio (mg/l)</b>	1,67	2,13
<b>Recuperación (%)</b>	166,67	106,67

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 9, la recuperación en 1 mg/l de aceites y grasas es igual a 166,67%, el cual se encuentra fuera del rango permitido, que se estableció desde 85% hasta 115%, por tal razón se determina como el límite de detección del método de análisis de aceites y grasas, mientras tanto en 2 mg/l de aceites y grasas se tiene una recuperación igual a 106,67%, se encuentra dentro del rango permitido por consiguiente se determina como el límite de cuantificación del mencionado método de análisis.

### **3.1.1.2 Método de análisis para la determinación de cloruros**

#### **3.1.1.2.1 Material de referencia interno comparado con material de referencia certificado**

Los resultados obtenidos del material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración 5 mg/L de cloruros, se denotan en la Tabla 10.

**Tabla 10:** Datos observados del material de referencia interno y material de referencia certificado a la concentración de 5mg/l de cloruros, con 0,21 ml del blanco y 472 mg/l de  $\text{AgNO}_3$

Rep.	Material de referencia certificado		Material de referencia interno	
	Gasto (ml)	Cl <sup>-</sup> exp. (mg/l)	Gasto (ml)	Cl <sup>-</sup> exp. (mg/l)
1	0,750	5,10	0,750	5,10
2	0,725	4,86	0,725	4,86
3	0,725	4,86	0,750	5,10
4	0,725	4,86	0,725	4,86
5	0,700	4,63	0,750	5,10

Cl<sup>-</sup> exp. : Concentración de cloruros obtenida experimentalmente

Se realizó la prueba de la comparación de las dos medias de los materiales de referencia, con los datos experimentales obtenidos de cloruros presentados en la Tabla 10. Las diferencias significativas se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos-Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, en la Tabla 11 se denotan los resultados.

**Tabla 11:** Prueba t para el material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 5 mg/l de cloruros

Parámetros	Material de referencia certificado	Material de referencia interno
Media	4,862	5,003
Varianza	0,028	0,017
Observaciones	5,000	5,000
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	8,000	
Estadístico t (calculado)	-1,500	
Valor crítico de t (una cola)	1,860	
Valor crítico de t (dos colas)	2,306	

Los resultados presentados en la Tabla 11 denotan que el valor absoluto del estadístico  $t$  calculado, igual a 1,500; es menor que el  $t$  tabulado o valor crítico de una cola, igual a 1,860; y de dos colas, igual a 2,306; para un nivel de confianza de 95%, por lo tanto se acepta la hipótesis nula como verdadera, no hay diferencias significativas entre las medias del material de referencia interno y del material de referencia certificado.

Se realizó la prueba F para comparar las varianzas de los materiales de referencia, se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba F para varianzas de dos muestras, los resultados se muestran en la Tabla 12.

**Tabla 12:** Prueba F para material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 5 mg/l de cloruros

Parámetros	Material de referencia interno	Material de referencia certificado
<b>Media</b>	5,003	4,862
<b>Varianza</b>	0,017	0,016
<b>Observaciones</b>	5,000	5,000
<b>Grados de libertad</b>	4,000	4,000
<b>F calculado</b>	1,089	
<b>Valor crítico para F (una cola)</b>	6,388	

Los datos presentados en la Tabla 12 denotan que el  $F$  calculado, igual a 1,089 es menor que el  $F$  tabulado o valor crítico para  $F$  de una cola, igual a 6,388 para un nivel de confianza del 95%, por tal razón la diferencia entre las desviaciones estándar del material de referencia interno y material de referencia certificado, son únicamente debido a efectos aleatorios.

### 3.1.1.2.2 Límite de detección y límite de cuantificación

Para determinar el límite de cuantificación del método de análisis de cloruros se determinó la recuperación de las concentraciones de 1 y 5 mg/l de cloruros, los resultados se presentan en Tabla 13.

**Tabla 13:** Comparación de la recuperación entre las concentraciones de 1 y 5 mg/l de cloruros

<b>Repeticiones</b>	<b>1 (mg/l)</b>	<b>5 (mg/l)</b>
<b>1</b>	1,09	4,63
<b>2</b>	1,09	4,86
<b>3</b>	1,09	4,86
<b>4</b>	1,32	4,63
<b>5</b>	1,09	4,86
<b>Media (mg/l)</b>	1,13	4,76
<b>Recuperación (%)</b>	113,28	95,34

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 13, la recuperación en 1 mg/l de cloruros es igual a 113,28%, el cual se encuentra en el límite del rango permitido, que se estableció desde 85% hasta 115%, por tal razón se determina como el límite de detección del método de análisis de cloruros, mientras tanto en 5 mg/l de cloruros se tiene una recuperación igual a 95,34%, se encuentra dentro del rango permitido por consiguiente se determina como el límite de cuantificación del método de análisis de cloruros.

### **3.1.1.3 Método de análisis para la determinación de fósforo total**

#### **3.1.1.3.1 Material de referencia interno comparado con material de referencia certificado**

Los datos obtenidos del material de referencia interno y material de referencia certificado de fósforo total a una concentración de 1 mg/L de fosfato se muestran en la Tabla 14.



**Tabla 14:** Datos observados de material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a la concentración 1 mg/l de fosfato

Rep.	MRi	CRM
	Fosfato (mg/l)	Fosfato (mg/l)
1	1,07	1,07
2	1,07	1,06
3	1,06	1,05
4	1,05	1,08
5	1,07	1,05

Se realizó la prueba significativa de la comparación de dos medias, como hipótesis nula se estableció que no existen diferencias significativas entre las medias de los materiales de referencia, con los datos presentados en la Tabla 14. Se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, los resultados se presentan en la Tabla 15.

**Tabla 15:** Prueba significativa para el material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 1 mg/l de fosfato

Parámetros	MRi	CRM
Media	1,064	1,062
Varianza	8,00E-05	1,70E-04
Observaciones	5,000	5,000
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	8,000	
Estadístico t (calculado)	0,283	
Valor crítico de t (una cola)	1,860	
Valor crítico de t (dos colas)	2,306	

Los datos presentados en la Tabla 15 denotan que el valor absoluto del estadístico  $t$  calculado, igual a 0,283; es menor que el valor de  $t$  tabulado o valor crítico de una cola, igual a 1,860; y de dos colas, igual a 2,306; para un nivel de confianza del 95%, por lo tanto se acepta la hipótesis nula como verdadero, no existe diferencias significativas entre las medias del material de referencia interno y del material de referencia certificado.

Se realizó la prueba F con los datos presentados en la Tabla 14, para comprobar que las varianzas de los materiales de referencia no difieran significativamente, se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba F para varianzas de dos muestras. Los resultados se presentan en la Tabla 16.

**Tabla 16:** Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 1 mg/l de fosfato

Parámetros	CMR	MRi
<b>Media</b>	1,062	1,064
<b>Varianza</b>	2,00E-04	1,00E-04
<b>Observaciones</b>	5,000	5,000
<b>Grados de libertad</b>	4,000	4,000
<b>F calculado</b>	2,125	
<b>Valor crítico para F (una cola)</b>	6,388	

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 16 el valor de **F** calculado, igual a 2,125; es menor que el **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 6,388; por tal razón las varianzas de los material de referencia interno y material de referencia certificado no difieren significativamente, la diferencia se debe únicamente a efectos aleatorios.

### 3.1.1.3.2 Comparación de los dos métodos de digestión

Se verificó si hay diferencias significativas entre las medias de los dos métodos de digestión, se realizó dos pruebas una por plancha, y la otra por autoclave a 121°C, por 30 minutos los dos métodos. En una matriz de agua clara de concentración 0,23 mg/l de  $\text{PO}_4^{3-}$ , dicha concentración se determinó con el método HACH 8048. Se adicionó 0,2 mg/l de fosfato y se determinó la recuperación con la ecuación [2.29], los datos se presentan en la Tabla 17.

**Tabla 17:** Comparación de dos métodos de digestión por plancha de calentamiento y autoclave

Repeticiones	Digestión en plancha	Digestión en autoclave
	Fosfato (mg/l)	Fosfato (mg/l)
1	0,46	0,45
2	0,44	0,45
3	0,45	0,43
<b>Promedio (mg/l)</b>	0,45	0,44
<b>Recuperación (%)</b>	110	107

De acuerdo a los resultados de presentados en la Tabla 17, la recuperación para el método de digestión en plancha es igual a 110 % y para el método de digestión en autoclave la recuperación es igual a 107% por lo tanto la recuperación de los dos métodos se encuentra dentro del rango establecido, que parte desde 85% hasta 115%.

Se realizó la prueba de significancia para comparar dos medias que pudieran provenir del mismo analito con dos métodos de análisis distintos, con los datos experimentales obtenidos de fosfato presentados en la Tabla 17. Se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales, los resultados se presentan en la Tabla 18.

**Tabla 18:** Prueba significativa para el método de digestión en plancha y en autoclave

Parámetros	Digestión en plancha	Digestión en autoclave
<b>Media</b>	0,45	0,44
<b>Varianza</b>	1,00E-04	1,30E-04
<b>Observaciones</b>	3,00	3,00
<b>Diferencia hipotética de las</b>	0,00	
<b>Grados de libertad</b>	4,00	
<b>Estadístico t (calculado)</b>	0,76	
<b>Valor crítico de t (una cola)</b>	2,13	
<b>Valor crítico de t (dos colas)</b>	2,78	

En la prueba de significancia el valor del estadístico  $t$  calculado, igual a 0,76; es menor que el valor de  $t$  tabulado o valor crítico de una cola, igual a 2,13; y de dos colas, igual a 2,78; por lo tanto no existe diferencias significativas entre las medias de los dos métodos.

### 3.1.1.4 Método de análisis para la determinación de nitratos

#### 3.1.1.4.1 Material de referencia interno comparado con material de referencia certificado

Los datos obtenidos del material de referencia interno y material de referencia certificado a una concentración de 4,43 mg/l de nitratos se presentan en la Tabla 19.

Se realizó la prueba significativa de la comparación de dos medias para determinar las diferencias significativas entre los materiales de referencia. Los datos experimentales del material de referencia interno y certificado se encuentran en el Anexo XIII, en la Tabla A.22 y en la Tabla A.23 respectivamente.

**Tabla 19:** Material de referencia interno (MRi) y certificado (CRM) a la concentración de 4,43 mg/l  $\text{NO}_3^-$

Rep.	MRi	CRM
	$\text{NO}_3^-$ (mg/l)	$\text{NO}_3^-$ (mg/l)
1	4,47	4,48
2	4,51	4,46
3	4,49	4,48
4	4,49	4,50
5	4,43	4,48

En la prueba significativa de comparación de las dos medias de los materiales de referencia, como hipótesis nula se estableció que no existen diferencias significativas entre las medias de los dos materiales de referencia, se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos- Prueba  $t$  para dos muestras suponiendo varianzas iguales, los resultados se exponen en la Tabla 20.

**Tabla 20:** Prueba significativa para el material de referencia interno (MRi) y certificado (CRM) a una concentración de 4,43 mg/l de  $\text{NO}_3^-$

Parámetros	CRM	MRi
Media	4,480	4,478
Varianza	2,00E-04	1,00E-03
Observaciones	5,000	5,000
Diferencia hipotética de las medias	0,000	
Grados de libertad	8,000	
Estadístico t (calculado)	0,165	
Valor crítico de t (una cola)	1,860	
Valor crítico de t (dos colas)	2,306	

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 20 el valor del estadístico **t** calculado, igual a 0,165; es menor que el valor de **t** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 1,860; y dos colas, igual a 2,306; por lo tanto no existe diferencias significativas entre las medias de los dos materiales de referencia.

Se realizó la prueba F para comparar las varianzas de los materiales de referencia no difieran significativamente, se calculó con Excel-Datos-Análisis de datos, los resultados se muestran en la Tabla 21.

**Tabla 21:** Prueba F para material de referencia interno (MRi) y material de referencia certificado (CRM) a una concentración de 4,43 mg/l de  $\text{NO}_3^-$

Parámetros	MRi	CRM
Media	4,4776	4,4801
Varianza	0,0010	0,0002
Observaciones	5,0000	5,0000
Grados de libertad	4,0000	4,0000
F calculado	4,6885	
Valor crítico para F (una cola)	6,3882	

De acuerdo a los datos presentados en la tabla 21: el **F** calculado igual a 4,6885 es menor que el **F** tabulado o valor crítico para una cola, igual a 6,3882; por tal razón la diferencia entre las desviaciones estándar del material de referencia interno y material de referencia certificado, se deben únicamente a efectos aleatorios.

### 3.1.1.4.2 Comparación de una media experimental con un valor conocido

Se realizó el análisis de  $\text{NO}_3\text{-N}$  por un método alternativo, que se encuentra en el apartado 2.1.2.4.3 y se efectuó la prueba de significancia de la comparación de una media experimental con un valor conocido se establece como hipótesis nula que no existe diferencia entre la media experimental y el valor conocido, los datos se presentan en la Tabla 22.

**Tabla 22:** Prueba significativa para datos observados de  $\text{NO}_3\text{-N}$  a la concentración de 1, 10 y 30 mg/l

Rep.	1 (mg/l)	10 (mg /l)	30 (mg/l)
1	1,00	5,50	21,20
2	0,90	5,90	24,20
3	1,20	7,60	22,60
4	1,10	6,40	25,60
5	1,10	7,70	26,10
Sx	0,11	0,99	2,05
Media	1,06	6,62	23,94
t calculado	0,53	3,40	2,96
t tabulado	2,78	2,78	2,78

Sx: desviación estándar

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 22, en la concentración de 1 mg/l de  $\text{NO}_3\text{-N}$  el estadístico t tabulado, igual a 2,78; es mayor que el valor de t calculado, igual a 0,53; por lo tanto no existe diferencias significativas, pero en las concentraciones de: 10 mg/l de  $\text{NO}_3\text{-N}$  el estadístico t tabulado, igual a 2,78 es menor que t calculado, igual a 3,40; y en 30 mg/l de  $\text{NO}_3\text{-N}$  el estadístico t tabulado, igual a 2,78; también es menor que t calculado, igual a 2,96; por tal razón la hipótesis nula se rechaza en estas dos concentraciones, hay diferencias significativas entre la media y el valor conocido, existe la evidencia de errores sistemáticos.

Se escogió otra técnica de análisis, el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para el análisis de nitratos, los resultados se especifican en el apartado 3.1.1.4.1

### 3.1.1.4.3 Adición de materia orgánica

A un litro de una matriz de agua de 1mg/l de  $\text{NO}_3^- \text{N}$ , se adicionó cantidades sucesivas de materia orgánica (1, 20 y 50 mg de glucosa) se determinó por el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para el análisis de nitratos. Se realizó la prueba significativa de la comparación de una media con el valor conocido ecuación [1.24], se estableció como hipótesis nula que no existen diferencias significativas entre la media y el valor conocido. Los resultados se presentan en la Tabla 23.

**Tabla 23:** Datos observados de 1, 20 y 50 mg de glucosa por litro de solución de 1 mg/L de  $\text{NO}_3^- \text{N}$

<b>Rep.</b>	<b>1 (mg)</b>	<b>20 (mg)</b>	<b>50 (mg)</b>
<b>1</b>	1,000	1,000	1,055
<b>2</b>	1,000	1,000	1,060
<b>3</b>	1,004	0,995	1,060
<b>Sx</b>	0,003	0,003	0,003
<b>Media</b>	1,001	0,998	1,058
<b>t calculado</b>	0,456	0,699	21,818
<b>t tabulado</b>	4,300	4,300	4,300

Sx: desviación estándar

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 23, en la concentración de 1 mg de glucosa el estadístico **t** calculado, igual a 0,456; es menor a **t** tabulado, igual a 4,3; en 20 mg de glucosa el estadístico **t** calculado, igual a 0,699; es menor a **t** tabulado, igual a 4,3. Para las concentraciones de 1 y 20 mg de glucosa se acepta la hipótesis nula por consiguiente no existen diferencias significativas entre la media y el valor conocido; en cambio en 50 mg de glucosa el estadístico **t** calculado, igual a 21,818; es mayor a **t** tabulado, igual a 4,3; por lo tanto se rechaza la hipótesis nula por consiguiente existe diferencias significativas entre la media y el valor conocido. El método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para el análisis de nitratos se puede aplicar para muestras de agua que contengan máximo 20 mg de materia orgánica.

## 3.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 3.2.1 Recuperación de los métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total en muestras de agua residual fortificada

#### 3.2.1.1 Recuperación del método de análisis de aceites y grasas

Se determinó la recuperación en una muestra de agua residual fortificada con una concentración conocida de 5 mg/l de aceites y grasas, se estableció la recuperación con la ecuación [2.31], el resultado de la recuperación se muestra en la Tabla 24 y los datos experimentales de los pesos de los balones se encuentran en el Anexo X, en la Tabla A.7.

**Tabla 24:** Evaluación de la recuperación en una muestra fortificada en una matriz de agua residual y un analito de 5mg/l de aceites y grasas de concentración

Rep.	Matriz sin analito (mg/l)	Matriz + analito de 5mg/l (mg/l)	Concentración recuperada (mg/l)
1	3,30	8,20	4,90
2	2,90	8,50	5,60
3	3,20	8,10	4,90
4	2,80	7,90	5,10
5	3,20	7,80	4,60
<b>Promedio (mg/l)</b>	3,08	8,10	5,02
<b>Recuperación (%)</b>	100,40		100,40

El resultado de la recuperación en una matriz de agua residual que contiene 5 mg/l de analito es igual a 100,40 %, por lo tanto la recuperación se encuentra dentro del rango establecido que parte desde 85% hasta 115%.

#### 3.2.1.2 Recuperación del método de análisis de cloruros

Se determinó la recuperación en una muestra de agua residual fortificada con una concentración conocida de cloruros de 5mg/l, la recuperación se calculó con la



ecuación [2.31], el resultado de la recuperación se denota en la Tabla 25. Los datos experimentales se encuentran en el Anexo XI, en la Tabla A.13.

**Tabla 25:** Recuperación de muestra fortificada con una concentración de 5mg/l en una matriz de agua residual para 0,21 ml del blanco y 472 mg/l de  $\text{AgNO}_3$

Rep.	Matriz sin analito (mg/l)	Matriz + analito de 5mg/l (mg/l)	Concentración recuperada (mg/l)
1	27,05	32,95	5,90
2	26,81	32,47	5,66
3	27,05	32,47	5,42
4	26,81	32,71	5,90
5	26,81	32,47	5,66
<b>Promedio (mg/l)</b>	26,91	32,61	5,71
<b>Recuperación (%)</b>	114,16		114,16

La recuperación en la matriz de agua residual que contiene 5 mg/l de analito es igual a 114,16 %, por lo tanto la recuperación se encuentra dentro del rango establecido, que parte desde 85% hasta 115%.

### 3.2.1.3 Recuperación del método de análisis de fósforo total

Se determinó la recuperación en una muestra de agua residual fortificada con una concentración conocida de fósforo total de 0,16 mg/l, se calculó la recuperación con la ecuación [2.31], el resultado de la recuperación se presenta en la Tabla 26.

**Tabla 26:** Recuperación de muestra fortificada con una concentración de 0,16 mg/l de fósforo total (P) en una matriz de agua residual

Rep.	Matriz sin analito (mg/l)	Matriz + analito de 0,16mg/l (mg/l)	Concentración recuperada (mg/l)
1	0,35	0,53	0,18
2	0,35	0,51	0,16
3	0,34	0,53	0,19
4	0,35	0,51	0,16
5	0,34	0,53	0,19
<b>Promedio (mg/l)</b>	0,35	0,52	0,17
<b>Recuperación (%)</b>	106,25		106,25

La recuperación en la matriz de agua residual que contiene 0,16 mg/l de analito es igual a 106,25 %, por lo tanto la recuperación se encuentra dentro del rango establecido, que parte desde 85% hasta 115%.

### 3.2.2 Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación de los métodos de análisis de aceites y grasa, cloruros, fósforo total y nitratos

#### 3.2.2.1 Límite de cuantificación del método de análisis de aceites y grasas

De acuerdo a las pruebas previas el límite de cuantificación del método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas es de 2 mg/L, presenta una recuperación de 106,67 %, como se indicó en la Tabla 9.

Se realizó la prueba de significancia de comparación de una media con un valor verdadero, se estableció como hipótesis nula que no existe diferencias significativas entre la media y el valor conocido, se denota en la tabla 27.

**Tabla 27:** Prueba significativa para comparar una media con un valor verdadero de aceites y grasas a una concentración de 2 mg/L

Repeticiones	Aceites y grasas (mg/l)
1	2,300
2	1,900
3	2,200
Media	2,133
Sx	0,129
t calculado	1,034
t tabulado	4,300

Sx: desviación estándar

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 27, el estadístico  $t$  calculado, igual a 1,034; es menor a  $t$  tabulado, igual a 4,300; se acepta como verdadera la hipótesis nula, por lo tanto no existe diferencias significativas entre la media y el valor verdadero, no hay evidencia de errores sistemáticos. Los datos

experimentales obtenidos del método de análisis de aceites y grasas se encuentran en el Anexo X.

### 3.2.2.2 Límite de cuantificación del método de análisis de cloruros

De acuerdo a las pruebas previas el límite de cuantificación del método argentométrico para cloruros se estableció en 5 mg/L, como se indica en el apartado 3.1.1.2.2.

Se realizó la prueba de significancia de comparación de una media con un valor verdadero, se estableció como hipótesis nula que no existe diferencias significativas, los resultados se presentan en la Tabla 28.

**Tabla 28:** Prueba significativa para comparar una media con un valor verdadero de cloruros a una concentración de 5 mg/L

<b>Rep.</b>	<b>5 (mg Cl-/l)</b>
<b>1</b>	4,63
<b>2</b>	4,86
<b>3</b>	4,86
<b>4</b>	4,63
<b>5</b>	4,86
<b>Media</b>	4,76
<b>Sx</b>	0,13
<b>t calculado</b>	1,80
<b>t tabulado</b>	2,78

Sx: desviación estándar

De acuerdo a los resultados de la Tabla 28, el estadístico **t** calculado, igual a 1,80; es menor a **t** tabulado, igual a 2,78; se acepta como verdadera la hipótesis nula, por lo tanto no hay evidencia de errores sistemáticos. Los datos experimentales obtenidos del método de análisis de cloruros se encuentran en el Anexo XI, en la Tabla A.8.

### 3.2.2.3 Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación del método de análisis de fósforo total.

Para determinar el límite de detección, límite de cuantificación y el coeficiente de correlación lineal del método de análisis de fósforo total se realizó la estimación lineal por bloque, con los 150 datos del diseño experimental. Los datos experimentales obtenidos se encuentran en Anexo XII y el análisis de la curva de calibración en el Anexo XIV.

Los límites de cuantificación y detección se determinaron con las ecuaciones [2.16] y [2.17], los resultados se presentan en la Tabla 29.

**Tabla 29:** Análisis de la curva de calibración de fósforo total

Parámetro	unidades	Valor
Coeficiente de correlación lineal, $R^2$	-	0,998
Límite de. Detección, LD.	mg /l	0,052
Interpolación del LD	mg /l	0,037
Límite de. Cuantificación, LC	mg /l	0,133
Interpolación del LC	mg /l	0,120

El coeficiente de correlación lineal se estableció en un valor mayor a 0,99; en la Tabla 3. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 29 el coeficiente de correlación lineal es igual a 0,998, por lo tanto el coeficiente de correlación lineal se encuentra dentro del objetivo establecido con respecto a la linealidad. El límite de cuantificación interpolado es de 0,120 mg/l, con este valor se puede establecer el intervalo de trabajo y el límite de detección interpolado es de 0,037 mg/l.

Se comprobó la linealidad de la función de respuesta de los datos obtenidos en cada día de análisis, se determinó el coeficiente de correlación lineal, se obtuvo como resultado una función lineal en cada día de análisis, ver en Anexo XVI.

Los límites de confianza superior e inferior del método de análisis de fósforo total se determinaron con las ecuaciones [2.14] y [2.15], los resultados se presentan en la Tabla 30.

**Tabla 30:** Límites de confianza del método de análisis de fósforo total

<b>Fósforo total teórico (mg/L)</b>	<b>Límite superior (mg/L)</b>	<b>Límite inferior (mg/L)</b>
<b>0,00</b>	0,040	-0,006
<b>0,16</b>	0,196	0,150
<b>0,33</b>	0,361	0,315
<b>0,49</b>	0,517	0,471
<b>0,65</b>	0,673	0,627
<b>0,82</b>	0,838	0,792

Con los 150 datos obtenidos del diseño experimental y los límites de confianza presentados en la Tabla 30 se determinó el intervalo de confianza, representado en el gráfico que se encuentra en el Anexo XIV.

La curva de calibración está determinada por la siguiente ecuación:

$$C_{\text{exp.}} = 0,974 C_{\text{teórica}} + 0,017 \quad [3. 1]$$

Donde:

$C_{\text{exp.}}$  : Concentración observada experimentalmente de fósforo total

$C_{\text{teórica}}$ : Concentración teórica de fósforo total

Los límites de confianza superior están determinados por la siguiente ecuación:

$$C_{\text{exp.}} = 0,974 C_{\text{teórico}} + 0,039 \quad [3. 2]$$

Los límites de confianza inferior están determinados por la siguiente ecuación:

$$C_{\text{exp.}} = 0,974 C_{\text{teórico}} - 0,006 \quad [3. 3]$$

La curva de calibración se encuentra dentro de la región de confianza determinada por las ecuaciones [3.2] y [3.3], con un nivel de confianza del 95%

### 3.2.2.4 Linealidad, función de respuesta, límite de detección y límite de cuantificación del método de análisis de nitratos

Para determinar el límite de detección, límite de cuantificación y el coeficiente de correlación lineal del método de nitratos se realizó la estimación lineal por bloque, con los 150 datos del diseño experimental. Los datos experimentales obtenidos se encuentran en el Anexo XIII y el análisis de la curva de calibración en el Anexo XV.

Los límites de cuantificación y detección se determinaron con las ecuaciones [2.16] y [2.17], los resultados se presentan en la Tabla 31.

**Tabla 31:** Análisis de la curva de calibración de nitratos

Parámetro	Unidades	Valor
<b>Coeficiente de correlación lineal, R2</b>	-	1,000
<b>Límite de. Detección, LD.</b>	<b>ABS</b>	-0,003
<b>Interpolación del LD</b>	<b>mg/l</b>	0,076
<b>Límite de. Cuantificación, LC</b>	<b>ABS</b>	0,008
<b>Interpolación del LC</b>	<b>mg/l</b>	0,298

ABS: absorbancia

El coeficiente de correlación lineal se estableció en un valor mayor a 0,99; en la Tabla 4. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 31 el coeficiente de correlación lineal es igual a 1,000; por lo tanto el coeficiente de correlación lineal se encuentra dentro del objetivo establecido con respecto a la linealidad. El límite de cuantificación interpolado es de 0,298 mg/l, con este valor se puede establecer el intervalo de trabajo y el límite de detección interpolado es de 0,076 mg/l.

Se comprobó la linealidad de la función de respuesta de los datos obtenidos cada día de análisis, se determinó el coeficiente de correlación lineal, se obtuvo como resultado una función lineal de cada día de análisis, ver en Anexo XVII.

Los límites de confianza superior e inferior del método de análisis de nitratos se determinaron con las ecuaciones [2.14] y [2.15], los resultados se presentan en la Tabla 32.

**Tabla 32:** Límites de confianza del método de análisis de nitratos

<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup> teórico (mg/L)</b>	<b>Límite superior (ABS)</b>	<b>Límite inferior (ABS)</b>
<b>0,00</b>	0,016	-0,032
<b>4,43</b>	0,235	0,188
<b>11,07</b>	0,564	0,517
<b>22,14</b>	1,113	1,065
<b>33,20</b>	1,661	1,613
<b>44,27</b>	2,209	2,161

Con los 150 datos obtenidos del diseño experimental y los límites de confianza presentados en la Tabla 32, se determinó el intervalo de confianza, representado en el gráfico que se encuentra en el Anexo XV.

La curva de calibración está determinada por la siguiente ecuación:

$$ABS = 0,049 C_{\text{teórica}} - 0,007 \quad [3. 4]$$

Donde:

ABS: Absorbancia obtenida experimentalmente de nitratos

C<sub>teórica</sub>: Concentración teórica de nitratos (mg/l)

Los límites de confianza superior están determinados por la siguiente ecuación:

$$ABS = 0,049 C_{\text{teórica}} + 0,015 \quad [3. 5]$$

Los límites de confianza inferior están determinados por la siguiente ecuación:

$$ABS = 0,049 C_{\text{teórica}} - 0,031 \quad [3. 6]$$

La curva de calibración se encuentra dentro de la región de confianza determinada por las ecuaciones [3.5] y [3.6], con un nivel de confianza del 95%.

### 3.2.3 Evaluación de la precisión de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos

En la evaluación de la precisión se determinó el análisis ANOVA y con esto se estableció las desviaciones estándar de repetibilidad  $S_r$  y reproducibilidad  $S_R$ , para cada método de análisis y en cada nivel de concentración. En el análisis ANOVA se calculó la suma de diferencias cuadráticas entre grupos  $SDC_B$  y dentro del grupo  $SDC_W$ , también la diferencia cuadrática media entre grupos  $DCM_B$  y dentro del grupo  $DCM_W$ .

#### 3.2.3.1 Evaluación de la precisión del método de análisis de aceites y grasas

Se realizó el análisis ANOVA a los datos obtenidos del procedimiento de ensayo de aceites y grasas en cada nivel de concentración 2, 25 y 50 mg/l, se aplicó la prueba F para determinar diferencias significativas entre grupos muestrales, los resultados se presentan en la Tabla 33.

**Tabla 33:** Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 2, 25 y 50 mg/L de aceites y grasas

Análisis de varianza	2 (mg/l)	25 (mg/l)	50 (mg/l)
$SDC_B$	0,14	1,10	17,84
$SDC_W$	0,27	6,04	42,30
$DCM_B$	0,07	0,55	8,92
$DCM_W$	0,02	0,50	3,52
<b>F calculado</b>	3,03	1,09	2,53
<b>probabilidad</b>	0,05	0,05	0,05
$v_1$	2,00	2,00	2,00
$v_2$	12,00	12,00	12,00
<b>F tabulado</b>	3,89	3,89	3,89

$SDC_B$ : suma de diferencias cuadráticas entre grupos

$SDC_W$ : suma de diferencias cuadráticas dentro del grupo

$DCM_B$ : diferencia cuadrática media entre grupos

$DCM_W$ : diferencia cuadrática media dentro del grupo

$v_1, v_2$ : grados de libertad



De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 33, los valores de **F** calculado en los niveles de concentración 2, 25 y 50 mg/L de aceites y grasas son los siguientes: 3,03; 1,09; y 2,53 respectivamente, y son menores que el valor **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 3,89; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración.

Se estableció la desviación estándar de repetibilidad  $S_r$ , el coeficiente de variación de repetibilidad  $c_{vr}$ , la desviación estándar por reproducibilidad  $S_R$  y el coeficiente de variación por reproducibilidad de los datos obtenidos del diseño experimental, los resultados se presentan en la Tabla 34. La media varianza y  $c_{vr}$  ver en Anexo XVIII.

**Tabla 34:** Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 2, 25 y 50 mg/L de aceites y grasas

Parámetros	2 (mg/l)	25 (mg/l)	50 (mg/l)
$S_r$	0,15	0,71	1,88
$S_R$	0,18	0,72	2,15
$S^2L$	0,01	0,01	1,08
$c_{vr}$ máx. (%)	7,76	2,86	3,89
$CVR$ (%)	8,81	2,84	4,31

$S_r$  : desviación estándar de repetibilidad,  
 $c_{vr}$ : el coeficiente de variación de repetibilidad,  
 $S_R$  desviación estándar por reproducibilidad  
 $CVR$ : coeficiente de variación por reproducibilidad  
 $S^2L$ : diferencia entre cuadráticas medias

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 34, los valores de  $S_R$  de los niveles de concentración de 2, 25 y 50 mg/l aceites y grasas son mayores a los respectivos  $S_r$  en cada nivel de concentración, esto se debe a que cuando se realiza el método de ensayo en condiciones de reproducibilidad la desviación es mayor que cuando se trabaja en condiciones de repetibilidad.

Los datos presentados en la Tabla 34 muestran que los coeficientes de variación de repetibilidad máximos de los niveles de concentración de 2, 25 y 50 mg/l son menores a 15%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en

la Tabla 1. Los coeficientes de variación de reproducibilidad de los niveles de concentración de 2, 25 y 50 mg/l son menores a 20%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 1.

### 3.2.3.2 Evaluación de la precisión del método análisis de cloruros

Se realizó el análisis ANOVA a los datos obtenidos del procedimiento de ensayo para determinar cloruros en cada nivel de concentración 5, 50 y 100 mg/L de cloruros, y se utilizó la prueba F para determinar las diferencias significativas entre grupos muestrales, los resultados se indican en la Tabla 35.

**Tabla 35:** Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 5, 50 y 100 mg/L de cloruros

Análisis de Varianza	5 (mg/l)	50 (mg/l)	100 (mg/l)
SDC <sub>B</sub>	0,19	0,05	0,16
SDC <sub>w</sub>	0,33	0,16	0,42
DCM <sub>B</sub>	0,09	0,03	0,08
DCM <sub>w</sub>	0,03	0,01	0,04
<b>F calculado</b>	3,33	2,00	2,21
<b>Probabilidad</b>	0,05	0,05	0,05
<b>v<sub>1</sub></b>	2,00	2,00	2,00
<b>v<sub>2</sub></b>	12,00	12,00	12,00
<b>F tabulado</b>	3,89	3,89	3,89

SDC<sub>B</sub>: suma de diferencias cuadráticas entre grupos

SDC<sub>w</sub>: suma de diferencias cuadráticas dentro del grupo

DCM<sub>B</sub>: diferencia cuadrática media entre grupos

DCM<sub>w</sub>: diferencia cuadrática media dentro del grupo

v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>: grados de libertad

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 35, los valores de **F** calculado en los niveles de concentración 5; 50; y 100 mg/L de cloruros son los siguientes: 3,33; 2,00; y 2,21 respectivamente, y son menores que el valor **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 3,89; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración.

Se determinó la desviación estándar de repetibilidad  $S_r$ , el coeficiente de variación de repetibilidad  $c_{vr}$ , la desviación estándar por reproducibilidad  $S_R$  y el coeficiente de variación por reproducibilidad de los datos obtenidos del diseño experimental, los resultados se denotan en la Tabla de 36. La media varianza y  $c_{vr}$  se encuentran en el ANEXO XVIII.

**Tabla 36:** Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 5,50 y 100 mg/l de cloruros

Parámetros	5 (mg/l)	50 (mg/l)	100 (mg/l)
$S_r$	0,17	0,11	0,19
$S_R$	0,20	0,12	0,21
$S^2L$	0,01	0,00	0,01
$c_{vr}$ máx. (%)	3,43	0,24	0,20
<b>CVR</b> (%)	4,09	0,26	0,22

$S_r$  : desviación estándar de repetibilidad,

$c_{vr}$ : el coeficiente de variación de repetibilidad,

$S_R$  desviación estándar por reproducibilidad

**CVR**: coeficiente de variación por reproducibilidad

$S^2L$ : diferencia entre cuadráticas medias

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 36, los valores de  $S_R$  de los niveles de concentración de 5, 50 y 100 mg/l de cloruros son mayores a los respectivos  $S_r$  en cada nivel de concentración, esto se debe a que cuando se realiza el método de ensayo en condiciones de reproducibilidad la desviación es mayor que cuando se trabaja en condiciones de repetibilidad

Los datos presentados en la Tabla 36 muestran que los coeficientes de variación de repetibilidad máximos de los niveles de concentración de 5 , 50 y 100 mg/l de cloruros son menores a 15%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 2. Los coeficientes de variación de reproducibilidad de los niveles de concentración de 5, 50 y 100 mg/l de cloruros son menores a 20%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 2.

### 3.2.3.3 Evaluación de la precisión del método de análisis de fósforo total

Se realizó el análisis ANOVA a los datos obtenidos del procedimiento de ensayo para determinar fósforo total en cada nivel de concentración 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L, y se empleó la prueba F para determinar las diferencias significativas entre grupos muestrales, los resultados se detallan en la Tabla 37.

**Tabla 37:** Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L de fósforo total

Análisis de varianza	0,16 (mg/l)	0,33 (mg/l)	0,49 (mg/l)	0,65 (mg/l)	0,82 (mg/l)
SDC <sub>B</sub>	1,85E-04	6,55E-05	2,25E-04	3,17E-04	1,92E-03
SDC <sub>w</sub>	7,10E-04	1,53E-04	1,31E-03	7,95E-04	6,12E-03
DCM <sub>B</sub>	4,62E-05	1,64E-05	5,64E-05	7,93E-05	4,08E-04
DCM <sub>w</sub>	3,55E-05	7,66E-06	6,53E-05	3,98E-05	3,06E-04
<b>F calculado</b>	1,30	2,14	0,86	1,99	1,57
<b>probabilidad</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
<b>v<sub>1</sub></b>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
<b>v<sub>2</sub></b>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
<b>F tabulado</b>	2,87	2,87	2,87	2,87	2,87

SDC<sub>B</sub>: suma de diferencias cuadráticas entre grupos

SDC<sub>w</sub>: suma de diferencias cuadráticas dentro del grupo

DCM<sub>B</sub>: diferencia cuadrática media entre grupos

DCM<sub>w</sub>: diferencia cuadrática media dentro del grupo

v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>: grados de libertad

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 37, los valores de **F** calculado en los niveles de concentración 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L de fósforo total son los siguientes: 1,30; 2,14; 0,86; 1,99 y 1,57 respectivamente; y son menores que el valor **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 2,87; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración.

Se estableció la desviación estándar de repetibilidad  $S_r$ , el coeficiente de variación de repetibilidad  $c_{vr}$ , la desviación estándar por reproducibilidad  $S_R$  y el coeficiente de variación por reproducibilidad de los datos obtenidos del diseño experimental, los resultados se indican en la Tabla 38. La media varianza y  $c_{vr}$  se encuentran en el ANEXO XVIII

**Tabla 38:** Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L de fósforo total

Parámetros	0,16 (mg/l)	0,33 (mg/l)	0,49 (mg/l)	0,65 (mg/l)	0,82 (mg/l)
$S_r$	0,0060	0,0028	0,008	0,006	0,017
$S^2L$	0,0000	0,0000	0,000	0,000	0,000
$S_R$	0,0061	0,0031	0,008	0,007	0,018
cvr máx. (%)	3,5556	0,8066	1,645	0,992	2,170
<b>CVR (%)</b>	3,5500	0,8870	1,622	1,080	2,255

$S_r$  : desviación estándar de repetibilidad,  
 cvr: el coeficiente de variación de repetibilidad,  
 $S_R$  desviación estándar por reproducibilidad  
 CVR: coeficiente de variación por reproducibilidad  
 $S^2L$ : diferencia entre cuadráticas medias

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 38 los valores de  $S_R$  de los niveles de concentración de fósforo total: 0,16; 0,33; 0,65 y 0,82 mg/l son mayores a los respectivos  $S_r$  en cada nivel de concentración, esto se debe a que cuando se realiza el método de ensayo en condiciones de reproducibilidad la desviación es mayor que cuando se trabaja en condiciones de repetibilidad.

Los datos presentados en la Tabla 38 muestran que los coeficientes de variación de repetibilidad máximos de los niveles de concentración de 0,16, 0,33, 0,49, 0,65 y 0,82 mg/l de fósforo total son menores a 15%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 3. Los coeficientes de variación de reproducibilidad de los niveles de concentración 0,16, 0,33, 0,49, 0,65 mg/l y 0,82 mg/l de fósforo total son menores a 20%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla3.

#### 3.2.3.4 Evaluación de la precisión para el método de análisis de nitratos

Se realizó el análisis ANOVA a los datos obtenidos del procedimiento de ensayo para determinar nitratos en cada nivel de concentración 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L, y se aplicó la prueba F para determinar las diferencias significativas entre grupos muestrales, los resultados se indican en la Tabla 39.

**Tabla 39:** Análisis ANOVA y prueba F para las concentraciones de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L de nitratos

Análisis de varianza	4,43 (mg/l)	11,07 (mg/l)	22,14 (mg/l)	33,20 (mg/l)	44,27 (mg/l)
<b>SDC<sub>B</sub></b>	5,58E-05	4,98E-05	4,92E-05	1,46E-04	1,42E-04
<b>SDC<sub>w</sub></b>	1,47E-04	1,13E-04	1,73E-04	3,16E-04	3,31E-04
<b>DCM<sub>B</sub></b>	1,39E-05	1,25E-05	1,23E-05	3,65E-05	3,54E-05
<b>DCM<sub>w</sub></b>	7,36E-06	5,66E-06	8,64E-06	1,58E-05	1,66E-05
<b>F calculado</b>	1,89	2,20	1,42	2,31	2,14
<b>probabilidad</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
<b>v<sub>1</sub></b>	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
<b>v<sub>2</sub></b>	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
<b>F tabulado</b>	2,87	2,87	2,87	2,87	2,87

SDC<sub>B</sub>: suma de diferencias cuadráticas entre grupos

SDC<sub>w</sub>: suma de diferencias cuadráticas dentro del grupo

DCM<sub>B</sub>: diferencia cuadrática media entre grupos

DCM<sub>w</sub>: diferencia cuadrática media dentro del grupo

v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>: grados de libertad

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 39, los valores de **F** calculado en los niveles de concentración 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L de nitratos son los siguientes: 1,89; 2,20; 1,42; 2,31 y 2,14 respectivamente; y son menores que el valor **F** tabulado o valor crítico de una cola, igual a 2,87; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración.

Se determinó la desviación estándar de repetibilidad  $S_r$ , el coeficiente de variación de repetibilidad  $c_{vr}$ , la desviación estándar por reproducibilidad  $S_R$  y el coeficiente de variación por reproducibilidad, los resultados se detallan en la Tabla 40. La media varianza y  $c_{vr}$  se encuentran en el Anexo XVIII.

**Tabla 40:** Parámetros estadísticos para repetibilidad y reproducibilidad para las concentraciones de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L de nitratos

Parámetros	4,43 (mg/l)	11,07 (mg/l)	22,14 (mg/l)	33,20 (mg/l)	44,27 (mg/l)
$S_r$	2,71E-03	2,38E-03	2,94E-03	3,97E-03	4,07E-03
$S^2L$	1,32E-06	1,36E-06	7,32E-07	4,14E-06	3,78E-06
$S_R$	2,95E-03	2,65E-03	3,06E-03	4,47E-03	4,51E-03
cvr máx. (%)	1,30	0,44	0,27	0,24	0,19
CVR (%)	1,39	0,49	0,28	0,27	0,21

$S_r$  : desviación estándar de repetibilidad,  
 cvr: el coeficiente de variación de repetibilidad,  
 $S_R$  desviación estándar por reproducibilidad  
 CVR: coeficiente de variación por reproducibilidad  
 $S^2L$ : diferencia entre cuadráticas medias

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 40 los valores de  $S_R$  de los niveles de concentración de nitratos: 4,43; 11,07; 22,14; 33,20 y 44,27 mg/l son mayores a los respectivos  $S_r$  en cada nivel de concentración, esto se debe a que cuando se realiza el método de ensayo en condiciones de reproducibilidad la desviación es mayor que cuando se trabaja en condiciones de repetibilidad.

Los datos presentados en la Tabla 40 muestran que los coeficientes de variación de repetibilidad máximos de los niveles de concentración de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20 y 44,27 mg/l de nitratos son menores a 15%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 4. Los coeficientes de variación de reproducibilidad de los niveles de concentración 4,43; 11,07; 22,14; 33,20 y 44,27 mg/l de nitratos son menores a 20%, por lo tanto cumple el valor establecido para este parámetro en la Tabla 4.

### 3.2.4 Evaluación de la exactitud de los métodos de análisis de fósforo total, cloruros, fósforo total y nitratos

#### 3.2.4.1 Evaluación de la exactitud para el método de análisis de aceites y grasas

Para determinar la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación global con la ecuación [2.30], en los tres niveles de concentración de aceites y grasas, los

resultados se encuentran dentro del rango establecido que parte desde 85% hasta 115 %, los datos se presentan en la Tabla 41. Ver en el Anexo XIX la recuperación de cada medida.

**Tabla 41:** Determinación de la recuperación de aceites y grasas en los tres niveles de concentración

<b>Valor real (mg/l)</b>	<b>Promedio (mg/l)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
<b>2</b>	2,03	101,33
<b>25</b>	25,17	100,67
<b>50</b>	49,76	99,52

#### 3.2.4.2 Evaluación de la exactitud para el método de análisis de cloruros

Para determinar la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación global con la ecuación [2.30], en los tres niveles de cloruros, los resultados se encuentran dentro del rango establecido, que parte desde 85% hasta 115 %, los datos se presentan en la Tabla 42. Ver en el Anexo XIX la recuperación de cada medida.

**Tabla 42:** Determinación de la recuperación de cloruros en los tres niveles de concentración

<b>valor real (mg/l)</b>	<b>Promedio (mg/l)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
<b>5</b>	4,94	98,80
<b>50</b>	48,41	96,82
<b>100</b>	95,53	95,33

#### 3.2.4.3 Evaluación de la exactitud para el método de análisis de fósforo total

Para determinar la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación global en los cinco niveles de concentración de fósforo total con la ecuación [2.30], los resultados se encuentran dentro del rango establecido que parte desde 85% a 115 %. Los datos se presentan en la Tabla 43. Ver en el Anexo XIX la recuperación de cada medida.



**Tabla 43:** Determinación de la recuperación de fósforo total en los cinco niveles de concentración

<b>valor real (mg/l)</b>	<b>Promedio (mg/l)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
<b>0,16</b>	0,17	107,12
<b>0,33</b>	0,34	104,51
<b>0,49</b>	0,49	100,76
<b>0,65</b>	0,64	98,39
<b>0,82</b>	0,82	99,58

#### 3.2.4.4 Evaluación de la exactitud para el método de análisis de nitratos

Para determinar la exactitud se evaluó el porcentaje de recuperación global en los cinco niveles de concentración de nitratos. Para interpolar las respectivas concentraciones se utilizó la ecuación [3.4] de la curva de calibración y se calculó la recuperación con la ecuación [2.30]. Ver en el Anexo XIX la recuperación de cada medida.

La recuperación global se encuentra dentro del rango establecido, que parte desde 85% hasta 115 %. Los datos se presentan en la Tabla 44.

**Tabla 44:** Determinación de la recuperación de nitratos en los cinco niveles de concentración

<b>valor real (mg/l)</b>	<b>Promedio (mg/l)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
<b>4,43</b>	4,45	100,45
<b>11,07</b>	11,23	101,45
<b>22,14</b>	22,71	102,58
<b>33,20</b>	33,73	101,61
<b>44,27</b>	44,41	100,31

### 3.2.5 Determinación de la incertidumbre de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos

#### 3.2.5.1 Determinación de la incertidumbre del método de análisis de aceites y grasas

La incertidumbre expandida se cálculo con base al apartado 2.2.4.8.1 y se realizó el diagrama causa efecto para identificar las fuentes que contribuyen a la incertidumbre de medida, ver en el Anexo XXI el diagrama y el cálculo de la incertidumbre expandida. Los resultados se detallan en la Tabla 45.

**Tabla 45:** Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de aceites y grasas

Nivel (mg/l)	$u_{\text{método-xi}}$ (mg/l)	k	U (mg/l)	U (%)
2	0,2084	2,11	0,440	21,99
25	0,7238	2,18	1,578	6,31
50	2,1486	2,20	4,727	9,45

U: incertidumbre expandida

k: factor de cobertura

$u_{\text{método-xi}}$  : incertidumbre estándar combinada

Como se denota en la Tabla 45, la incertidumbre expandida en cada nivel de concentración de 2; 25 y 50 mg/L de aceites y grasas, se encuentran dentro del rango establecido, menor al 35%, por tal razón se acepta la validación del método de análisis de aceites y grasas.

#### 3.2.5.2 Determinación de la incertidumbre del método de análisis de cloruros

Para determinar la incertidumbre expandida se realizó de acuerdo al apartado 2.2.4.8.2 y se realizó el diagrama causa efecto para identificar las fuentes, ver Anexo XXI el diagrama y el cálculo de la incertidumbre expandida, los resultados se presentan en la Tabla 46.

**Tabla 46:** Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de cloruros

(mg/l)	<b>u</b> método-xi (mg/l)	<b>K</b>	<b>U</b> (mg/l)	<b>U</b> (%)
<b>5</b>	0,6502	2,13	1,385	27,70
<b>50</b>	0,6807	2,11	1,436	2,87
<b>100</b>	0,8350	2,05	1,712	1,71

U: incertidumbre expandida

k: factor de cobertura

$u_{\text{método-xi}}$  : incertidumbre estándar combinada

Según los datos de la Tabla 46 la incertidumbre expandida en cada nivel de concentración, 5; 50 y 100 mg/L de cloruros, se encuentran dentro del rango establecido, menor al 35%, por tal razón se acepta la validación del método de análisis de cloruros.

### 3.2.5.3 Determinación de la incertidumbre del método de análisis de fósforo total

Para determinar la incertidumbre expandida se realizó de acuerdo al apartado 2.2.4.8.3 y se realizó el diagrama causa efecto para identificar las fuentes, ver Anexo XXII el diagrama y el cálculo de la incertidumbre expandida, los resultados se denotan en la Tabla 47.

**Tabla 47:** Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de fósforo total

<b>Nivel</b> (mg/l)	<b>u</b> método-xi (mg/l)	<b>K</b>	<b>U</b> (mg/l)	<b>U</b> (%)
<b>0,16</b>	0,0157	2,00	0,031	19,38
<b>0,33</b>	0,0149	2,00	0,030	9,09
<b>0,49</b>	0,0167	2,00	0,034	6,73
<b>0,65</b>	0,0163	2,00	0,033	5,08
<b>0,82</b>	0,0237	2,05	0,049	5,98

U: incertidumbre expandida

k: factor de cobertura

$u_{\text{método-xi}}$  : incertidumbre estándar combinada

De acuerdo a los datos de la Tabla 47 la incertidumbre expandida en cada nivel de concentración 0,16; 0,33; 0,49; 0,65 y 0,82 mg/L de fósforo total, se encuentran dentro del rango establecido, menor al 35%, por tal razón se acepta la validación de método de análisis de fósforo total.

#### 3.2.5.4 Determinación de la incertidumbre del método de análisis de nitratos

Para determinar la incertidumbre expandida se realizó de acuerdo al apartado 2.2.4.8.4 y se realizó el diagrama causa efecto para identificar las fuentes, ver ANEXO XXIII el diagrama y el cálculo de la incertidumbre expandida, los resultados se indican en la Tabla 48.

**Tabla 48:** Incertidumbre estándar combinada y expandida de los tres niveles de concentración para el método de análisis de nitratos

Nivel (mg/l)	$u_{\text{método-xi}}$ (mg/l)	k	U (mg/l)	U (%)
4,43	0,2899	2	0,580	13,10
11,07	0,2745	2	0,549	4,96
22,14	0,2641	2	0,528	2,39
33,20	0,2593	2	0,519	1,56
44,27	0,2606	2	0,521	1,18

U: incertidumbre expandida

k: factor de cobertura

$u_{\text{método-xi}}$  : incertidumbre estándar combinada

Según los datos de la Tabla 48 la incertidumbre expandida en cada nivel de concentración, 4,43; 11,07; 22,14; 33,20 y 44,27 mg/L de nitratos, se encuentran dentro del rango establecido, menor al 35%, por tal razón se acepta la validación del método de análisis de nitratos.

#### 3.2.6 Determinación del intervalo de trabajo de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos

Los intervalos de trabajo para los métodos analíticos de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos se indican de la Tabla 49.

**Tabla 49:** Intervalo de trabajo de los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos.

<b>Método de análisis</b>	<b>Analito</b>	<b>Referencia</b>	<b>Unidades</b>	<b>Intervalo de trabajo</b>
<b>Partición gravimétrica</b>	Aceites y grasa	APHA Método 5520 B	mg/l	2 a 50
<b>Argentométrico</b>	Cloruro	APHA 4500 Cl- B	mg/l	5 a 100
<b>Digestión - Persulfato Colorimetría -Acido Ascórbico</b>	Fósforo Total	HACH Método 8190 HACH Método 8048	mg/l	0,12 a 0,82
<b>Espectrofotométrico ultravioleta selectivo</b>	Nitrato	APHA Método 4500- NO <sub>3</sub> - B	mg/l	0,3 a 44,27

El intervalo de trabajo de los métodos de análisis, se determinó en el extremo más bajo con el límite de cuantificación y en el extremo superior con el nivel de concentración superior validado.

### **3.3 ELABORACIÓN DEL INFORME Y DECLARACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO**

Después de revisar los parámetros de validación, se puede observar que los objetivos están dentro de los límites establecidos, por lo tanto los métodos de análisis de aceites y grasa, cloruros, fósforo total y nitratos se declaran validados, a continuación se presenta el informe y la declaración de los métodos validados.

Para el método de aceites y grasas se presenta el informe y declaración del método validado:

<b>MÉTODO ANALÍTICO:</b>							
CUANTITATIVO	<input checked="" type="checkbox"/>		Analito:	Aceites y grasas			
CUALITATIVO	<input type="checkbox"/>		Unidades:	mg/l			
IDENTIFICACIÓN	<input type="checkbox"/>		Matriz:	Agua clara y residual			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE</b>							
Conc. (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud	K	U (%)
	Sr	% CVr	SR	%CVR	% Recup.		
2	0,20	10,35	0,22	11,24	101,33	2,11	21,99
25	0,71	2,86	0,72	2,84	100,67	2,18	6,31
50	1,88	3,89	2,15	4,31	99,52	2,20	9,45
<b>SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD</b>							
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: sustancias orgánicas diferentes de aceites y grasas							
TIPO DE INTERFERENCIA: positiva							
<b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO</b>							
2 a 50 mg/l							
<b>CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO</b>							
EXACTITUD: $85 < \% E < 115\%$ , datos desde 99,52 hasta 100 %, validación aceptada							
INCERTIDUMBRE: $\leq 35\%$ datos desde 6,31 hasta 21,99 %, validación aceptada							
$\% CVR \leq 20\%$ datos desde 2,84 hasta 11,24 %, validación aceptada							

Para el método de cloruros se presenta el informe y declaración del método validado:

<b>MÉTODO ANALÍTICO:</b>							
CUANTITATIVO	<input checked="" type="checkbox"/>	Analito: Cloruro					
CUALITATIVO	<input type="checkbox"/>	Unidades: mg/l					
IDENTIFICACIÓN	<input type="checkbox"/>	Matriz: Agua Clara y Residual					

PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE							
Nivel (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud		U
	Sr	% CVr	SR	%CVR	% Recup.	k	(%)
5	0,17	3,43	0,2	4,09	98,80	2,13	27,70
50	0,11	0,24	0,12	0,26	96,82	2,11	2,87
100	0,19	0,20	0,21	0,22	95,33	2,05	1,71

<b>SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD</b>
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: sulfuro, tiosulfato, sulfito
TIPO DE INTERFERENCIA: positiva
CORRECCIÓN: Con peróxido de hidrógeno

<b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO</b>
5 a 100 mg/l

<b>CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO</b>
EXACTITUD: $85 < \% E < 115\%$ , datos desde 95,33 hasta 98,80 %, validación aceptada
INCERTIDUMBRE: $\leq 35\%$ , datos desde 1,71 hasta 27,70%, validación aceptada
$\%CVR \leq 20\%$ , datos desde 0,22 a 4,09 %, validación aceptada

Para el método de fósforo total se presenta el informe y declaración del método validado:

<b>MÉTODO ANALÍTICO:</b>							
CUANTITATIVO	X			Analito: Fósforo Total			
CUALITATIVO				Unidades: mg/l			
IDENTIFICACIÓN				Matriz: Agua clara y agua residual			
<b>FUNCION DE RESPUESTA</b>				<b>INSTRUMENTO</b>			
M	(mg C exp. /L)/ (mg C teor. /L)			0,974			
Sm	(mg C exp. /L)/ (mg C teor. /L)			0,003			
B	mg C exp. /L			0,017			
Sb	mg C exp. /L			0,002			
R2				0,998			
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE</b>							
Nivel (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud		U
	Sr	% CVr	SR	%CVR	%Recupe.	k	(%)
0,16	1,00 E-02	4,13	1,00E-02	4,06	107,12	2,00	19,38
0,33	3,00E-03	0,81	3,00E-03	0,89	104,51	2,00	9,09
0,49	8,00E-03	1,65	8,00E-03	1,62	100,76	2,00	6,73
0,65	6,00E-03	0,99	7,00E-03	1,08	98,39	2,00	5,08
0,82	1,70E-02	2,17	1,8E-02	2,55	99,58	2,05	5,98
LIMITE DE DETECCIÓN (L.D.): 0,04							
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.): 0,12							
<b>SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD</b>							
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: turbidez en grandes							
TIPO DE INTERFERENCIA: positiva							
CORRECCIÓN: Phosphate Pretreatment Powder Pillow							
<b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO</b>							
0,12 a 0,83 mg/l							
<b>CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO</b>							
EXACTITUD: $85 < \%E < 115\%$ , datos desde 98,39 hasta 107,45 %, validación aceptada							
INCERTIDUMBRE: $\leq 35\%$ datos desde 5,08 hasta 19,38%, validación aceptada							
$\%CVR \leq 20\%$ datos desde 0,89 a 4,06 %, validación aceptada							



Para el método de nitratos se presenta el informe y declaración del método validado:

<b>MÉTODO ANALÍTICO:</b>							
CUANTITATIVO	<input checked="" type="checkbox"/>		Analito: Nitrato				
CUALITATIVO	<input type="checkbox"/>		Unidades: mg/l				
IDENTIFICACIÓN	<input type="checkbox"/>		Matriz: Agua clara				
<b>FUNCION DE RESPUESTA</b>				<b>INSTRUMENTO</b>			
m	ABS./(mg/L)		0,049				
Sm	ABS./(mg/L)		6,27E-05				
b	ABS.		-0,007				
Sb	ABS		0,002				
R2			1,000				
<b>PRECISIÓN, EXACTITUD, INCERTIDUMBRE</b>							
Nivel (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud		U
	Sr	% CVr	SR	%CVR	% Recupe.	K	(%)
4,43	2,71E-03	1,30	2,95E-03	1,39	100,45	2	13,10
11,07	2,38E-03	0,44	2,65E-03	0,49	101,45	2	4,96
22,14	2,94E-03	0,27	3,06E-03	0,28	102,58	2	2,39
33,20	3,97E-03	0,24	4,47E-03	0,27	101,61	2	1,56
44,27	4,07E-03	0,19	4,52E-03	0,21	100,31	2	1,18
LIMITE DE DETECCIÓN (L.D.): 0,08							
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.): 0,3							
<b>SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD</b>							
INTERFERENCIAS CONOCIDAS: materia orgánica							
TIPO DE INTERFERENCIA: positiva							
CORRECCION: medir la absorbancia a una longitud de onda de 275 nm							
<b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO</b>							
0,3 a 44,27 mg/l							
<b>CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO</b>							
EXACTITUD: 85<%E<115%, datos desde 100,31 hasta a 102,58 %, validación aceptada							
INCERTIDUMBRE: < 35% datos desde 1,18 hasta 13,10%, validación aceptada							
%CVR: < 20% datos desde 0,28 hasta 1,39 %, validación aceptada							

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 CONCLUSIONES

1. Los resultados de los parámetros de validación de los siguientes métodos de análisis: el método de partición gravimétrica para determinar aceites y grasas, el método argentométrico para determinar cloruros, el método de digestión con persulfato y el método de colorimetría con ácido ascórbico para determinar fósforo total y el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para determinar nitratos; se encontraron dentro de los objetivos establecidos por lo tanto se aceptó la validación de los métodos mencionados.
2. Se determinó la función de respuesta para los métodos de análisis de fósforo total ( $C_{\text{exp.}} = 0,974 C_{\text{teórica}} + 0,017$ ) y de nitratos ( $\text{ABS} = 0,049 C_{\text{teórica}} - 0,007$ ) debido a que se usan métodos instrumentales. En el método de fósforo total se utilizó el espectrofotómetro HACH DR 2800, y en el método de análisis de nitratos se usó el espectrofotómetro UV Visible 1601 Shimadzu. La función de respuesta de cada método citado presentó un coeficiente de correlación lineal mayor a 0,99, para fósforo total, igual a 0,998 y para nitratos, igual a 1,00 determinando así la linealidad en el intervalo de concentraciones estudiadas.
3. Para evaluar la precisión del método de análisis de aceites y grasas, se realizó el análisis ANOVA en cada nivel de concentración 2; 25 y 50 mg/L y se aplicó la prueba F. Los valores de F calculado en cada nivel de concentración son los siguientes: 3,03; 1,09; y 2,53 respectivamente, y son menores que el valor F tabulado de una cola, igual a 3,89; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración. Los coeficientes de variación de repetibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 7,76%, 2,86% y 3,89 % respectivamente; estos valores son menores a 15% y los coeficientes de variación de reproducibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 8,81%, a 2,84%; 4,31 % respectivamente;

estos valores son menores a 20%, por lo tanto los resultados de la precisión cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación del método de análisis de aceites y grasas.

4. Para evaluar la precisión del método de análisis de cloruros, se realizó el análisis ANOVA en cada nivel de concentración 5; 50; y 100 mg/L y se aplicó la prueba F. Los valores de F calculado son los siguientes: 3,33; 2,00; y 2,21 respectivamente; y son menores que el valor F tabulado de una cola, igual a 3,89; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración. Los coeficientes de variación de repetibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 3,43%, 0,24% y 0,20 % respectivamente; estos valores son menores a 15% y los coeficientes de variación de reproducibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 3,43%, 0,24% y 0,20 % respectivamente; estos valores son menores a 20%, por lo tanto los resultados de la precisión cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación del método de análisis de cloruros.
  
5. Para evaluar la precisión del método de análisis de fósforo total, se realizó el análisis ANOVA en cada nivel de concentración 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; 0,82 mg/L y se aplicó la prueba F. Los valores de F calculado son los siguientes: 1,30; 2,14; 0,86; 1,99 y 1,57 respectivamente, y son menores que el valor F tabulado de una cola, igual a 2,87; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración. Los coeficientes de variación de repetibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 3,56 %; 0,807 1,645 %; 0,992% y 2,170% respectivamente; estos valores son menores a 15% y los coeficientes de variación de reproducibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 3,55%; 0,887%; 1,622 %; 1,08% y 2,255% y 0,20 % respectivamente; estos valores son menores a 20%, por lo tanto los resultados de la precisión cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación del método de análisis de fósforo total.

6. Para evaluar la precisión del método de análisis de nitratos, se realizó el análisis ANOVA en cada nivel de concentración 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L y se aplicó la prueba F. Los valores de F calculado en cada nivel de concentración son los siguientes: 1,89; 2,20; 1,42; 2,31 y 2,14 respectivamente; y son menores que el valor F tabulado de una cola, igual a 2,87; por lo tanto no existen diferencias significativas entre las precisiones de los análisis de diferentes días para una probabilidad de 5% en cada nivel de concentración. Los coeficientes de variación de repetibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 1,30%; 0,44%; 0,27%; 0,24% y 0,19% respectivamente; estos valores son menores a 15% y los coeficientes de variación de reproducibilidad en cada nivel de concentración son los siguientes: 1,39%; 0,49%; 0,28%; 0,27% y 0,21% respectivamente; estos valores son menores a 20%, por lo tanto los resultados de la precisión cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación del método de análisis de nitratos.
  
7. La exactitud de los métodos analíticos se evaluó con el cálculo de la recuperación. Para el método de análisis de aceites y grasas los valores de la recuperación en cada nivel de concentración de 2; 25 y 50 mg/L son los siguientes: 101,33%, 100,67% y 99,52% respectivamente. Para el método de análisis de cloruros los valores de la recuperación en cada nivel de concentración de 5; 50 y 100 mg/L son los siguientes: 98,80%, 96,82% y 95,33% respectivamente. Para el método de análisis de fósforo total los valores de la recuperación en cada nivel de concentración de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; y 0,82 mg/L son los siguientes: 107,12%, 104,51%; 100,76%, 98,39% y 99,58 % respectivamente. Para el método de análisis de nitratos los valores de la recuperación de los niveles de concentración de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L son los siguientes: 100,45%; 101,45%; 102,58%, 101,61% y 100,31% respectivamente. Los valores de recuperación anteriormente mencionados se encuentran dentro del rango establecido, que parte de 85% hasta 115%, por lo tanto los resultados de la exactitud cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación de los métodos analíticos mencionados anteriormente.

8. Los valores de la incertidumbre relativa de los métodos analíticos son menores al 35 %. Para el método de análisis de aceites y grasas en cada nivel de concentración de 2; 25 y 50 mg/L son los siguientes: 21,99%, 6,31% y 9,45% respectivamente. Para el método de análisis de cloruros en cada nivel de concentración de 5; 50 y 100 mg/L son los siguientes: 27,70%, 2,87% y 1,71% respectivamente. Para el método de análisis de fósforo total en cada nivel de concentración de 0,16; 0,33; 0,49; 0,65; y 0,82 mg/L son los siguientes: 19,38%, 9,09%; 6,73%, 5,08% y 5,98 % respectivamente. Para el método de análisis de nitratos en los niveles de concentración de 4,43; 11,07; 22,14; 33,20; 44,27 mg/L son los siguientes: 13,10%; 4,96%; 2,39%, 1,56% y 1,18% respectivamente. Por lo tanto los resultados de la incertidumbre cumplen con los objetivos establecidos para aceptar la validación de los métodos analíticos mencionados anteriormente.
  
9. El intervalo de trabajo es necesario determinarlo para los métodos de análisis cuantitativos como son los procedimientos de ensayo para aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos, para esto se estableció el extremo más bajo con el límite de cuantificación y el extremo superior con el nivel de concentración superior validado. Los intervalos de trabajo quedan establecido con los siguientes valores: en el método de partición gravimétrica para determinar aceites y grasas desde 2 hasta 50 mg/L, en el método argentométrico para determinar cloruros desde 5 hasta 100 mg/L, en el método de digestión con persulfato y el método de colorimetría con ácido ascórbico para determinar fósforo total desde 0,12 hasta 0,82 mg/L y en el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para determinar nitratos desde 0,3 hasta 44,27 mg/L, por lo tanto la validación de los métodos analíticos anteriormente mencionados se acepta dentro de los intervalos de trabajo determinados.
  
10. Al cumplir con los objetivos establecidos de los parámetros de desempeño como la función de respuesta, la precisión, la exactitud y la incertidumbre, los métodos de análisis de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos se declaran los procedimientos de ensayo validados.

11. El material de referencia interno para determinar aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos puede ser usado para el control de calidad del laboratorio debido a que no existen diferencias significativas con el material de referencia certificado.
  
12. La trazabilidad de los resultados de los procedimientos de ensayo para aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos se verificó utilizando un método estándar y un material de referencia certificado, se citan a continuación: en el método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas se usó el material de referencia certificado número OG-1000, con una concentración de 1000 +/- 1,00 u /ml de aceites y grasas. En el método argentométrico para la determinación de cloruros se utilizó la solución estándar de cloruro de 1000 ± 5,1 ug /ml. En el método de digestión con persulfato y el método de colorimetría con ácido ascórbico para la determinación de fósforo total se empleó el material de referencia certificado estándar Nutrients QCI-042-2, con una concentración de fósforo total de 1,75 ± 0,009 mg/L. En el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo para la determinación nitratos se utilizó el material de referencia certificado estándar Nutrients QCI-042-1, con una concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> como N de 2,00 ± 0,011 mg/L.

## **4.2 RECOMENDACIONES**

1. En el método de partición gravimétrica para la determinación de aceites y grasas, se utiliza como disolvente n-Hexano, se trata de un compuesto químico peligroso para la salud. Se recomienda usar mascarilla de carbón activado y guantes de neopreno durante el desarrollo del procedimiento.
  
2. En el desarrollo del método argentométrico en la determinación de cloruros usar guantes de neopreno al manipular cromato de potasio, debido a que se trata de un compuesto químico peligroso para la salud.

3. En el método partición gravimétrica para análisis de aceites y grasas manipular con pinzas los balones para la extracción debido a que el análisis se basa en la diferencia de pesos de los balones.
4. En el método argentométrico para la determinación de cloruros poner atención en el cambio de color del punto final de titulación para así disminuir el error sistemático. Realizar primero el blanco para la comparación.
5. En los métodos espectrofotométricos de fósforo total y nitratos se deben realizar los análisis con base a los procedimientos de ensayo descritos. Las celdas del espectrofotómetro deben estar limpias para evitar errores en la medición, hacerlo con un paño de tela. Para el lavado del material de vidrio utilizado para análisis de fósforo total, debe evitarse el uso de detergentes comerciales que contengan fosfatos, lavar el material con ácido clorhídrico diluido caliente y enjuagar con agua destilada.
6. Realizar el control de calidad de los métodos analíticos para la determinación de aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos con el respectivo material de referencia interno.

## BIBLIOGRAFÍA

1. APHA, AWWA, WPCF, 2005, "Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales", 21va. Edición, pp.: 1-5, 4-120 a 5-39.
2. ASTM, Annual Book, 1984, V.11 "Water and Environmental Technology", pp 22,589-601,393-401, 559-563
3. CENAM, Centro Nacional de Metrología, 2002 , "Trazabilidad en mediciones químicas", <http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/>, (Diciembre,2008)
4. Bertrand, H., Prabhakar, G., 1990, "Control de Calidad Teoría y aplicaciones", Edición 2, Ediciones Díaz Santos, Madrid, España pp. 63, 64
5. Castellan, G., 1996, "Fisicoquímica", Editorial Alhambra Mexicana S.A., México-México, Segunda edición, p 93
6. CEM, Centro Español de Metrología, 2007, "Metrología", [http://www.cem.es/cem/es\\_ES/metrologia/metrologia.jsp?op=glosario#resultados\\_medicion](http://www.cem.es/cem/es_ES/metrologia/metrologia.jsp?op=glosario#resultados_medicion), Septiembre, 2008
7. Costa, J., 2005, "Diccionario de química física", Ediciones Díaz de Santos, Madrid- España pp. 15, 21, 131
8. Eurachem/Citac, 2002, "Guía para análisis cualitativo para acreditación",<http://www.eurachem.org/guides/CITAC%20EURACHEM%20GUIDE.pdf>, (febrero,2009)
9. Eurachem/Citac Guide, 2000, "Cuantificación de la incertidumbre en las mediciones analíticas",<http://www.eurachem.org/guides/QUAM2000-1.pdf>,(Febrero,2009)
10. Eurachem, 1998, Métodos Analíticos adecuados a su propósito, Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados, Primera Edición , <http://www.eurachem.org/guides/valid.pdf> , (Septiembre,2008)
11. ECA, Ente Costarricense de Acreditación, 2004, "Guía para el cálculo de la incertidumbre", [www.eca.or.cr](http://www.eca.or.cr), (Enero,2009)
12. Fernández, F., 2000, "Incertidumbre en las mediciones de acuerdo a la normativa ISO", INEN, Dirección de Aseguramiento Metrológico, p 36



13. García, A. y Suárez, B., 2005, "Calculo de incertidumbres de medida", <http://www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/iberolabII2005/index.html>, (Octubre, 2008)
14. GreenFacts, 2009, "Glosario de GreenFacts", <http://www.greenfacts.org/es/glosario/abc/aguas-residuales.htm#top>, (febrero,2009)
15. JCGM 100, 2008, "GUM Guía para la expresión de la incertidumbre de una medición", [http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM\\_100\\_2008\\_E.pdf](http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf), (Enero, 2009)
16. JCGM 200, 2008, Vocabulario Internacional de Metrología- Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados(VIM), primera edición en español, [http://www.sim-metrologia.org.br/docs/span\\_VIM.pdf](http://www.sim-metrologia.org.br/docs/span_VIM.pdf), (Diciembre,2008)
17. Harris, D., 1992, "Análisis de Química Cualitativa" Editorial Iberoamericana, pp. 51,52,53
18. HACH Company, 2005 "Manual del Usuario del Espectrofotómetro HACH DR/2800", primera edición, impreso en Estados Unidos, p 5
19. HACH Company, 2005, Manual de Procedimientos del Espectrofotómetro HACH DR/2800, impreso en Estados Unidos, pp. M- 8048
20. Maroto, A., 2002, "Incertidumbre en métodos Analíticos de rutina", [www.tdx.cesca.es/TESIS\\_URV/AVAILABLE/TDX-0602103-133121/tesis\\_Alicia\\_Maroto.PDF](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX-0602103-133121/tesis_Alicia_Maroto.PDF), (Mayo, 2008)
21. Maroto, A., Boqué, R., Riu, J., Rius, X., 2002, "Estrategias para el cálculo de la Incertidumbre", <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/estinc.pdf>, (Febrero,2009)
22. Maroto, A., Boqué, R., Riu, J., Rius, X., 2001, "Cálculo de incertidumbre en medidas físicas: medida de una masa", <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/incmas.pdf>, (enero, 2009)
23. Miller, J., 1993, "Estadística para Química Analítica" Segunda Edición, editorial Addison-Weslwy Iberoamerican, S.A. pp:40,42
24. NTE INEN ISO/IEC 17025,2006,"Requisitos generales para competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración", Segunda Edición, pp. 13,16

25. OAA, Organismo Argentino de Acreditación, 2003, "Guía para validación de métodos de ensayo", <http://www.oaa.org.ar/evaluadores/DC-LE-05.pdf> , (Diciembre,2008)
26. Ordenanza metropolitana 213 Distrito Metropolitano de Quito: Sustitutiva del Título V, "Del Medio Ambiente", Libro Segundo, del Código Municipal, Resolución N° 0002-DMA-2008, pp. 22,25
27. Pallás, R., 2006 "Instrumentos electrónicos básicos", Editorial Marcombo, pp. 28,29
28. Romero, J., 2002, "Calidad del Agua",1ra. Edición, Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería, Bogotá, Colombia, pp. 116,129, 158
29. Schmid, W., y Lazos, R., 2004, "Guía para estimar la incertidumbre de la medición",[http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/download.aspx?doc=/publicaciones/gratuitas/descarga/PDF/GUIA\\_P\\_ESTIMAR\\_INCERTIDUMBRE\\_Med%202004\\_09\\_27.pdf](http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/download.aspx?doc=/publicaciones/gratuitas/descarga/PDF/GUIA_P_ESTIMAR_INCERTIDUMBRE_Med%202004_09_27.pdf) , (Diciembre, 2008)
30. Shimadzu Corporation, "Manual de Instrucciones Espectrofotómetro UV-1601", Shimadzu Europa GmbH, Duisburgo, Alemania, pp.: 3-1,4-1
31. Skoog, D., 2005, "Fundamentos de química analítica", Edición 8, Publicado por Cengage Learning Editores, pp. 209,210, 211, 198
32. Sáez, S., 2006, "Sistema de mejora continua de la calidad en el Laboratorio", Universidad de Valencia, Publicado por Universidad de Valencia, pp. 98
33. UNAM, Universidad Nacional Autónoma de México, 2008, "Manual de Laboratorio, Propiedades Físicoquímicas", <http://depa.pquim.unam.mx/fisiquim/ter/Manual%20de%20Laboratorio.pdf>, (Enero, 2009)
34. Valcárcel, M., y Ríos A., 1992, "La calidad en los laboratorios analíticos, Barcelona-España, Edición 1, Editorial Reverté, p. 183