

# ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

ESCUELA DE FORMACIÓN DE TECNÓLOGOS

PROYECTO INTEGRADOR

“VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE  
CROMO HEXAVALENTE Y SULFATOS MEDIANTE  
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE EN AGUAS DEL  
DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO.”

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
TECNÓLOGO EN AGUA Y SANEAMIENTO AMBIENTAL

JORGE LUIS TATAYO SHUGULI

[jorge.tatayo94@gmail.com](mailto:jorge.tatayo94@gmail.com)

Director: Ing. Santiago Stalin Guerra Salcedo, MSc.

[santiago.guerra@epn.edu.ec](mailto:santiago.guerra@epn.edu.ec)

Codirector: Ing. María Belén Aldás, MSc.

[maria.aldas@epn.edu.ec](mailto:maria.aldas@epn.edu.ec)

Quito, Junio 2018

## **CERTIFICACIÓN**

Como responsables del trabajo de titulación “Validación de los métodos de determinación de cromo hexavalente y sulfatos mediante espectrofotometría UV-visible en aguas del Distrito Metropolitano de Quito.” desarrollado por Jorge Luis Tatayo Shuguli , estudiante de la Carrera en Agua y Saneamiento Ambiental, habiendo supervisado la realización de este trabajo y realizado las correcciones correspondientes, damos por aprobada la redacción final del documento escrito para que prosiga con los trámites correspondientes a la sustentación de la Defensa oral.

---

**Ing. Santiago Guerra Salcedo MSc.**  
**DIRECTOR**

---

**Ing. María Belén Aldás. MSc.**  
**CODIRECTOR**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

Yo, Jorge Luis Tatayo Shuguli, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen 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 normatividad institucional vigente.

---

**Jorge Luis Tatayo Shuguli**

## **Dedicatoria**

Éste proyecto lo dedico

A:

Dios, por ser el pilar fundamental en mi vida, por darme la oportunidad de vivir y brindarme salud , perseverancia y haber puesto en mi camino a mi familia y a todas las personas que han sido de apoyo para lograr cada uno de mis objetivos.

Mi padre Jorge, por todos los ejemplos que me brinda que han sido de lucha y perseverancia, y enseñarme a nunca dejarme caer y por inculcarme que los valores fundamentales en la vida son la humildad el respeto.

Mi madre Cecilia, por haberme apoyado en todo momento, por ser mi vida, soporte, lucha y compañía, por su motivación diaria, por demostrarme siempre su cariño, por todos sus consejos que me brinda, y por inculcarme valores y hacer de mí una persona de bien.

Mi hermana Wendy, por haber siempre confiado en mí, por ser la mejor hermana del mundo, por escucharme, por alentarme a cumplir cada uno de mis sueños.

## **Agradecimiento**

Al haber culminado el presente proyecto quiero agradecer

A:

Dios, por regalarme confianza, perseverancia, por fortalecer mi mente, corazón y espíritu, por estar conmigo en cada momento y ser la compañía durante todo el periodo de estudio.

A Mis padres Jorge y Cecilia y a mi hermana Wendy, gracias por ser los promotores principales de mis sueños, por creer en mí, por haberme sabido escuchar, apoyar, levantar en todo momento, gracias por anhelar lo mejor para mí y gracias por sus palabras que me guiaran durante toda mi vida.

Mi director Santiago Guerra, cuya gran paciencia, apoyo, guía, confianza y consejo me permitieron culminar con éxito éste presente trabajo.

Mi codirectora María Belén Aldás, que ha sido un gran apoyo para que éste trabajo se culminara satisfactoriamente.

A todas las personas que forman parte del Laboratorio de Investigación, Análisis y Monitoreo (IAM-Q) de la Secretaría de Ambiente, quienes me abrieron las puertas, me compartieron enseñanzas, tiempo y dedicación, para crecer como persona y por impulsarme en el desarrollo de mi formación profesional.

A la Lic. Camila Altamirano cuyo conocimiento, motivación, dedicación y guía me permitió alcanzar cada una de mis metas propuestas, gracias por todos los consejos que me brindaste y por impulsarme al desarrollo del presente trabajo.

A mis amigos y amigas, gracias por compartir buenos y malos momentos, por brindarme su amistad sincera.

A todos los ingenieros, que me compartieron conocimientos en cada una de mis etapas como estudiante en mi camino universitario.

## Contenido

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN.....   | 1  |
| 1.1. Alcance.....  | 2  |
| 1.1.2. Objetivo general.....   | 2  |
| 1.1.3. Objetivos específicos.....  | 2  |
| 1.2. Características de las aguas residuales y red hídrica del Distrito<br>Metropolitano de Quito (DMQ)..... | 2  |
| 1.2.1. Generalidades.....  | 2  |
| 1.2.2. Red hídrica del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ).....  | 3  |
| 1.3. Características y composición de cromo hexavalente y sulfatos.....                                      | 5  |
| 1.3.1. Cromo Hexavalente.....  | 5  |
| 1.3.2. Sulfatos.....   | 6  |
| 1.4. Principios de espectrofotometría.....   | 6  |
| 1.4.1. Espectro electromagnético.....  | 6  |
| 1.4.2. Región visible.....   | 7  |
| 1.4.3. Región ultravioleta.....  | 7  |
| 1.4.4. Espectrofotometría.....   | 7  |
| 1.4.5. Transmitancia.....  | 8  |
| 1.4.6. Absorbancia.....  | 8  |
| 1.4.7. Ley de Lambert-Beer.....  | 9  |
| 1.4.8. Componentes del espectrofotómetro.....  | 9  |
| 1.4.9. Espectrofotómetro DR6000.....   | 10 |
| 1.5. Normativas.....   | 10 |
| 1.5.1. Norma.....  | 10 |
| 1.6. Validación.....   | 11 |
| 1.6.1. Conceptos básicos.....  | 11 |
| 1.6.2. Definición de validación.....   | 11 |
| 1.6.3. Parámetros a validar.....   | 12 |
| 2. METODOLOGÍA.....  | 17 |
| 2.1. Diagnóstico del equipo DR6000.....  | 17 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2. Determinación de cromo hexavalente en matrices de aguas naturales, potables, residuales.....                      | 17 |
| 2.2.1. Principio del método. ....  | 17 |
| 2.2.2. Equipos, materiales y reactivos para el análisis de cromo hexavalente.....                                      | 17 |
| 2.2.2.1. Equipos, materiales y reactivos. ....   | 17 |
| 2.2.3. Recolección y preservación de las muestras. ....  | 18 |
| 2.2.4. Procedimiento para el análisis de cromo hexavalente en matrices de aguas naturales, potables y residuales. .... | 19 |
| 2.3. Determinación de sulfatos en matrices de aguas naturales, potables y residuales.....                              | 19 |
| 2.3.1. Principio del método. ....  | 19 |
| 2.3.2. Equipos, materiales y reactivos para el análisis de Sulfatos. ....  | 20 |
| 2.3.2.1. Equipos, materiales y reactivos ....  | 20 |
| 2.3.3. Recolección y preservación de las muestras ....   | 20 |
| 2.3.4. Procedimiento para el análisis de sulfatos en matrices de aguas naturales, potables y residuales. ....          | 21 |
| 2.4. Puesta a punto del método.....  | 21 |
| 2.4.1. Puesta a punto del método de cromo hexavalente. ....  | 21 |
| 2.4.1.1. Absorbancia máxima. ....  | 22 |
| 2.4.1.2. Tiempo de reacción. ....  | 22 |
| 2.4.1.3. Rango lineal.....   | 22 |
| 2.4.1.4. Blanco-encerar. ....  | 23 |
| 2.4.2. Puesta a punto del método de sulfatos. ....   | 23 |
| 2.4.2.1. Absorbancia máxima. ....  | 23 |
| 2.4.2.2. Tiempo de reacción. ....  | 23 |
| 2.4.2.3. Rango Lineal. ....  | 23 |
| 2.5. Tratamiento de interferencias del método. ....  | 24 |
| 2.5.1. Interferencias cromo hexavalente.....   | 24 |
| 2.5.1.1. Tratamiento de interferencias. ....   | 24 |
| 2.5.2. Interferencias sulfatos.....  | 25 |
| 2.5.2.1. Tratamiento de interferencias. ....   | 25 |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| 2.6.      | Validación.....   | 25 |
| 2.6.1.    | Validación del método de cromo hexavalente.....                                       | 26 |
| 2.6.1.1.  | Selectividad.....   | 26 |
| 2.6.1.2.  | Exactitud.....  | 26 |
| 2.6.1.3.  | Límite de detección y de cuantificación.....  | 26 |
| 2.6.1.4.  | Linealidad.....   | 26 |
| 2.6.1.5.  | Precisión.....  | 27 |
| 2.6.1.6.  | Repetibilidad.....  | 27 |
| 2.6.1.7.  | Reproducibilidad.....   | 27 |
| 2.6.1.8.  | Rango de trabajo.....   | 28 |
| 2.6.1.9.  | Veracidad.....  | 28 |
| 2.6.1.10. | Incertidumbre.....  | 28 |
| 2.9.      | Validación del método de sulfatos.....  | 30 |
| 2.9.1.1.  | Selectividad.....   | 30 |
| 2.9.1.2.  | Exactitud.....  | 30 |
| 2.9.1.3.  | Límite de detección y de cuantificación.....  | 30 |
| 2.9.1.4.  | Linealidad.....   | 31 |
| 2.9.1.5.  | Precisión.....  | 32 |
| 2.9.1.6.  | Repetibilidad.....  | 32 |
| 2.9.1.7.  | Reproducibilidad.....   | 32 |
| 2.9.1.8.  | Rango de trabajo.....   | 32 |
| 2.9.1.9.  | Veracidad.....  | 32 |
| 2.9.1.10. | Incertidumbre.....  | 32 |
| 2.12.     | Análisis de cromo hexavalente y sulfatos.....   | 35 |
| 3.        | RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....   | 36 |
| 3.1.      | Diagnóstico de las características y funcionamiento del espectrofotómetro DR6000..... | 36 |
| 3.2.      | Puesta a punto.....   | 36 |
| 3.2.1.    | Método de cromo hexavalente.....  | 36 |
| 3.2.1.1.  | Absorbancia máxima.....   | 36 |
| 3.2.1.2.  | Tiempo de reacción.....   | 37 |
| 3.2.1.3.  | Rango lineal.....   | 39 |
| 3.2.1.4.  | Blanco encerar.....   | 40 |
| 3.2.2.    | Puesta a punto sulfatos.....  | 43 |



|           |  |    |
|-----------|--|----|
| 3.2.2.1.  | Absorbancia máxima .....   | 43 |
| 3.2.2.2.  | Tiempo de reacción .....   | 44 |
| 3.2.2.3.  | Rango lineal .....   | 45 |
| 3.3.      | Tratamiento de interferencias.....   | 47 |
| 3.3.1.1.  | Interferencias cromo hexavalente.....  | 47 |
| 3.3.1.2.  | Interferencias sulfatos.....   | 48 |
| 3.4.      | Validación .....   | 50 |
| 3.4.1.1.  | Validación cromo hexavalente .....   | 50 |
| 3.4.1.2.  | Diseño estadístico de validación del parámetro cromo hexavalente. ....                                   | 55 |
| 3.4.1.3.  | Análisis estadístico ANOVA concentración 0,04 mg/L. ....   | 56 |
| 3.4.1.4.  | Análisis estadístico ANOVA concentración 0,08 mg/L. ....   | 57 |
| 3.4.1.5.  | Análisis estadístico ANOVA concentración 0,1 mg/L. ....  | 58 |
| 3.4.1.6.  | Análisis estadístico ANOVA concentración 0,3 mg/L. ....  | 59 |
| 3.4.1.7.  | Análisis estadístico ANOVA concentración 0,6 mg/L .....  | 60 |
| 3.4.1.8.  | Veracidad del método.....  | 61 |
| 3.4.1.9.  | Precisión e incertidumbre del método.....  | 62 |
| 3.4.1.10. | Validación sulfatos.....   | 63 |
| 3.4.1.11. | Diseño estadístico de validación del parámetro sulfatos.....   | 67 |
| 3.4.1.12. | Análisis estadístico ANOVA concentración 15mg/L. ....  | 68 |
| 3.4.1.13. | Análisis estadístico ANOVA concentración 30 mg/L. ....   | 69 |
| 3.4.1.14. | Análisis estadístico ANOVA concentración 100 mg/L. ....  | 70 |
| 3.4.1.15. | Análisis estadístico ANOVA concentración 250 mg/L. ....  | 71 |
| 3.4.1.16. | Análisis estadístico ANOVA concentración 500 mg/L. ....  | 72 |
| 3.4.1.17. | Análisis estadístico ANOVA concentración 1000 mg/L. ....   | 73 |
| 3.4.1.18. | Veracidad de método.....   | 74 |
| 3.4.1.19. | Precisión e incertidumbre del método.....  | 75 |
| 3.5.      | Procedimientos para la determinación de cromo hexavalente y sulfatos por espectrofotometría UV-VIS. .... | 76 |
| 3.6.      | Análisis de cromo hexavalente y sulfatos en aguas naturales y residuales del DMQ.....                    | 76 |
| 3.6.1.    | Análisis de cromo hexavalente y sulfatos. ....   | 76 |
| 4.        | Conclusiones y Recomendaciones.....  | 79 |
| 4.1       | Conclusiones.....  | 79 |
| 4.2       | Recomendaciones.....   | 80 |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 5. Bibliografía ..... | 81 |
| 6. Anexos .....       | 86 |

## Índice de tablas

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Clasificación del IQRCH.....   | 4  |
| Tabla 2. Longitud de onda con relación al color.....  | 7  |
| Tabla 3. Datos Técnicos del espectrofotómetro DR6000 .....  | 10 |
| Tabla 4. Límites máximos permisibles. ....  | 10 |
| Tabla 5. Equipos, materiales y reactivos para el análisis de cromo hexavalente.....   | 18 |
| Tabla 6. Tipo, tamaño, envase, preservación y almacenamiento de muestra. ....   | 18 |
| Tabla 7. Equipos, materiales y reactivos para análisis de sulfatos. ....  | 20 |
| Tabla 8. Tipo, tamaño, envase, preservación y almacenamiento de muestra. ....   | 21 |
| Tabla 9. Preparación de la curva de calibración a partir de la solución estándar de cromo hexavalente de 50 mg/L de concentración. ....                 | 27 |
| Tabla 10. Objetivos de validación cromo hexavalente.....  | 29 |
| Tabla 11. Diseño experimental cromo hexavalente.....  | 29 |
| Tabla 12. Preparación de la curva de calibración a partir de la solución estándar de sulfato de concentración 1000 mg/L. ....                           | 31 |
| Tabla 13. Objetivos de validación sulfatos .....  | 33 |
| Tabla 14. Diseño estadístico de sulfatos.....   | 34 |
| Tabla 15. Verificación del equipo con soluciones de control .....   | 36 |
| Tabla 16. Concentración en mg/L de cromo hexavalente al variar el tiempo de reacción.....   | 37 |
| Tabla 17. Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 8 minutos. ....   | 37 |
| Tabla 18. Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 18 minutos. ....  | 37 |
| Tabla 19. Prueba t Student .....  | 38 |
| Tabla 20. Comparación en la concentración de cromo hexavalente y porcentaje de recuperación de cromo hexavalente al variar los tiempos de reacción..... | 38 |
| Tabla 21. Datos de la curva de calibración rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L .....  | 39 |
| Tabla 22. Estimación lineal curva de calibración rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.....   | 39 |
| Tabla 23. Datos de la curva de calibración utilizando par de celdas. ....   | 41 |
| Tabla 24. Estimación lineal de la curva de calibración utilizando par de celdas. ....   | 41 |
| Tabla 25. Datos de la curva de calibración utilizando única celda como blanco.....  | 42 |
| Tabla 26 Estimación lineal de la curva de calibración utilizando única celda como blanco.....   | 42 |
| Tabla 27. Prueba t Student. ....  | 43 |
| Tabla 28. Concentración de sulfatos al variar el tiempo de reacción.....  | 44 |

|  |    |
|--|----|
| Tabla 29. Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 8 minutos. ....  | 44 |
| Tabla 30. Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 18 minutos. .... | 44 |
| Tabla 31. Prueba t Student. ....   | 45 |
| Tabla 32. Datos de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L. ....                                      | 45 |
| Tabla 33. Estimación lineal de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L...                             | 46 |
| Tabla 34. Concentraciones y porcentaje de recuperación de cromo hexavalente de la muestra.....                   | 47 |
| Tabla 35. Resultado de la fortificación de cromo hexavalente, precipitando la materia en suspensión.....         | 48 |
| Tabla 36. Concentraciones y porcentaje de recuperación de sulfatos.....  | 48 |
| Tabla 37. Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 150 Pt-Co.....                     | 49 |
| Tabla 38. Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 200 Pt-Co.....                     | 49 |
| Tabla 39. Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 250 Pt-Co.....                     | 49 |
| Tabla 40. Porcentajes de recuperación para un material de referencia de cromo hexavalente. ....                  | 50 |
| Tabla 41. Límite de detección y Cuantificación. ....   | 51 |
| Tabla 42. Curvas de calibración validación. ....   | 52 |
| Tabla 43. Estimación lineal de las curvas de calibración.....  | 53 |
| Tabla 44. Criterios de aceptación y rechazo obtenido de las 7 curvas de calibración.                             | 53 |
| Tabla 45. Datos estadísticos ANOVA. ....   | 55 |
| Tabla 46. Resultados ANOVA 0,04 mg/L. ....   | 56 |
| Tabla 47. Prueba FISHER concentración 0,04 mg/L.....   | 56 |
| Tabla 48. Resultados ANOVA 0,08 mg/L. ....   | 57 |
| Tabla 49. Prueba FISHER concentración 0,08 mg/L.....   | 57 |
| Tabla 50. Resultados ANOVA 0,1 mg/L. ....  | 58 |
| Tabla 51. Prueba FISHER concentración 0,1 mg/L.....  | 58 |
| Tabla 52. Resultados ANOVA 0,3 mg/L. ....  | 59 |
| Tabla 53. Prueba FISHER concentración 0,3 mg/L.....  | 59 |
| Tabla 54. Resultados ANOVA 0,6 mg/L. ....  | 60 |
| Tabla 55. Prueba FISHER concentración 0,6 mg/L.....  | 60 |
| Tabla 56. Porcentaje de recuperación en muestras. ....   | 61 |
| Tabla 57. Veracidad global obtenida a los diferentes niveles de concentración. ....                              | 61 |

|   |    |
|---|----|
| Tabla 58. Resultados de los parámetros de validación .....                            | 62 |
| Tabla 59. Porcentajes de recuperación para un material de referencia de sulfatos..... | 63 |
| Tabla 60. Límite de detección y cuantificación.....                                   | 64 |
| Tabla 61. Curvas de calibración validación.....                                       | 65 |
| Tabla 62. Estimación lineal de las curvas de calibración.....                         | 65 |
| Tabla 63. Criterios de aceptación y rechazo obtenidos de las 6 curvas de calibración  | 66 |
| Tabla 64. Datos estadísticos ANOVA.....   | 67 |
| Tabla 65. Resultados ANOVA 15 mg/L.....   | 68 |
| Tabla 66. Prueba FISHER concentración 15 mg/L.....                                    | 68 |
| Tabla 67. Resultados ANOVA 30 mg/L.....   | 69 |
| Tabla 68. Prueba FISHER concentración 30 mg/L.....                                    | 69 |
| Tabla 69. Resultados ANOVA 100 mg/L.....  | 70 |
| Tabla 70. Prueba FISHER concentración 100 mg/L.....                                   | 70 |
| Tabla 71. Resultados ANOVA 250 mg/L.....  | 71 |
| Tabla 72. Prueba FISHER concentración 250 mg/L.....                                   | 71 |
| Tabla 73. Resultados ANOVA 500 mg/L.....  | 72 |
| Tabla 74. Prueba FISHER concentración 500 mg/L.....                                   | 72 |
| Tabla 75. Resultados ANOVA 1000 mg/L.....   | 73 |
| Tabla 76. Prueba FISHER concentración 1000 mg/L.....                                  | 73 |
| Tabla 77. Porcentaje de recuperación en muestras concentración 30 mg/L.....           | 74 |
| Tabla 78. Veracidad global obtenida a los diferentes niveles de concentración.....    | 74 |
| Tabla 79. Resultados de los parámetros de validación .....                            | 75 |
| Tabla 80. Análisis de cromo hexavalente en muestras.....                              | 76 |
| Tabla 81. Análisis de sulfatos en muestras.....                                       | 77 |

## Índice de figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Distribución del agua en la tierra.....   | 3  |
| Figura 2. Índice de calidad del recurso hídrico de Quito.....                                     | 4  |
| Figura 3. Espectro electromagnético.....  | 6  |
| Figura 4 Absorbancia de radiación.....  | 8  |
| Figura 5. Componentes del espectrofotómetro .....   | 9  |
| Figura 6. Situaciones en el gráfico de residuales .....   | 15 |
| Figura 7. Reacción de la 1,5 difenilcarbazida con el cromo VI .....                               | 17 |
| Figura 8. Diagrama de Ishikawa. ....  | 28 |
| Figura 9. Diagrama de Ishikawa sulfatos .....   | 33 |
| Figura 10. Barrido espectral de una solución de cromo de 0,05 mg/L.....                           | 36 |
| Figura 11. Curva de calibración rango de 0,02 mg/L -1,2 mg/L.....                                 | 40 |
| Figura 12. Análisis de residuales curva de calibración rango 0,02 mg/L a 1,2 mg/L....             | 40 |
| Figura 13. Barrido espectral de una solución de sulfatos de 100 mg/L. ....                        | 43 |
| Figura 14. Curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L.....                                   | 46 |
| Figura 15. Análisis de residuales de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L. ....     | 47 |
| Figura 16. Gráfico de incertidumbre expresada en porcentajes. ....                                | 62 |
| Figura 17. Gráfico de incertidumbre expresada en porcentajes. ....                                | 75 |
| Figura 18. Datos del análisis de cromo hexavalente en aguas naturales, residuales y potables..... | 77 |
| Figura 19. Datos del análisis de sulfatos en aguas naturales, residuales y potables...            | 78 |
| Figura 20 Curva de calibración cromo hexavalente día 1.....                                       | 92 |
| Figura 21 Curva de calibración cromo hexavalente día 2.....                                       | 92 |
| Figura 22 Curva de calibración cromo hexavalente día 3.....                                       | 92 |
| Figura 23. Curva de calibración cromo hexavalente día 4.....                                      | 93 |
| Figura 24 Curva de calibración cromo hexavalente día 5.....                                       | 93 |
| Figura 25 Curva de calibración cromo hexavalente día 6.....                                       | 93 |
| Figura 26 Curva de calibración cromo hexavalente día 7.....                                       | 94 |
| Figura 27 Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 1 .....                                  | 94 |
| Figura 28 Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 2 .....                                  | 94 |
| Figura 29 Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 3 .....                                  | 95 |
| Figura 30 Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 4 .....                                  | 95 |
| Figura 31 Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 5 .....                                  | 95 |
| Figura 32. Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 6 .....                                 | 96 |
| Figura 33 Curva de calibración sulfatos día 1 .....   | 96 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 34 Curva de calibración sulfatos día 2 .....                  | 96  |
| Figura 35 Curva de calibración sulfatos día 3 .....                  | 97  |
| Figura 36 Curva de calibración sulfatos día 4 .....                  | 97  |
| Figura 37 Curva de calibración sulfatos día 5 .....                  | 97  |
| Figura 38 Curva de calibración sulfatos día 6 .....                  | 98  |
| Figura 39 Porcentaje de residuales Sulfatos día 1 .....              | 98  |
| Figura 40 Porcentaje de residuales Sulfatos día 2 .....              | 98  |
| Figura 41 Porcentaje de residuales Sulfatos día 3 .....              | 99  |
| Figura 42 Porcentaje de residuales Sulfatos día 4 .....              | 99  |
| Figura 43 Porcentaje de residuales Sulfatos día 5 .....              | 99  |
| Figura 44 Porcentaje de residuales Sulfatos día 6 .....              | 100 |
| Figura 45 Espectrofotómetro DR 6000.....                             | 108 |
| Figura 46. Reacción colorimétrica cromo hexavalente .....            | 108 |
| Figura 47 Precipitación sulfatos .....                               | 108 |
| Figura 48 Material de referencia certificado cromo hexavalente ..... | 109 |
| Figura 49 Certificado de estándar Cromo hexavalente .....            | 110 |
| Figura 50 Certificado de estándar sulfatos .....                     | 111 |
| Figura 51 Certificado del espectrofotómetro .....                    | 112 |

## Índice de Ecuaciones

|  |     |
|--|-----|
| Ecuación 1. Cálculos de transmitancia. ....                            | 8   |
| Ecuación 2. Cálculos de Absorbancia. ....                              | 8   |
| Ecuación 3. Cálculos ley de Lambert – Beer. ....                       | 9   |
| Ecuación 4. Porcentaje de recuperación. ....                           | 12  |
| Ecuación 5. Coeficiente de variación. ....                             | 13  |
| Ecuación 6. Límite de detección. ....                                  | 13  |
| Ecuación 7. Límite de cuantificación. ....                             | 14  |
| Ecuación 8. Criterios de pendiente. ....                               | 15  |
| Ecuación 9. Criterios de intercepto. ....                              | 15  |
| Ecuación 10. Reacción química sulfatos. ....                           | 19  |
| Ecuación 11. Fórmula de dilución de concentración. ....                | 27  |
| Ecuación 12. Fórmula de dilución de concentración. ....                | 31  |
| Ecuación 13 Concentración real. ....                                   | 101 |
| Ecuación 14 Porcentaje de recuperación. ....                           | 101 |
| Ecuación 15 Porcentaje de residuales. ....                             | 101 |
| Ecuación 16 Porcentaje de recuperación con muestra fortificada. ....   | 101 |
| Ecuación 17 Media. ....  | 102 |
| Ecuación 18. Desviación Estándar. ....                                 | 102 |
| Ecuación 19 Varianza. ....   | 102 |
| Ecuación 20 Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Entre Grupos. ....     | 103 |
| Ecuación 21 Diferencia Cuadrática Media (DCM) Entre Grupos. ....       | 103 |
| Ecuación 22 Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Dentro de Grupos. .... | 104 |
| Ecuación 23 Diferencia Cuadrática Media (DCM) Dentro de Grupos. ....   | 104 |
| Ecuación 24 Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Total. ....            | 104 |
| Ecuación 25 Diferencia Cuadrática Media (DCM) Total. ....              | 105 |
| Ecuación 26 Prueba de Fisher. ....                                     | 105 |
| Ecuación 27 Desviación Estándar de repetibilidad. ....                 | 105 |
| Ecuación 28. Precisión Intermedia. ....                                | 106 |
| Ecuación 29 Desviación Estándar de Reproducibilidad. ....              | 106 |
| Ecuación 30 Coeficiente de Variación de repetibilidad. ....            | 106 |
| Ecuación 31 Coeficiente de Variación de Reproducibilidad. ....         | 107 |



## ANEXOS

|   |     |
|---|-----|
| Anexo I Hoja de validación cromo hexavalente..... | 87  |
| Anexo II Hoja de validación sulfatos .....        | 89  |
| Anexo III Curvas de calibración .....             | 92  |
| Anexo IV Cálculos .....                           | 101 |
| Anexo V Fotografías .....                         | 108 |
| Anexo VI certificados .....                       | 110 |

# 1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional acelerado en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) ha conllevado al aumento de la contaminación de la red hídrica que atraviesa a la ciudad. La mayoría de la contaminación, aproximadamente el 80%, es causada por aguas servidas mientras el 20% restante corresponde a desechos industriales (EPMAPS, 2012).

Por otra parte, el crecimiento industrial ha provocado que sus desechos sean vertidos a los cauces de los ríos, ya sea tratándolos previamente o no. Entre estos contaminantes se encuentran el cromo hexavalente y los sulfatos que, particularmente en altas concentraciones, podrían causar afecciones a la flora y fauna de los cauces y además provocar efectos nocivos a la salud. Es por esto que surge la necesidad de controlar y monitorear estos parámetros (Servicio de Salud Ambiental, 2016).

La Secretaría de Ambiente del DMQ trabaja para la prevención y control de la contaminación ambiental (Secretaría de Ambiente, 2017). Ésta cuenta con el laboratorio IAM-Q, que efectúa el control público, muestreo y análisis físico-químico de descargas líquidas y monitoreo de la red hídrica. En la actualidad, el laboratorio de la Secretaría de Ambiente está acreditado con la norma de calidad ISO/IEC 17025, que establece los requisitos generales para la competencia en la realización de ensayos o de calibraciones, incluido el muestreo (ISO/IEC, 2005). Como punto importante en esta normativa se encuentra la validación que es la confirmación, mediante el examen y la aportación de evidencias objetivas, de que se ha cumplido requisitos para la utilización de un método analítico (ISO/IEC, 2005).

Con este antecedente el laboratorio IAM-Q, se ve en la necesidad de validar los métodos de determinación de cromo hexavalente y sulfatos, debido a que no se ha demostrado que los procedimientos analíticos se encuentren aptos y adecuados para el uso previsto y podrían generar resultados erróneos (PAHO, 2008).

Al validar los métodos analíticos de cromo hexavalente y sulfatos por espectrofotometría UV-Visible hará que el laboratorio IAM-Q, realice estos análisis, cumpla con la normativa de calidad y aumente el número de sus métodos acreditados.

## **1.1. Alcance**

El presente proyecto contempla las etapas y proceso de la validación de cromo hexavalente y sulfatos, así como también la verificación de los parámetros de validación y el análisis por espectrofotometría en aguas naturales y residuales.

### **Objetivos.**

#### **1.1.2. Objetivo general.**

Validar los métodos de determinación de cromo hexavalente y sulfatos mediante espectrofotometría UV-visible en aguas del Distrito Metropolitano de Quito.

#### **1.1.3. Objetivos específicos.**

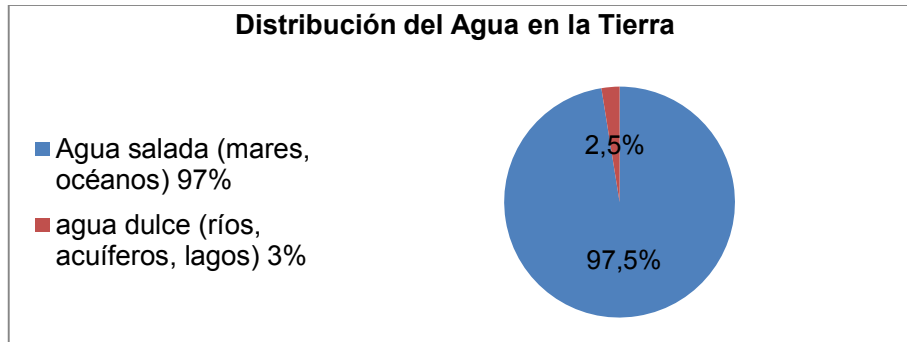
- Diagnosticar las características y funcionamiento del espectrofotómetro DR6000.
- Minimizar las interferencias presentes en el método mediante un tratamiento adecuado.
- Determinar la confiabilidad del método verificando parámetros de validación como: selectividad, precisión, límites de detección y cuantificación, intervalo de trabajo, incertidumbre y exactitud del método.
- Analizar los resultados obtenidos de la validación.
- Implementar los métodos validados para el análisis de las aguas naturales y residuales del Distrito Metropolitano de Quito.

## **1.2. Características de las aguas residuales y red hídrica del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ).**

### **1.2.1. Generalidades**

El agua es un elemento de la naturaleza, fundamental para el sostenimiento y la reproducción de la vida debido a que es un factor indispensable para el desarrollo de los procesos biológicos (USMP, 2015). Además, es un compuesto que posee la característica de ser un disolvente universal, gracias a su estructura bipolar y a su capacidad de formar puentes de hidrógeno con otras sustancias. (Venezuela, 2008).

Como es un elemento que se encuentra en la naturaleza, Shiklomanov y Rodda (2003) indican que el volumen total del agua en el planeta es de 35,2 miles millones de kilómetros cúbicos y la distribución en la tierra es la mostrada en la figura 1:



**Figura 1.** Distribución del agua en la tierra.

**Fuente: (Shiklomanov y Rodda, 2003)**

Solo el 2,5% es agua dulce se encuentra en mayores cantidades en los glaciares y aguas subterráneas. Solo el 0,4% de agua dulce se encuentra en aguas superficiales y en la atmósfera. (UNESCO, 2017).

EL 2,5% de agua dulce se divide en aguas naturales y aguas residuales. Las aguas naturales son aquellas cuyas propiedades originales no han sido modificadas por actividad humana (INFOJARDIN, 2002-2017), mientras que las aguas residuales, según la OEFA, son aquellas cuyas características originales han sido modificadas por la actividad humana y que requieren tratamiento debido a su calidad para ser reusadas o vertidas a un cuerpo natural o descargadas al sistema de alcantarillado (OEFA, 2014). Éstas provienen de descargas de uso municipales, comerciales, industriales, domesticas, etc.

Como disposición final de las aguas residuales se ha usado cuerpos receptores como ríos, lagos, lagunas, etc. que han sido incapaces de neutralizar la contaminación que los residuos causan, perdiendo sus condiciones naturales y generando la incapacidad de mantener vida acuática y problemas de índole estética y de salubridad. (Perez, 2003)

### **1.2.2. Red hídrica del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ)**

La calidad del agua de los ríos de Quito se encuentra actualmente afectada a causa de varios aspectos como descargas domésticas e industriales, asentamientos de poblaciones, mala disposición de residuos sólidos, explotación de canteras, pequeñas actividades agrícolas colocadas cercas de las riberas, etc. (DMQ, 2016)

La Secretaría de Ambiente se encarga de controlar las descargas del DMQ con un alcance del 20 % del sector industrial. De igual forma realiza el monitoreo del recurso hídrico para determinar la calidad de los ríos ubicados en el DMQ que son: Río Pita,

Río Machángara, Río San Pedro, Río Monjas y Río Guayllabamba que son aquellos que nacen, cruzan, y salen del Distrito Metropolitano de Quito.

Para determinar la calidad del recurso hídrico se usa el índice Quiteño del recurso hídrico (IQRCH) que se calcula tomando los valores de algunos parámetros físicos y químicos, y se lo clasifica de la forma expuesta en la tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación del IQRCH

| Valor del índice | Tipo de agua  |
|------------------|---|
| 76 – 100         | Aguas claras sin aparente contaminación                                   |
| 51 – 75          | Ligero color del agua, con espumas y ligera turbidez del agua, no natural |
| 26 – 50          | Apariencia de aguas contaminadas y de fuerte olor                         |
| 0 – 25           | Aguas negras, con procesos de fermentación y olor                         |

Fuente:(Ambiente, IQRCH, 2017)

En la figura 2 se aprecia la calidad de los ríos del Distrito Metropolitano de Quito.



**Figura 2.** Índice de calidad del recurso hídrico de Quito.

Fuente: (Ambiente, 2017)

En la figura 2 se observa que los ríos con una baja calidad son el Machángara y el Monjas debido a que presentan aguas negras con procesos de fermentación y olor, los Ríos Guayllabamba y San Pedro presentan apariencia de aguas contaminadas y de

fuerte olor y únicamente el Río Pita se encuentra en la categoría de aguas claras sin aparente contaminación.

Para obtener un amplio conocimiento de la calidad de los ríos, la Secretaría de Ambiente ha opta por validar los métodos de cromo hexavalente y sulfatos, debido a que no se tienen datos de estos parámetros y resultan muy perjudiciales para los cuerpos receptores y la sociedad, como se describirá a continuación.

### **1.3. Características y composición de cromo hexavalente y sulfatos**

#### **1.3.1. Cromo Hexavalente**

El cromo hexavalente es considerado la especie más toxica del metal cromo, se encuentra en estado de oxidación (VI), además se halla combinada con el oxígeno formando iones de cromato o dicromato, (Ricardo R. Azario, 2010). Es usado en muchos procesos industriales debido a que es un metal muy resistente a la corrosión, se emplea en: la galvanoplastia; fabricación de acero inoxidable, colorante, curtidos de cuero, etc.

Los compuestos de cromo hexavalente tales como los cromatos y dicromatos son considerados de alta toxicidad para los organismos tanto acuáticos como terrestres, esto se debe a que son oxidantes fuertes y de gran solubilidad. (Losi, 1994).

Dado que el cromo hexavalente es usado en la industria, se le considera como un contaminante ambiental por su alta toxicidad. Ingresa al ambiente a través de los residuos industriales provenientes de procesos de cromado. (OEHHA, 2016)

Según (OEHHA, 2016) el cromo hexavalente además de causar daños ambientales genera efectos negativos sobre la salud como:

- Irritaciones a la nariz, garganta, pulmones.
- Llagas nasales.
- Perforaciones del tabique, pulmones, ojos, piel, hígado.
- Malestar estomacal y úlceras
- Se ha determinado como un compuesto cancerígeno.
- Muerte.

### 1.3.2. Sulfatos

Los sulfatos se encuentran presentes de forma natural en varios minerales como la barita, tiza, yeso, etc. Además se utilizan en la industria química para la fabricación de pesticidas, colorantes, jabón, papel, vidrios, fertilizantes, como agente de sedimentación, etc (GOIB, 2018).

Los sulfatos son sales que tienen la presencia del ion sulfato  $(SO_4)^{-2}$ , además de encontrarse en la naturaleza se derivan del ácido sulfúrico, tienen la propiedad de ser sustancias iónicas, que los hace altamente solubles en disolventes polares como el agua. (Químicas.net, 2015)

Según (GOIB, 2018) los sulfatos pueden encontrarse en el agua debido a varios factores como:

1. Escorrentías subterráneas que contienen estos minerales.
2. A causa de la lluvia ácida.
3. Contaminación industrial.

El sulfato si se encuentra en altas concentraciones puede ser perjudicial para el ser humano y animales, ya que a valores superiores a 250 mg/L causaría efectos laxantes, diarreas crónicas e incluso la muerte. (GOIB, 2018)

### 1.4. Principios de espectrofotometría

#### 1.4.1. Espectro electromagnético

El espectro electromagnético referido a un objeto es a la radiación electromagnética que emite o absorbe una sustancia y es mostrado en la figura 3. (astrojem, 2017)

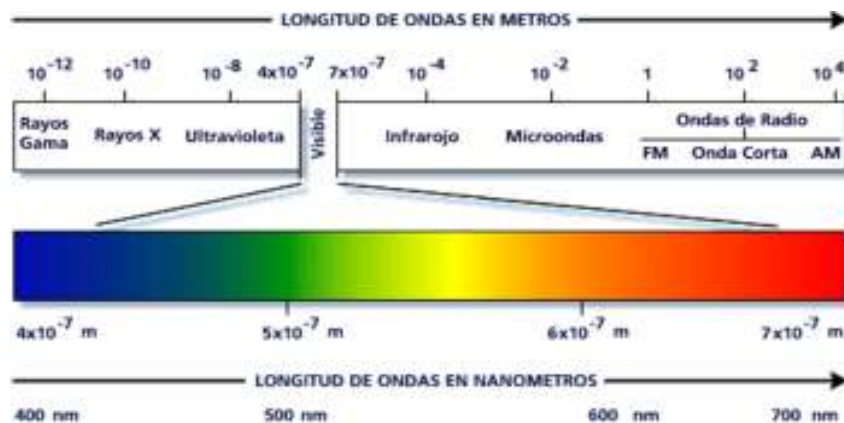


Figura 3. Espectro electromagnético

Fuente: (González, 2015)

### 1.4.2. Región visible

Se denomina región visible a la región del espectro electromagnético que el sentido humano (vista) puede percibir. Su intervalo de longitud de onda es de 400 a 750 nm (Zemansky, 2009). Las sensaciones que la luz genera en el ojo, se denominan colores y éstos dependen de la longitud de onda y corresponde a los siguientes intervalos que se encuentran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Longitud de onda con relación al color.

| Intervalos de Longitud de onda (nm) | Color de luz absorbida | Color trasmitido complementario |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| 400-435                             | Violeta                | Amarillo-verdoso                |
| 435-480                             | Azul                   | Amarillo                        |
| 480-490                             | Azul-verde             | Anaranjado                      |
| 490-500                             | Verde-azul             | Rojo                            |
| 500-560                             | Verde                  | purpura                         |
| 560-580                             | Amarillo-verdoso       | Violeta                         |
| 580-595                             | Amarillo               | Azul                            |
| 595-650                             | Anaranjado             | Azul-verde                      |
| 650-750                             | Rojo                   | Verde-azul                      |

**Fuente:** (Skoog D. , 2000)

### 1.4.3. Región ultravioleta

La región ultravioleta se encuentra en un intervalo de longitud de onda que va desde 190–380 nm, para este rango se utiliza lámparas de deuterio, ya que emiten alta intensidad de radiación.

### 1.4.4. Espectrofotometría

La espectrofotometría de ultravioleta-visible es uno de los primeros métodos físicos que se aplicó al análisis cuantitativo (OLSEN, 1990). Ésta es una práctica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto que se encuentra en una solución. Se basa en la medida de la cantidad de energía absorbida por las moléculas de una muestra en relación a longitudes de onda específicas.



El principio del método consiste en que cuando una molécula absorbe una radiación electromagnética, hace que un electrón pase de un estado fundamental a un estado excitado (H. Dupont Durst, 1985), haciendo que libere energía.

#### 1.4.5. Transmitancia

La transmitancia se define como la cantidad de energía de luz que atraviesa un cuerpo, esto a una determinada longitud de onda. Un haz de luz incide sobre un cuerpo, una parte es absorbida por el mismo y otra parte del haz de luz atravesara el cuerpo y se puede determinar mediante la siguiente ecuación 1 (Gonzales, 2010).

$$T = \frac{I}{I_0}$$

**Ecuación 1.** Cálculos de transmitancia.

Donde:

I= cantidad de luz transmitida.

I<sub>0</sub>=cantidad de luz incidente.

#### 1.4.6. Absorbancia

La absorbancia se define como la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia. Matemáticamente corresponde al logaritmo negativo de la transmitancia. (Qumica, 2010), a mayor cantidad de luz absorbida, mayor será la absorbancia del cuerpo y por lo tanto menor será la cantidad de luz trasmitida por el cuerpo, como se indica en la figura 4. A la absorbancia se la define mediante la ecuación 2 (Gonzales, 2010).

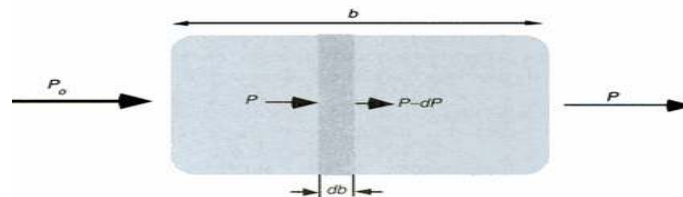
$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

**Ecuación 2.** Cálculos de Absorbancia.

Donde:

I= cantidad de luz transmitida.

I<sub>0</sub>=cantidad de luz incidente.



**Figura 4** Absorbancia de radiación.

Fuente: (Lucas Hernández, 2002)

### 1.4.7. Ley de Lambert-Beer

La ley de Lambert-Beer indica que la absorbancia está directamente relacionada con las propiedades propias del analito, la longitud de la trayectoria del haz de radiación al atravesar la muestra y con su concentración, se expresa de la siguiente manera: (Sogorb, 2010)

$$A = C * \epsilon * L$$

**Ecuación 3.** Cálculos ley de Lambert – Beer.

Donde

A= Absorbancia de la muestra.

C= Concentración del cromóforo.

L= Longitud del paso óptico de la muestra.

$\epsilon$ = Absorptividad molar.

### 1.4.8. Componentes del espectrofotómetro

El espectrofotómetro consta de las siguientes partes:

- Fuente de luz: se usa una lámpara que emita luz que contenga distintas longitudes de onda con varias intensidades y posea estabilidad y larga duración de vida (lámpara de wolframio o deuterio).
- Monocromador: permite separar las longitudes de onda.
- Compartimiento de las muestras: compartimiento que permite colocar las celdas de las muestras, estará colocado de manera que el haz de luz atraviese perpendicularmente por la muestra.
- Detector: sistema que permite detectar la radiación que atravesado la muestra

Los componentes del espectrofotómetro se muestran en la figura 5.



**Figura 5.** Componentes del espectrofotómetro

**Fuente:** (Espectrofotómetro, 2016-2017)

#### 1.4.9. Espectrofotómetro DR6000

El espectrofotómetro DR6000, es el más avanzado en la industria, cuenta con métodos de pruebas programados e incluye la exploración de longitud de onda a una gran velocidad a través del espectro visible y el UV, además cuenta con un software que actúa con la finalidad de asegurar la calidad almacenando documentación e interpretando los datos de mediciones. (HACH, 2015)

Conjuntamente contiene las siguientes características técnicas que se las puede visualizar en la tabla 3.

**Tabla 3.** Datos Técnicos del espectrofotómetro DR6000

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Modo de operación</b>             | Transmitancia, absorbancia y concentración      |
| <b>Fuentes de luz</b>                | Rango visible: Tungsteno<br>Rango UV : deuterio |
| <b>Exactitud de longitud</b>         | ± 1 nm  |
| <b>Rango de Longitud</b>             | 190 – 1100nm                                    |
| <b>Selección de longitud de onda</b> | Automático en función del método seleccionado   |

**Fuente:** (HACH, 2015)

#### 1.5. Normativas.

##### 1.5.1. Norma

La norma aplicable en el Distrito Metropolitano de Quito para el control de descargas líquidas es la ordenanza metropolitana 138, la que establece los siguientes límites máximos permisibles que se visualizan en la tabla 4.

**Tabla 4.** Límites máximos permisibles.

| Parámetro         | Cuerpo receptor            |                            |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|
|                   | Descarga al alcantarillado | Cuerpo receptor agua dulce |
| Cromo hexavalente | 0,5 mg/L                   | 0,5 mg/L                   |
| Sulfatos          | 400 mg/L                   | 1000 mg/L                  |

**Fuente:** Ordenanza Metropolitana 138.

## **1.6. Validación**

Los métodos que se usan en un laboratorio de análisis químicos deben ser evaluados con la finalidad de asegurar que originen resultados coherentes y válidos con un objetivo previsto. (ONODC, 2010)

### **1.6.1. Conceptos básicos**

Para la validación se utilizan algunos conceptos previos como los que se muestran a continuación.

- **Media aritmética:** es la cantidad total de la variable, distribuida en partes iguales entre cada observación. (Instituto de Salud Pública, 2012)
- **Desviación estándar:** es el promedio de lejanía de los valores obtenidos respecto a la media. (Instituto de Salud Pública, 2012)
- **Varianza:** es la medida de dispersión definida como el cuadrado de la desviación estándar. (Instituto de Salud Pública, 2012)
- **Coeficiente de dispersión:** es una medida estadística que indica la dispersión relativa de un conjunto de datos. (economipedia, 2018)
- **Prueba t-Student:** esta prueba permite identificar los errores sistemáticos que pueden encontrarse en el método. (Instituto de Salud Pública, 2012)
- **Pruebas F-Fisher:** esta prueba permite identificar errores aleatorios del método, se usa en la determinación de la precisión. (Instituto de Salud Pública, 2012)

### **1.6.2. Definición de validación**

La validación del método, según la norma ISO/17025 se define como la confirmación, a través del examen y el análisis de evidencias objetivas, de que se cumplen con los requisitos particulares para un uso específico (ISO/17025, 2005).

La validación es un proceso establecido, mediante el cual se ponen a prueba todas las características de un método de análisis en donde todos los resultados son documentados y demostrados garantizando la fiabilidad y la reproducibilidad de éstos. (ONA, 2012)

Los métodos analíticos pueden ser:

- Normalizados
- No normalizados: métodos desarrollados por el laboratorio o nuevos.

- Normalizados con una modificación significativa

### 1.6.3. Parámetros a validar

**Selectividad:** este parámetro se relaciona con el grado en que otras sustancias interfieren en la identificación y en la cuantificación de los analitos, se define como la capacidad del método en cuantificar analitos de interés en presencias de otras sustancias. (ONODC, 2010)

**Exactitud:** la exactitud de un método es la proximidad entre el resultado obtenido y el valor real (InfoLEG, 2003). La exactitud se evalúa en términos de sesgo, a través del análisis de materiales de referencia, fortificaciones, estándares (IUPAC, 2004).

La exactitud se determinará mediante el porcentaje de recuperación obtenido por los materiales de referencia certificados. La exactitud es expresada como porcentaje de recuperación y se la calcula de la siguiente manera: (Vinagre, 2007)

$$\%R = \frac{\overline{C}_X}{C_A} * 100$$

**Ecuación 4.** Porcentaje de recuperación.

Dónde:

$\overline{C}_X$ = concentración promedio de las determinaciones.

$C_A$ = concentración real.

**Precisión:** es el grado de concordancia entre los datos obtenidos por medidas repetidas en una misma muestra bajo las mismas condiciones. (AEAS, 2012) En otras palabras la precisión de un método analítico se obtiene mediante la simple repetición de una medida.

Dentro de la precisión se encuentra:

- Repetibilidad: consiste en realizar una serie de repeticiones, en donde los resultados del análisis se obtienen con el mismo método por el mismo operador y equipos y en corto intervalo de tiempo. (Instituto de Salud Pública, 2012)

- **Reproducibilidad:** es la cercanía entre los resultados de las mediciones de la misma magnitud, efectuada bajo condiciones de medición diferentes pueden ser analista, equipo, etc (Llamosa, Botero, & Meza, 2007).

El análisis de estos parámetros mencionados se realiza con el porcentaje de coeficiente de variación (%CV), este análisis demuestra la dispersión de los datos que se han obtenido con respecto a la media. (AEAS, 2012)

Se calcula con la siguiente ecuación:

$$\%CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$$

#### **Ecuación 5. Coeficiente de variación**

Dónde:

s = desviación estándar

$\bar{X}$  = media aritmética

En la precisión se puede realizar un análisis de varianza ANOVA que consiste en el análisis de la varianza de las desviaciones estándar para cada uno de los niveles de concentración, para la determinación se usan software estadístico u hojas de cálculo de Excel. (Instituto de Salud Pública, 2012)

**Límite de Detección (LOD):** es la concentración más baja de analito que se puede detectar, en una muestra bajo condiciones experimentales (InfoLEG, 2003)

Se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Límite de detección} = 3,29 \times S_0$$

#### **Ecuación 6. Límite de detección**

Donde

$S_0$  = desviación estándar de los blancos.

**Límite de cuantificación (LOC):** se define como la mínima cantidad de la concentración del analito que se puede determinar con un nivel precisión y exactitud aceptable. (Giraldo G. , 2016) Su cálculo se toma como límite inferior, el que corresponde a 10 veces la desviación estándar de las medidas repetidas de un blanco. (Instituto de Salud Pública, 2010).

Se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Límite de cuantificación} = 10 \times S_0$$

**Ecuación 7.** Límite de cuantificación

Donde

$S_0$  = desviación estándar de los blancos.

**Linealidad:** la linealidad es la capacidad de un método de dar una respuesta instrumental que sea proporcional a la cantidad de analito a determinar. (Instituto de Salud Pública, 2012). La linealidad se establece analizando una serie de patrones que cubran el rango de calibración instrumental. Para el estudio de la linealidad es recomendado trabajar en intervalos de 3 a 7 niveles. (AEAS, 2012)

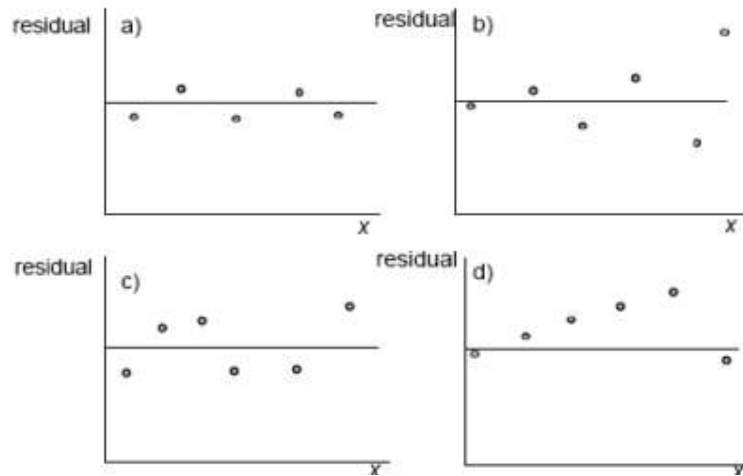
Existen diferentes maneras para evaluar la linealidad, la primera es mediante la representación gráfica de los datos de los puntos de calibración, pero para complementar es necesario obtener el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), que proporciona la relación entre la concentración y la señal instrumental. Se encuentra siempre su valor comprendido entre 0 y 1, siendo 1 el valor que posee la mejor correlación, en técnicas espectrofotométricas es aceptable un valor mayor o igual a 0,99. (AEAS, 2012), si bien el coeficiente de determinación es una herramienta para determinar la linealidad de una recta, ésta no evalúa el grado de ajuste de cada uno de los puntos de calibración que intervienen, por lo que se debe complementar con el análisis de residuales. (AEAS, 2012)

Los residuales son la diferencia entre el valor obtenido cuando ya se ha realizado los ajustes y el valor de referencia es decir un patrón. Los valores se representan en un gráfico donde la coordenada X será la concentración teórica y la coordenada Y será el residual.

Para que se pueda considerar válido un modelo de línea recta, se debe observar en el gráfico los siguientes puntos:

1. El número de residuales positivos es aproximadamente igual al número de residuales negativos.
2. Los residuales tienen que estar distribuido aleatoriamente.
3. No deben mostrar tendencia.

En la siguiente figura 6 se observan las diversas situaciones del gráfico de residuales.



**Figura 6.** Situaciones en el gráfico de residuales

**Fuente:** (AEAS, 2012)

En la figura 6 en el literal a) cumple con los requisitos que se mencionaron anteriormente y es lo que mejor se esperaría en un análisis de residuales. El literal b) indica que el valor de los residuales va aumentando con la concentración, indica que la incertidumbre asociada a cada punto experimental aumenta con la concentración y que serían más adecuados otros métodos para determinar la linealidad. El literal c) indica que probablemente se están ajustando los datos experimentales a una línea recta y que quizás se ajustarían mejor a una curva y en el literal d) existe la presencia de puntos discrepantes esto puede estar causado por error humano (AEAS, 2012)

Para tener el método bajo control y asegurar su funcionamiento, se calculan a partir de las curvas de calibración los criterios de aceptación y rechazo para la pendiente y el intercepto que es el punto donde la recta cruza con el eje vertical (ASECAL, 2013). Estos criterios se calculan al conocer los valores de la pendiente, desviación de la pendiente y del intercepto, además el valor t crítica de la tabla t-Student tomando en cuenta que los grados de libertad son el número de las variables de la curva de calibración. (ASECAL, 2013)

Se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Criterio de Pendiente } (m) = m \pm (sm * t_{crítica})$$

**Ecuación 8.** Criterios de pendiente

$$\text{Criterio de Intercepto } (Lo) = Lo \pm (sLo * t_{crítica})$$

**Ecuación 9.** Criterios de intercepto



**Intervalo de trabajo:** es el intervalo en donde el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable, el extremo inferior está determinado por el límite de cuantificación. (Eurachem, 2016). El intervalo de trabajo es generalmente más amplio que la linealidad. (Aguamarket, 2018)

**Incertidumbre:** es el parámetro asociado al resultado, caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos al mesurando, para su determinación es importante verificar cuales son los componentes de la incertidumbre como reactivos, instrumentos, condiciones de medida, etc. (Instituto de Salud Pública, 2012)

Para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de Ishikawa o conocido como espina del pescado. La incertidumbre comprende varios componentes y pueden ser evaluados por tipos que estén presentes en los métodos: (Instituto de Salud Pública, 2012) estos son:

- Incertidumbre tipo A : es una evaluación de un componente realizado por un análisis estadístico de los valores obtenido en condiciones de medición definidas (Instituto de Salud Pública, 2012)
- Incertidumbre tipo B: es la incertidumbre de la medición realizada por otros medios distintos ejemplo información obtenida a partir de certificados de calibración. (Instituto de Salud Pública, 2012)

Para la determinación de la incertidumbre se sigue una serie de pasos, éstos son: determinar todas las fuentes de incertidumbre, después convertir los componentes en una incertidumbre estándar, el tercero es determinar la incertidumbre combinada y por último la determinación de la incertidumbre expandida por lo cual se multiplica la incertidumbre combinada por un factor de cobertura  $K=2$  con la finalidad de entregar un 95 % de confianza. (Instituto de Salud Pública, 2012)

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Diagnóstico del equipo DR6000.

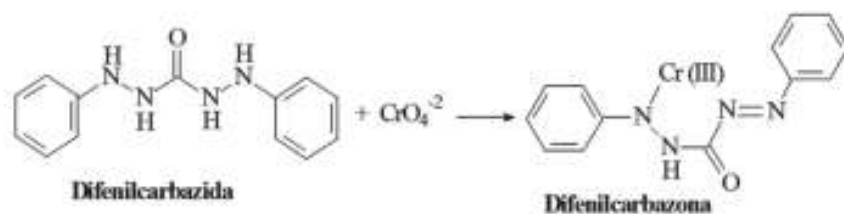
Para el diagnóstico del Espectrofotómetro UV-Visible DR6000, se realizó la verificación con soluciones de control para lo cual se seleccionó las longitudes de onda de verificación las cuales fueron: 445 y 525 nm, posteriormente se introdujeron las soluciones de control en la porta celdas del espectrofotómetro.

### 2.2. Determinación de cromo hexavalente en matrices de aguas naturales, potables, residuales.

Para la determinación de cromo hexavalente se tomó como referencia la información provista por el método HACH 8023. (APHA, 2012)

#### 2.2.1. Principio del método.

El principio del método consiste en determinar cromo hexavalente mediante el método 1,5 difenilcarbazida, basado en una reacción de óxido reducción, donde el cromo VI se reduce a cromo III, generando la formación de un complejo de color púrpura rosáceo. Esta reacción se produce en un medio ácido, por lo que el reactivo ChromaVer 3, posee una buffer ácida, se analiza a una longitud de 540 nm.



**Figura 7.** Reacción de la 1,5 difenilcarbazida con el cromo VI

**Fuente:** ( Doria Herrera, Paz, & Hormaza, 2013)

#### 2.2.2. Equipos, materiales y reactivos para el análisis de cromo hexavalente.

##### 2.2.2.1. Equipos, materiales y reactivos.

Para la realización de análisis de cromo hexavalente se utilizó los materiales, equipos y reactivos que se indican en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Equipos, materiales y reactivos para el análisis de cromo hexavalente.

| Equipos                                  | Materiales   | Reactivos  |
|--|--|--|
| Espectrofotómetro UV-VIS<br>HACH/DR 6000 | Micropipeta electrónica de<br>10- 100 µL                         | Agua desionizada Tipo 1:<br>resistividad 18,2 µΩ-cm a<br>25° C |
|  | Micropipeta electrónica de<br>100-1000 µL                        | Estándar de cromo<br>hexavalente HACH de 50<br>mg/L            |
|  | Micropipeta electrónica de<br>1-10 mL                            | Reactivo ChromaVer 3   |
|  | Balones aforados de 50 mL  |  |
|  | Embudos de filtración  |  |
|  | Erlenmeyers de 50 mL   |  |
|  | Vasos de precipitación de<br>50 mL                               |  |
|  | Papel filtro (diámetro 125<br>mm con tamaño de poro<br>de 21 µm) |  |
|  | Celdas de vidrio de 10 mL  |  |

### 2.2.3. Recolección y preservación de las muestras.

Para la recolección de la muestra se procedió a seguir los lineamientos establecidos del laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente (Secretaría de Ambiente, 2017).

**Tabla 6.** Tipo, tamaño, envase, preservación y almacenamiento de muestra.

| Parámetro | Envase | Tamaño mínimo de muestra en mL | Tipo de muestra | Preservación | Tiempo máximo de almacenamiento |
|-----------|--------|--------------------------------|-----------------|--------------|---------------------------------|
| Cromo VI  | vidrio | 150                            | Simple          | 4° C ± 2     | 24 horas                        |

Fuente: (APHA, 2012)

#### **2.2.4. Procedimiento para el análisis de cromo hexavalente en matrices de aguas naturales, potables y residuales.**

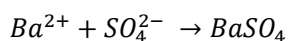
Para la realización del análisis de cromo hexavalente en aguas, primero se procedió a encender el espectrofotómetro UV-VIS y se esperó de 20 a 30 minutos para garantizar que exista una correcta calibración de la longitud de onda, después se seleccionó programas de usuarios y se eligió cromo hexavalente y se pulso INICIO. Después se homogeneizó la muestra y se añadió 50 mL en un vaso de precipitación y se procedió a filtrar para eliminar la presencia de turbidez. A continuación, se tomó 10 mL de la muestra previamente homogeneizada y filtrada con ayuda de la micropipeta electrónica de 1-10 mL para posteriormente añadir el contenido del reactivo Chromaver 3 a la celda, y agitar constantemente hasta que se disuelva el reactivo completamente, Luego, se sincronizó el TIMER y se esperó un tiempo de reacción de 5 minutos para después preparar el blanco del análisis, la que va a contener la matriz (muestra) a la que no se le aplicó ningún reactivo y se utilizó para evaluar la señal de fondo, para lo cual se colocó 10 mL de la muestra en el par de celdas de vidrio de 10 mL, transcurrido ya el tiempo de reacción, se colocó la celda que contiene el blanco en los soportes de medición, previamente limpiada y se cerró la tapa del equipo. Se pulsó la tecla “cero” para encerrar el equipo, después se colocó la celda que contiene la muestra con el reactivo y se cerró la tapa para finalmente pulsar “Medición” y la pantalla del equipo indicó el resultado en mg/L Cr <sup>+6</sup>.

#### **2.3. Determinación de sulfatos en matrices de aguas naturales, potables y residuales.**

Para la determinación de sulfatos se tomó como referencia la información provista por el método HACH 8051 y *Standard Methods*. (APHA, 2012)

##### **2.3.1. Principio del método.**

El método consiste en la reacción de iones de sulfato con el bario contenido en el reactivo sulfaver 4, que provoca un precipitado de sulfato de bario. El reactivo sulfaver 4 contiene un agente estabilizante que evita la sedimentación y mantiene el precipitado en suspensión.



**Ecuación 10.** Reacción química sulfatos

### 2.3.2. Equipos, materiales y reactivos para el análisis de Sulfatos.

#### 2.3.2.1. Equipos, materiales y reactivos

Para la realización de análisis de sulfatos se utilizó los siguientes materiales que se indican en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Equipos, materiales y reactivos para análisis de sulfatos.

| Equipos                                  | Materiales  | Reactivos  |
|--|---|--|
| Espectrofotómetro UV-VIS<br>HACH/DR 6000 | Micropipeta electrónica de<br>1-10 mL                                 | Agua desionizada Tipo 1:<br>resistividad 18,2 $\mu\Omega$ -cm a<br>25° C |
|  | Balones aforados de 100<br>mL   | Estándar de sulfatos de<br>1000 mg/L                                     |
|  | Pipetas volumétricas de 25<br>mL                                      | Reactivo Sulfaver 4  |
|  | Embudos de filtración   |  |
|  | Erlenmeyer de 125.mL  |  |
|  | Vasos de precipitación de<br>100 mL                                   |  |
|  | Vasos de precipitación de<br>50 mL                                    |  |
|  | Papel filtro (diámetro 125<br>mm con tamaño de poro<br>de 21 $\mu$ m) |  |
|  | Celdas de vidrio de 25 mL   |  |

#### 2.3.3. Recolección y preservación de las muestras

Para la recolección de la muestra se procedió a seguir los lineamientos establecidos por el laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente. (Secretaría de Ambiente, 2017)

**Tabla 8.** Tipo, tamaño, envase, preservación y almacenamiento de muestra.

| Parámetro | Envase           | Tamaño mínimo de muestra en mL | Tipo de muestra   | Preservación | Tiempo máximo de almacenamiento |
|-----------|------------------|--------------------------------|-------------------|--------------|---------------------------------|
| Sulfatos  | Plástico/ vidrio | 150                            | Simple /compuesta | 4° C ± 2     | 28 días                         |

Fuente: (APHA, 2012)

### **2.3.4. Procedimiento para el análisis de sulfatos en matrices de aguas naturales, potables y residuales.**

Para la realización del análisis de sulfatos en aguas se procedió a encender el espectrofotómetro UV-VIS y se esperó de 20 a 30 minutos para garantizar que exista una correcta calibración de la longitud de onda, después, se seleccionó programas de usuarios y se eligió el parámetro “Sulfatos” y pulso “Inicio”. Posteriormente se homogenizó la muestra y se añadió 100 mL en un vaso de precipitación y se procedió a filtrar para eliminar la presencia de turbidez y de materia en suspensión. A continuación, se tomaron 25 mL de la muestra previamente homogenizada y filtrada con ayuda de la pipeta volumétrica de 25 mL y se colocó en la celda del análisis, así como en la celda del el blanco de análisis, la que va a contener la matriz (muestra) a la que no se le aplicó ningún reactivo y se utilizó para evaluar la señal de fondo. Luego se añadió el contenido del reactivo Sulfaver 4 a la celda, y se agitó constantemente hasta que se disolvió el reactivo completamente, se sincronizó el “timer” y se esperó un tiempo de reacción de 5 minutos, transcurrido ya el tiempo de reacción, se colocó la celda que contiene el blanco en los soportes de medición, previamente limpiada y se cerró la tapa del equipo. Finalmente, se pulsó la tecla cero para encerrar el equipo, después se colocó la celda que contiene la muestra con el reactivo y se cerró la tapa para luego pulsar “medición” y la pantalla del equipo indicó el resultado en mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$ .

## **2.4. Puesta a punto del método.**

### **2.4.1. Puesta a punto del método de cromo hexavalente.**

Los parámetros optimizados fueron:

- Absorbancia máxima.
- Tiempo de reacción.
- Rango lineal.
- Blanco- encerrar.

#### **2.4.1.1. Absorbancia máxima.**

El método HACH establece una longitud de onda de 540 nm y el Standard Methods 3500B una longitud de onda de 530 nm para analizar cromo hexavalente. Además, el color obtenido por la reacción colorimétrica es rosáceo-púrpura y este color absorbe una longitud de onda de 500 a 560 nm por lo que establecer la absorbancia máxima fue necesario con el fin de comprobar lo establecido en los métodos de referencia. Se realizó un barrido espectral que es una gráfica del conjunto de valores de absorbancia de una sustancia vs diferentes longitudes de onda y esto permitió evaluar cómo interactúa una sustancia con radiación electromagnética (Aires, 2018). Este barrido se lo realizó desde 400 - 600 nm con intervalo de 5 nm en solución estándar de cromo hexavalente de 0,05 mg/L.

#### **2.4.1.2. Tiempo de reacción.**

##### Caso 1

Debido a que los métodos de referencia establecen que el tiempo de reacción necesario para el análisis es de 5 minutos, se verificó si existe variación al analizar en mayor tiempo de reacción de manera que no sea una variable limitante del método. Para la verificación se prepararon 4 fortificaciones de 0,05 mg/L en una muestra de agua natural y se varió el tiempo de reacción (5 minutos, 8 minutos y 18 minutos), con los valores obtenidos se verificó si existe diferencia significativa al variar el tiempo de reacción.

##### Caso 2

Se realizaron pruebas para determinar si la concentración de cromo hexavalente se ve afectada si se analiza antes de los 5 minutos de reacción. Para ello se preparó una concentración de 0,05 mg/L, y se analizó a los 3 minutos y a los 5 minutos de reacción, con el fin de identificar si el porcentaje de recuperación se ve afectado.

#### **2.4.1.3. Rango lineal.**

Para la creación de curvas de calibración que cumplan con un comportamiento lineal, se realizó pruebas construyendo curvas de calibración que cumplan con los objetivos previstos para la validación que cumplan con el coeficiente de correlación mayor a 0,995.

#### **2.4.1.4. Blanco-encerar.**

Como en la determinación de cromo hexavalente se realiza en celdas de vidrio de 10 mL, se probó si existe diferencia significativa al variar la forma de encerar. Para esto se realizó una curva de calibración en el cual se utilizó un par de celdas por punto de calibración y se comparó con una curva de calibración, en el cual se utilizó únicamente una sola celda como blanco. Se comparó el porcentaje de recuperación por punto de calibración.

#### **2.4.2. Puesta a punto del método de sulfatos.**

Los parámetros optimizados fueron:

- Absorbancia máxima.
- Tiempo de reacción.
- Rango lineal.

##### **2.4.2.1. Absorbancia máxima.**

Como el método HACH 8051 establece que la longitud de onda para el análisis de sulfatos es de 450 nm y el Standar Methods una longitud de 420 nm, y, además, el reactivo Sulfaver 4 no produce una reacción colorimétrica si no genera una turbidez. Se buscó comprobar lo indicado en los métodos de referencia. Para llevar acabo se realizó un barrido espectral desde 200 nm hasta 500 nm en un intervalo de 5 nm en una solución de sulfatos de 100 mg/L.

##### **2.4.2.2. Tiempo de reacción.**

Los métodos tomados como referencia indican que el tiempo de reacción necesario es de 5 minutos, por lo que se verificó si existe o no diferencia significativa al variar el tiempo, de manera que esto no fuera un variable limitante en el método. Para esto se prepararon 3 fortificaciones de 25 mg/L en una muestra y se varió el tiempo de reacción de 5 minutos, 8 y 12 minutos.

##### **2.4.2.3. Rango Lineal.**

Para el rango lineal se construyó una curva de calibración que cumpla con el coeficiente de correlación cercano a 1, además que los valores de los residuales sean positivos; negativos y sean valores pequeños. Para esto se realizó una curva de calibración de concentración 15 a 40 mg/L.



## **2.5. Tratamiento de interferencias del método.**

Se realizó el control y tratamiento de interferencias con el objetivo de eliminar posibles compuestos que afecten al análisis, tanto como el cromo hexavalente como de los sulfatos, con el fin de obtener datos reales del analito de interés.

### **2.5.1. Interferencias cromo hexavalente.**

Para el control de interferencias se tomaron como referencia los métodos mencionados, estos son:

Interferencias mencionadas en el método HACH 8023 y en el *Standard Methods* (APHA, 2012) son:

- Hierro: en concentraciones mayores a 1 mg/L.
- Iones de mercurio: no interfiere significativamente, tolera hasta concentraciones de 200mg/L.
- Muestras con pH extremo.
- Turbidez.
- Contenido orgánico.
- Color.
- Vanadio.

#### **2.5.1.1. Tratamiento de interferencias.**

**Turbidez:** para la eliminación de turbidez se realizó la filtración mediante un filtro de 21  $\mu\text{m}$  de porosidad. En el caso de presentarse la muestra con un alto contenido orgánico se realizó un filtrado mediante un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidad. Se presentó una muestra con un alto contenido orgánico, la cual se la realizó una fortificación de cromo hexavalente de 0,08 mg/L con el fin de analizar el porcentaje de recuperación. Como se obtuvo bajas cantidades de porcentaje de recuperación se optó por buscar un tratamiento que fue precipitar colocando aproximadamente 4 mL de NaOH y posterior se realizó el filtrado y ajuste de pH a neutro.

**Muestras con pH extremos:** para el control de esta interferencia se procedió a ajustar el pH a neutro, añadiendo ya sea NaOH o  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

**Hierro:** si la muestra contiene alto contenido de hierro se procedió a realizar una precipitación química con NaOH y posterior se realizó el filtrado y ajuste de pH a neutro.

**Color:** Esta interferencia se contrarrestó con un blanco de muestra, a esta se la preparó igual, pero sin adicionarle el reactivo, la absorbancia del blanco se la restó de la real de la muestra colocada el reactivo y así se obtuvo el resultado final.

**Vanadio:** sólo causa problemas a concentraciones 10 veces superiores a las del cromo hexavalente.

### **2.5.2. Interferencias sulfatos.**

Las interferencias mencionadas en el método de referencia HACH 8051 y Standard Methods 4500 son:

- Turbidez.
- Calcio en concentraciones mayores de 20,000 mg/L de  $\text{CaCO}_3$ .
- Magnesio en concentraciones mayores de 10,00 mg/L de  $\text{CaCO}_3$ .
- Cloruros en concentraciones mayores de 40,000 mg/L.
- Sílice en concentraciones mayores a 500 mg/L.
- Color.

#### **2.5.2.1. Tratamiento de interferencias.**

**Turbidez:** para la eliminación de turbidez se procedió a realizar un filtrado con un filtro de porosidad de 21  $\mu\text{m}$ .

**Color:** Esta interferencia se contrarrestó con un blanco de muestra, a esta se la preparó de igual forma, pero sin adicionarle el reactivo, la absorbancia del blanco se la restó de la real de la muestra colocada el reactivo y así se obtuvo el resultado.

Sin embargo, se realizaron pruebas para observar si a concentraciones altas de color se puede obtener una buena recuperación de sulfatos, ya que el color se mide a una longitud de onda de 455 nm, para ello se preparó diferentes soluciones de color con diferentes concentraciones como: 150 Pt-Co, 200 Pt-Co y 250 Pt-Co y se fortificó a una concentración de 25 mg/L con el estándar de sulfatos.

### **2.6. Validación.**

Para la validación de los métodos de determinación de cromo hexavalente y sulfatos por espectrofotometría se utilizaron parámetros establecidos por la IUPAC.

## **2.6.1. Validación del método de cromo hexavalente.**

### **2.6.1.1. Selectividad.**

Para la determinación de la selectividad, se realizó el tratamiento de interferencias que se indica en el apartado 2.5.1.1. Para ello se realizó la fortificación a una muestra de cromo hexavalente de concentración 0,05 mg/L en una muestra que poseía un alto contenido de materia orgánica. Debido a que no se obtuvo un valor de recuperación deseable del analito de interés se procedió a dar el tratamiento de precipitación a la muestra con la finalidad de obtener buenos porcentajes de recuperación de cromo hexavalente.

### **2.6.1.2. Exactitud.**

La exactitud se determinó mediante el cálculo del porcentaje de recuperación utilizando materiales de referencia certificados, para esto se realizó análisis de 10 materiales de referencia (MRC) de marca SIGMA-ALDRICH QC1088-20 mL de concentración conocida y con ayuda de los intervalos de aceptación se pudo determinar el porcentaje recuperación.

### **2.6.1.3. Límite de detección y de cuantificación.**

Para la determinación del límite de detección y cuantificación se realizó la preparación y lectura de 10 estándares de cromo hexavalente de concentración de 0,01 mg/L con el fin de obtener la desviación estándar de las mediciones. El cálculo se realizó usando las ecuaciones de IUPAC THOMPSON.

### **2.6.1.4. Linealidad.**

Para la linealidad se construyó una curva de calibración que cumpla con criterios de aceptación y rechazo que fueron:

- Coeficiente de determinación mayor a 0,995
- El análisis de residuales debe cumplir con la tolerancia máxima de  $\pm 10\%$  y de igual manera su gráfico no debe presentar tendencia.

Después de haber encontrado la curva que cumplía con los criterios antes mencionados, se realizó el cálculo de la pendiente máxima y mínima, el intercepto máximo y mínimo, mediante la utilización de las ecuaciones (8) y (9).

Se realizaron 7 curvas de calibración en rango de: 0,02 mg/L a 0,12 mg/L, utilizando un estándar de cromo hexavalente de 50 mg/L, utilizando la ecuación de dilución.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

**Ecuación 11.** Fórmula de dilución de concentración.

A continuación, se describen los volúmenes que se tomaron para realizar la curva de calibración en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Preparación de la curva de calibración a partir de la solución estándar de cromo hexavalente de 50 mg/L de concentración.

| <b>C inicial (mg/L)</b> | <b>V inicial (mL)</b> | <b>Concentración final (mg/L)</b> | <b>V final (mL)</b> |
|-------------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 50                      | 0,020                 | 0,020                             | 50                  |
| 50                      | 0,040                 | 0,040                             | 50                  |
| 50                      | 0,060                 | 0,060                             | 50                  |
| 50                      | 0,080                 | 0,080                             | 50                  |
| 50                      | 0,100                 | 0,100                             | 50                  |
| 50                      | 0,120                 | 0,120                             | 50                  |

**2.6.1.5. Precisión.**

La precisión se calculó mediante un análisis de varianza simple de todos los valores obtenidos de cada nivel de concentración que fueron considerados en el ANOVA.

Ésta se obtiene mediante la prueba Fisher en la cual aplica las varianzas, para identificar si existe o no diferencia significativa. Para llegar a la concentración deseada se realizó una fortificación a la muestra, esto se realizó añadiendo la cantidad necesaria de estándar.

**2.6.1.6. Repetibilidad.**

La repetibilidad se realizó utilizando 5 valores de concentración, con 4 repeticiones por valor, lo que indica que se realizaron un total de 20 unidades por día. Éstas fueron realizadas por el mismo analista, además, el laboratorio IAM-Q de la Secretaría de Ambiente establece que el porcentaje de coeficiente de variación es máximo 5%.

**2.6.1.7. Reproducibilidad.**

La reproducibilidad se consideró al cambiar de analista, los datos se encuentran en el análisis de varianza, además como se mencionó el porcentaje de coeficiente de variación máximo debe ser de 5%.

### 2.6.1.8. Rango de trabajo.

Para el rango de trabajo se definió un intervalo de concentraciones donde cada concentración se encuentre dentro de la normativa ambiental ordenanza 138 (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2016) y el Libro IX del Texto Unificado de Legislación Secundaria (Ministerio del Ambiente, 2015). Este rango de trabajo fue de 5 niveles y fueron 0,04 mg/L, 0,08 mg/L, 0,1 mg/L, 0,3 mg/L, 0,60 mg/L.

### 2.6.1.9. Veracidad.

En la veracidad se calculó el porcentaje de recuperación para cada una de las concentraciones del ANOVA. Estas se encontraron en un rango de  $85\% \leq \%R \leq 115\%$  para todos los niveles de concentración.

### 2.6.1.10. Incertidumbre.

Para el cálculo de incertidumbre se establecieron todas las fuentes que influyen en la determinación de cromo hexavalente.

Todos los factores que influyen en el análisis de cromo hexavalente se resumen en la figura 8.



Figura 8. Diagrama de Ishikawa.

## 2.7. Objetivos de validación cromo hexavalente.

Teniendo en cuenta la bibliografía y la experiencia obtenida en la puesta a punto se fijaron los objetivos de validación que se indican en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Objetivos de validación cromo hexavalente.

| Objetivos de validación                        |   |
|--|---|
| Parámetro                                      | Objetivo  |
| Selectividad                                   | Efecto matriz   |
| Linealidad / función respuesta                 | Obtener una función respuesta con $r^2 \geq 0,995$                                  |
| Límite de detección                            | LD= 3.29* S <sub>o</sub><br>donde<br>S <sub>o</sub> =desviación estándar del blanco |
| Límite de cuantificación                       | LC= 10 * S <sub>o</sub><br>donde<br>S <sub>o</sub> =desviación estándar del blanco  |
| Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad) | %CVR ≤ 5% ; %CVR ≤ 5% para todos los niveles de concentración                       |
| veracidad                                      | 85 % ≤ %R ≤ 115 % para todos los niveles de concentración                           |
| incertidumbre                                  | %U ≤ 30 % (k=2) para todos los niveles de concentración                             |
| intervalo de trabajo                           | 0,04-0,6 mg/L.  |

**2.8. Diseño experimental de validación cromo hexavalente.**

**Tabla 11.** Diseño experimental cromo hexavalente.

| Diseño Experimental   |   |
|---|---|
| "Muestras" o elementos de las que se dispone para la validación | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estándar de 50 mg/L.</li> <li>• Muestras de la red hídrica de Quito</li> <li>• Muestras de descarga en el DMQ</li> <li>• Muestra agua potable</li> </ul>   |
| submuestras (unidades que se procesan por día)                  | <p>En condiciones de repetibilidad se trabajaron: 5 niveles de concentración, con 4 repeticiones por cada nivel, lo que supone un total de 20 unidades por día.</p> <p>Y en condiciones de reproducibilidad (cuatro días y analistas diferentes) lo que supone un total de 80 unidades.</p> |

|                          |  |
|--------------------------|--|
| Procesamiento            | Los datos fueron procesados a través un análisis estadístico de varianza, ANOVA.   |
| Lectura                  | mg/L   |
| Función de respuesta     | La función respuesta fue definida por el tratamiento de 7 rectas de calibración con 6 puntos en diferentes días.   |
| Interpolación y cálculos | La concentración de cromo hexavalente fue calculada al interpolar en la función respuesta las absorbancias obtenidas.  |
| Tratamiento estadístico  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se analizó la varianza simple de los resultados obtenidos para la determinación de precisión por niveles de concentración.</li> <li>• Se determinó la veracidad (% de recuperación en cada nivel de concentración).</li> <li>• Se obtuvo el intervalo de trabajo y estimación de la incertidumbre asociada a cada nivel.</li> </ul> |

## **2.9. Validación del método de sulfatos.**

### **2.9.1.1. Selectividad.**

Para la determinación de la selectividad, se realizó el tratamiento de interferencias que se indica en el apartado 2.5.1.2. Para ello se realizó la fortificación a una muestra de sulfatos de concentración de 25 mg/L en una muestra que poseía un alto de color y turbidez. Con lo cual se procedió a realizar un tratamiento como filtrado con la ayuda de un filtro de 0,21 µm de porosidad con la finalidad de obtener buenos porcentajes de recuperación.

### **2.9.1.2. Exactitud.**

La exactitud se determinó de la misma manera como se indicó en el apartado 2.6.1.2 del cromo hexavalente.

### **2.9.1.3. Límite de detección y de cuantificación.**

Para de determinación del límite de detección y cuantificación se realizó la preparación y lectura de 10 estándares de sulfatos de concentración de 15 mg/L con el fin de

obtener la desviación estándar de las mediciones. El cálculo se realizó usando las ecuaciones 6 y 7.

#### 2.9.1.4. Linealidad.

Después de haber encontrado una curva de calibración en la puesta a punto que cumpla con criterios de aceptación y rechazo que fueron:

- Coeficiente de determinación mayor a 0,995.
- El análisis de residuales debe cumplir con la tolerancia máxima de  $\pm 10\%$  y de igual manera su grafico no debe presentar tendencia.

Para esto se analizaron 6 curvas de calibración con las siguientes concentraciones 15 mg/L, 20 mg/L, 25 mg/L, 30 mg/L, 35 mg/L, 40 mg/L, la curva de calibración se obtuvo a partir de un estándar de sulfatos de 1000 mg/L utilizando la siguiente ecuación.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

#### Ecuación 12. Fórmula de dilución de concentración.

Para la preparación de la solución de estándar de sulfatos se pesó 147,9 mg de sulfato de sodio anhidro y se aforo a 100 mL, la disolución tiene una concentración de 1000 mg/L de sulfatos.

A continuación, se describen los volúmenes que se tomaron para realizar la curva de calibración en la tabla 12.

**Tabla 12.** Preparación de la curva de calibración a partir de la solución estándar de sulfato de concentración 1000 mg/L.

| C inicial (mg/L) | V inicial (mL) | Concentración final (mg/L) | V final (mL) |
|------------------|----------------|----------------------------|--------------|
| 1000             | 1,5            | 15                         | 100          |
| 1000             | 2,0            | 20                         | 100          |
| 1000             | 2,5            | 25                         | 100          |
| 1000             | 3,0            | 30                         | 100          |
| 1000             | 3,5            | 35                         | 100          |
| 1000             | 4,0            | 40                         | 100          |

Se tiene la  $C_1$ ;  $C_2$ ;  $V_2$  y se calcula el  $V_1$  inicial



#### **2.9.1.5. Precisión**

La precisión se determinó de la misma manera como se realizó para el cromo hexavalente, que se indica en el apartado 2.6.1.5.

#### **2.9.1.6. Repetibilidad**

La repetibilidad se la realizó utilizando 6 niveles de concentración, con 4 repeticiones por cada nivel lo que indica que se realizaron un total de 24 unidades por día. Éstas fueron realizadas por el mismo analista, además, el laboratorio establece que el porcentaje de coeficiente de variación es de máximo 5%.

#### **2.9.1.7. Reproducibilidad**

La reproducibilidad también se realizó similar a la del cromo hexavalente, esto se indica en el apartado 2.6.1.7.

#### **2.9.1.8. Rango de trabajo**

Para el rango de trabajo se definió un intervalo de concentraciones donde cada concentración se encuentre dentro de la normativa ambiental ordenanza 138 (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito;, 2016) y el Libro IX del Texto Unificado de Legislación Secundaria (Ministerio del Ambiente , 2015). Este rango de trabajo fue de 6 niveles y fueron 15 mg/L, 30 mg/L, 100 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L.

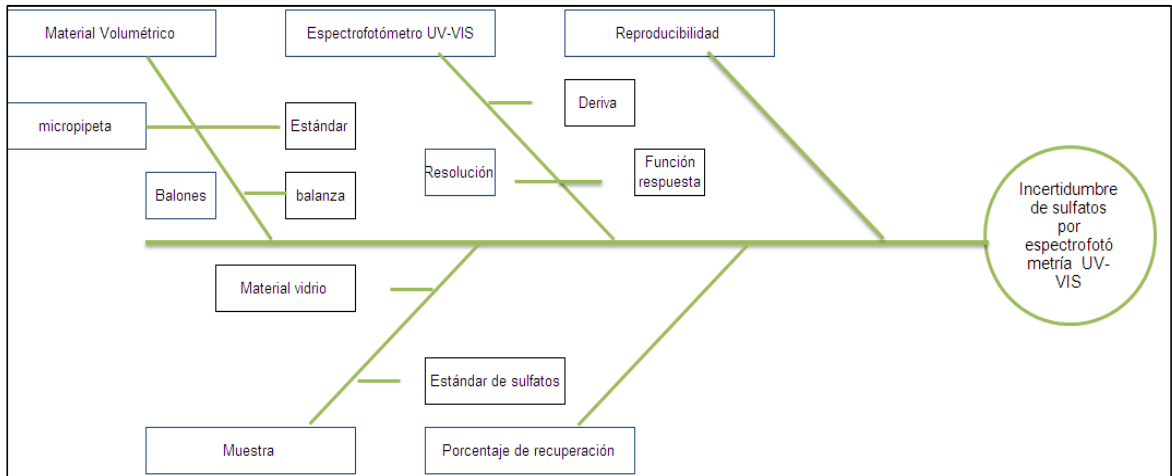
#### **2.9.1.9. Veracidad.**

La veracidad se determinó de la misma manera a la del cromo hexavalente, esto se indica en el apartado 2.6.1.9.

#### **2.9.1.10. Incertidumbre**

Para el cálculo de incertidumbre se establecieron todas las fuentes que influyen en a la determinación de sulfatos.

Todos los factores que influyen en el análisis de sulfatos se resumen en la figura 9 del diagrama de Ishikawa de sulfatos.



**Figura 9.** Diagrama de Ishikawa sulfatos

**2.10. Objetivos de validación sulfatos.**

Para la validación del método de sulfato se fijaron los siguientes objetivos.

**Tabla 13.** Objetivos de validación sulfatos

| Objetivos de validación                        |  |
|--|--|
| Parámetro                                      | Objetivo   |
| Selectividad                                   | Efecto matriz  |
| Linealidad / función respuesta                 | Obtener una función respuesta con $r^2 \geq 0,995$                               |
| Límite de detección                            | $LD = 3.29 * S_o$<br>donde<br>$S_o$ =desviación estándar del blanco              |
| Límite de cuantificación                       | $LC = 10 * S_o$<br>donde<br>$S_o$ =desviación estándar del blanco                |
| Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad) | $\%CV_r \leq 5\%$ ; $\%CV_R \leq 5\%$<br>para todos los niveles de concentración |
| veracidad                                      | $85\% \leq \%R \leq 115\%$ para todos los niveles de concentración               |
| incertidumbre                                  | $\%U \leq 30\%$ ( $k=2$ ) para todos los niveles de concentración                |
| intervalo de trabajo                           | 15-1000 mg/L   |

## 2.11. Diseño estadístico de sulfatos.

Para el diseño estadístico de sulfatos se fijaron los puntos indicados en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Diseño estadístico de sulfatos.

| Diseño Experimental   |   |
|---|---|
| "Muestras" o elementos de las que se dispone para la validación | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estándar de 1000 mg/L.</li> <li>• Muestras de la red hídrica de Quito.</li> <li>• Muestras de descarga en el DMQ.</li> <li>• Muestra agua potable.</li> </ul>  |
| Submuestras (unidades que se procesan por día)                  | En condiciones de repetibilidad se trabajaron con 6 niveles de concentración, con 4 repeticiones por cada nivel, lo que supone un total de 20 unidades por día. Y en condiciones de reproducibilidad (cuatro días y analistas diferentes) lo que supone un total de 80 unidades   |
| Procesamiento   | Los datos fueron procesados a través un análisis estadístico de varianza, ANOVA.  |
| Lectura   | mg/L.   |
| Función de respuesta  | La función respuesta fue definida por el tratamiento de 6 rectas de calibración con 6 puntos en diferentes días.  |
| Interpolación y cálculos  | La concentración de sulfatos fue calculada al interpolar en la función respuesta las absorbancias obtenidas.  |
| Tratamiento estadístico   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se Analizó la varianza simple de los resultados obtenidos para la determinación de precisión por niveles de concentración.</li> <li>• Se determinó la veracidad (% de recuperación en cada nivel de concentración).</li> <li>• Se obtuvo del intervalo de trabajo y estimación de la incertidumbre asociada a cada nivel.</li> </ul> |

## **2.12. Análisis de cromo hexavalente y sulfatos.**

Después de validar los métodos, se procedió a determinar cromo hexavalente y sulfatos en diferentes matrices como aguas naturales, potables y residuales, con la finalidad de saber cuál es la cantidad de concentración real de cada una de las muestras. Se analizaron las muestras con el procedimiento que se realizó en el laboratorio de la Secretaría de Ambiente.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Diagnóstico de las características y funcionamiento del espectrofotómetro DR6000

Para observar un correcto funcionamiento, se verificó la absorbancia en diferentes longitudes de onda. Para esto se utilizó soluciones de control que indican un rango de aceptación de absorbancia a una determinada longitud de onda y se obtuvo los siguientes resultados como se muestran en la tabla 15.

**Tabla 15.** Verificación del equipo con soluciones de control

| Soluciones de control | Longitud de onda de las soluciones de control (nm). | Absorbancia que se obtuvieron de las soluciones de control (abs). | Rango de aceptación de absorbancia (abs). |
|-----------------------|---|---|---|
| Solución 1.           | 445   | 0,0190  | 0,0183-0,223                              |
| Solución 2.           | 525   | 0,200   | 0,0178-0,218                              |

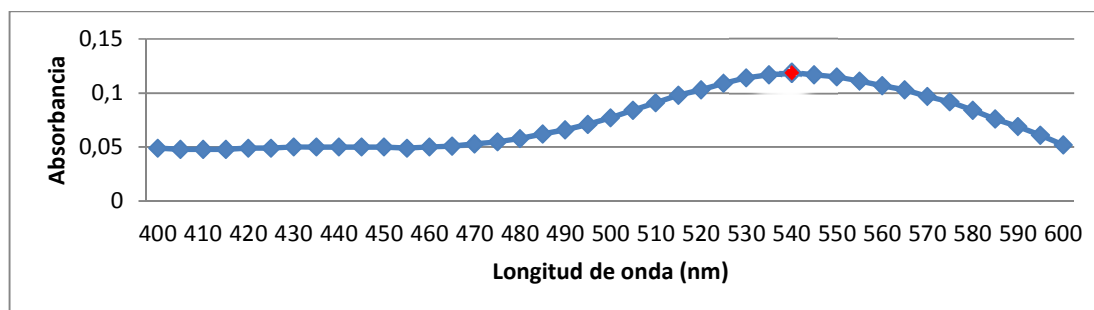
Con estos datos se comprueba que las absorbancias se encuentran dentro del rango de aceptación, confirmando un correcto funcionamiento del equipo.

#### 3.2. Puesta a punto.

##### 3.2.1. Método de cromo hexavalente

##### 3.2.1.1. Absorbancia máxima

Las pruebas para la determinación de absorbancia máxima se realizaron con un barrido espectral de una solución de cromo hexavalente de 0,05 mg/L que se observa en la Figura 10.



**Figura 10.** Barrido espectral de una solución de cromo de 0,05 mg/L.

Se observa que la máxima absorbancia se obtuvo en una longitud de onda de 540 nm, con un valor de 0,119 de absorbancia tal como se indica en el apartado 2.2.1 y cumpliendo con lo establecido en el método HACH 8023. (HACH, 2015)

### 3.2.1.2. Tiempo de reacción

**Caso 1.** Pruebas de tiempos de reacción iguales y mayores al valor establecido por el método HACH 8023 (HACH, 2015). Los datos del análisis se obtuvieron en valores de concentración, a continuación se presentan en la tabla 16.

**Tabla 16.** Concentración en mg/L de cromo hexavalente al variar el tiempo de reacción.

| Muestra             | Tiempos de reacción. |              |               |
|---------------------|----------------------|--------------|---------------|
|                     | 5 min (mg/L)         | 8 min (mg/L) | 18 min (mg/L) |
| Fortificación 1     | 0,039                | 0,039        | 0,038         |
| Fortificación 2     | 0,039                | 0,038        | 0,038         |
| Fortificación 3     | 0,038                | 0,037        | 0,0376        |
| Fortificación 4     | 0,038                | 0,038        | 0,038         |
| <b>MEDIA</b>        | 0,0385               | 0,038        | 0,03830       |
| <b>DES.ESTANDAR</b> | 0,000577             | 0,0008165    | 0,000483      |
| <b>VARIANZA</b>     | 0,0000003            | 0,0000005    | 0,0000002     |

Con los datos obtenidos en la tabla 16 se realizó la prueba F para observar, si existe o no, diferencia significativa al variar el tiempo de reacción. Los datos se presentan en la tabla 17 y 18.

**Tabla 17.** Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 8 minutos.

|             |       |
|-------------|-------|
| F calculado | 0,6   |
| F crítico   | 9,277 |

**Tabla 18.** Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 18 minutos.

|             |       |
|-------------|-------|
| F calculado | 1,5   |
| F crítico   | 9,277 |

Se observa en las tablas 17 y 18 que el F calculado es menor al F crítico por tal razón no existe diferencia significativa al analizar entre 5 ,8 y 18 minutos.

Además, se realizó una prueba t de Student comparando medias asumiendo varianzas iguales mediante la herramienta que está integrada en el programa de EXCEL, que es análisis de datos. Los resultados se presentan a continuación en la tabla 19 en donde se indica, si existe o no, diferencia significativa al variar el tiempo de reacción.

**Tabla 19.** Prueba t Student

|                           | Entre 5 y 8 minutos | Entre 5 y 18 minutos |
|---------------------------|---------------------|----------------------|
| T estadístico             | -99                 | -161,69              |
| Valor critico t una cola  | 1,9431              | 1,9431               |
| Valor critico t dos colas | 2,4469              | 2,4469               |

El valor crítico que se tomó es el de dos colas, ya que se necesita confirmar si existe diferencia al variar el tiempo de reacción.

Como en ambos casos la t calculada es menor a la t crítica, se observó que no existe diferencia significativa en las medias y la concentración de cromo no se ve afectada al variar el tiempo de reacción. Sin embargo, el tiempo establecido de reacción será de 5 minutos para poder comparar los resultados obtenidos con el método de referencia.

**Caso 2.** Pruebas de tiempos de reacción iguales y menores al valor establecido por el método.

Con la finalidad de identificar si se ve afectado el porcentaje de recuperación al variar el tiempo de reacción, los resultados se presentan a continuación en la tabla 20.

**Tabla 20.** Comparación en la concentración de cromo hexavalente y porcentaje de recuperación de cromo hexavalente al variar los tiempos de reacción.

| Tiempo de reacción | Concentración real | Concentración teórica | Porcentaje Recuperación |
|--------------------|--------------------|-----------------------|-------------------------|
| 3 minutos          | 0,008 mg/L         | 0,05 mg/L             | 62,5%                   |
| 5 minutos          | 0,051 mg/L         | 0,05 mg/L             | 100%                    |

Como se observa en la tabla 20 a los 3 minutos de reacción se obtiene un porcentaje de recuperación de 62.5%, no cumpliendo con el porcentaje de recuperación deseada,

mientras que, a los 5 minutos de reacción se obtiene un porcentaje de recuperación del 100 % confirmando lo que indica el método 8051 HACH.

### 3.2.1.3. Rango lineal

Se realizó una curva de calibración en el rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L, con la finalidad de observar su comportamiento lineal.

En la tabla 21 se observan datos de la curva de calibración del rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.

**Tabla 21.** Datos de la curva de calibración rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L

| Concentración (mg/L) | Absorbancia (abs) |
|----------------------|-------------------|
| 0,02                 | 0,063             |
| 0,04                 | 0,106             |
| 0,06                 | 0,145             |
| 0,08                 | 0,180             |
| 0,1                  | 0,219             |
| 0,12                 | 0,255             |

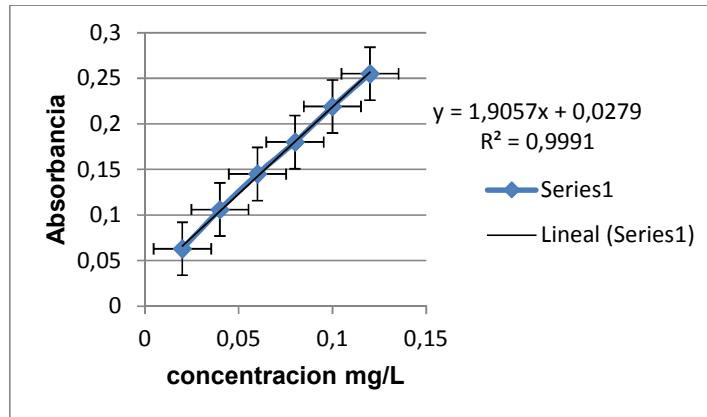
En la tabla 22 se muestra los datos, estimación lineal de la curva de calibración de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.

**Tabla 22.** Estimación lineal curva de calibración rango de 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.

| Estimación lineal                             |           |
|---|-----------|
| Variable                                      | Resultado |
| Pendiente (m)                                 | 1,905714  |
| Intercepto ( $L_0$ )                          | 0,027933  |
| Coefficiente de determinación ( $r^2$ )       | 0,999092  |
| Error de estimación de Y ( $S_{y,x}$ )        | 0,002403  |
| Desviación estándar de la pendiente ( $S_m$ ) | 0,028726  |
| Desviación estándar del intercepto ( $SL_0$ ) | 0,002237  |

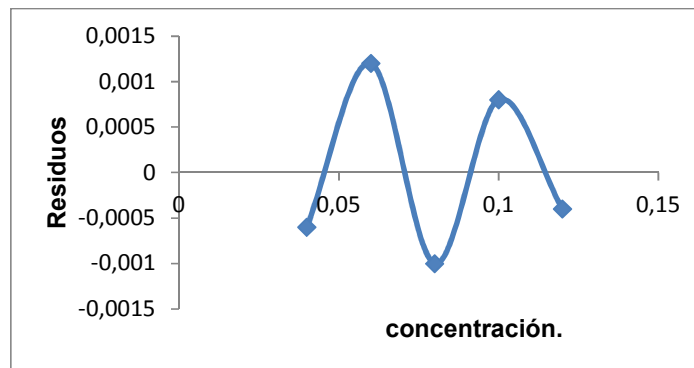
En la figura 11 se observa la gráfica de la curva de calibración de rango 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.





**Figura 11.** Curva de calibración rango de 0,02 mg/L -1,2 mg/L.

Los análisis de residuales de la curva de calibración se presentan en la figura 12.



**Figura 12.** Análisis de residuales curva de calibración rango 0,02 mg/L a 1,2 mg/L.

Como se observa el rango lineal de 0,02 mg/L a 0,120 mg/L cumple con linealidad, esto debido a que su coeficiente de correlación es cercano a 1, además los residuales positivos son aproximadamente igual al número de residuales negativos y se encuentran distribuidos aleatoriamente. Tal como se indica en el apartado 1.6.3 linealidad.

### 3.2.1.4. Blanco encerar

Las pruebas de blanco – encerar se realizaron para observar si existe diferencia significativa al variar la forma de encerar y los resultados se muestran en la tabla 23.

**Tabla 23.** Datos de la curva de calibración utilizando par de celdas.

| Concentración (mg/L) | Absorbancia (abs) | Concentración real (mg/L) | Porcentaje de recuperación |
|----------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0,02                 | 0,075             | 0,021                     | 103,84                     |
| 0,04                 | 0,112             | 0,041                     | 101,69                     |
| 0,06                 | 0,142             | 0,057                     | 94,70                      |
| 0,08                 | 0,183             | 0,079                     | 98,60                      |
| 0,1                  | 0,232             | 0,105                     | 105,24                     |
| 0,12                 | 0,255             | 0,118                     | 98,01                      |

A continuación, en la tabla 24 se observa los resultados obtenidos de la estimación lineal de la curva de calibración.

**Tabla 24.** Estimación lineal de la curva de calibración utilizando par de celdas.

| Estimación lineal                                |           |
|--|-----------|
| Variable   | Resultado |
| Pendiente (m)                                    | 1,858571  |
| Intercepto ( $L_0$ )                             | 0,0364    |
| Coefficiente de determinación ( $r^2$ )          | 0,993529  |
| Error de estimación de Y ( $S_{y,x}$ )           | 0,006275  |
| Desviación estándar de la pendiente ( $S_m$ )    | 0,074997  |
| Desviación estándar del intercepto ( $S_{L_0}$ ) | 0,005841  |

Los datos de la curva de calibración utilizando una celda como blanco se visualizan en la tabla 24.

**Tabla 25.** Datos de la curva de calibración utilizando única celda como blanco.

| Concentración (mg/L) | Absorbancia (abs) | Concentración real (mg/L) | Porcentaje de recuperación |
|----------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0,02                 | 0,066             | 0,020                     | 101,12                     |
| 0,04                 | 0,103             | 0,040                     | 99,03                      |
| 0,06                 | 0,141             | 0,060                     | 99,20                      |
| 0,08                 | 0,184             | 0,082                     | 102,56                     |
| 0,1                  | 0,214             | 0,098                     | 97,77                      |
| 0,12                 | 0,258             | 0,121                     | 100,69                     |

La estimación lineal de la curva de calibración utilizando una sola celda como blanco se observa en la tabla 26.

**Tabla 26** Estimación lineal de la curva de calibración utilizando única celda como blanco.

| Estimación lineal                                |           |
|--|-----------|
| Variable   | Resultado |
| Pendiente (m)                                    | 1,908571  |
| Intercepto ( $L_0$ )                             | 0,0274    |
| Coefficiente de determinación ( $r^2$ )          | 0,998532  |
| Error de estimación de Y ( $S_{y,x}$ )           | 0,003061  |
| Desviación estándar de la pendiente ( $S_m$ )    | 0,036589  |
| Desviación estándar del intercepto ( $S_{L_0}$ ) | 0,00285   |

Para observar si existe diferencia significativa al variar la forma de encerrar, se optó por realizar la prueba t Student comparando medias asumiendo varianzas desiguales, lo cual se muestra en la tabla 27.

**Tabla 27.** Prueba t Student.

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| t estadístico             | 0.1619 |
| Valor crítico t una cola  | 1.8945 |
| Valor crítico t dos colas | 2.3646 |

Como el t calculado es menor al t crítico, no existe diferencia significativa en el uso de celdas para encerrar el equipo y realizar las lecturas, por tal razón, se establece que para las lecturas de cromo hexavalente se puede usar un par de celdas por punto de calibración o solo una única celda utilizada como blanco para cada concentración, esto se aplicó en la realización del ANOVA en la validación.

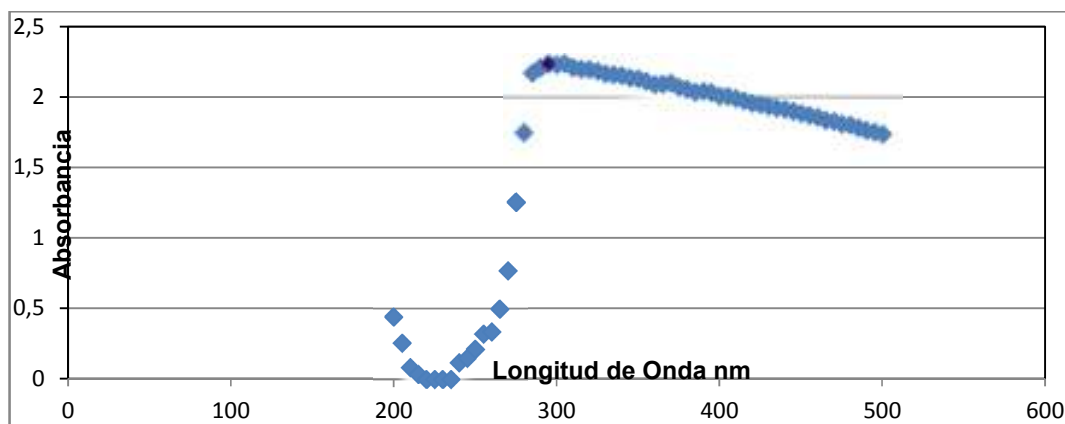
### 3.2.2. Puesta a punto sulfatos

En la puesta a punto de sulfatos consistió en varias etapas como:

- Absorbancia máxima.
- Tiempo de reacción.
- Rango lineal.

#### 3.2.2.1. Absorbancia máxima.

Las pruebas para la determinación de absorbancia máxima, se realizaron mediante un barrido espectral de una solución de sulfatos de 100 mg/L los datos se presentan en la Figura 13.



**Figura 13.** Barrido espectral de una solución de sulfatos de 100 mg/L.

En la figura 13 se observa que la máxima absorbancia se obtuvo a una longitud de onda de 295 nm con un valor de 2,231 de absorbancia. Con este barrido espectral no se confirmó que la longitud de onda para el análisis de sulfatos sea de 450 nm, pero

esto se debe a que el reactivo Sulfaver 4 no genera una reacción colorimétrica, sino genera materia en suspensión lo que causa que las ondas electromagnéticas choquen contra un mayor número de átomos y sean absorbidos por estos (Nieves Abril Díaz, 2018).

### 3.2.2.2. Tiempo de reacción

Se realizaron pruebas de tiempos de reacción iguales y mayores al valor establecido por el método. Los datos del análisis se obtuvieron en valores de concentración, se presentan a continuación en la tabla 28.

**Tabla 28.** Concentración de sulfatos al variar el tiempo de reacción.

| Muestra          | Tiempos de reacción. |              |               |
|------------------|----------------------|--------------|---------------|
|                  | 5 min (mg/L)         | 8 min (mg/L) | 12 min (mg/L) |
| Fortificación 1  | 24,071               | 24,231       | 24,382        |
| Fortificación 2  | 23,615               | 23,733       | 23,364        |
| Fortificación 3  | 23,698               | 23,968       | 24,051        |
| <b>MEDIA</b>     | 23,794               | 23,977       | 23,9323       |
| <b>DES. ESTD</b> | 0,2428               | 0,2491       | 0,5192        |
| <b>VARIANZA</b>  | 0,05899233           | 0,06206633   | 0,26964233    |

Con los datos obtenidos en la tabla 28 se realizó la prueba F para verificar si existe o no diferencia significativa al variar los tiempos de reacción, los datos se presentan en las tablas 29 y 30.

**Tabla 29.** Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 8 minutos.

|             |        |
|-------------|--------|
| F calculado | 1,0521 |
| F crítico   | 19     |

**Tabla 30.** Prueba F para verificar si existe diferencia significativa en las varianzas entre 5 y 18 minutos.

|             |        |
|-------------|--------|
| F calculado | 4,5708 |
| F crítico   | 19     |

Como se indica en las tablas 29 y 30 el F calculado es menor al F crítico por tal razón no existe diferencia significativa al analizar entre 5, 8 y 18 minutos de reacción.

Además, se realizó una prueba T de Student comparando medias asumiendo varianzas iguales, esto se realizó mediante la herramienta que está integrada en el programa de EXCEL, que es análisis de datos. Los resultados se presentan en la tabla 31.

**Tabla 31.** Prueba t Student.

|                           | Entre 5 y 8 minutos | Entre 5 y 12 minutos |
|---------------------------|---------------------|----------------------|
| t estadístico             | -0,9093             | -0,4159              |
| Valor critico t una cola  | 2,1318              | 2,1318               |
| Valor critico t dos colas | 2,7764              | 2,7764               |

El valor crítico que se tomo es el de dos colas, ya que se necesita confirmar si existe diferencia al variar el tiempo de reacción.

Como en ambos casos la t calculada es menor a la t crítica, se observó que no existe diferencia significativa en las medias y la concentración de sulfatos no se ve afectada al variar el tiempo de reacción. Sin embargo, el tiempo establecido de reacción será de 5 minutos para poder comparar los resultados obtenidos con el método de referencia.

### 3.2.2.3. Rango lineal

Se realizó una curva de calibración para observar el comportamiento del método, los resultados se muestran en la tabla 32.

**Tabla 32.** Datos de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L.

| Concentración (mg/L) | Absorbancia (abs) | Concentración real (mg/L) | Porcentaje de residuales |
|----------------------|-------------------|---------------------------|--------------------------|
| 15                   | 0,206             | 15,03                     | 3,25                     |
| 20                   | 0,33              | 20,01                     | 0,61                     |
| 25                   | 0,456             | 25,06                     | 6,00                     |
| 30                   | 0,575             | 29,83                     | -16,69                   |
| 35                   | 0,703             | 34,97                     | -3,29                    |
| 40                   | 0,831             | 40,10                     | 10,12                    |

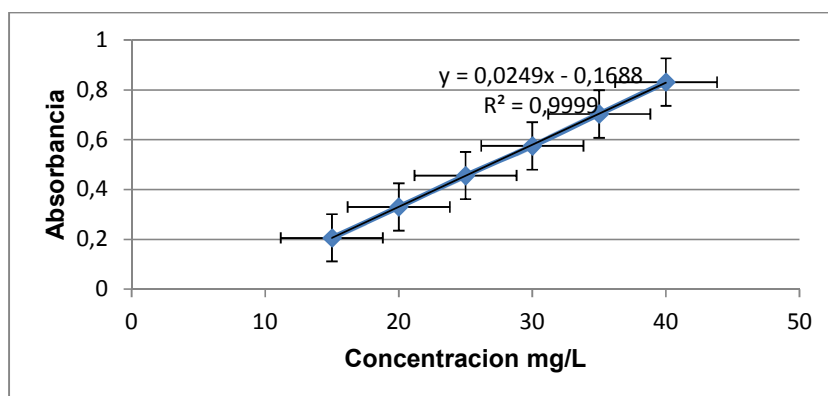
Nota: para el cálculo de la concentración real, porcentaje de recuperación y residuales ver ANEXO IV.

Estimación lineal de la curva de calibración en el rango de 15 mg/L a 40 mg/L se observan en la tabla 33.

**Tabla 33.** Estimación lineal de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L.

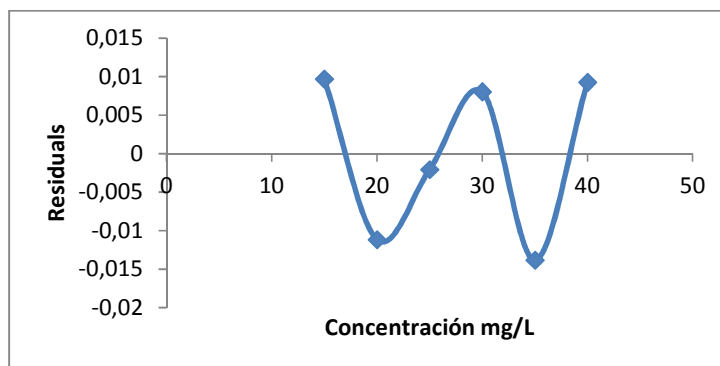
| Estimación lineal                                     |           |
|---|-----------|
| Variable  | Resultado |
| Pendiente (m)   | 0,024931  |
| Intercepto (L <sub>0</sub> )                          | -0,16878  |
| Coefficiente de determinación ( r <sup>2</sup> )      | 0,9999    |
| Error de estimación de Y (Sy,x)                       | 0,002611  |
| Desviación estándar de la pendiente (Sm)              | 0,000125  |
| Desviación estándar del intercepto (SL <sub>0</sub> ) | 0,005841  |

En la figura 14 se observa la curva de calibración del rango de 15 mg/L a 40mg/L obteniendo un R<sup>2</sup> de 0,9999.



**Figura 14.** Curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L.

El análisis de residuales la curva de calibración del rango de 15 mg/L a 40 mg/L se lo representa gráficamente en la figura 15.



**Figura 15.** Análisis de residuales de la curva de calibración rango de 15 mg/L a 40 mg/L.

Como se observa el rango lineal de 15 mg/L a 40 mg/L cumple con linealidad, esto se debe a que su coeficiente de correlación es cercano a 1, además los residuales son pequeños y poseen valores aleatorios tanto positivos como negativos como se indica en el literal 1.6.3 linealidad.

### **3.3. Tratamiento de interferencias.**

#### **3.3.1.1. Interferencias como hexavalente.**

- **Turbidez.**

Para visualizar cuánto afecta la presencia de turbidez, se realizó una fortificación de cromo hexavalente de 0,08 mg/L a la muestra que contenía alta presencia de materia orgánica en suspensión para analizar el porcentaje de analito de interés recuperado. Los datos se presentan en la tabla 34.

**Tabla 34.** Concentraciones y porcentaje de recuperación de cromo hexavalente de la muestra.

| Muestra       | Concentración real | Concentración Teórica | Porcentaje de recuperación |
|---------------|--------------------|-----------------------|----------------------------|
| Agua residual | 0,05 mg/L          | 0,08 mg/L             | 62,5%                      |

Como se observa en la Tabla 34, el porcentaje de recuperación fue menor al 85% por lo que se analizó la razón de la baja la recuperación. Se observó que la muestra presentaba materia orgánica en suspensión, la cual no sedimentaba con el tiempo y al colocar el reactivo no había reacción colorimétrica. Sin embargo, al analizar la muestra por espectrofotometría UV-Vis, la muestra cuantificaba. Esto se debe a que la turbidez de la muestra impedía el paso del haz de luz causando absorbancia, pero no absorbancia de cromo hexavalente ya que no producía la reacción colorimétrica (HACH, 2015).

Para obtener buenos porcentajes de recuperación se realizó el tratamiento que se indicó en el apartado 2.5.1.1 precipitando la materia orgánica y se obtuvo los siguientes resultados que se indican en la tabla 34.



**Tabla 35.** Resultado de la fortificación de cromo hexavalente, precipitando la materia en suspensión.

| Muestra       | Concentración real | Concentración Teórica | Porcentaje de recuperación |
|---------------|--------------------|-----------------------|----------------------------|
| Agua residual | 0,077 mg/L         | 0,08 mg/L             | 96,25%                     |
| Agua residual | 0,295 mg/L         | 0,03 mg/L             | 98,33%                     |

Como se observa en la tabla 35, precipitando la materia en suspensión se logra alcanzar una recuperación de 96%, cumpliendo con el objetivo de obtener el  $\pm 15\%$  de porcentaje de recuperación cumpliendo con los objetivos propuestos que se indican en el apartado 2.7.

Para las demás interferencias que se presentan para el cromo hexavalente se realizó los tratamientos que se mencionaron en el apartado 2.5.1.1.

### 3.3.1.2. Interferencias sulfatos

- **Turbidez:**

Se realizó una fortificación de 20 mg/L de sulfatos a una muestra que contenía alta presencia de carga orgánica, a la cual se la efectuó una filtración con un filtro de porosidad de 21  $\mu\text{m}$  y se obtuvo los resultados que se indican en la tabla 34.

**Tabla 36.** Concentraciones y porcentaje de recuperación de sulfatos.

| Muestra     | Concentración Real | Concentración Teórica | % Recuperación |
|-------------|--------------------|-----------------------|----------------|
| IAMQ-098-17 | 20,879 mg/L        | 20 mg/L               | 104,395%       |
|             | 18,830 mg/L        |                       | 94,15%         |
|             | 19,024 mg/L        |                       | 95,12%         |
| Promedio    |                    |                       | 97,85%         |

Como se observa en la Tabla 36, los porcentajes de recuperación son del 97% cumpliendo con el objetivo de obtener el  $\pm 15\%$  de porcentaje de recuperación que se indicó en el apartado 2.10.

- **Color**

Se realizó una concentración de color de 150 Pt-Co, y se fortificó a una concentración de 25 mg/L con el estándar de sulfatos y se obtuvo los resultados que se indican en la tabla 37.

**Tabla 37.** Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 150 Pt-Co.

| Concentración de color | Concentración obtenida sulfatos mg/L | Concentración esperada sulfatos mg/L | % recuperación de sulfatos |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 150 Pt-Co              | 24,074                               | 25                                   | 96,296%                    |
|                        | 24,071                               |                                      | 96,284%                    |
|                        | 24,069                               |                                      | 96,276%                    |

Se realizó una concentración de color de 200 Pt-Co, y se fortificó a una concentración de 25 mg/L con el estándar de sulfatos y se obtuvo los resultados que se indican en la tabla 38.

**Tabla 38.** Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 200 Pt-Co.

| Concentración de color | Concentración obtenida sulfatos mg/L | Concentración esperada sulfatos mg/L | % recuperación de sulfatos |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 200 Pt-Co              | 23,918                               | 25                                   | 95,672%                    |
|                        | 23,615                               |                                      | 94,46%                     |
|                        | 23,947                               |                                      | 95,788%                    |

Se realizó una concentración de color de 250 Pt-Co, y se fortificó a una concentración de 25 mg/L con el estándar de sulfatos y se obtuvo los resultados que se indican en la tabla 39.

**Tabla 39.** Porcentaje de recuperación de sulfatos con interferencia de color a 250 Pt-Co.

| Concentración de color | Concentración obtenida sulfatos mg/L | Concentración esperada sulfatos mg/L | % recuperación de sulfatos |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 250 Pt-Co              | 23,567                               | 25                                   | 94,268%                    |
|                        | 23,698                               |                                      | 94,792%                    |
|                        | 23,554                               |                                      | 94,216%                    |

Como se observa en la Tabla 37,38 y 39 los porcentajes de recuperación son mayores al 90% cumpliendo con el objetivo de obtener el  $\pm 15\%$  de porcentaje de recuperación.

Por tal razón se comprende que a concentraciones altas de color se puede obtener una buena recuperación de sulfatos.

### 3.4. Validación

#### 3.4.1.1. Validación cromo hexavalente

##### a) Selectividad:

La selectividad del método se la realizó mediante el efecto matriz en las muestras, mediante la eliminación de interferencias del método.

La selectividad se logró mediante la realización de tratamiento de interferencias como se mencionó en el apartado 3.3.1 tabla 35 ya que se redujo los interferentes presentes y se obtuvo una recuperación superior al 90% cumpliendo con el rango de aceptación de porcentaje de recuperación que es de  $85\% \leq \%R \leq 115\%$ .

##### b) Exactitud:

Para la exactitud se realizó la lectura del respectivo material de referencia certificado (MRC), a los cuales se les analizó el porcentaje de recuperación. Los datos obtenidos se pueden observar en la Tabla 40.

**Tabla 40.** Porcentajes de recuperación para un material de referencia de cromo hexavalente.

| Curva | Valor MRC (mg/L) | Valor real MRC | % Recuperación |
|-------|------------------|----------------|----------------|
| 1     | 0,242            | 0,0245         | 98,78          |
| 2     | 0,243            |                | 99,18          |
| 3     | 0,267            |                | 108,98         |
| 4     | 0,238            |                | 97,14          |
| 5     | 0,266            |                | 108,57         |
| 6     | 0,242            |                | 98,78          |
| 7     | 0,244            |                | 99,59          |

Como se observa en la tabla 40, el porcentaje de recuperación no supera el  $\pm 15\%$ , encontrándose dentro del rango señalado en el certificado como criterio de aceptabilidad, es decir el valor que se determinó se encuentra dentro del rango de tolerancia establecido en el certificado (Instituto de Salud Pública, 2012).

### c) Límite de detección y cuantificación.

Para la búsqueda del límite de detección y cuantificación para el parámetro de cromo hexavalente, se preparó un estándar de concentración de 0,01 mg/L, en donde se obtuvo el promedio y desviación estándar de las mediciones, y se calculó el límite de detección y cuantificación mediante la ecuación (6) y (7) respectivamente.

Los resultados de los estándares de concentración de 0,01 mg/L, y su respectivo promedio y desviación estándar de las mediciones, se presentan en la tabla 41.

**Tabla 41.** Límite de detección y Cuantificación.

| Concentración teórica (mg/L) | Concentración obtenida (mg/L) |
|------------------------------|-------------------------------|
| 0,01                         | 0,01                          |
|                              | 0,01                          |
|                              | 0,009                         |
|                              | 0,009                         |
|                              | 0,009                         |
|                              | 0,01                          |
|                              | 0,01                          |
|                              | 0,009                         |
|                              | 0,01                          |
|                              | 0,009                         |
| Promedio                     | 0,01                          |
| Desviación estándar          | 0,0053                        |
| Límite de detección          | 0,0017                        |
| Límite de cuantificación     | 0,0053                        |

Los valores que se presentan en la tabla 41 indican que el límite de detección es de 0,0017 mg/L y el límite de cuantificación es de 0,0053 mg/L encontrándose por debajo de la primera concentración de la curva de calibración que es de 0,02 mg/L, asegurando que en este punto la cuantificación será precisa y exacta.

### d) Linealidad

La linealidad se determinó al realizar 7 curvas de calibración, en donde se evaluó los coeficientes de correlación y los análisis de residuales para cada curva, además se obtuvo el cálculo de la pendiente y del intercepto tanto máximo como mínimo ya que

estos parámetros se tomaron para los criterios de aceptación y rechazo para curvas de calibración que se realizaron.

A continuación, en la tabla 42 se indican las 7 curvas de calibración que se realizaron, en donde se detallan la absorbancia por cada punto de la curva de calibración

**Tabla 42.** Curvas de calibración validación.

| Concentración (mg/L) | Absorbancias (abs) |             |             |             |             |             |             |
|----------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                      | Curva día 1        | Curva día 2 | Curva día 3 | Curva día 4 | Curva día 5 | Curva día 6 | Curva día 7 |
| 0,02                 | 0,079              | 0,060       | 0,070       | 0,059       | 0,074       | 0,066       | 0,056       |
| 0,04                 | 0,112              | 0,096       | 0,107       | 0,101       | 0,108       | 0,103       | 0,094       |
| 0,06                 | 0,145              | 0,133       | 0,156       | 0,141       | 0,150       | 0,141       | 0,137       |
| 0,08                 | 0,178              | 0,179       | 0,183       | 0,183       | 0,196       | 0,184       | 0,181       |
| 0,10                 | 0,224              | 0,217       | 0,225       | 0,226       | 0,234       | 0,214       | 0,218       |
| 0,12                 | 0,261              | 0,249       | 0,262       | 0,259       | 0,265       | 0,258       | 0,250       |

La estimación lineal de las 7 curvas de calibración se representa en la tabla 43

**Tabla 43.** Estimación lineal de las curvas de calibración.

| Estimación lineal                                |             |             |             |             |             |             |             |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Variable   | Curva día 1 | Curva día 2 | Curva día 3 | Curva día 4 | Curva día 5 | Curva día 6 | Curva día 7 |
| Pendiente (m)                                    | 1,8271      | 1,9343      | 1,9157      | 2,0243      | 1,9700      | 1,9086      | 1,9800      |
| Intercepto ( $L_0$ )                             | 0,0044      | 0,0203      | 0,0331      | 0,0198      | 0,0333      | 0,0274      | 0,0174      |
| Coefficiente de determinación ( $r^2$ )          | 0,9962      | 0,9980      | 0,9967      | 0,9989      | 0,9970      | 0,9985      | 0,9976      |
| Error de estimación de Y ( $S_{y,x}$ )           | 0,0047      | 0,0036      | 0,0046      | 0,0028      | 0,0045      | 0,0031      | 0,0041      |
| Desviación estándar de la pendiente ( $S_m$ )    | 0,0562      | 0,0435      | 0,0551      | 0,0335      | 0,0543      | 0,0366      | 0,0490      |
| Desviación estándar del intercepto ( $S_{L_0}$ ) | 0,044       | 0,0034      | 0,0043      | 0,0026      | 0,0042      | 0,0028      | 0,0038      |

Criterios de aceptación y rechazo obtenido de las 7 curvas de calibración se observan en la Tabla 44.

**Tabla 44.** Criterios de aceptación y rechazo obtenido de las 7 curvas de calibración.

| Curvas de calibración | m              | $m_{\text{mínima}}$ | $m_{\text{máxima}}$ | $L_0$          | $L_{0\text{mínimo}}$ | $L_{0\text{máximo}}$ | $r^2$          |
|-----------------------|----------------|---------------------|---------------------|----------------|----------------------|----------------------|----------------|
| 1                     | 1,82714        | 1,67119             | 1,98310             | 0,03860        | 0,02645              | 0,05075              | 0,99623        |
| 2                     | 1,93429        | 1,80885             | 2,05972             | 0,02027        | 0,01050              | 0,03004              | 0,99798        |
| 3                     | 1,91571        | 1,75692             | 2,07451             | 0,03307        | 0,02070              | 0,04543              | 0,99670        |
| 4                     | 2,02429        | 1,92788             | 2,12070             | 0,01980        | 0,01229              | 0,02731              | 0,99891        |
| 5                     | 1,97000        | 1,81362             | 2,12638             | 0,03327        | 0,02109              | 0,04545              | 0,99697        |
| 6                     | 1,90857        | 1,80318             | 2,01396             | 0,02740        | 0,02109              | 0,04545              | 0,99853        |
| 7                     | 1,9800         | 1,83890             | 2,12110             | 0,01740        | 0,02109              | 0,04545              | 0,99756        |
| <b>Total</b>          | <b>1,93714</b> | <b>1,67119</b>      | <b>2,12638</b>      | <b>0,02711</b> | <b>0,01050</b>       | <b>0,05075</b>       | <b>0,99623</b> |

Como se observa en la tabla 44 el coeficiente de correlación cumple con los objetivos de validación al obtener una función respuesta con  $r^2 \geq 0.995$ , por lo que se comprueba que existe una correlación entre la concentración y la señal analítica, además mediante el análisis de residuales, que se encuentra en el Anexo III, se observa que se encuentran valores positivos como negativos y los residuales se encuentran distribuidos aleatoriamente confirmando la linealidad en las curvas de calibración realizadas.

### 3.4.1.2. Diseño estadístico de validación del parámetro cromo hexavalente.

Para obtener las concentraciones esperadas en el análisis de varianza se realizó las fortificaciones necesarias a cada una de las muestras, los datos del ANOVA se presentan en la tabla 45.

**Tabla 45.** Datos estadísticos ANOVA.

| Observación<br>Nº | Concentración<br>esperada | Concentración Obtenida |                     |                     |                     |
|-------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                   |                           | Analista 1<br>día 1    | Analista 1<br>día 2 | Analista 2<br>día 3 | Analista 2<br>día 4 |
| 1                 | 0,04                      | 0,039                  | 0,039               | 0,042               | 0,040               |
| 2                 | 0,04                      | 0,038                  | 0,039               | 0,043               | 0,041               |
| 3                 | 0,04                      | 0,039                  | 0,039               | 0,041               | 0,037               |
| 4                 | 0,04                      | 0,040                  | 0,039               | 0,038               | 0,039               |
| 5                 | 0,08                      | 0,079                  | 0,077               | 0,074               | 0,081               |
| 6                 | 0,08                      | 0,079                  | 0,081               | 0,080               | 0,083               |
| 7                 | 0,08                      | 0,078                  | 0,080               | 0,081               | 0,081               |
| 8                 | 0,08                      | 0,080                  | 0,081               | 0,082               | 0,080               |
| 9                 | 0,10                      | 0,094                  | 0,096               | 0,098               | 0,097               |
| 10                | 0,10                      | 0,092                  | 0,097               | 0,097               | 0,091               |
| 11                | 0,10                      | 0,094                  | 0,095               | 0,097               | 0,095               |
| 12                | 0,10                      | 0,090                  | 0,102               | 0,094               | 0,095               |
| 13                | 0,30                      | 0,315                  | 0,290               | 0,295               | 0,315               |
| 14                | 0,30                      | 0,305                  | 0,295               | 0,310               | 0,295               |
| 15                | 0,30                      | 0,310                  | 0,295               | 0,300               | 0,285               |
| 16                | 0,30                      | 0,295                  | 0,305               | 0,290               | 0,295               |
| 17                | 0,60                      | 0,624                  | 0,624               | 0,632               | 0,632               |
| 18                | 0,60                      | 0,608                  | 0,608               | 0,616               | 0,632               |
| 19                | 0,60                      | 0,608                  | 0,608               | 0,608               | 0,616               |
| 20                | 0,60                      | 0,608                  | 0,616               | 0,608               | 0,640               |



### 3.4.1.3. Análisis estadístico ANOVA concentración 0,04 mg/L.

En la tabla 46 se observa toda la información obtenida en el análisis de varianza de la concentración de 0,04 mg/L, la muestra que se utilizó fue agua potable.

**Tabla 46.** Resultados ANOVA 0,04 mg/L.

| Concentración esperada     | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|----------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                            | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,04                       | 0,039                  | 0,039            | 0,042            | 0,040            |
| 0,04                       | 0,038                  | 0,039            | 0,043            | 0,041            |
| 0,04                       | 0,039                  | 0,039            | 0,041            | 0,037            |
| 0,04                       | 0,040                  | 0,039            | 0,038            | 0,039            |
| <b>Suma</b>                | 0,16                   | 0,16             | 0,16             | 0,16             |
| <b>Promedio</b>            | 0,039                  | 0,039            | 0,041            | 0,039            |
| <b>Promedio general</b>    | 0,0396                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b> | 0,0081                 | 0                | 0,002160         | 0,001707         |
| <b>Varianza</b>            | 0,000001               | 0,000001         | 0,000001         | 0,006728         |

En la tabla 47 se aprecia los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 47.** Prueba FISHER concentración 0,04 mg/L

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,00001                         | 3                  | 0,00000                        | 3,490     | 1,808       |
| Dentro de grupos      | 0,00002                         | 12                 | 0,00000                        |           |             |
| Total                 | 0,000                           | 15                 | 0,00001                        |           |             |

La prueba Fisher indica que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos, ya que la F calculada es menor a la F crítica demostrando que en este punto el método es preciso, además los valores obtenidos para la prueba Fisher no difieren apreciablemente.

### 3.4.1.4. Análisis estadístico ANOVA concentración 0,08 mg/L.

En la tabla 48 se observa la información obtenida en el análisis de varianza, la muestra que se utilizó en este caso fueron de aguas naturales de DMQ.

**Tabla 48.** Resultados ANOVA 0,08 mg/L.

| Concentración esperada     | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|----------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                            | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,08                       | 0,079                  | 0,077            | 0,074            | 0,081            |
| 0,08                       | 0,079                  | 0,081            | 0,080            | 0,083            |
| 0,08                       | 0,078                  | 0,080            | 0,081            | 0,081            |
| 0,08                       | 0,080                  | 0,081            | 0,082            | 0,080            |
| <b>Suma</b>                | 0,32                   | 0,32             | 0,32             | 0,32             |
| <b>Promedio</b>            | 0,079                  | 0,080            | 0,079            | 0,081            |
| <b>Promedio general</b>    | 0,0798                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b> | 0,00081                | 0,00189          | 0,003593         | 0,001258         |
| <b>Varianza</b>            | 0,00000                | 0,00000          | 0,000001         | 0,00000          |

En la tabla 49 se observa que los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 49.** Prueba FISHER concentración 0,08 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,00001                         | 3                  | 0,00000                        | 3,490     | 0,867       |
| Dentro de grupos      | 0,00006                         | 12                 | 0,00000                        |           |             |
| Total                 | 0,000                           | 15                 | 0,00001                        |           |             |

En la tabla 49 se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración de 0,08 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, indicando que los datos obtenidos son estadísticamente iguales.

### 3.4.1.5. Análisis estadístico ANOVA concentración 0,1 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue de origen de descargas industriales (Textil) del DMQ. Los resultados se presentan en la tabla 50.

**Tabla 50.** Resultados ANOVA 0,1 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,1                           | 0,094                  | 0,096            | 0,098            | 0,097            |
| 0,1                           | 0,092                  | 0,097            | 0,097            | 0,091            |
| 0,1                           | 0,094                  | 0,095            | 0,097            | 0,095            |
| 0,1                           | 0,090                  | 0,102            | 0,094            | 0,095            |
| <b>Suma</b>                   | 0,37                   | 0,39             | 0,39             | 0,38             |
| <b>Promedio</b>               | 0,093                  | 0,098            | 0,097            | 0,095            |
| <b>Promedio general</b>       | 0,0953                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 0,001914               | 0,003109         | 0,001732         | 0,002516         |
| <b>Varianza</b>               | 0,00000                | 0,00001          | 0,00000          | 0,00001          |

En la tabla 51 se observan los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 51.** Prueba FISHER concentración 0,1 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,00006                         | 3                  | 0,00002                        | 3,490     | 3,471       |
| Dentro de grupos      | 0,00007                         | 12                 | 0,00001                        |           |             |
| Total                 | 0,000                           | 15                 | 0,00003                        |           |             |

En la tabla 51 se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 0,1 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, dando

como resultado que no existe una variación relevante en los datos obtenidos en esta concentración.

### 3.4.1.6. Análisis estadístico ANOVA concentración 0,3 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó en los ensayos fue de origen de la red hídrica del DMQ. Los resultados de los ensayos se presentan en la tabla 52.

**Tabla 52.** Resultados ANOVA 0,3 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,30                          | 0,315                  | 0,290            | 0,295            | 0,315            |
| 0,30                          | 0,305                  | 0,295            | 0,310            | 0,295            |
| 0,30                          | 0,310                  | 0,295            | 0,300            | 0,285            |
| 0,30                          | 0,295                  | 0,305            | 0,290            | 0,295            |
| <b>Suma</b>                   | 1,23                   | 1,19             | 1,20             | 1,19             |
| <b>Promedio</b>               | 0,306                  | 0,296            | 0,299            | 0,298            |
| <b>Promedio general</b>       | 0,2997                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 0,008539               | 0,006291         | 0,0008539        | 0,012583         |
| <b>Varianza</b>               | 0,00007                | 0,00004          | 0,00007          | 0,00016          |

En la tabla 53 se observan los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 53.** Prueba FISHER concentración 0,3 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F critica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,00024                         | 3                  | 0,00008                        | 3,490     | 0,939       |
| Dentro de grupos      | 0,00103                         | 12                 | 0,00009                        |           |             |
| Total                 | 0,000                           | 15                 | 0,00017                        |           |             |

En la tabla 53 se aprecia que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 0,3 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, y no existe mucha variación en los datos obtenidos.

### 3.4.1.7. Análisis estadístico ANOVA concentración 0,6 mg/L

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue de origen de descargas industriales del DMQ.

**Tabla 54.** Resultados ANOVA 0,6 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,60                          | 0,624                  | 0,624            | 0,632            | 0,632            |
| 0,60                          | 0,608                  | 0,608            | 0,616            | 0,632            |
| 0,60                          | 0,608                  | 0,608            | 0,608            | 0,616            |
| 0,60                          | 0,608                  | 0,616            | 0,608            | 0,640            |
| <b>Suma</b>                   | 2,45                   | 2,46             | 2,46             | 2,52             |
| <b>Promedio</b>               | 0,612                  | 0,614            | 0,616            | 0,630            |
| <b>Promedio general</b>       | 0,6180                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 0,008                  | 0,007659         | 0,01131          | 0,0100           |
| <b>Varianza</b>               | 0,00006                | 0,00006          | 0,00013          | 0,00010          |

En la tabla 55 se observa los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 55.** Prueba FISHER concentración 0,6 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,00080                         | 3                  | 0,00027                        | 3,490     | 3,030       |
| Dentro de grupos      | 0,00106                         | 12                 | 0,00009                        |           |             |
| Total                 | 0,000                           | 15                 | 0,00035                        |           |             |

En la tabla 55 se observa que no hay diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 0,6 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, indicando que no existe una dispersión relevante de datos en esta concentración.

#### 3.4.1.8. Veracidad del método

Para la determinación de la veracidad se realizó los cálculos que se indican en el anexo III. El porcentaje de recuperación en muestras se observa en la tabla 56.

**Tabla 56. Porcentaje de recuperación en muestras.**

| Parámetro (mg/L)           | Valor (mg/L) |
|----------------------------|--------------|
| Concentración analizada    | 0            |
| Concentración esperada     | 0,04         |
| Concentración adicionada   | 0,04         |
| Concentración obtenida     | 0,039        |
| Porcentaje de recuperación | 97,5%        |

La veracidad para cada nivel de concentración del ANOVA se indica en la tabla 57.

**Tabla 57.** Veracidad global obtenida a los diferentes niveles de concentración.

| Nivel de concentración en (mg/L) | Porcentaje de recuperación global |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 0,04                             | 98,90                             |
| 0,08                             | 99,76                             |
| 0,10                             | 95,25                             |
| 0,30                             | 99,89                             |
| 0,60                             | 103,00                            |

Como se observa en la tabla 57 los porcentajes de recuperación cumplen con los objetivos de validación obteniéndose valores de recuperación mayor de 85 %, obteniendo una buena recuperación del analito de interés.

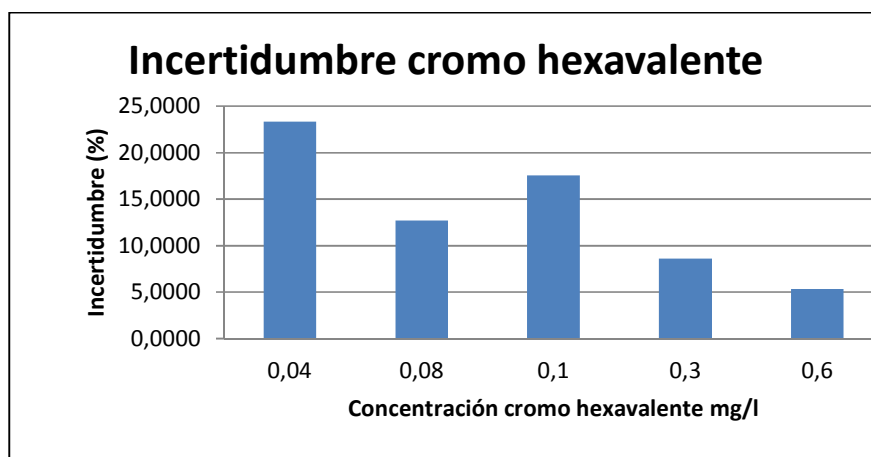
### 3.4.1.9. Precisión e incertidumbre del método.

La precisión se la obtuvo del cálculo del ANOVA, y se la demuestra en la siguiente tabla 58.

**Tabla 58.** Resultados de los parámetros de validación

| Nivel de Concentración | Repetibilidad  |                  | Reproducibilidad |                  | U expandida |
|------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
|                        | S <sub>r</sub> | %CV <sub>r</sub> | S <sub>R</sub>   | %CV <sub>R</sub> | %U (k=2)    |
| 0,04                   | 0,0014         | 3,6301           | 0,0016           | 3,9799           | 23,34       |
| 0,08                   | 0,0022         | 2,7127           | 0,0022           | 2,7127           | 12,70       |
| 0,100                  | 0,0024         | 2,4992           | 0,0030           | 3,1786           | 17,57       |
| 0,300                  | 0,0093         | 3,0333           | 0,0093           | 3,0933           | 8,61        |
| 0,600                  | 0,0094         | 1,5979           | 0,0115           | 1,8638           | 5,34        |
| Global                 | 0,0094         | 3,6301           | 0,0115           | 3,9799           | 23,34       |

Se observa en la tabla 56 los porcentajes de los coeficientes de variación de cada nivel de concentración, comprobando que la dispersión de datos es mínima indicando que el método es preciso, además cumplen con los objetivos de la validación, es decir, que la dispersión de los datos se encuentra por debajo del 5% .Además el valor de la incertidumbre del método global es de 23,34% encontrándose por debajo del valor que se estipuló en los objetivos de validación y cumpliendo con los objetivos propuestos y representando un nivel de confianza del 95 % dentro del cual se encontrará el valor real. Los porcentajes de incertidumbre por cada nivel se presentan en la figura 16.



**Figura 16.** Gráfico de incertidumbre expresada en porcentajes.

En la figura 16 se observa la incertidumbre del método de cromo hexavalente expresada en porcentajes, en donde se analiza que ésta cumple con los objetivos de la validación propuestos.

La incertidumbre se la realizó mediante la sumatoria de todos los parámetros que se mencionaron en la figura 8.

### 3.4.1.10. Validación sulfatos

#### a) Selectividad

La selectividad del método se la realizó mediante el efecto matriz en las muestras, esto se logró mediante la realización de tratamiento de interferencias como se mencionó en el apartado 3.3.2., ya que se redujo los interferentes presentes y se obtuvo una recuperación mayor al 90% cumpliendo con el rango de aceptación de porcentaje de recuperación que es de  $85\% \leq \%R \leq 115\%$ .

#### b) Exactitud

Para la exactitud se realizó la lectura del material de referencia certificado (MRC), a los cuales se obtuvo el porcentaje de recuperación. Los datos obtenidos se pueden observar en la tabla 59.

**Tabla 59.** Porcentajes de recuperación para un material de referencia de sulfatos.

| Curva | Valor MRC (mg/L) | Valor real MRC | % Recuperación |
|-------|------------------|----------------|----------------|
| 1     | 131,23           | 135            | 97,21          |
| 2     | 126,54           |                | 93,74          |
| 3     | 131,45           |                | 97,37          |
| 4     | 137,36           |                | 101,75         |
| 5     | 136,13           |                | 100,84         |
| 6     | 135,10           |                | 100,07         |
| 7     | 134.15           |                | 99.37          |

Se observa en el tabla 59 el porcentaje de recuperación no supera el  $\pm 15\%$ , encontrándose en el rango señalado en el certificado, donde los valores se encuentran dentro del rango de tolerancia establecido (Instituto de Salud Pública, 2012).



**e) Límite de detección y cuantificación.**

Para el cálculo del límite de detección y cuantificación para el parámetro de sulfatos, se preparó un estándar de concentración de 15 mg/L, en donde se obtuvo el promedio y desviación estándar de las mediciones, y se calculó el límite de detección y cuantificación mediante la ecuación (6) y (7). Los datos se presentan en la tabla 60.

**Tabla 60.** Límite de detección y cuantificación.

| Concentración teórica (mg/L) | Concentración obtenida (mg/L) |
|------------------------------|-------------------------------|
| 15                           | 14,081                        |
|                              | 13,895                        |
|                              | 13,971                        |
|                              | 13,257                        |
|                              | 13,371                        |
|                              | 13,347                        |
|                              | 13,621                        |
|                              | 13,991                        |
|                              | 13,748                        |
|                              | 13,466                        |
| Promedio                     | 13,6748                       |
| Desviación estándar          | 0,303197332                   |
| Límite de detección          | 0,997519223                   |
| Límite de cuantificación     | 3,031973321                   |

En la tabla 60 se observa los valores de límite de detección que es de 0,9975 mg/L y el límite de cuantificación es 3,0319 mg/L, encontrándose por debajo del primer punto de la concentración de la curva de calibración que es de 15 mg/L, en donde asegura que en este punto la cuantificación será precisa y exacta.

**f) Linealidad**

La linealidad se determinó al realizar 6 curvas de calibración, en donde se pudo evaluar los coeficientes de correlación y los análisis de residuales para cada curva, además se realizó el cálculo de la pendiente y del intercepto tanto máximo como mínimo ya que estos parámetros se tomaron para los criterios de aceptación y rechazo para curvas de calibración que se realizarán.

En la tabla 61 observar los datos obtenidos de las 6 curvas de calibración, en donde se detallan las absorbancias obtenidas.

**Tabla 61.** Curvas de calibración validación.

| Concentración (mg/L) | Absorbancias (abs) |             |             |             |             |             |             |
|----------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                      | Curva día 1        | Curva día 2 | Curva día 3 | Curva día 4 | Curva día 5 | Curva día 6 | Curva día 7 |
| 15,0                 | 0,257              | 0,268       | 0,206       | 0,237       | 0,243       | 0,206       | 0,224       |
| 20,0                 | 0,4                | 0,370       | 0,330       | 0,351       | 0,341       | 0,347       | 0,354       |
| 25,0                 | 0,512              | 0,506       | 0,456       | 0,458       | 0,469       | 0,447       | 0,464       |
| 30,0                 | 0,659              | 0,634       | 0,575       | 0,580       | 0,598       | 0,604       | 0,590       |
| 35,0                 | 0,767              | 0,761       | 0,703       | 0,726       | 0,695       | 0,726       | 0,716       |
| 40,0                 | 0,903              | 0,887       | 0,831       | 0,832       | 0,837       | 0,841       | 0,863       |

La estimación lineal de las curvas de calibración realizadas se presenta en la tabla 62.

**Tabla 62.** Estimación lineal de las curvas de calibración.

| Variable   | Curva día 1 | Curva día 2 | Curva día 3 | Curva día 4 | Curva día 5 | Curva día 6 |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Pendiente (m)                                    | 0,0256      | 0,0251      | 0,0249      | 0,0241      | 0,02378     | 0,0255      |
| Intercepto ( $L_0$ )                             | -0,1207     | -0,1198     | -0,1688     | -0,1328     | -0,1234     | -0,0174     |
| Coefficiente de determinación ( $r^2$ )          | 0,9987      | 0,9989      | 0,9999      | 0,9979      | 0,9977      | 0,99978     |
| Error de estimación de Y ( $S_{y,x}$ )           | 0,0097      | 0,0085      | 0,00026     | 0,0117      | 0,0119      | 0,0126      |
| Desviación estándar de la pendiente ( $S_m$ )    | 0,0005      | 0,0004      | 0,001       | 0,0006      | 0,0006      | 0,0006      |
| Desviación estándar del intercepto ( $S_{L_0}$ ) | 0,0133      | 0,0117      | 0,0036      | 0,0161      | 0,0164      | 0,0174      |
| T critica  | 2,7764      | 2,8802      | 2,8802      | 2,8802      | 2,8802      | 2,8802      |

Los criterios de aceptación y rechazo obtenidos de las 6 curvas de calibración se presentan en la tabla 63.

**Tabla 63.** Criterios de aceptación y rechazo obtenidos de las 6 curvas de calibración

| <b>Rectas de calibración</b> | <b>m</b>       | <b>m<sub>mínima</sub></b> | <b>m<sub>máxima</sub></b> | <b>Lo</b>      | <b>Lo<sub>mínimo</sub></b> | <b>Lo<sub>máximo</sub></b> | <b>r<sup>2</sup></b> |
|------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|
| <b>1</b>                     | 0,02559        | 0,02431                   | 0,02687                   | 0,12069        | 0,15764                    | 0,08373                    | 0,99870              |
| <b>2</b>                     | 0,02512        | 0,02395                   | 0,02629                   | 0,11980        | 0,15363                    | 0,08597                    | 0,99895              |
| <b>3</b>                     | 0,02493        | 0,02457                   | 0,02529                   | 0,16878        | 0,17914                    | 0,15843                    | 0,99990              |
| <b>4</b>                     | 0,02413        | 0,02252                   | 0,02573                   | 0,13279        | 0,17905                    | 0,08653                    | 0,99787              |
| <b>5</b>                     | 0,02378        | 0,02214                   | 0,02541                   | 0,12337        | 0,17053                    | 0,17053                    | 0,99772              |
| <b>6</b>                     | 0,02554        | 0,02380                   | 0,02728                   | 0,17377        | 0,17053                    | 0,07621                    | 0,99776              |
| <b>Total</b>                 | <b>0,02471</b> | <b>0,02214</b>            | <b>0,02687</b>            | <b>0,13309</b> | <b>0,17914</b>             | <b>0,08373</b>             | <b>0,99772</b>       |

Como se observa en la tabla 63 el coeficiente de correlación cumple con los objetivos de validación al obtener una función respuesta con  $r^2 \geq 0,995$ , por lo que se comprueba que existe una correlación entre la concentración y la señal analítica además mediante el análisis de residuales se puede observar que se encuentran valores positivos como negativos y los residuales se encuentran distribuidos aleatoriamente confirmando la linealidad en las curvas de calibración realizadas. Las curvas de calibración se encuentran en el ANEXO III.

### 3.4.1.11. Diseño estadístico de validación del parámetro sulfatos.

Para el análisis de varianza se utilizó varias muestras, las cuales se les realizó las fortificaciones necesarias para llegar a la concentración esperada. Los datos de los análisis de los presentan en la tabla 64.

**Tabla 64.** Datos estadísticos ANOVA.

| Observación.<br>Nº | Concentración<br>esperada | Concentración Obtenida |                     |                     |                     |
|--------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                    |                           | Analista 1<br>día 1    | Analista 1<br>día 2 | Analista 2<br>día 3 | Analista 2<br>día 4 |
| 1                  | 15,00                     | 14,337                 | 15,618              | 15,228              | 15,257              |
| 2                  | 15,00                     | 14,797                 | 14,371              | 15,105              | 15,204              |
| 3                  | 15,00                     | 15,079                 | 14,516              | 14,951              | 15,000              |
| 4                  | 15,00                     | 15,114                 | 14,898              | 15,111              | 14,631              |
| 5                  | 30,00                     | 29,652                 | 29,701              | 30,420              | 29,790              |
| 6                  | 30,00                     | 30,431                 | 29,764              | 30,419              | 29,800              |
| 7                  | 30,00                     | 30,177                 | 29,936              | 29,606              | 29,658              |
| 8                  | 30,00                     | 30,691                 | 29,293              | 30,190              | 29,784              |
| 9                  | 100,00                    | 104,84                 | 102,71              | 99,82               | 104,34              |
| 10                 | 100,00                    | 102,93                 | 102,89              | 102,72              | 104,63              |
| 11                 | 100,00                    | 102,85                 | 104,62              | 102,30              | 101,79              |
| 12                 | 100,00                    | 103,49                 | 103,31              | 97,85               | 102,37              |
| 13                 | 250,00                    | 252,36                 | 251,95              | 259,54              | 261,21              |
| 14                 | 250,00                    | 252,36                 | 258,70              | 253,13              | 260,95              |
| 15                 | 250,00                    | 258,97                 | 254,55              | 255,78              | 252,14              |
| 16                 | 250,00                    | 257,84                 | 253,95              | 256,00              | 254,12              |
| 17                 | 500,00                    | 486,42                 | 481,58              | 481,88              | 485,42              |
| 18                 | 500,00                    | 485,24                 | 487,40              | 487,12              | 489,72              |
| 19                 | 500,00                    | 491,10                 | 486,82              | 495,16              | 483,02              |
| 20                 | 500,00                    | 487,58                 | 489,50              | 483,06              | 486,06              |
| 21                 | 1000,00                   | 968,00                 | 956,85              | 988,53              | 957,03              |
| 22                 | 1000,00                   | 961,60                 | 979,70              | 911,22              | 963,27              |
| 23                 | 1000,00                   | 960,85                 | 970,30              | 955,80              | 938,91              |
| 24                 | 1000,00                   | 973,40                 | 990,05              | 952,62              | 947,46              |

### 3.4.1.12. Análisis estadístico ANOVA concentración 15mg/L.

En la tabla 65 se observa toda la información obtenida en el análisis de varianza de la concentración de 15 mg/L, la muestra que se utilizó fue un estándar de sulfatos.

**Tabla 65.** Resultados ANOVA 15 mg/L.

| Concentración esperada     | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|----------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                            | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 0,04                       | 15,00                  | 14,337           | 15,618           | 15,228           |
| 0,04                       | 15,00                  | 14,797           | 14,371           | 15,105           |
| 0,04                       | 15,00                  | 15,079           | 14,516           | 14,951           |
| 0,04                       | 15,00                  | 15,114           | 14,898           | 15,111           |
| <b>Suma</b>                | 59,33                  | 59,40            | 60,40            | 60,09            |
| <b>Promedio</b>            | 14,83                  | 14,85            | 15,10            | 15,02            |
| <b>Promedio general</b>    | 14,951                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b> | 0,3590                 | 0,5577           | 0,1136           | 0,2838           |
| <b>Varianza</b>            | 0,12893                | 0,31104          | 0,01291          | 0,08057          |

En la tabla 66 se aprecian los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 66.** Prueba FISHER concentración 15 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,20514                         | 3                  | 0,06838                        | 3,490     | 0,513       |
| Dentro de grupos      | 1,60034                         | 12                 | 0,13336                        |           |             |
| Total                 | 1,805                           | 15                 | 0,20174                        |           |             |

En la prueba Fisher se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos, ya que la F calculada es menor a la F crítica demostrando que no existe alta dispersión en los datos obtenidos.

### 3.4.1.13. Análisis estadístico ANOVA concentración 30 mg/L.

En la tabla 67 se observa la información obtenida en el análisis de varianza, la muestra que se utilizó fue de agua potable del DMQ para llegar a la concentración esperada se realizó una fortificación.

**Tabla 67.** Resultados ANOVA 30 mg/L.

| Concentración esperada     | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|----------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                            | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 30,00                      | 29,652                 | 29,701           | 30,420           | 29,790           |
| 30,00                      | 30,431                 | 29,764           | 30,419           | 29,800           |
| 30,00                      | 30,177                 | 29,936           | 29,606           | 29,658           |
| 30,00                      | 30,691                 | 29,293           | 30,190           | 29,784           |
| <b>Suma</b>                | 120,64                 | 118,69           | 120,64           | 119,03           |
| <b>Promedio</b>            | 30,24                  | 29,67            | 30,16            | 29,76            |
| <b>Promedio general</b>    | 29,957                 |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b> | 0,443311               | 0,272416         | 0,384053         | 0,06699          |
| <b>Varianza</b>            | 0,19652                | 0,07421          | 0,14750          | 0,00449          |

En la tabla 68 se observa que los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 68.** Prueba FISHER concentración 30 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 0,95799                         | 3                  | 0,31933                        | 3,490     | 3,022       |
| Dentro de grupos      | 1,26816                         | 12                 | 0,10568                        |           |             |
| Total                 | 2,226                           | 15                 | 0,42501                        |           |             |

En la tabla 68 se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos, ya que la F calculada es menor a la F crítica, indicando que los datos obtenidos son estadísticamente iguales y no existiendo una varianza relevante de los datos.

### 3.4.1.14. Análisis estadístico ANOVA concentración 100 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue de origen de la red hídrica del DMQ (Río Pita). Los datos obtenidos se los presenta en la tabla 69.

**Tabla 69.** Resultados ANOVA 100 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 100,00                        | 104,84                 | 102,71           | 99,82            | 104,34           |
| 100,00                        | 102,93                 | 102,89           | 102,72           | 104,63           |
| 100,00                        | 102,85                 | 104,62           | 102,30           | 101,79           |
| 100,00                        | 103,49                 | 103,31           | 97,85            | 102,37           |
| <b>Suma</b>                   | 414,11                 | 413,54           | 402,68           | 413,13           |
| <b>Promedio</b>               | 103,53                 | 103,38           | 100,67           | 103,28           |
| <b>Promedio general</b>       | 102,717                |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 0,92295                | 0,86417          | 2,27662          | 1,4141           |
| <b>Varianza</b>               | 0,85185                | 0,74679          | 5,18302          | 1,99990          |

En la tabla 70 se observa los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 70.** Prueba FISHER concentración 100 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F critica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 22,43632                        | 3                  | 7,47877                        | 3,490     | 3,407       |
| Dentro de grupos      | 26,34470                        | 12                 | 2,19539                        |           |             |
| Total                 | 48,781                          | 15                 | 9,67417                        |           |             |

En la tabla 70 se analiza que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 100 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, identificando que no existe una variación total de datos en esta concentración.

### 3.4.1.15. Análisis estadístico ANOVA concentración 250 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue proveniente de la red hídrica del DMQ (Río San Pedro) para llegar a la concentración esperada se realizó una fortificación. Los datos de los ensayos se los presenta en la tabla 71.

**Tabla 71.** Resultados ANOVA 250 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 250,00                        | 252,36                 | 251,95           | 259,54           | 261,21           |
| 250,00                        | 252,36                 | 258,70           | 253,13           | 260,95           |
| 250,00                        | 258,97                 | 254,55           | 255,78           | 252,14           |
| 250,00                        | 257,84                 | 253,95           | 256,00           | 254,12           |
| <b>Suma</b>                   | 1021,53                | 1019,15          | 1024,45          | 1028,42          |
| <b>Promedio</b>               | 255,38                 | 254,79           | 256,11           | 257,11           |
| <b>Promedio general</b>       | 255,847                |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 3,5204                 | 2,8353           | 2,6309           | 4,6617           |
| <b>Varianza</b>               | 12,39349               | 8,03896          | 6,92209          | 21,73217         |

En la tabla 72 se observan los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher

**Tabla 72.** Prueba FISHER concentración 250 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 11,96542                        | 3                  | 3,98847                        | 3,490     | 0,325       |
| Dentro de grupos      | 147,26013                       | 12                 | 12,27168                       |           |             |
| Total                 | 159,226                         | 15                 | 16,26015                       |           |             |

En la tabla 72 se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 250 mg/L, debido a que la F calculada es menor a la F crítica.



### 3.4.1.16. Análisis estadístico ANOVA concentración 500 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue de origen de descargas industriales (relleno sanitario) para llegar a la concentración esperada se realizó una fortificación. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 73.

**Tabla 73.** Resultados ANOVA 500 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 500,00                        | 486,42                 | 481,58           | 481,88           | 485,42           |
| 500,00                        | 485,24                 | 487,40           | 487,12           | 489,72           |
| 500,00                        | 491,10                 | 486,82           | 495,16           | 483,02           |
| 500,00                        | 487,58                 | 489,50           | 483,06           | 486,06           |
| <b>Suma</b>                   | 1950,34                | 1945,30          | 1947,22          | 1944,22          |
| <b>Promedio</b>               | 487,59                 | 486,33           | 486,81           | 486,06           |
| <b>Promedio general</b>       | 486,693                |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 2,5305                 | 3,3663           | 6,0051           | 2,771            |
| <b>Varianza</b>               | 6,40383                | 11,33210         | 36,06197         | 7,68223          |

En la siguiente tabla se observa los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 74.** Prueba FISHER concentración 500 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 5,40270                         | 3                  | 1,80090                        | 3,490     | 0,117       |
| Dentro de grupos      | 184,44040                       | 12                 | 15,37003                       |           |             |
| Total                 | 189,843                         | 15                 | 17,17093                       |           |             |

En la tabla 74 se observa que no existe diferencia significativa en los datos obtenidos en la concentración 500 mg/L, ya que la F calculada es menor a la F crítica, además se observa que no existe mucha dispersión de datos en esta concentración.

### 3.4.1.17. Análisis estadístico ANOVA concentración 1000 mg/L.

Para los datos obtenidos en el análisis de varianza la muestra que se utilizó fue de origen de descargas industriales del DMQ, los datos del ensayo se presentan en la tabla 75.

**Tabla 75.** Resultados ANOVA 1000 mg/L.

| Concentración esperada (mg/L) | Concentración Obtenida |                  |                  |                  |
|-------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                               | Analista 1 día 1       | Analista 1 día 2 | Analista 2 día 3 | Analista 2 día 4 |
| 1000,00                       | 968,00                 | 956,85           | 988,53           | 957,03           |
| 1000,00                       | 961,60                 | 979,70           | 911,22           | 963,27           |
| 1000,00                       | 960,85                 | 970,30           | 955,80           | 938,91           |
| 1000,00                       | 973,40                 | 990,05           | 952,62           | 947,46           |
| <b>Suma</b>                   | 3863,85                | 3869,90          | 3808,17          | 3806,67          |
| <b>Promedio</b>               | 965,96                 | 974,23           | 952,04           | 951,67           |
| <b>Promedio general</b>       | 960,974                |                  |                  |                  |
| <b>Desviación estándar</b>    | 5,9058                 | 14,1150          | 31,6873          | 10,7056          |
| <b>Varianza</b>               | 34,8789                | 199,2341         | 1004,088         | 114,61043        |

En la tabla 76 se observa los resultados que se obtuvieron de la prueba Fisher.

**Tabla 76.** Prueba FISHER concentración 1000 mg/L.

| Origen de la varianza | Suma de diferencias cuadráticas | Grados de libertad | Diferencias cuadráticas medias | F crítica | F calculada |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|-----------|-------------|
| Entre grupos          | 1467,42707                      | 3                  | 489,14236                      | 3,490     | 1,446       |
| Dentro de grupos      | 4058,43713                      | 12                 | 338,20309                      |           |             |
| Total                 | 5525,864                        | 15                 | 827,34545                      |           |             |

En la tabla 76 se aprecia que los valores obtenidos para la prueba de F tanto entre grupos como dentro de grupos no difieren apreciablemente ya que la F calculada es menor a la F crítica demostrando que el método es preciso.

### 3.4.1.18. Veracidad de método

Para la determinación de la veracidad se realizó los cálculos que se indican en el anexo VI, la veracidad de la concentración de 30 mg/L se presenta en la tabla 77.

**Tabla 77.** Porcentaje de recuperación en muestras concentración 30 mg/L.

| Parámetro (mg/L)           | Valor (mg/L) |
|----------------------------|--------------|
| Concentración analizada    | 16,46        |
| Concentración esperada     | 30,00        |
| Concentración adicionada   | 13,54        |
| Concentración obtenida     | 29,65        |
| Porcentaje de recuperación | 97,44%       |

La veracidad global de cada uno de los niveles del rango trabajo se lo presenta en la tabla 78.

**Tabla 78.** Veracidad global obtenida a los diferentes niveles de concentración.

| Nivel de concentración en (mg/L) | Porcentaje de recuperación global (%R) |
|----------------------------------|--|
| 15                               | 99,67                                  |
| 30                               | 99,71                                  |
| 100                              | 103,23                                 |
| 250                              | 102,54                                 |
| 500                              | 97,23                                  |
| 1000                             | 95,26                                  |

Como se observa en la tabla 78 los porcentajes de recuperación son altos cumpliendo con los objetivos propuestos en la validación que son de obtener porcentajes entre  $85\% \leq \%R \leq 115\%$  de recuperación.

### 3.4.1.19. Precisión e incertidumbre del método.

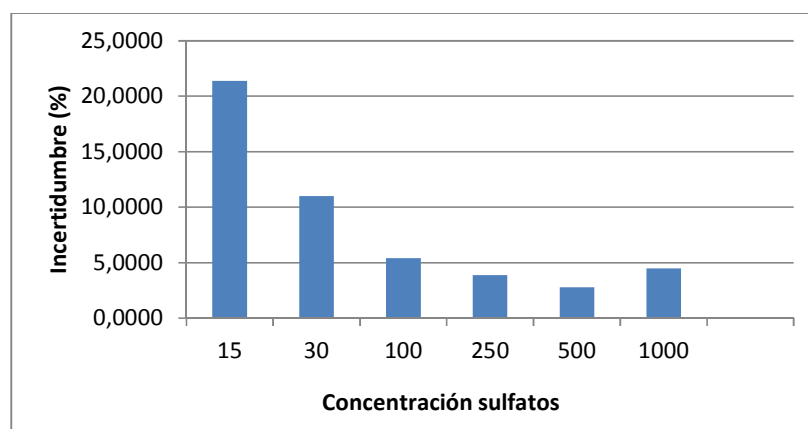
La precisión se la obtuvo del cálculo del ANOVA, y se la demuestra en la tabla 79.

**Tabla 79.** Resultados de los parámetros de validación

| Nivel de Concentración | Repetibilidad  |                  | Reproducibilidad |                  | U expandida |
|------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
|                        | S <sub>r</sub> | %CV <sub>r</sub> | S <sub>R</sub>   | %CV <sub>R</sub> | %U (k=2)    |
| 15                     | 0,3652         | 2,4426           | 0,3652           | 2,4426           | 21,3873     |
| 30                     | 0,3251         | 1,0852           | 0,3989           | 1,3315           | 11,0044     |
| 100                    | 1,4817         | 1,4425           | 1,8752           | 1,8256           | 5,3999      |
| 250                    | 3,5031         | 1,3692           | 3,5031           | 1,3692           | 3,8621      |
| 500                    | 3,9205         | 0,8055           | 3,9205           | 0,8055           | 2,8035      |
| 1000                   | 18,3903        | 1,9137           | 19,3891          | 2,0177           | 4,4748      |
| Global                 | 18,3903        | 2,4426           | 19,3891          | 2,4426           | 21,3879     |

Se observa en la tabla 79 que los criterios de precisión cumplen con los objetivos de la validación, ya que, su porcentaje de coeficiente de variación es menor del 5% debido a la mínima dispersión de datos obtenidos encontrándose que el método es preciso. Además, el valor de la incertidumbre del método global es de 21,38% encontrándose por debajo del valor que se estipuló en los objetivos de validación y cumpliendo con los objetivos propuestos, encontrándose con un nivel de confianza del 95 %.

La Incertidumbre expresada en porcentajes por cada nivel del rango de trabajo se observa en la figura 17.



**Figura 17.** Gráfico de incertidumbre expresada en porcentajes.

En la figura 17 se observa la incertidumbre del método de sulfatos esta expresada en porcentajes, en donde se analiza que la incertidumbre cumple con los objetivos de la validación propuestos.

Se la realizo mediante la sumatoria de todos los parámetros que se mencionaron en la figura 9.

### **3.5. Procedimientos para la determinación de cromo hexavalente y sulfatos por espectrofotometría UV-VIS.**

Los procedimientos para la determinación de cromo hexavalente y sulfatos se encuentran anexados en el otro documento entregable del proyecto integrador.

### **3.6. Análisis de cromo hexavalente y sulfatos en aguas naturales y residuales del DMQ.**

#### **3.6.1. Análisis de cromo hexavalente y sulfatos.**

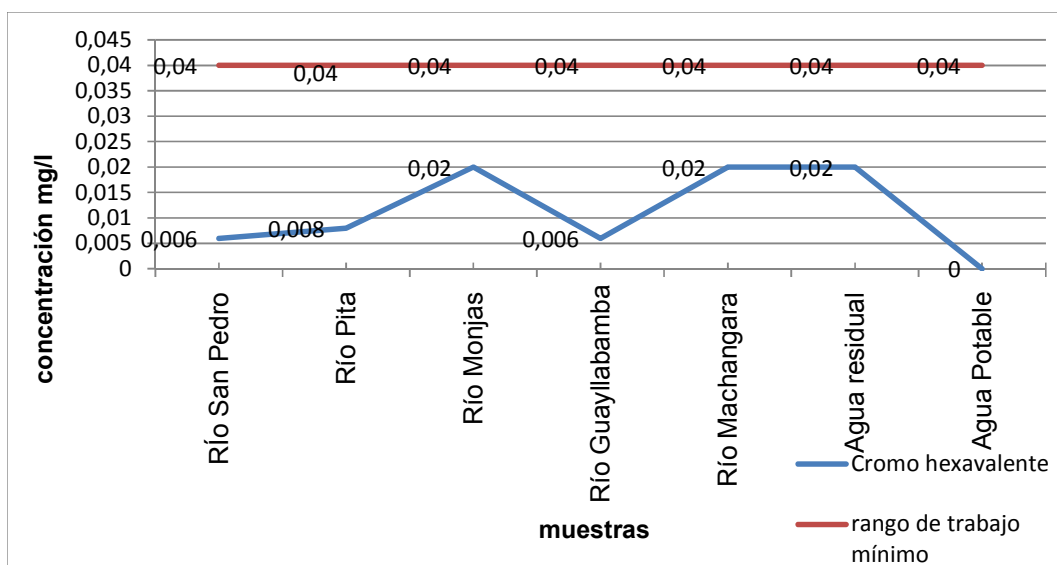
Para la determinación de cromo hexavalente y sulfatos se realizó el análisis por triplicado de las muestras obtenidas de los puntos de muestreo que realiza mensualmente el control la Secretaría de Ambiente que corresponden a la red hídrica del DMQ y también a aguas potables y residuales.

Se obtuvo un promedio para poder comparar con la normativa ambiental vigente, ver tabla 4. Y los resultados de los análisis de cromo hexavalente se presentan en la tabla 80.

**Tabla 80.** Análisis de cromo hexavalente en muestras.

| Cromo hexavalente      | Resultados mg/L |
|------------------------|-----------------|
| Río San Pedro          | 0,006           |
| Río Pita               | 0,008           |
| Río Monjas             | 0,02            |
| Río Guayllabamba       | 0,006           |
| Río Machángara         | 0,02            |
| Agua residual (textil) | 0,02            |
| Agua Potable           | 0               |

En la siguiente figura se observa los datos de los análisis de cromo hexavalente en las muestras obtenidas.



**Figura 18.** Datos del análisis de cromo hexavalente en aguas naturales, residuales y potables.

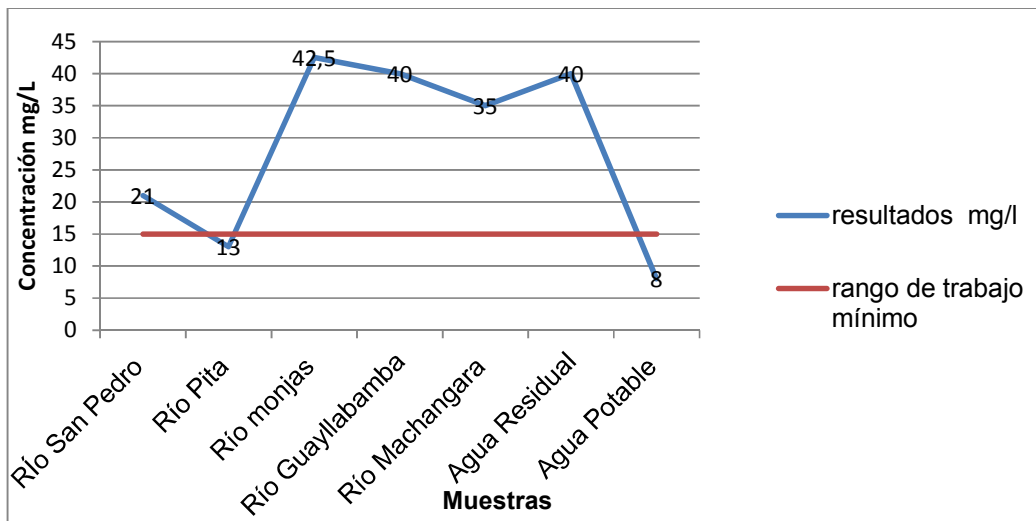
Se observa en la tabla 80 y en la figura 18, los datos de los análisis se encuentran por debajo del rango de trabajo, y se puede afirmar la ausencia de cromo hexavalente en las muestras analizadas. Es decir que los datos obtenidos se encuentran muy alejados a los límites máximos permisibles de 0,5 mg/L como lo indica la ordenanza 138 (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito;, 2016)

Los resultados de los análisis de los sulfatos en muestra se lo presentan en la tabla 81.

**Tabla 81.** Análisis de sulfatos en muestras

| Sulfatos                  | Resultados mg/L |
|---------------------------|-----------------|
| Río San Pedro             | 21              |
| Río Pita                  | 13              |
| Río Monjas                | 42.50           |
| Río Guayllabamba          | 40              |
| Río Machángara            | 35              |
| Aguas residuales (textil) | 40              |
| Agua Potable              | 8               |

En la siguiente figura se observa los datos de los análisis de sulfatos en las muestras obtenidas.



**Figura 19.** Datos del análisis de sulfatos en aguas naturales, residuales y potables

Como se observa en la tabla 81 y la figura 19 las concentraciones de sulfatos se encuentran por debajo de los límites permisibles que indica la normativa ambiente vigente. Sin embargo, se aprecia que hay más cantidad de sulfatos en el río Monjas, esto se debe a que este río sale del DMQ llevando toda la contaminación que la ciudad produce, sin embargo, el contenido de sulfatos no es un valor que supere a la norma ambiental vigente que se indica en la tabla 4.

## 4. Conclusiones y Recomendaciones.

### 4.1 Conclusiones.

- Se comprobó que el espectrofotómetro DR 6000 se encuentra en un correcto funcionamiento.
- Se estableció el tratamiento adecuado para las muestras de agua, en el caso de cromo hexavalente se realizó un ajuste de pH y un filtrado. En el análisis de sulfatos se eliminó la interferencia de sólidos suspendidos mediante la filtración con la finalidad de garantizar la fiabilidad de los resultados.
- Se determinaron los parámetros de validación de los métodos, en donde la función respuesta obtuvo un coeficiente de correlación para cromo hexavalente de 0,99623 y para sulfatos de 0,99772, estableciendo la linealidad de los métodos en el intervalo de trabajo.
- Los límites de detección y cuantificación de cromo hexavalente fueron de 0,0017 y 0,0053 mg/L, para el método de sulfatos fueron de 0,99751 y 3,0319 mg/L. los métodos demostraron tener exactitud ya que se obtuvo un porcentaje de recuperación mayor a 98%. La precisión de los métodos fueron menores al 5%, y por último se encontraron los valores de incertidumbre menores al 30% por lo tanto los resultados de la validación cumplen con los objetivos de validación establecidos en el proyecto y se aceptó la validación de los métodos analíticos de cromo hexavalente y sulfato.
- Encontrándose los métodos validados, se establecieron los procedimientos específicos para cada uno de los métodos y se implementaron en el análisis de muestras de aguas naturales (ríos: Pita, Machángara, San Pedro, Monjas y Guayllabamba), potables y residuales y se obtuvo valores por muy debajo de lo que indica la normativa ambiental vigente.
- Se realizó un registro con los análisis de resultados obtenidos en la validación como: cálculos matemáticos, gráficos, procedimientos, con la finalidad de poseer evidencia objetiva, que fundamentara el cumplimiento de los requisitos particulares de la validación.



## 4.2. Recomendaciones

- Se recomienda usar todo el equipo de protección personal en especial mascarilla al momento de manipular los reactivos HACH.
- En el parámetro de la linealidad en la validación de cada método se recomienda comprobar que las curvas de calibración cumplan con los criterios de aceptación que se indica en el material de referencia certificado.
- Al encender el espectrofotómetro UV-VIS se recomienda esperar de 20 a 30 minutos para garantizar que exista una correcta calibración de la longitud de onda.
- Se recomienda desarrollar una investigación para la preparación del conservante de cromo hexavalente para obtener mayor tiempo de análisis.
- Verificar el cumplimiento de la veracidad mensual de los métodos, mediante el análisis de un material de referencia certificado.
- Se recomienda cumplir con los procesos de calibración externa e interna tanto de los equipos como del material volumétrico.
- Para el análisis de cromo hexavalente y sulfatos por espectrofotometría UV-visible realizar siempre el proceso de filtración con la finalidad de eliminar la interferencia del método y así obtener datos reales.
- Realizar verificaciones periódicas de los métodos con la finalidad de controlar la estabilidad de los métodos al transcurrir el tiempo.

## 5. Bibliografía

- AEAS. (2012). Guía para el funcionamiento de los laboratorios de ensayo de aguas. Parte II Criterios para la validación de los métodos de ensayos físico-químicos y microbiológicos. España.
- Agua. (2017). Enciclopedia de Características. Recuperado el 2018 de mayo de 08, de <https://www.caracteristicas.co/quimicas-agua/>
- Aguamarket. (4 de Julio de 2018). Aguamarket. Obtenido de <http://www.aguamarket.com/diccionario/terminos.asp?id=3153>
- Aires, U. d. (2018). Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Altamirano, C. (2017). Determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX) en aire ambiente del Distrito Metropolitano de Quito mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama
- Ambiental, S. d. (2016).
- Ambiente, S. d. (2017). IQCRH. Quito.
- APHA. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and wastewater. Washington.
- ASECAL. (2013).
- astrojem. (18 de Septiembre de 2017). Recuperado el 08 de Mayo de 2018, de <https://astrojem.com/teorias/espectroelectromagnetico.html>
- CEC. (2018). CEC. Recuperado el 07 de marzo de 2018, de <https://www.cec-epn.edu.ec/cursos/curso/sistema-de-gestion-de-la-calidad-iso-90012015>
- DMQ, M. d. (2016). Atlas Ambiental 2016 Quito sostenible . Quito: tecnoprint.
- Doria Herrera, G. M., Paz, P., & Hormaza, A. (2013). Estandarización de la difenilcarbazida como indicador y acomplejante en la identificación de cromo hexavalente – Cr (VI).
- economipedia. (9 de Mayo de 2018). Recuperado el 9 de mayo de 2018, de <ttp://economipedia.com/definiciones/coeficiente-de-variacion.html>
- EcuRed. (2007). EcuRed. Recuperado el 05 de MARZO de 2018, de [https://www.ecured.cu/Radiaci%C3%B3n\\_electromagn%C3%A9tica](https://www.ecured.cu/Radiaci%C3%B3n_electromagn%C3%A9tica)
- EPMAPS. (2012).
- EPMAPS. (2012). Programa de Descontaminacion de Ríos de Quito.
- Espectrofotómetro, E. (2016-2017). El Espectrofotómetro . Recuperado el 07 de marzo de 2018, de <https://elespectrofotometro.com/partes-del/>
- Eurachem. (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. España.

- FAO. (29 de octubre de 2017). FAO. Recuperado el 12 de MARZO de 2018, de <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s15.htm>
- freire, P. (2013). Validación del Método 4110.B Standard Methods para la Determinación de Aniones Inorgánicos en Descargas Líquidas no Domésticas por Cromatografía Iónica. Validación del Método 4110.B Standard Methods para la Determinación de Aniones Inorgánicos en Descargas Líquidas no Domésticas por Cromatografía Iónica.
- Giraldo, G. (2016). VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE LABORATORIO. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- Giraldo, G. (2016). VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE LABORATORIO. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.
- GOIB. (2018). Salud Ambiental. Recuperado el 03 de marzo de 2018, de <http://www.caib.es/sites/salutambiental/es/sulfatos-26202/>
- Gonzales, M. (8 de Noviembre de 2010). La Guía. Recuperado el 07 de marzo de 2018, de La Guía: <https://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/transmitancia-y-absorbancia>
- González, H. (2015). OPC. Recuperado el 6 de Marzo de 2018, de OPC: <https://opconsultor.wordpress.com/2015/06/12/acuerdos-ministeriales-7/>
- H. Dupont Durst, G. W. (1985). Química Orgánica experimental . Barcelona: Reverté.
- HACH. (2015). Hach Company. Recuperado el 07 de marzo de 2018, de <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwik9PO68tvZAhWjwVkkHTGyAxsQFggyMAA&url=https%3A%2F%2Fwww.hach.com%2Fasset-get.download.jsa%3Fid%3D35555506102&usg=AOvVaw27JsWJLlqgAjJn8McKyfDB>
- Harris, D. (2007). Análisis Químico Cuantitativo . Barcelona : Reverte.
- Hetch-Zajac. (1986). En Hetch-Zajac.
- IDEAM. (2006). Estandarización de métodos analíticos . Colombia .
- INFOJARDIN. (2002-2017). infojardin.com. Obtenido de [www.infojardin.com](http://www.infojardin.com)
- InfoLEG. (2003). Infoleg Información Legislativa. Recuperado el 12 de marzo de 2018, de <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/85000-89999/86181/dto202-2003-95.htm>
- Instituto de Salud Pública. (2012). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición "Aspectos generales sobre la validación de métodos ". santiago.

- ISO. (2004). La Guia ISO.
- ISO, S. C. (2010). Obtenido de [https://www.iso.org/files/live/sites/isoorg/files/archive/pdf/en/fast\\_forward-es.pdf](https://www.iso.org/files/live/sites/isoorg/files/archive/pdf/en/fast_forward-es.pdf)
- ISO/17025. (2005). SO/IEC 17025.
- ISO/IEC. (2005). ISO 17025.
- Llamosa, L., Botero, M., & Meza, L. (2007). ESTUDIO DE REPETIBILIDAD Y REPROCIBILIDAD UTILIZANDO EL MÉTODO DE PROMEDIOS Y RANGOS PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS RESULTADOS DE CALIBRACIÓN DE ACUERDO CON LA NORMA TÉCNICA NTC-ISO/IEC 17025. Revista ciencia, 455-460.
- Losi, M. C. (1994). Environmental biochemistry of chromium.
- Lucas Hernández, C. G. (2002). Introduccion al Análisis Instrumental. Barcelona: Ariel S.A.
- Luis Concha Venezuela. (s.f.). La Quimica de agua.
- Ministerio del Ambiente . (2015). NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES : RECURSO AGUA LIBRO VI ANEXO 1. Quito.
- Municipio del Distrito Metropolitano de Quito;. (2016). Ordenanza 138.
- Nieves Abril Díaz, J. A.-V. (30 de mayo de 2018). <https://es.slideshare.net/asaor/espectrofotometria-presentation>. Recuperado el 2018 de mayo de 30, de <https://es.slideshare.net/asaor/espectrofotometria-presentation>
- OEFA. (Abril de 2014). Recuperado el 01 de marzo de 2018, de [https://www.oefa.gob.pe/?wpfb\\_dl=7827](https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=7827)
- OEHHA. (2016). Efectos del Cromo Hexavalente Sobre la Salud.
- OLSEN, E. D. (1990). Métodos ópticos de análisis.
- ONA. (2012). Política Para la Validación de Métodos de Laboratorios de ensayos y calibración. Republica de Nicaragua .
- ONODC. (2010). Directrices para la validación de metodos analiticos y calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. Nueva York.
- PAHO. (2008). validación de metodos analitocos. Recuperado el 2017 de 06 de 07, de Buenas Prácticas para Laboratorios: [http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13\\_Modulo\\_VALIDACIoN\\_de\\_Metodos\\_Fisicoqcos.pdf](http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13_Modulo_VALIDACIoN_de_Metodos_Fisicoqcos.pdf)

- Perez, M. E. (15 de Septiembre de 2003). AGUAS RESIDUALES. Recuperado el 2018 de marzo de 01, de [http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas\\_Residuales\\_composicion.pdf](http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf)
- Químicas.net. (08 de 09 de 2015). Químicas.net. Recuperado el 03 de 03 de 2018, de [www.quimicas.net/2015/09/los-sulfatos.html](http://www.quimicas.net/2015/09/los-sulfatos.html)
- Qumica, G. T. (2010). Recuperado el 07 de marzo de 2017, de [https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj-jNLKh9vZAHUDwIkKHTEmDY8QFgggtMAI&url=https%3A%2F%2Fwww.u-cursos.cl%2Fodontologia%2F2010%2F2%2FOD0903%2F1%2Fmaterial\\_docente%2Fbajar%3Fid\\_material%3D566977&usg=AO](https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj-jNLKh9vZAHUDwIkKHTEmDY8QFgggtMAI&url=https%3A%2F%2Fwww.u-cursos.cl%2Fodontologia%2F2010%2F2%2FOD0903%2F1%2Fmaterial_docente%2Fbajar%3Fid_material%3D566977&usg=AO)
- Ricardo R. Azario, S. A. (7 de Mayo de 2010). Efecto del Cromo Hexavalente y Trivalente sobre el Crecimiento de Escherichia coli. Recuperado el 08 de Mayo de 2018, de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v21n1/art09.pdf>
- salud, D. d. (2016). Servicio de Salud Ambiental. Recuperado el 11 de 05 de 2017, de GOIB: <http://salutambiental.caib.es/sacmicrofront/contenido.do?mkey=M1011100850266368098&lang=es&cont=26202>
- Secretaría de Ambiente. (2017). Secretaría de Ambiente. Recuperado el 2017 de 06 de 01, de Secretaría de Ambiente: <http://www.quitoambiente.gob.ec/ambiente/index.php/politicas-y-planeacion-ambiental>
- Shiklomanov y Rodda. (2003).
- Skoog, D. (2000). Química Analítica. México,; McGraw-Hill,.
- Skoog, D. (2005). Fundamentos de Química Analítica .
- Sogorb, M. A. (19 de 10 de 2010). Recuperado el 07 de marzo de 2018, de [http://repositorio.innovacionmh.es/Proyectos/P\\_22CursoMateriales/Miguel\\_Angel\\_Sogorb/Wimba/Espectroscopia\\_08.htm](http://repositorio.innovacionmh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales/Miguel_Angel_Sogorb/Wimba/Espectroscopia_08.htm)
- Sogorb, M. A. (19 de 10 de 2010). Universidad Miguel Hernández de Elche. Recuperado el 07 de marzo de 2018, de [http://repositorio.innovacionmh.es/Proyectos/P\\_22CursoMateriales/Miguel\\_Angel\\_Sogorb/Wimba/Espectroscopia\\_08.htm](http://repositorio.innovacionmh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales/Miguel_Angel_Sogorb/Wimba/Espectroscopia_08.htm)
- Sogorb, M. A. (19 de 10 de 2010). Universidad Miguel Hernández de Elche.
- total, s. y. (2011 de mayo de 2011). sistemas y calidad total.com. Recuperado el 07 de marzo de 2018, de <http://www.sistemasycalidadtotal.com/calidad-total/sistemas-de-gestion-de-la-calidad-%E2%94%82-historia-y-definicion/>
- TULSMA. (2015).

- UNESCO. (2017). En The United Nations World Water Development Report 2 (pág. 121).
- USMP. (16 de Junio de 2015). usmp. Recuperado el 2018 de Mayo de 08, de <http://www.usmp.edu.pe/publicaciones/boletin/fia/info86/articulos/importanciaAgua.html>
- Valencia, U. d. (s.f.). Universidad de Valencia . Recuperado el 05 de 03 de 2018, de <https://www.uv.es/DSSQA/documentacion/castellano/PDF/14%20RADIACIONES.pdf>
- Venezuela, L. C. (31 de Julio de 2008). Química del agua. Recuperado el 28 de febrero de 2018, de [http://ww2.educarchile.cl/UserFiles/P0001/File/la\\_quimica\\_del\\_agua.pdf](http://ww2.educarchile.cl/UserFiles/P0001/File/la_quimica_del_agua.pdf)
- Vinagre, J. (2007). FAO. Recuperado el 12 de MARZO de 2018, de <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s15.htm>
- Zemansky, S. (2009). Física Universitaria. En H. D. YOUNG, Física Universitaria (pág. cap 32). impresa.

## **6. Anexos**

**Anexo I Hoja de validación cromo hexavalente**

|  |                                      |                        |                         |                        |                       |                    |
|--|--------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| <b>Analito</b>                             | cromo hexavalente                    |                        |                         |                        | <b>Unidades</b>       |                    |
| <b>Análisis</b>                            | Cuantitativo                         |                        |                         |                        | mg/L                  |                    |
| <b>Matriz</b>                              | Aguas naturales, potable, residuales |                        |                         |                        |                       |                    |
| <b>FUNCIÓN DE RESPUESTA</b>                | <b>INSTRUMENTAL</b>                  |                        |                         |                        | <b>DEL MÉTODO</b>     |                    |
| $r^2$                                      | 0,996                                |                        |                         |                        | N.A                   |                    |
| m  | 1,93714                              |                        |                         |                        | N.A                   |                    |
| Intervalo estudiado de m                   | ( 1.67119 ; 2.12074)                 |                        |                         |                        | N.A                   |                    |
| lo   | 0.02711                              |                        |                         |                        | N.A                   |                    |
| Intervalo estudiado de lo                  | (0.01085 ; 0.05075)                  |                        |                         |                        | N.A                   |                    |
| <b>PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE</b> |                                      |                        |                         |                        |                       |                    |
| <b>Nivel de Concentración</b>              | <b>Repetibilidad</b>                 |                        | <b>Reproducibilidad</b> |                        | <b>Veracidad</b>      | <b>U expandida</b> |
|  | <b>S<sub>r</sub></b>                 | <b>%CV<sub>r</sub></b> | <b>S<sub>R</sub></b>    | <b>%CV<sub>R</sub></b> | <b>% Recuperación</b> | <b>%U (k=2)</b>    |
| 0,04                                       | 0,0014                               | 3,6301                 | 0,0016                  | 3,9799                 | 98,91                 | 23.34              |
| 0,08                                       | 0,0022                               | 2,7127                 | 0,0022                  | 2,7127                 | 99,77                 | 12.70              |
| 0,100                                      | 0,0024                               | 2,4992                 | 0,0030                  | 3,1786                 | 95,25                 | 17.57              |
| 0,300                                      | 0,0093                               | 3,0333                 | 0,0093                  | 3,0933                 | 99,90                 | 8.61               |
| 0,600                                      | 0,0094                               | 1,5979                 | 0,0115                  | 1,8638                 | 103,39                | 5.34               |
| Global                                     | 0,0094                               | 3,6301                 | 0,0115                  | 3,9799                 | 95,25 -103,39         | 23.34              |



|  |         |
|--|---------|
| <b>LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)</b>      | 0.00170 |
| <b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)</b> | 0.00530 |

### SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD

#### INTERFERENCIAS CONOCIDAS:

Turbidez:

Iones de mercurio: Interfiere ligeramente

pH extremo

Hierro: Interfiere a concentraciones mayores a 1 mg/L

Vanadio: Interfiere a concentraciones mayores a 1mg/L.

**TIPO DE INTERFERENCIA:** Física y Química

#### Tratamiento:

Turbidez: Filtrar la muestra con un tamaño de poro de 0.45 um o precipitar con NaOH y ajustar el pH a neutro

pH extremo: Ajuste a pH neutro.

|                                       |                |
|---------------------------------------|----------------|
| <b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO:</b> | 0,04- 0,6 mg/L |
|---------------------------------------|----------------|

### CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO

#### Linealidad:

| $m_{\text{mínimo}}$ | $m_{\text{máximo}}$ | $l_{\text{mínimo}}$ | $l_{\text{máximo}}$ | $r^2$ |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| 1.6712              | 2.1207              | 0.01085             | 0.05075             | 0.996 |

#### Precisión:

$\%CV_r \leq 3.6301\%$  para todos los niveles de concentración

$\%CV_R \leq 3.9799\%$  para todos los niveles de concentración.

**Veracidad:**

$85.00 \leq \%R \leq 115.00$  para todos los niveles de concentración. El rango de Recuperación obtenido es  $95.25 \leq \%R \leq 103,39$

**Incertidumbre:**

$\%U \leq 30\%$  (K=2): Para todos los niveles de concentración. La mayor Incertidumbre Expandida obtenida es 23.34 % (K=2)

**Anexo II** Hoja de validación sulfatos

| Analito                             | sulfatos                             |          | Unidades         |          |                |             |
|-------------------------------------|--------------------------------------|----------|------------------|----------|----------------|-------------|
| Análisis                            | Cuantitativo                         |          | mg/L             |          |                |             |
| Matriz                              | Aguas naturales, potable, residuales |          |                  |          |                |             |
| FUNCIÓN DE RESPUESTA                | INSTRUMENTAL                         |          |                  |          | DEL MÉTODO     |             |
| $r^2$                               | 0,99772                              |          |                  |          | N.A            |             |
| m                                   | 0,02471                              |          |                  |          | N.A            |             |
| Intervalo estudiado de m            | ( 0,02378; 0,02559)                  |          |                  |          | N.A            |             |
| lo                                  | 0,13309                              |          |                  |          | N.A            |             |
| Intervalo estudiado de lo           | (0,11980; 0,17914)                   |          |                  |          | N.A            |             |
| PRECISIÓN, VERACIDAD, INCERTIDUMBRE |                                      |          |                  |          |                |             |
| Nivel de Concentración              | Repetibilidad                        |          | Reproducibilidad |          | Veracidad      | U expandida |
|                                     | $S_r$                                | $\%CV_r$ | $S_R$            | $\%CV_R$ | % Recuperación | %U (k=2)    |
| 15                                  | 0,3652                               | 2,4426   | 0,3652           | 2,4426   | 99,67          | 21,3873     |
| 30                                  | 0,3251                               | 1,0852   | 0,3989           | 1,3315   | 99,71          | 11,0044     |
| 100                                 | 1,4817                               | 1,4425   | 1,8752           | 1,8256   | 103,23         | 5,3999      |
| 250                                 | 3,5031                               | 1,3692   | 3,5031           | 1,3692   | 102,54         | 3,8621      |
| 500                                 | 3,9205                               | 0,8055   | 3,9205           | 0,8055   | 97,23          | 2,8035      |
| 1000                                | 18,3903                              | 1,9137   | 19,3891          | 2,0177   | 95.26          | 4,4748      |

|        |         |        |         |        |               |         |
|--------|---------|--------|---------|--------|---------------|---------|
| Global | 18,3903 | 2,4426 | 19,3891 | 2,4426 | 95,26 -103,23 | 21,3879 |
|--------|---------|--------|---------|--------|---------------|---------|

-

|  |             |
|--|-------------|
| <b>LÍMITE DE DETECCIÓN (L.D.)</b>      | 0,997519223 |
| <b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L.C.)</b> | 3,031973321 |

### SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD

#### INTERFERENCIAS CONOCIDAS:

Turbidez:

**TIPO DE INTERFERENCIA:** Física

#### Tratamiento:

Turbidez: Filtrar la muestra con un tamaño de poro de 0.45 um

|                                       |              |
|---------------------------------------|--------------|
| <b>INTERVALO DE TRABAJO VALIDADO:</b> | 15- 1000mg/L |
|---------------------------------------|--------------|

### CRITERIOS DE ACEPTACIÓN / RECHAZO

#### Linealidad:

| $m_{\text{mínimo}}$ | $m_{\text{máximo}}$ | $l_{\text{mínimo}}$ | $l_{\text{máximo}}$ | $r^2$   |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------|
| 0,02214             | 0,02687             | 0,17914             | 0,08373             | 0,99772 |

#### Precisión:

**%CV r** ≤ 2,4426% para todos los niveles de concentración

**%CV R** ≤ 2,4426% para todos los niveles de concentración.

#### Veracidad:

$85.00 \leq \%R \leq 115.00$  para todos los niveles de concentración. El rango de Recuperación obtenido es  $95.26 \leq \%R \leq 103,23$

**Incertidumbre:**

**$\%U \leq 30\%$  (K=2):** Para todos los niveles de concentración. La mayor Incertidumbre Expandida obtenida es  $21,38\%$  (K=2)

**ANEXO III**

**Curvas de calibración de cromo hexavalente y sulfatos**

### Anexo III Curvas de calibración

Cromo hexavalente

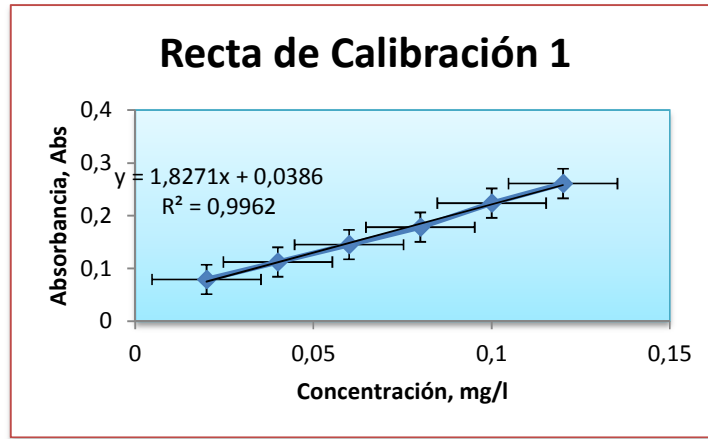


Figura 20 Curva de calibración cromo hexavalente día 1

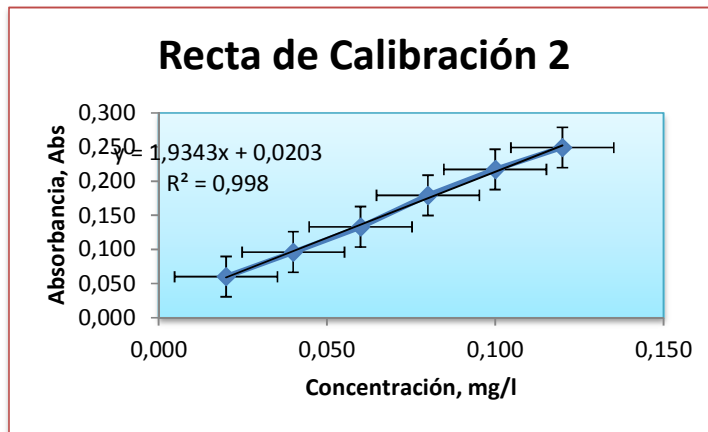


Figura 21 Curva de calibración cromo hexavalente día 2

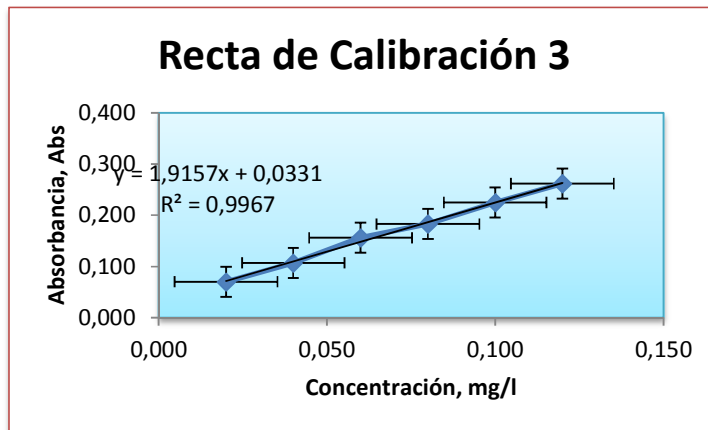
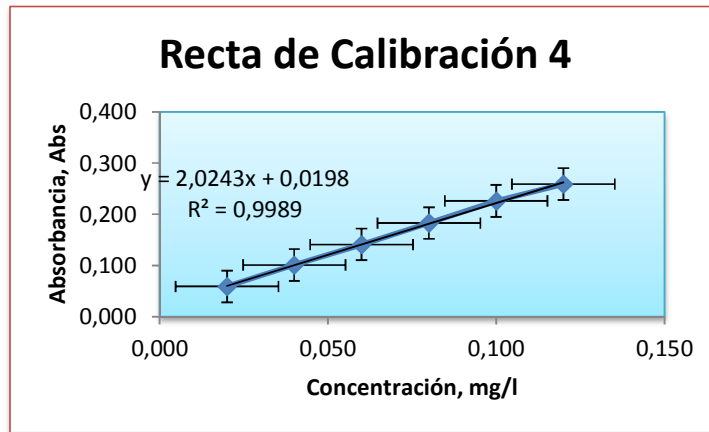
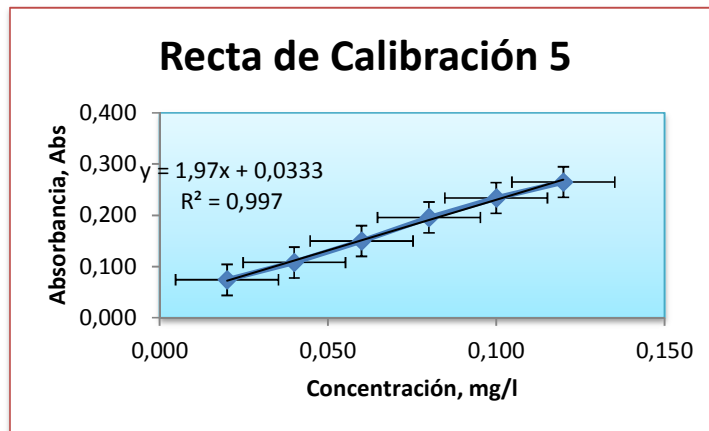


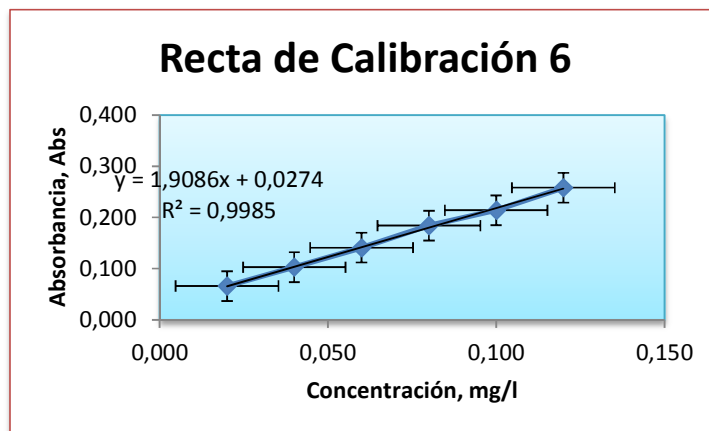
Figura 22 Curva de calibración cromo hexavalente día 3



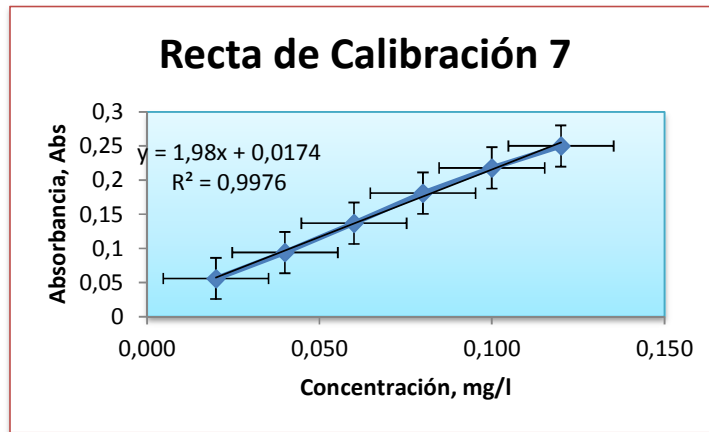
**Figura 23.** Curva de calibración como hexavalente día 4



**Figura 24** Curva de calibración como hexavalente día 5

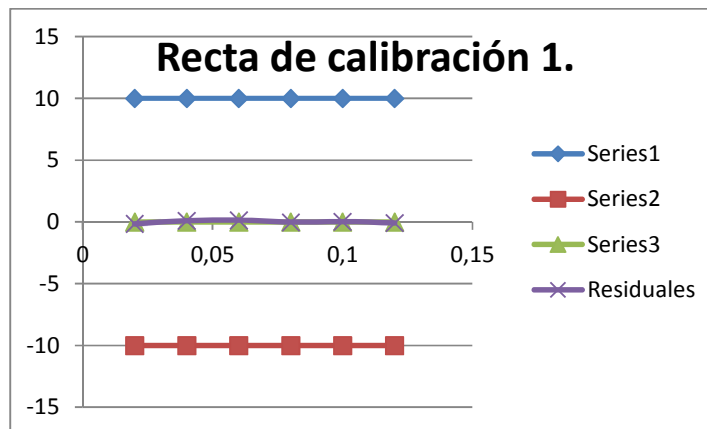


**Figura 25** Curva de calibración como hexavalente día 6

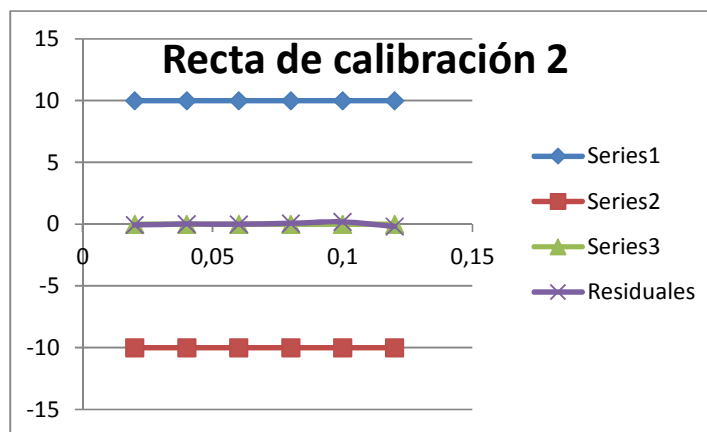


**Figura 26** Curva de calibración cromo hexavalente día 7

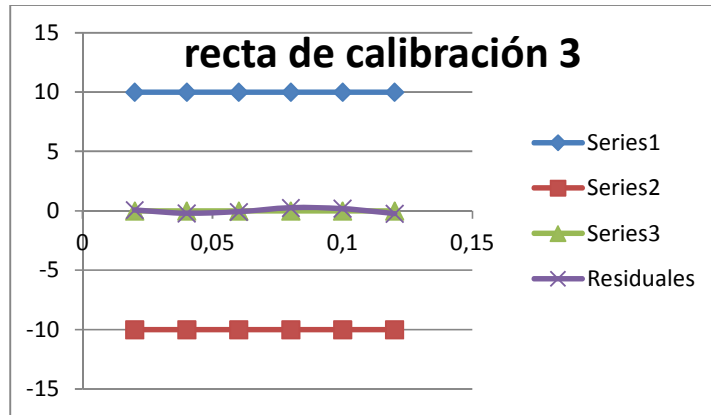
**Grafica de porcentaje de residuales cromo hexavalente**



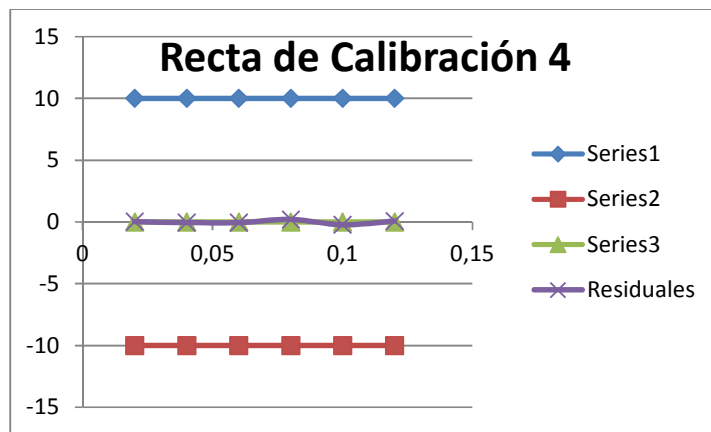
**Figura 27** Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 1



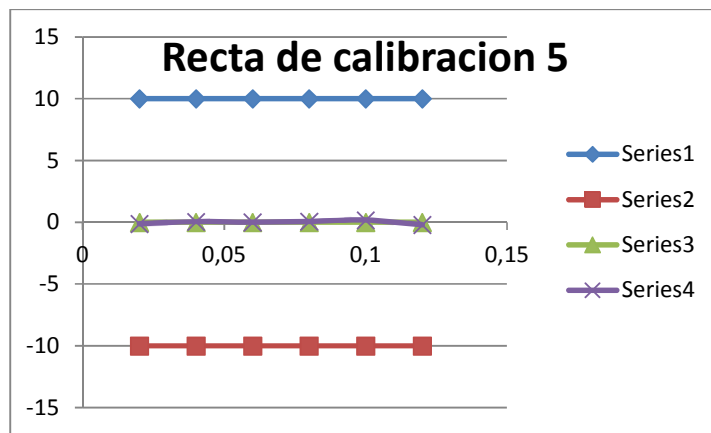
**Figura 28** Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 2



**Figura 29** Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 3

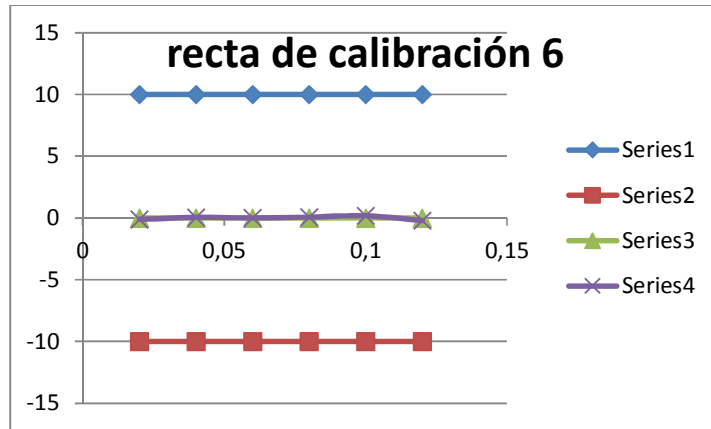


**Figura 30** Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 4



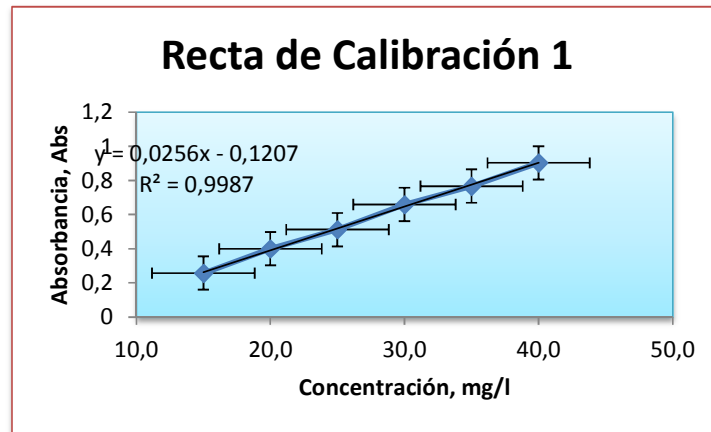
**Figura 31** Porcentaje de residuales cromo hexavalente día 5



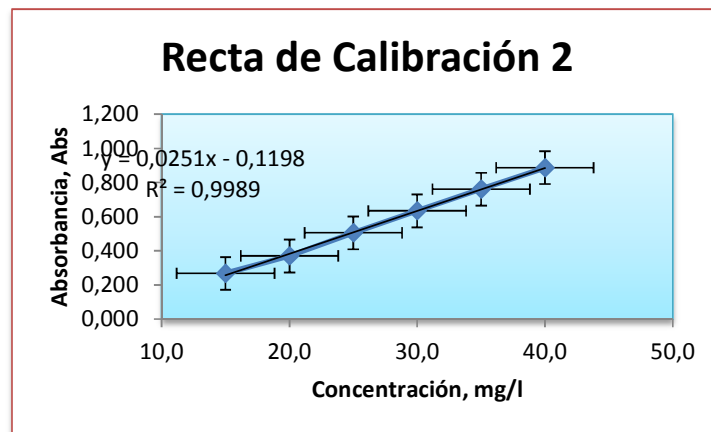


**Figura 32.** Porcentaje de residuales como hexavalente día 6

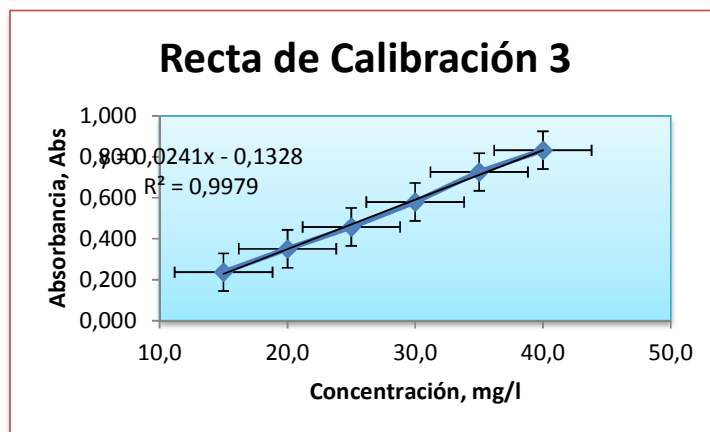
**Rectas de calibración sulfatos**



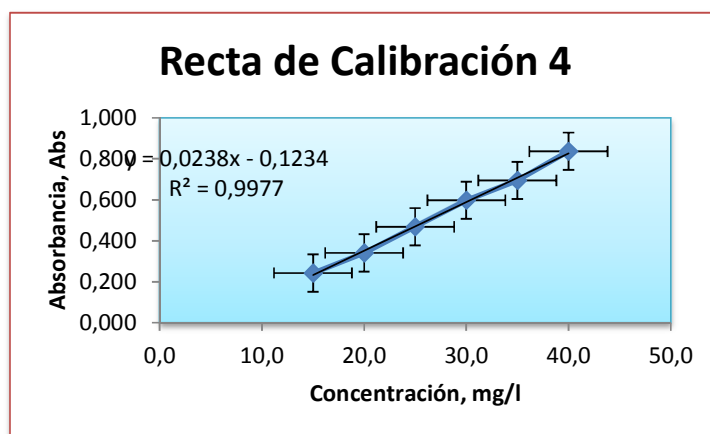
**Figura 33** Curva de calibración sulfatos día 1



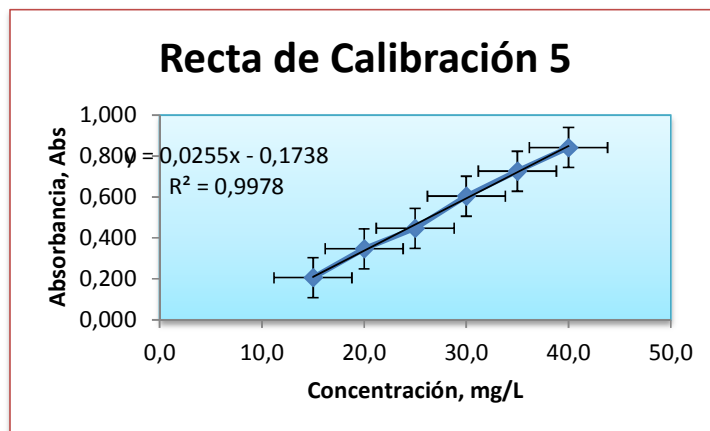
**Figura 34** Curva de calibración sulfatos día 2



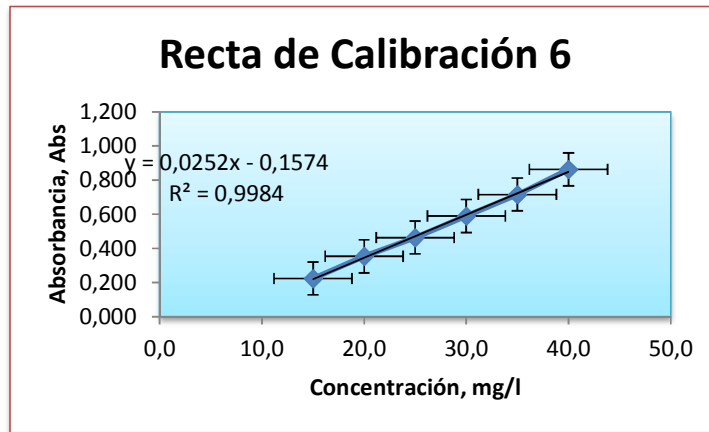
**Figura 35** Curva de calibración sulfatos día 3



**Figura 36** Curva de calibración sulfatos día 4

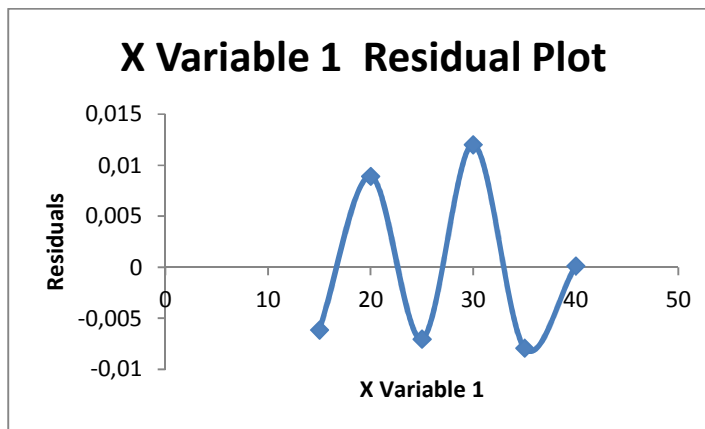


**Figura 37** Curva de calibración sulfatos día 5

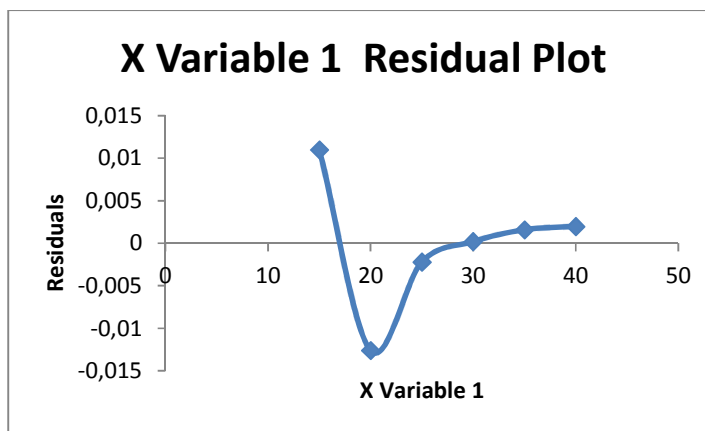


**Figura 38** Curva de calibración sulfatos día 6

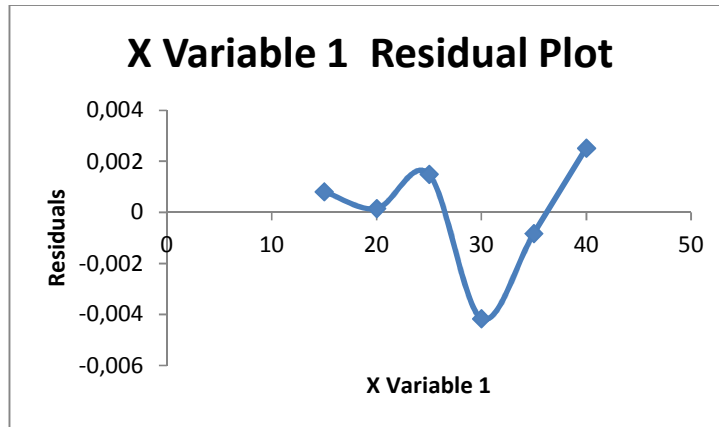
**Grafica de porcentaje de residuales sulfatos**



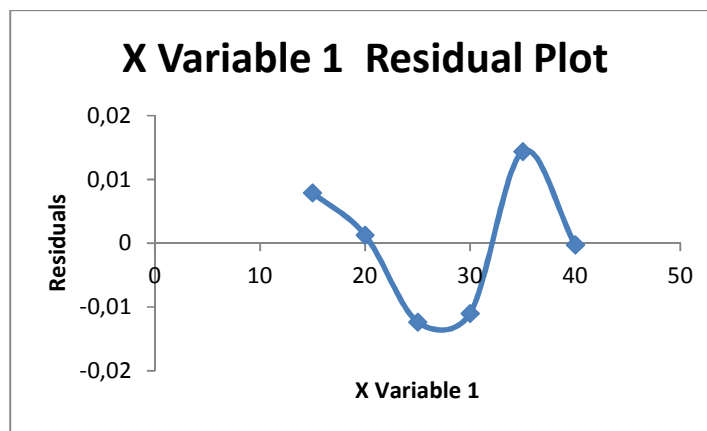
**Figura 39** Porcentaje de residuales Sulfatos día 1



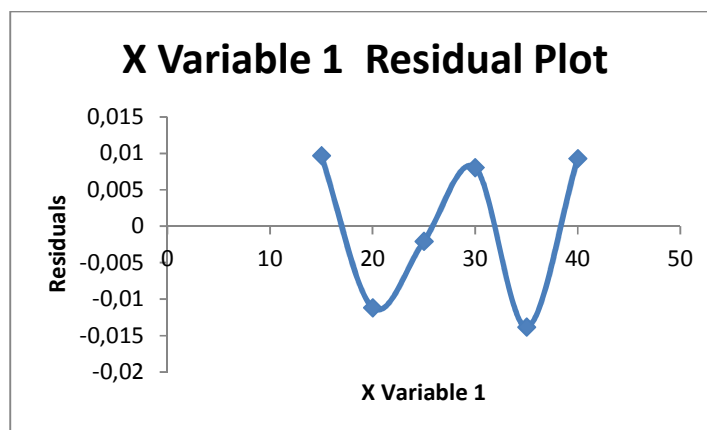
**Figura 40** Porcentaje de residuales Sulfatos día 2



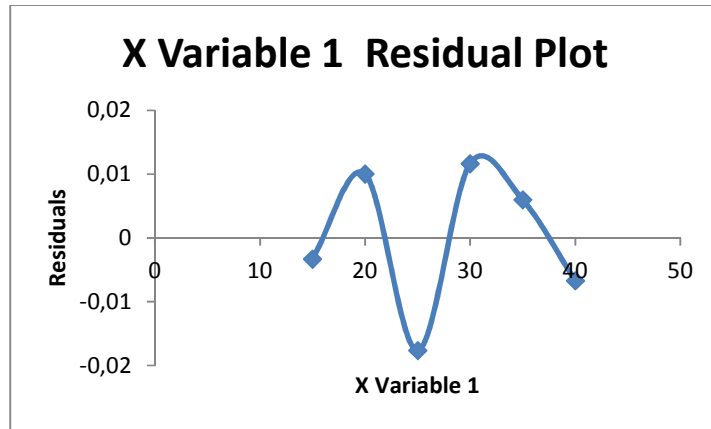
**Figura 41** Porcentaje de residuales Sulfatos día 3



**Figura 42** Porcentaje de residuales Sulfatos día 4



**Figura 43** Porcentaje de residuales Sulfatos día 5



**Figura 44** Porcentaje de residuales Sulfatos día 6

## Anexo IV Cálculos

- **Concentración real**

$$\text{concentración real} = \frac{\text{absorbancia} - \text{intercepto}}{\text{pendiente}}$$

### Ecuación 13 Concentración real

Ejemplo

$$\text{concentración real} = \frac{0.057 - 0.018}{2.03}$$

$$\text{concentración real} = 0.019$$

- **Porcentaje de recuperación**

$$\text{porcentaje de recuperación} = \frac{\text{Concen. real}}{\text{Concen. teórica}} * 100$$

### Ecuación 14 Porcentaje de recuperación

Ejemplo

$$\text{porcentaje de recuperación} = \frac{0.0189}{0.020} * 100 = 94.51\%$$

$$\text{porcentaje de recuperación} = 94.51\%$$

- **Porcentaje de residuales.**

$$\text{porcentaje de residuales} = \text{concentración. real} - \text{concentración. teorica.} * 100$$

### Ecuación 15 Porcentaje de residuales

Ejemplo

$$\text{porcentaje de residuales} = 0.0189 - 0.02 * 10 = -0.109 \%$$

$$\text{porcentaje de residuales} = -0.109 \%$$

- **Porcentaje de recuperación con muestra fortificada**

$$\%R = \frac{\text{Concen. de la fortificación} - \text{Conce. de la muestra}}{\text{Concen. añadida}} * 100$$

### Ecuación 16 Porcentaje de recuperación con muestra fortificada

Ejemplo

$$\text{porcentaje de recuperación} = \frac{30 \text{ mg/l} - 16.46 \text{ mg/l}}{13.54 \text{ mg/l}} * 100$$

$$\text{porcentaje de recuperación} = 100 \%R$$

ANOVA Cromo hexavalente concentración 0.6 mg/L

- **Media**

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

**Ecuación 17 Media**

Ejemplo

$$\bar{x} = \frac{0.624 + 0.608 + 0.608 + 0.608}{4} =$$

$$\bar{x} = 0.612 \text{ mg/l}$$

- **Desviación Estándar**

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

**Ecuación 18. Desviación Estándar**

Ejemplo

$$S = \sqrt{\frac{(0.624 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2}{3}}$$

$$S = 0.008$$

- **Varianza**

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

**Ecuación 19 Varianza**

ejemplo

$$S^2 = \frac{(0.624 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2}{3}$$

$$S^2 = 0.00006$$

- **Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Entre Grupos**

$$SDC_B = \sum \# \text{ de observaciones } (\text{Promedio de las lecturas} - \text{Promedio general})^2$$

**Ecuación 20** Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Entre Grupos

Ejemplo

$$SDC_B = 4 * ((0.612 - 0.618)^2 + (0.614 - 0.618)^2 + (0.616 - 0.618)^2 + (0.630 - 0.618)^2)$$

$$SDC_B = 0.0008$$

- **Diferencia Cuadrática Media (DCM) Entre Grupos**

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{\text{Grados de libertad entre grupos}}$$

**Ecuación 21** Diferencia Cuadrática Media (DCM) Entre Grupos

Ejemplo

$$DCM_B = \frac{0.008}{3}$$

$$DCM_B = 0.00027$$

- **Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Dentro de Grupos**

$$SDC_W = \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^4 (\text{Lecturas}_{ij} - \text{Promedio de las lecturas})^2$$



**Ecuación 22** Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Dentro de Grupos

Ejemplo

$$\begin{aligned} SDC_W = & (0.624 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 + (0.608 - 0.612)^2 \\ & + (0.624 - 0.614)^2 + (0.608 - 0.614)^2 + (0.608 - 0.614)^2 \\ & + (0.616 - 0.614)^2 + (0.632 - 0.616)^2 + (0.616 - 0.616)^2 \\ & + (0.608 - 0.616)^2 + (0.608 - 0.616)^2 + (0.632 - 0.630)^2 \\ & + (0.616 - 0.630)^2 + (0.608 - 0.630)^2 + (0.608 - 0.630)^2 \end{aligned}$$

$$SDC_W = 0.00106$$

- **Diferencia Cuadrática Media (DCM) Dentro de Grupos**

$$DCM_W = \frac{SDC_W}{\text{Grados de libertad dentro de grupos}}$$

**Ecuación 23** Diferencia Cuadrática Media (DCM) Dentro de Grupos

Ejemplo

$$DCM_W = \frac{12,5}{12}$$

$$DCM_W = 0.00009$$

- **Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Total**

$$SDC_T = SDC_B + SDC_W$$

**Ecuación 24** Suma de Diferencia Cuadrática (SDC) Total

Ejemplo

$$SDC_T = 0.0008 + 0.00106$$

$$SDC_T = 0.00035$$

- **Diferencia Cuadrática Media (DCM) Total**

$$DCM_T = \frac{SDC_T}{\text{Grados de libertad totales}}$$

### **Ecuación 25** Diferencia Cuadrática Media (DCM) Total

Ejemplo

$$DCM_T = \frac{0.00035}{15}$$

$$DCM_T = 0.00035$$

- **Prueba de Fisher**

$$prueba F = \frac{DCM_B}{DCM_W}$$

### **Ecuación 26** Prueba de Fisher

Ejemplo

$$Prueba F = \frac{0.00027}{0.00009}$$

$$Prueba F = 3.030$$

- **Desviación Estándar de repetibilidad**

$$S_r = \sqrt{DCM_W}$$

### **Ecuación 27** Desviación Estándar de repetibilidad

Ejemplo

$$S_r = \sqrt{0.00009}$$

$$S_r = 0.0094$$

- **Precisión Intermedia**

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{4}$$

### Ecuación 28. Precisión Intermedia

Ejemplo

$$S_L^2 = \frac{0.00027 - 0.00009}{4}$$

$$S_L^2 = 0,0000$$

- **Desviación Estándar de Reproducibilidad**

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

### Ecuación 29 Desviación Estándar de Reproducibilidad

Ejemplo

$$S_R = \sqrt{0.0001^2 + 0.0000^2}$$

$$S_R = 0.0115$$

- **Coefficiente de Variación de repetibilidad**

$$\%CV_r = \frac{S_r}{Promedio\ General} * 100$$

### Ecuación 30 Coeficiente de Variación de repetibilidad

Ejemplo

$$\%CV_r = \frac{0.0094}{0.618} * 100$$

$$\%CV_r = 1.52$$

- **Coeficiente de Variación de Reproducibilidad**

$$\%CV_R = \frac{S_R}{Promedio\ General} * 100$$

**Ecuación 31** Coeficiente de Variación de Reproducibilidad

Ejemplo

$$\%CV_R = \frac{0.0115}{0.618} * 100$$

$$\%CV_R = 1.86$$

## Anexo V Fotografías



**Figura 45** Espectrofotómetro DR 6000



**Figura 46.** Reacción colorimétrica cromo hexavalente



**Figura 47** Precipitación sulfatos



Figura 48 Material de referencia certificado como hexavalente

## Anexo VI certificados

HACH COMPANY

**HACH**  
An ISO 9001 Certified Company

P.O.Box 389  
Loveland, CO 80539  
(970) 669-3050

**Certificate of Analysis** Page 1

COMMODITY: **ChromaVer® 3 Chromium Reagent**  
COMMODITY NUMBER: **12710-99**      MANUFACTURE DATE:      DATE OF ANALYSIS:  
LOT NUMBER: **A6046**      **2/15/2016**      **2/17/2016**

| TEST  | SPECIFICATIONS  | RESULTS  |
|---|-----------------|----------|
| Function Test of a 10 mL sample: %T of a 0.25 ppm hexavalent chromium standard measured at 540 nm in 1 cm cells vs the reagent blank. | 60.7 to 66.7 %T | 63.20 %T |
| Function Test of a 5 mL sample: %T of a 0.6 ppm hexavalent chromium standard measured at 540 nm in 1 cm cells vs the reagent blank.   | 30.8 to 36.8 %T | 32.95 %T |
| Reagent Blank of a 10 mL sample: %T measured at 540 nm in 1 cm cells vs deionized water.  | 98 to 100 %T    | 99.6 %T  |
| Reagent Blank of a 5 mL sample: %T measured at 540 nm in 1 cm cells vs deionized water.   | 96 to 100 %T    | 99.0 %T  |

The expiration date is Nov 2018

Certified by Scott Als  
Scott Als  
Analytical Services Chemist

**Figura 49** Certificado de estándar Cromo hexavalente



1 Reagent Lane  
Fair Lawn, NJ 07410  
201.796.7100 tel  
201.796.1329 fax

### Certificate of Analysis

Fisher Scientific's Quality System has been found to conform to Quality Management System Standard ISO9001:2008 standard by SAI Global Certificate Number CERT - 0090918

This is to certify that units of the lot number below were tested and found to comply with the specifications of the grade listed. Certain data have been supplied by third parties. Fisher Scientific expressly disclaims all warranties, expressed or implied, including the implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose. Certain products (USP/FCC/AF/EP/JP/ grades) are sold for use in food, drug, or medical device manufacturing. Fisher does not claim regulatory coverage under 21 CFR nor maintain DMP's with the FDA. The following are the actual analytical results obtained:

|                   |   |                             |            |
|-------------------|---|-----------------------------|------------|
| Catalog Number    | S421  | Quality Test / Release Date | 11/11/2016 |
| Lot Number        | 161950  |                             |            |
| Description       | SODIUM SULFATE, ANHYDROUS, A.C.S.   |                             |            |
| Country of Origin | India   | * Suggested Retest Date     | Nov-2021   |
| Chemical Origin   | Inorganic-non animal  |                             |            |
| BSE/TSE Comment   | No animal products are used as starting raw material ingredients, or used in processing, including lubricants, processing aids, or any other material that might migrate to the finished product. |                             |            |

| Result name               | Units     | Specifications              | Test Value     |
|---------------------------|-----------|-----------------------------|----------------|
| APPEARANCE                |           | REPORT                      | White granules |
| ASSAY                     | %         | ≥ 99.0                      | 101.5          |
| CALCIUM                   | %         | ≤ 0.01                      | <0.010         |
| CHLORIDE                  | %         | ≤ 0.001                     | <0.0010        |
| HEAVY METALS (as Pb)      | ppm       | ≤ 5                         | <5             |
| IDENTIFICATION            | PASS/FAIL | = PASS TEST                 | PASS TEST      |
| INSOLUBLE MATTER          | %         | ≤ 0.01                      | <0.010         |
| IRON (Fe)                 | %         | ≤ 0.001                     | <0.0010        |
| LOSS ON IGNITION          | %         | ≤ 0.5                       | 0.1            |
| MAGNESIUM                 | %         | ≤ 0.005                     | <0.005         |
| NITROGEN COMPOUNDS        | ppm       | ≤ 5                         | <5             |
| PH 5% SOLUTION @ 25 DEG C |           | Inclusive Between 5.2 - 9.2 | 5.8            |
| PHOSPHATE (PO4)           | %         | ≤ 0.001                     | <0.0010        |
| POTASSIUM (K)             | %         | ≤ 0.01                      | <0.010         |



*Jerusa Bailey-Wyche*

Quality Assurance Specialist - Certificate of Analysis Fair Lawn

Note: The data listed is valid for all package sizes of this lot of this product, expressed as an extension of this catalog number listed above. If there are any questions with this certificate, please call Chemical Services at (800) 227-6701.  
\*Based on suggested storage condition.

Figura 50 Certificado de estándar sulfatos



ISO 9001 Certified



DR 6000

Be Right™

## Certificate of Final Inspection

|                                     |  |                            |
|-------------------------------------|--|----------------------------|
| part no.<br>serial no.              | Gerätenummer, n° d'appareil<br>Seriennummer, numéro de série | LPG441.99.00002<br>1643852 |
| <b>general function</b>             | allgemeine Funktion, fonction générale                       |                            |
| touchscreen                         | Touchscreen, touchscreen                                     | OK                         |
| interface USB                       | Schnittstelle USB, interface pour USB :                      | OK                         |
| <b>photometric data</b>             | Photometrische Werte data, data photométr :                  |                            |
| water value 348 nm                  | Wasserwert, valeur d'eau :                                   |                            |
| nominal value absorbance            | Sollwert Extinktion, absorbance valeur prévue :              | 0.050                      |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 0.045 ... 0.056            |
| actual value absorbance             | Istwert Extinktion, absorbance valeur réelle :               | 0.053                      |
| <b>wavelength accuracy</b>          | Wellenlängengenauigkeit, précision de la longueur d'onde :   |                            |
| inspection filter set               | Prüffiltersatz, set de filtres de contrôle :                 | 035                        |
| testfilter Ho                       | Prüffilter Ho, filtre test Ho :                              |                            |
| nominal value                       | Sollwert, valeur prévue :                                    | 360.9 nm                   |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 359.4 ... 362.4 nm         |
| actual value                        | Istwert, valeur réelle :                                     | 361.2 nm                   |
| testfilter BG20/2 (Nd)              | Prüffilter, filtre test : BG20/2 (Nd)                        |                            |
| nominal value                       | Sollwert, valeur prévue :                                    | 807.0 nm                   |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 805.5 ... 808.5 nm         |
| actual value                        | Istwert, valeur réelle :                                     | 807.2 nm                   |
| deuterium line                      | Deuterium Linie, Deutérium ligne                             |                            |
| nominal value                       | Sollwert, valeur prévue :                                    | 656.1 nm                   |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 654.6 ... 657.6 nm         |
| actual value                        | Istwert, valeur réelle :                                     | 656.1 nm                   |
| bandwidth                           | Bandbreite, largeur de bande                                 |                            |
| nominal value                       | Sollwert, valeur prévue :                                    | 2.2 nm                     |
| actual value                        | Istwert, valeur réelle :                                     | 2.2 nm                     |
| <b>photometrical accuracy 546nm</b> | Photometrische Richtigkeit, exactitude photométr :           |                            |
| inspection filter set               | Prüffiltersatz, set de filtres de contrôle :                 | 018                        |
| cuvette NG5/2                       | Küvette NG5/2, cuve NG5/2                                    |                            |
| nominal value absorbance            | Sollwert Extinktion, absorbance valeur prévue :              | 0.647                      |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 0.640 ... 0.653            |
| actual value absorbance             | Istwert Extinktion, absorbance valeur réelle :               | 0.645                      |
| cuvette NG9/1                       | Küvette NG9/1, cuve NG9/1                                    |                            |
| nominal value absorbance            | Sollwert Extinktion, absorbance valeur prévue :              | 1.362                      |
| tolerance                           | Toleranz, tolérance :  | 1.349 ... 1.376            |
| actual value absorbance             | Istwert Extinktion, absorbance valeur réelle :               | 1.361                      |
| <b>straylight</b>                   | Streulicht, diffraction :                                    |                            |
| at 331nm (GG385/3):                 | bei 331nm, à 331 nm (GG385/3):                               |                            |
| nominal value absorbance            | Sollwert Extinktion, absorbance valeur prévue :              | > 3.0                      |
| actual value absorbance             | Istwert Extinktion, absorbance valeur réelle :               | 3.3                        |
| date                                | Datum, date :  | Dec 17, 2015               |
| inspector                           | Bearbeiter, opérateur :                                      | R. Kosi                    |
| sign                                | Unterschrift, signature :                                    | Robert Kosi                |

Please add this certificate to your documents.  
Bitte verwahren Sie dieses Zertifikat bei Ihren Unterlagen auf.  
S'il vous plait, conservez scrupuleusement ce certificat dans vos archives.

HG0245 V 1.1

Figura 51 Certificado del espectrofotómetro