



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Validación de métodos analíticos para la Determinación de Metales Pesados (Cu, Fe, Zn, Mn y Pb), mediante Absorción Atómica en las matrices de Aguas Residuales, Naturales y de Consumo Humano en los laboratorios UTPL.

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTOR:

Gonzaga Aguilar, Pablo Andrés

DIRECTOR:

Guamán Caraguay, José Miguel, Ing.

LOJA – ECUADOR

2016



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Septiembre, 2016

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Ingeniero.

José Miguel Guamán Caraguay.

DOCENTE DE LA DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: Validación de métodos analíticos para la Determinación de Metales Pesados (Cu, Fe, Zn, Mn y Pb), mediante Absorción Atómica para las matrices de Aguas Residuales, Naturales y de Consumo Humano en los laboratorios UTPL realizado por Gonzaga Aguilar Pablo Andrés ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, abril de 2016

f).....

Firma

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo. Gonzaga Aguilar Pablo Andrés declaro ser autor del presente trabajo de titulación: Validación de métodos analíticos para la Determinación de Metales Pesados (Cu, Fe, Zn, Mn y Pb), mediante Absorción Atómica para las matrices de Aguas Residuales, Naturales y de Consumo Humano en los laboratorios UTPL de la Titulación de Ingeniería Química siendo el Ing. José Miguel Guamán Caraguay director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo Investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

F.....

Autor Gonzaga Aguilar Pablo Andrés
Cédula 1104898760

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado con todo mi cariño a mis padres Marco Gonzaga y Gladys Aguilar quienes con su esfuerzo y sacrificio me han permitido realizar este gran logro el cual también son ellos merecedores.

A mis hermanos y cuñada (Ruth, Patricio, Marco, Carlos y Katty) que con su apoyo y motivación han logrado que pueda superar cada obstáculo.

A mis sobrinas Amelia Sofía y Sara Daniela que cada día me motivan para ser un buen ejemplo para ellas.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradezco a Dios y a mis padres quienes son mi guía y al estar conmigo siempre y permitirme cumplir con este gran sueño.

Agradezco al Ing. José Miguel Guamán Caraguay por darme la confianza y apoyo para realizar este gran logro.

De la misma manera agradecer al Ing. Celso Romero, Ing. Silvio Aguilar e Ing. Natalí Solano, quienes con su apoyo y enseñanzas fui desarrollando mi camino profesional cada día en el transcurso de mi carrera. También de manera muy especial quisiera agradecer a mis amigos el Ing. Diego Maza e Ing. James Calva que estuvieron ahí en el día a día apoyándome y ayudando a salir adelante.

A mis Compañeros y amigos cercanos que siempre estuvieron ahí apoyándome en momentos buenos y malos en mi formación profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	I
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	IV
ÍNDICE DE CONTENIDOS	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
FIN DEL PROYECTO	4
PROPOSITO DEL PROYECTO	4
OBJETIVOS.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
ANTECEDENTES	6
MARCO TEORICO	7
Validación	8
Validación de métodos analíticos.	8
Desarrollo de pruebas de parámetros de validación.....	9
Rango de trabajo	9
Selectividad.	9
Linealidad.	9
Sensibilidad.	10
Límites.....	10
Exactitud.	10
Veracidad.....	11
Precisión.	11

Robustez.....	12
Incertidumbre.	12
Gráficos de control.	13
Espectrofotometría de absorción atómica.	14
Antecedentes.	14
Fundamento.	15
Descripción de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.	16
Instrumentación.	16
Fuentes de radiación.....	17
Atomizador.	19
Equipo de absorción atómica Perkin Elmer Aanalyst 400	20
Interferencias.	21
Metales pesados	22
Contaminación por metales pesados.	22
.....	23
METODOLOGÍA.	24
Metodología de los parámetros de validación para metales pesados.....	25
Determinación de metales por espectrofotometría de absorción atómica en llama directa.	34
RESULTADOS	36
Resultados de la validación del metal cobre.....	37
Resultados de la validación del metal zinc.	42
Resultados de la validación del metal manganeso.	47
Resultados de la validación del metal plomo.....	52
Resultados de la validación del metal Hierro.	57
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES	64
BIBLIOGRAFIA.....	65
ANEXOS.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Temperatura máxima de las llamas.....	20
Tabla 2. Efectos e importancia de elementos traza en el ecosistema.....	23
Tabla 3. Valores medios de precisión	27
Tabla 4. Valores para la curva de calibración de Cu en aguas.....	37
Tabla 5. Límite de detección de cobre en aguas	38
Tabla 6. Prueba t para cobre, en aguas	39
Tabla 7. Porcentaje de repetibilidad de Cu en aguas.....	39
Tabla 8. Porcentaje de reproducibilidad de Cu en aguas	39
Tabla 9. Análisis ANOVA de Cu en aguas	39
Tabla 10. Recuperación para cobre en aguas.....	40
Tabla 11. Incertidumbre de cobre en aguas.....	41
Tabla 12. Resultados de la validación del metal cobre en aguas.....	41
Tabla 13. Valores de la curva de calibración de zinc en aguas.....	42
Tabla 14. Límite de detección y cuantificación de zinc	43
Tabla 15. Prueba t para zinc en aguas	44
Tabla 16. Porcentaje de CV de la repetibilidad de Zn en aguas.....	44
Tabla 17. Porcentaje de CV de la reproducibilidad de Zn en aguas.....	44
Tabla 18. Análisis ANOVA para Zn en aguas.....	44
Tabla 19. Recuperación para zinc	45
Tabla 20. Incertidumbre para zinc en aguas	46
Tabla 21. Resultado de la validación del metal de zinc en aguas.....	46
Tabla 22. Valores de la curva de calibración de Mn en aguas	47
Tabla 23. Límites de detección y cuantificación de Mn en aguas	48
Tabla 24. Prueba t para Mn en aguas.....	49
Tabla 25. Porcentaje del CV de repetibilidad para Mn en aguas	49
Tabla 26. Porcentaje del CV de reproducibilidad para Mn en aguas.....	49
Tabla 27. Análisis ANOVA para Mn en aguas.....	49
Tabla 28. Recuperación para manganeso en aguas.....	50
Tabla 29. Incertidumbre de manganeso en aguas.....	51
Tabla 30. Resultado de la validación del metal de manganeso en aguas.....	51
Tabla 31. Valores de plomo para la curva de calibración	52
Tabla 32. Límites de detección y cuantificación de plomo en aguas	53
Tabla 33. Prueba t para plomo en aguas	54
Tabla 34. Porcentaje de CV de repetibilidad de plomo en aguas.....	54
Tabla 35. Porcentaje del CV de plomo en aguas.....	54
Tabla 36. Análisis ANOVA para plomo en aguas.....	54
Tabla 37. Recuperación para plomo en aguas.....	55

Tabla 38. Incertidumbre de plomo en aguas.....	56
Tabla 39. Resultado de la validación del metal de plomo en aguas.	56
Tabla 40. Valores de hierro para la curva de calibración.....	57
Tabla 41. Límites de detección y cuantificación de hierro en aguas.....	58
Tabla 42. Prueba t para hierro en aguas	59
Tabla 43. Porcentaje CV de la repetibilidad de hierro en agua.....	59
Tabla 44. Porcentaje CV de la reproducibilidad de hierro en agua	59
Tabla 45. Análisis ANOVA de hierro en agua.....	59
Tabla 46. Recuperación para hierro en aguas	60
Tabla 47. Incertidumbre de hierro en aguas	61
Tabla 48. Resultado de la validación del metal de hierro en aguas.....	62
Tabla 49. Cálculo de la pendiente e intercepto de zinc en aguas	74
Tabla 50. Coeficiente de correlación de zinc en aguas.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exactitud y precisión	11
Figura 2. Gráfico de control	14
Figura 3 Ley de Beer	15
Figura 4. Partes de un espectrofotómetro de absorción atómica.....	17
Figura 5. Lámpara de cátodo hueco.....	18
Figura 6. Lámpara de descarga sin electrones	18
Figura 7. Partes de un atomizador	19
Figura 8. Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 400.....	21
Figura 9. Fuentes de incertidumbre.....	30
Figura 10. Curva de calibración para cobre.	38
Figura 11. Gráfico o de control de cobre en aguas.....	40
Figura 12. Curva de calibración para zinc.	43
Figura 13. Gráfico de control del zinc.	45
Figura 14. Curva de calibración de manganeso.....	48
Figura 15. Gráfico de control del manganeso.....	50
Figura 16. Curva de calibración para plomo.	53
Figura 17. Gráfico de control del plomo.....	55
Figura 18. Curva de calibración para Hierro.	58
Figura 19. Gráfico de control del hierro	61

RESUMEN

La validación de métodos analíticos para la determinación de metales pesados (Cu, Fe, Mn, Zn y Pb) por espectrofotometría de absorción atómica en las matrices de agua residual, natural y de consumo humano, comienza con la revisión de métodos normalizados, para metales pesados en aguas. La validación se la realiza para el cumplimiento de requisitos de la norma ISO/IEC: 17025, Standard Methods, Guía Eurachem.

La metodología empleada fue el método de llama aire-acetileno, con el Espectrofotómetro de Absorción Atómica de marca Perkin Elmer 400.

Para garantizar el proceso de validación, se analizaron los siguientes requisitos exigidos: rango de trabajo, linealidad del método, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, incertidumbre y precisión.

Se determinó mediante análisis estadístico que se cumplió con los diferentes criterios para cada analito metálico, entre estos tenemos: veracidad ($80\% < \%R < 120\%$), linealidad presentando un coeficiente de correlación (r^2) mayor a 0.995, y finalmente una incertidumbre ($\leq 30\%$ ($K=2$)) en todos los niveles de concentración.

Palabras clave: Espectrofotometría de Absorción Atómica / Validación / Metales Pesados.

ABSTRACT

The Validation of analytical methods for the determination of heavy metals (Cu, Fe, Mn, Zn and Pb) by atomic absorption spectrophotometer in matrices residual, natural and human consumption begins with a review of standardized methods for heavy metals presents in water. The validation is done to perform the requirements of ISO / IEC 17025, Standard Methods, Eurachem Guide.

The methodology used was the method of air-acetylene flame, with Atomic Absorption Spectrophotometer Perkin Elmer 400.

To ensure the validation process, the following requirements were analyzed: working range, linearity of the method, detection limit, quantification limit, accuracy, precision and uncertainty.

It is determined by statistical analysis meet the various criteria for each metal analyst, among these are: accuracy (80% < % R < 120%), linearity showing a correlation coefficient (r^2) It is greater than 0.995 and finally an uncertainty ($\leq 30\%$ (K = 2)) at all concentration levels.

Keywords: atomic absorption / spectrophotometry / Validation / Heavy Metal.

INTRODUCCIÓN

El control interno de calidad de un laboratorio consiste es una serie de prácticas encaminadas a asegurar la calidad de los resultados obtenidos, gracias a métodos y a normas internacionales como la ISO/IEC: 17025, la cual se define como una norma de calidad en la que detalla los requisitos generales que debe cumplir un laboratorio para ser reconocido como apropiado, para desarrollar los diferentes tipos de ensayos o calibraciones, esto incluye además el muestreo, los diferentes laboratorios que cumplan con los requisitos de dicha norma pueden demostrar que operan con un sistema de calidad, generando así resultados técnicamente válidos, el impacto que generan dichos resultados generan la necesidad en los laboratorios de validar métodos analíticos.

La validación de métodos analíticos es sin duda la verificación mediante el aporte de evidencia objetiva que ha cumplido con los diferentes requisitos para una utilización o aplicación específica prevista, uno de las principales razones del porque se desarrolla una validación es la manifestación de resultados exactos y precisos, que sean reproducibles para generar confianza a los clientes.

El objetivo principal de esta investigación es la validación de métodos analíticos para la determinación de (Cu, Fe, Mn, Zn y Pb) por espectrofotometría de absorción atómica mediante llama directa, en las matrices de agua residual, natural y de consumo humano que son realizados en los laboratorios del departamento de Ingeniería Ambiental e Instrumental de la UTPL.

Para la validación de estos métodos se considera los criterios de: Selectividad, linealidad, sensibilidad, límites, precisión, veracidad y robustez, teniendo cuidado siempre de trabajar con material calibrado y sustancias de referencia certificadas, que nos permitan garantizar los resultados obtenidos en dicha investigación.

JUSTIFICACIÓN

Desde hace mucho tiempo atrás a existido un incremento considerable en las exigencias de un cliente por un producto o servicio que se requiere. En caso particular de los laboratorios del departamento de Ingeniería Ambiental e Instrumental de la UTPL no son excepciones de dichas exigencias, por tal motivo, los laboratorios de la UTPL deben desarrollar análisis válidos y confiables con el único propósito de brindar una mejor calidad en los ensayos, los cuales se desarrollan siguiendo normas y métodos internacionales asegurando así la calidad de los procesos, lo cual va de la mano con la calidad de servicio que se requiere mejorar.

La importancia del desarrollo de la validación de la determinación de metales pesados mediante absorción atómica es la demostración de la evidencia objetiva para la determinación de (Cu, Fe, Mn, Zn y Pb) en las matrices de agua natural, consumo humano y residual, todo esto tiene con fin el beneficiar a la comunidad lojana y a la investigación que se desarrolla en la UTPL.

FIN DEL PROYECTO

El desarrollo de la Validación de métodos analíticos para la determinación de metales pesados (Cu, Fe, Zn, Mn y Pb), mediante absorción atómica en las matrices de aguas residuales, naturales y de consumo humano en los laboratorios UTPL. Muestra un conjunto de cumplimiento de requisitos técnicos, dichos requisitos se encuentran figurados en la norma ISO/IEC: 17025, esto es sin duda, una buena herramienta para el mejoramiento de la calidad y la confiabilidad de los ensayos realizados por los laboratorios de la UTPL.

PROPOSITO DEL PROYECTO

Contribuir de una manera científicamente comprobada con la validación de métodos analíticos para la Determinación de Metales Pesados (Cu, Fe, Mn, Zn y Pb) mediante Absorción Atómica para las matrices de aguas residuales, naturales y de consumo Humano.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Validación de la metodología de Espectroscopia de Absorción Atómica de llama directa para la determinación de Metales Pesados: cobre, hierro, plomo, manganeso, zinc presentes en agua natural, residual y de consumo humano a fin de que cumplan con los estándares de competencia técnica requeridos por la Norma ISO/IEC 17025.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el análisis estadístico de valores originales, añadirlos a los registros correspondientes utilizando medidas de tendencia central como: desviación estándar, porcentaje del coeficiente de variación (ANOVA) de los datos obtenidos de la validación en los diferentes tipos de matriz de aguas mencionadas.
- Desarrollar la validación de cada uno de los metales propuestos utilizando la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica de llama directa.

ANTECEDENTES

El desarrollo de las acreditaciones de los diferentes laboratorios de control de aguas del país y de otras partes del mundo realizan validaciones de diferente tipo entre ellas consta la determinación de metales pesados presentes en las diferentes matrices de agua.

1. Para realizar la validación de metales (Ag, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn, etc.) por Absorción Atómica de Llama presentes en agua y suelos desarrollados en los Laboratorio del Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación, DPEC, de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Central del Ecuador. (Tixe Remache, 2013).

Se inició con la revisión de procedimientos normalizados para el análisis de metales en aguas SM 3030F y en suelos EPA 3050B. Se determinó mediante el análisis estadístico que se cumplió con los diferentes criterios para cada analito metálico, tales como coeficiente de variación de repetibilidad y reproducibilidad $\leq 10 \%$; Veracidad ($85 < \%R < 115$) e incertidumbre $U \leq 30 \%$ ($K=2$) en todos los niveles de concentración para cada matriz, por lo que la validación quedó aceptada. (Tixe Remache, 2013).

2. Se realizó la validación del método para la determinación de Molibdeno y Cromo presentes en agua cruda, tratada y residual y Níquel en agua residual por Espectroscopia de Absorción Atómica de llama. Debido a que existen varios métodos para la extracción de metales, se realizaron pruebas preliminares, para determinar el método de digestión más apropiado, obteniendo un mejor resultado con el método de HNO₃.(MOLINA, 2008). Las determinaciones se efectuaron con un Espectrofotómetro de Absorción Atómica SHIMADZU AA-7000, mediante la técnica llama de aire-acetileno para el metal Níquel y llama de óxido nitroso-acetileno para los metales Molibdeno y Cromo realizado en la Universidad Tecnológica de Pereira.(MOLINA, 2008).

3. Norma mexicana (NMX-AA-051-1981) establece el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica para la determinación de metales disueltos, totales, suspendidos y recuperables en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas.(Eurachem, 1998).

MARCO TEORICO

Validación

Control de calidad

El control de calidad involucra en primer lugar, el comprobar y eliminar todas las fuentes de errores sistemáticos que pueden detectarse en el laboratorio. La exactitud se puede verificar mediante el uso de normas métodos internacionales y materiales de referencia con la participación de programas y la colaboración entre laboratorios.(Barrenechea, 2004)

Métodos estándar

Son métodos desarrollados por un organismo de normalización, cuyos métodos son generalmente aceptados, se puede citar como ejemplo el método estándar para el análisis aguas limpias y residuales o también llamado, Standard Methods for the examination of wáter and wastewater utilizado como referencia en los laboratorios de la UTPL.(Tixe Remache, 2013)

Normas y Guías para la validación de métodos

La norma ISO/IEC: 17025, tiene como fin establecer los requisitos para la competencia de la realización de ensayos o calibraciones esto incluye además el muestreo, esta norma opera bajo un sistema de control de calidad, cumpliendo con los requisitos técnicos de la norma ISO 9001, sin embargo existe una diferencia entre estas dos normas la cual detalla que la norma ISO 9001 puede aplicarse a todo tipo de organización, por otro lado la norma ISO 17025 es exclusiva para laboratorios de análisis y calibración.(Eurachem, 1998)

La Guía Euracham.

Es una guía aceptada por la mayoría de laboratorios y organizaciones como la OAE (Organización de Acreditación Ecuatoriana) siendo una red europea que tiene como finalidad proporcionar un sistema internacional para asegurar la trazabilidad de mediciones analíticas y la promoción de prácticas analíticas(Eurachem, 1998)

Validación de métodos analíticos.

La validación de un método analítico se lo define como el proceso para especificar una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión, tiene capacidades de

desempeño consistentes con las que requiere la aplicación, es decir, que la validación en los laboratorios busca determinar con fundamento estadístico que el método es adecuado para los fines previstos.

Porque es necesario validar un método analítico, surge la necesidad para la verificación o el control de los parámetros de desempeño siendo estos adecuados para su uso analítico específico, teniendo como fin el emitir resultados exactos y precisos y que estos sean reproducibles para generar confianza en los clientes,(Tixe Remache, 2013)

Desarrollo de pruebas de parámetros de validación.

Los resultados obtenidos en la presente investigación fueron debidamente comprobados y registrados, estos ensayos o mediciones tienen como fin el desarrollo de los siguientes parámetros.

Rango de trabajo

Es el intervalo comprendido entre las concentraciones superior e inferior (ambas incluidas), en el cual el analito puede cuantificarse con un nivel satisfactorio de precisión, exactitud y linealidad según el método de ensayo documentado. En una serie de resultados el intervalo es la diferencia entre el mayor y el menor de ellos (“Validación de métodos estadísticos y estimación de incertidumbre,” 2014)

Selectividad.

La selectividad es el grado de un método que puede cuantificar y cualificar el analito en presencia de otros componentes en la matriz de muestra bajo las condiciones de pruebas establecidas, el espectro de absorción o de masas se encarga de entregar la información al respecto, en especial cuando es comparado en presencia de una interferencia. (Eurachem, 1998).

Linealidad.

Se define como la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito. El rango lineal se puede realizar mediante un gráfico de concentración versus respuesta, que se conoce como Función Respuesta (normalmente llamada recta de calibrado). Esta establece una cierta cantidad de valores

formados por un blanco y los patrones de trabajos limpios de valor teórico conocido, que cubran el intervalo de trabajo. (Eurachem, 1998)

Sensibilidad.

Es el cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio de estímulo. En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración.(Eurachem, 1998).

Límites.

Se debe tener en consideración los siguientes parámetros: Valor crítico, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ).

- Valor Crítico
En una prueba de hipótesis, se menciona que es un valor estadístico de prueba que divide todos los valores posibles, en regiones de aceptación y de rechazo.
- Límites de detección. Se lo puede definir como la concentración neta verdadera o la cantidad del analito en el material a analizarse la cual llevará, con una probabilidad de $(1-\beta)$, a la conclusión que la concentración del analito en el material analizado es mayor que la del blanco de matriz.
- Límites de cuantificación.
Los límites de cuantificación son característicos de desempeño que marcan la habilidad de un proceso de medición química para cuantificar adecuadamente un analito.(“Validación de métodos estadísticos y estimación de incertidumbre,” 2014)

Exactitud.

Cuando nos referimos al término “exactitud”, nos indica que está aplicado a un conjunto de resultados de un ensayo: supone una combinación de componentes aleatorios y un componente común de error sistemático o sesgo, es decir, se lo puede definir como la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

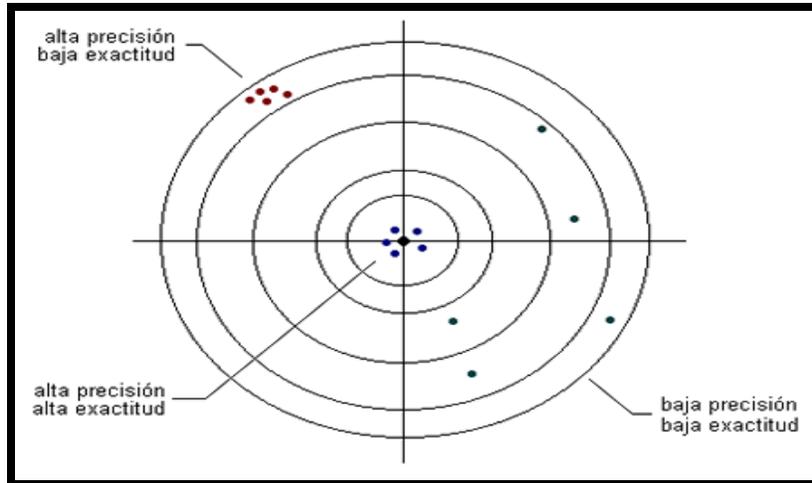


Figura 1. Exactitud y precisión
Fuente:(Eurachem, 1998)

Veracidad.

Determina el grado de coincidencia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado.

La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación

- Sesgo.
Es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.
- Recuperación.
La fracción de analito adicionada a una muestra de prueba (muestra fortificada o adicionada) previa al análisis que es determinada efectivamente por el método; el porcentaje de recuperación (%R) entre las muestras fortificadas y sin fortificar.

Precisión.

Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas, las mediciones cuantitativas de la precisión dependen en forma crítica de las condiciones estipuladas. La repetibilidad y la reproducibilidad son series particulares en condiciones extremas.

- Repetibilidad.

Es la precisión bajo las condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método en ítems de análisis idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador utilizando el mismo equipamiento dentro de intervalos cortos de tiempo.

- Reproducibilidad

Es la precisión bajo las condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método en ítem idénticos de análisis en condiciones diferentes ya sea de laboratorio, diferentes operadores, usando distintos equipos. (Eurachem, 1998)

Robustez.

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

Un método de ensayo es más robusto entre menos se vean afectados sus resultados frente a una modificación de las condiciones analíticas. (Eurachem, 1998).

Incertidumbre.

La incertidumbre de una medición es el parámetro asociado al resultado, es decir, nos indica cuan afectadas están las mediciones por cierto error, indicando a su vez el tamaño de dicho error. ("Validación de metodos estadisticos y estimacion de incertidumbre," 2014)

Fuentes de incertidumbre.

La incertidumbre puede provenir por el resultado de varias fuentes entre ellas tenemos: muestreo, sesgo del instrumento, pureza de los reactivos, condiciones de medición, efectos de la muestra, efectos de cálculo o computacionales, sesgo del operador, contaminación y efectos aleatorios, no hay necesidad de escribir todas las fuentes generalmente para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de espina de pescado u otro tipo de diseño esquemático que permita con facilidad identificar las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico. (Castro Galván E & F., 2000)

Componentes de la incertidumbre.

Cada una de las contribuciones de las fuentes de incertidumbre el laboratorio deberá realizar una evaluación de las incertidumbres tipo A y B que están presentes en el método:

Evaluación de incertidumbre tipo A: Evaluación de un componente por un análisis estadístico de los valores de mediciones obtenidos en condiciones de medición definidas. Ejemplo: realizar varias mediciones en condiciones de repetibilidad.

Evaluación de incertidumbre tipo B: Evaluación de un componente incertidumbre de la medición realizada por otros medios distinto a los del tipo A. Ejemplos: La evaluación basada en la información, obtenidos a partir de un certificado de calibración.

La determinación de la incertidumbre incluye 4 pasos, el primero corresponde a la determinación de las fuentes, el segundo en expresar los componentes en una incertidumbre estándar, el tercero combinar las diferentes incertidumbres y el cuarto paso es la determinación de la incertidumbre expandida es decir, multiplicar la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k = 2$, a fin de entregar un 95% de confianza en los resultados.(Entidad Nacional de Acreditación (ENAC), 1997)

Gráficos de control.

Una gráfica de control es una comparación gráfica de los datos de desempeño de proceso con los "límites de control estadístico" calculados, dibujados como rectas limitantes sobre la gráfica. Los datos de desempeño de proceso por lo general consisten en grupos de mediciones que vienen de la secuencia normal de producción y preservan el orden de los datos. Las gráficas de control constituyen un mecanismo para detectar situaciones donde las causas asignables pueden estar afectando de manera adversa la calidad de un producto(Correa, 2000)

El objetivo de una gráfica control no es lograr un estado de control estadístico, sino reducir la variación del proceso.

Interpretación de los gráficos de control.

No basta con solo saber construir los gráficos de control; si no que es necesario saber interpretarlos, con el fin de averiguar lo que le está sucediendo al proceso en el transcurso del tiempo: causas de variación especiales, sesgos, tendencias, etc. (Correa, 2000)

Los gráficos de control presentan una distribución normal, cuando la mayor parte de los puntos se sitúa muy cerca del promedio, algunos pocos se alejan algo más y prácticamente no hay ninguno en las zonas más alejadas como se muestra en la figura 2

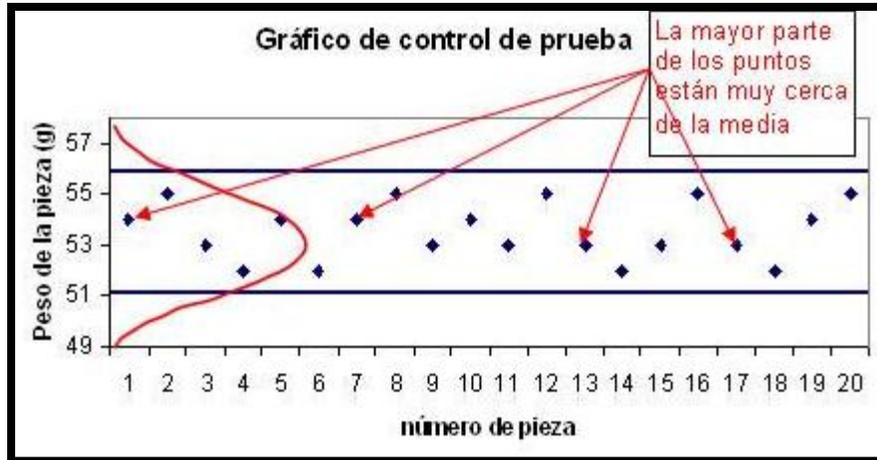


Figura 2. Gráfico de control
Fuente:(Barrenechea, 2004)

Por otra parte cuando se presenten distribuciones anormales en los gráficos de control no se podrán utilizar y se deberá investigar la fuente del error y posteriormente desarrollar su respectiva corrección.

Espectrofotometría de absorción atómica.

Antecedentes.

El termino espectroscopia significa la observación y estudio del espectro, o registro que se tiene de una especie como por ejemplo una molécula, ion o un átomo.

Uno de los principales pioneros en la espectroscopia fue Isaac Newton quien a principios del año 1600, observó y estudio el comportamiento de la luz solar cuando esta atraviesa por una prisma. Pero los más relevantes fueron sin ninguna duda Kirschhoff con su ley (cualquier materia que pueda emitir luz a una cierta longitud de onda también absorberá luz a esa longitud de onda) y Bunsen que en el año de 1859 amplía el conocimiento de la

naturaleza de este fenómeno. Cuando la luz colorida producida por el metal en la flama la hicieron incidir en un depósito óptico que separa la radiación emitida por el metal, de la luz solar.(Rocha Castro, 2000)(Harris, 2006).

Fundamento.

La espectroscopia de absorción atómica tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos, está determinada por la ley de Beer.

- Ley de Beer

Quando una radiación incide sobre un cuerpo transparente una parte es reflejada, otra parte absorbida y una tercera parte atraviesa el cuerpo y sale al exterior y puede ser disparada o producir fenómenos de fluorescencia.

Trasmisión es el nombre que recibe el cociente $T = \frac{I}{I_0}$ dónde, I: Intensidad transmitida e I_0 Intensidad inicial.

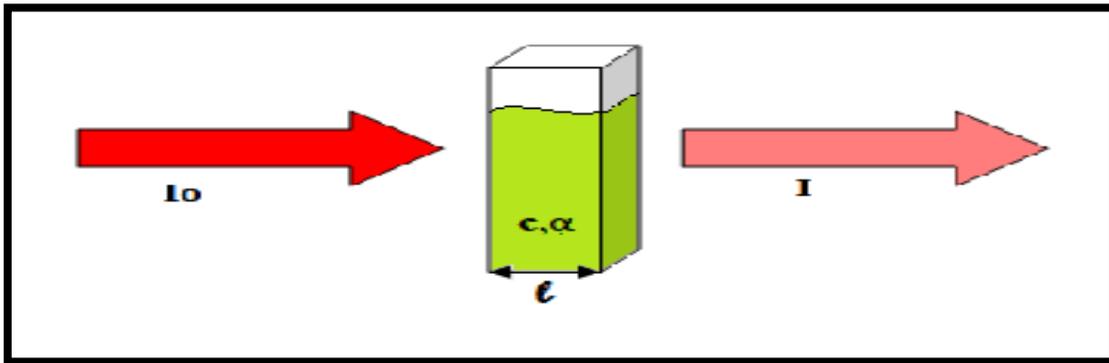


Figura 3 Ley de Beer
Fuente:(Rocha Castro, 2000)

La ley de Beer establece una proporcionalidad directa entre la absorbancia y la concentración de una disolución, suponiendo igual a la unidad de espesor de disolución atravesado por la radiación representada por la siguiente ecuación.(Lambert,1852)

$$A = \varepsilon bC \quad (1)$$

Dónde:

A: Absorbancia

ε : Coeficiente de absortividad molar

b: Espesor de la celda o camino óptico

C: Concentración de la especie absorbente

Descripción de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

La técnica del Espectrofotómetro de Absorción Atómica con llama se la detalla de la siguiente manera: la muestra en forma líquida es absorbida a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se descompone y forma un rocío o pequeñas gotas de líquido. Las gotas formadas son conducidas a una llama, donde se produce una serie de sucesos que originan la formación de átomos. Dichos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración.(Rocha Castro, 2000).

La señal de la lámpara una vez que pasa por la llama llega a un monocromador, que tiene como finalidad de separar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura. (Harris, 2006)(Rocha Castro, 2000).

Instrumentación.

El equipo de espectrofotometría de absorción atómica con llama es, fuente de luz, celda de muestra, dispositivo de separación de la luz, dispositivo de medición de la luz, procesamiento de la señal. En la siguiente imagen se muestra los componentes que forman un equipo de Absorción Atómica.(Rocha Castro, 2000).

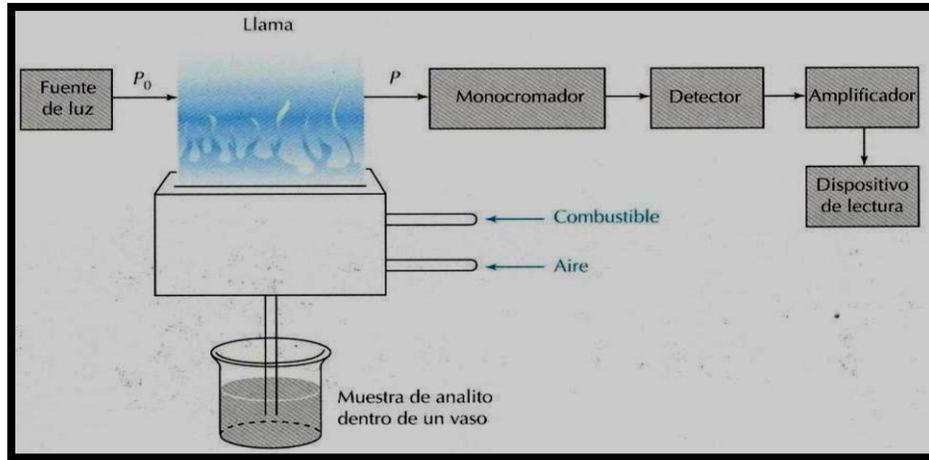


Figura 4. Partes de un espectrofotómetro de absorción atómica
Fuente:(Harris, 2006)

Fuentes de radiación

Una vez que han sido formados los átomos, la llama tiene la misma función que una celda en espectroscopia visible o ultravioleta. Los átomos de la llama absorben radiación de acuerdo a la Ley de Beer si ésta corresponde a la diferencia de energía entre los niveles energéticos de algunos de los átomos presentes, de lo contrario, la radiación pasa por la flama sin disminuir la potencia de haz como efecto de los átomos contenidos en ella.

- Lámparas de cátodo hueco.

Este tipo de fuente de radiación es de las ampliamente difundidas en la EAA. Las lámparas de cátodo hueco consisten de un cilindro de vidrio sellado con Ne y Ar a una presión de 130 a 700 Pa en su interior. Dentro de este mismo cilindro se encuentran dos filamentos; uno de ellos es el cátodo y el otro el ánodo. El ánodo generalmente es un alambre grueso hecho de níquel o tungsteno, el cátodo es en forma de un cilindro hueco, en el interior del cual se encuentra depositado en forma de una capa el elemento metálico que se va a excitar. También regularmente y cuando esto es posible el cátodo está enteramente hecho del metal analizar.(Harris, 2006)(Rocha Castro, 2000).

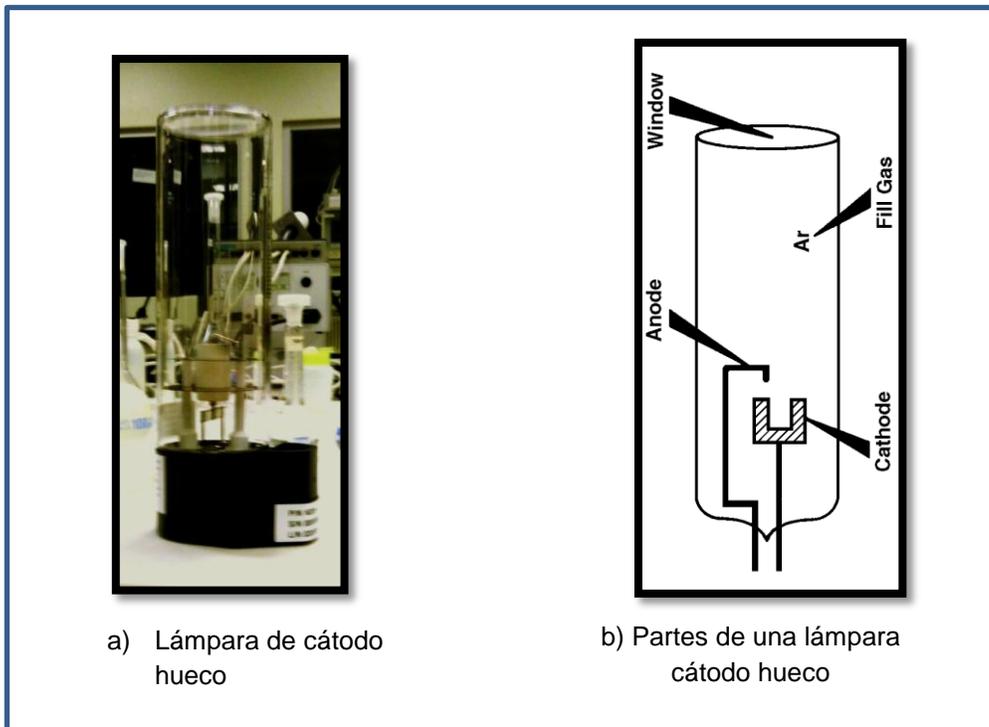


Figura 5. Lámpara de cátodo hueco
Fuente:(Rocha Castro, 2000)

- Lámpara de descarga sin electrones.

La lámpara de descarga sin electrodos se construyen colocando una pequeña cantidad de una sal del elemento metálico (generalmente un yoduro), o el elemento metálico si así es más conveniente, en un recipiente de cuarzo, el cual previamente se ha sometido al vacío antes de sellarse. Posteriormente, esta ampolla de cuarzo se coloca dentro de un cilindro de cerámica el cual está acoplado a un generador de radiofrecuencia.(Harris, 2006)(Rocha Castro, 2000).

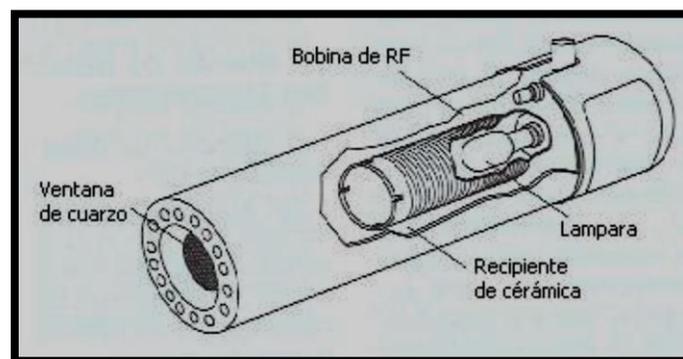


Figura 6. Lámpara de descarga sin electrones
Fuente:(Rocha Castro, 2000)

Atomizador.

Los atomizadores son quemadores que permiten la separación de las moléculas para formar átomos libres por medio de un gas combustible. El atomizador más utilizado para la absorción atómica es el atomizador de llama, el cual es un típico mechero de flujo laminar que emplea un nebulizador de tubo concéntrico, en donde la muestra se vuelve niebla y mezclada con un flujo de gas oxidante y un combustible pasan por una serie de deflectores que eliminan las gotas no muy finas a un contenedor de desechos y las finamente divididas las deja pasar a un mechero provisto de una ranura que produce una llama relativamente estable y larga, propiedades que aumentan la sensibilidad y reproducibilidad de la técnica.(Rocha Castro, 2000).

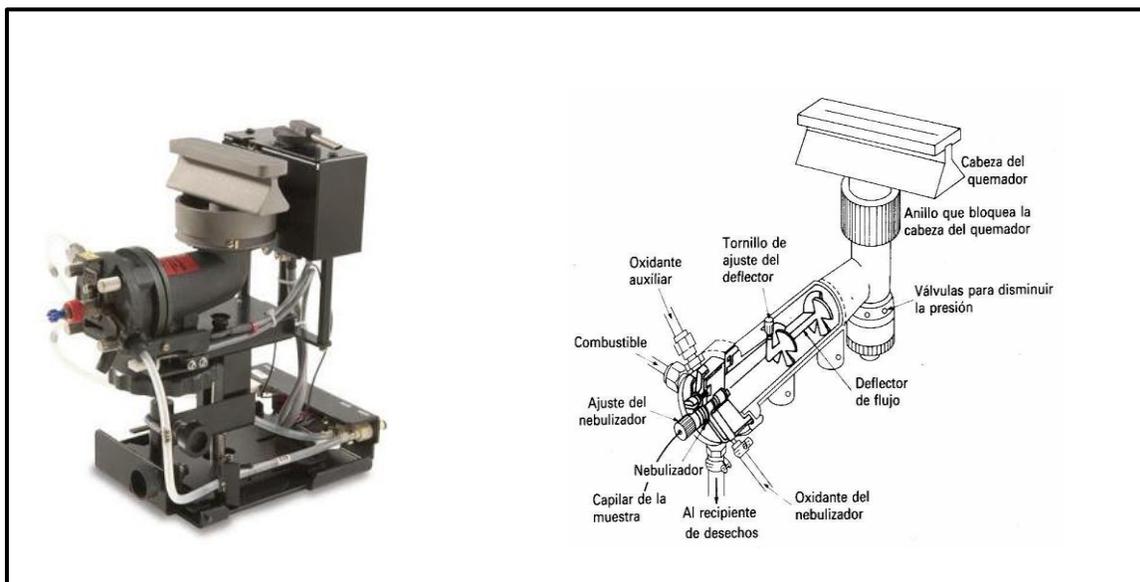


Figura 7. Partes de un atomizador
Fuente:(Rocha Castro, 2000)(Perkin, 2000)

Un atomizador está conformado por las siguientes partes:

- Capilar. Es un dispositivo que nos permite la absorción de la muestra líquida para introducirla al proceso de análisis de absorción atómica.
- Nebulizador. Dispersa el líquido en gotas pequeñas con el fin de que se puedan mezclar íntimamente con el oxidante y el combustible antes de alcanzar la llama.
- Cámara de pre mezcla. Es un dispositivo que permite la mezcla del oxidante y el combustible aumentando la dispersión mediante el choque con una esfera de

impacto, dando lugar a una fina niebla que asciende hacia la cabeza del mechero, donde tendrá lugar la atomización.

- d) Cámara de rocío.-Un modificador de aerosol, que saca gotitas más grandes de la corriente para permitir que solo pasen las que son menores de cierto tamaño.
- e) Quemador.- Colocado sobre la cámara de pre mezcla, es donde se forma la llama. Está construido de material muy refractario como el titanio y proporciona un camino óptico de unos 10 cm. Si se utiliza la mezcla óxido nitroso/acetileno, como oxidante y combustible respectivamente, es preciso utilizar mecheros con la ranura más estrecha y camino óptico de 5 cm, para evitar que retroceda la llama y se produzcan explosiones en el interior del equipo.
- f) Llamas.- Aporta la energía necesaria para convertir el analito en átomos libres y se produzca la atomización, aunque a lo largo del desarrollo de la EAA se han utilizado diferentes combinaciones de gases para producir la reacción de combustión en el quemador (ejemplo: oxígeno-acetileno, aire-hidrógeno, oxígeno-hidrógeno, etc.), las únicas combinaciones que hoy en día se emplean con fines prácticos son las flamas: aire propano, aire-acetileno, óxido nitroso-acetileno.

Tabla 1. Temperatura máxima de las llamas

Combustible	Oxidante	Temperatura (°K)
Acetileno	Aire	2400 - 2700
Acetileno	Óxido de nitroso	2900 - 3100
Acetileno	Oxígeno	3300 - 3400
Hidrogeno	Aire	2300 - 2400
Hidrogeno	Oxígeno	2800 - 3000
Cianógeno	Oxígeno	4800

Fuente:(Harris, 2006)

Equipo de absorción atómica Perkin Elmer Aanalyst 400

Este equipo está disponible en los laboratorios UTPL del departamento de Química en la sección Departamental de Ingeniería Ambiental y Química Aplicada. El diseño modular del aanalyst 400 asegura un fácil mantenimiento permitiendo de manera rápida y simple reemplazar los componentes de servicio permitiendo el ahorro de tiempo y dinero. El aanalyst 400 ofrece todas las herramientas y funciones necesarias para iniciar

rápidamente. De esta manera se satisface las necesidades de los laboratorios de hoy. El aanalyst 400 presenta las siguientes características: (Perkin, 2000).

- Partes modulares que se reemplazan fácilmente lo que permite que no exista un tiempo de inactividad.
- Lámparas: Lámparas de cátodo hueco y lámparas de descarga sin electrodo.
- Software WinLab32 AA Llama instalado y fácil de utilizar.
- Manuales
- Accesorios

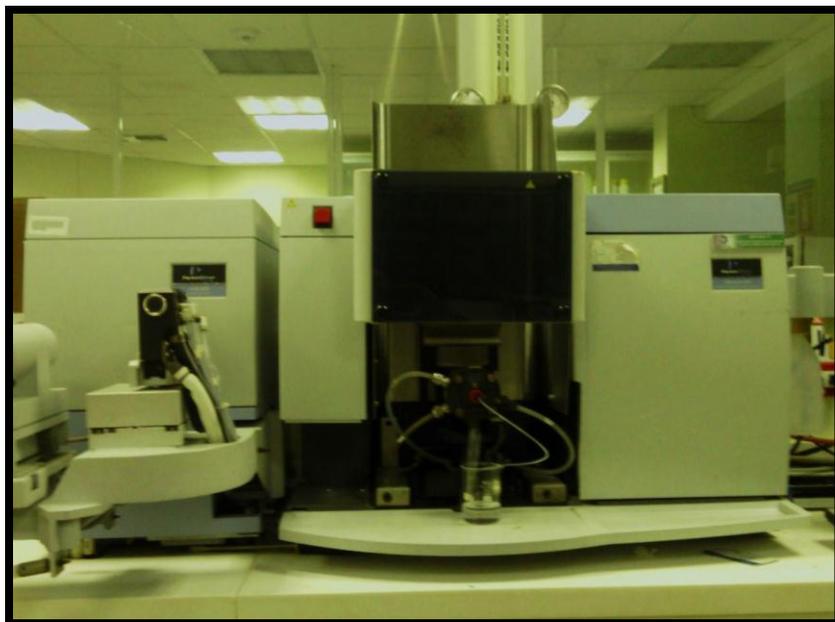


Figura 8. Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 400
Fuente: El autor

Interferencias.

Las principales interferencias que pueden presentarse en la determinación de los elementos estudiados son:

En el caso del plomo aún no se han reportado interferencias de cationes significativas, sin embargo se ha determinado que especies aniónicas como; fosfato, carbonato, ioduro, fluoruro y acetato disminuyen la señal del elemento cuando sus concentraciones son diez veces mayores que la del plomo. Estas interferencias pueden controlarse agregando

soluciones EDTA a muestras y patrones en concentración finales de 0.1 mol/L en una longitud de onda de 217 nm las especies no atómicas en la llaman absorben fuertemente si la muestra contiene un valor elevado de solidos disueltos es necesario corregir el efecto de absorción no atómica con un sistema de corrector de fondo durante la determinación. El mismo problema presenta la determinación de zinc a una longitud de onda de 213.9 nm ("Norma Venezolana 2769-91," n.d.)

Metales pesados

Los metales pesados se lo pueden definir como sustancias propias de la naturaleza que presentan con una densidad de cinco veces mayor a la del agua. Algunos metales pesados son importantes para los seres vivos denominados oligoelementos imprescindibles para el metabolismo de los mamíferos, sin embargo algunos pueden ser en concentraciones elevadas muy tóxicos y peligrosos para el hombre y el ecosistema. (Ambiente, 2007)

Contaminación por metales pesados.

Generalmente una de las mayores preocupaciones sobre la seguridad del agua es la presencia potencial de contaminantes químicos. Estos pueden incluir productos orgánicos, e inorgánicos como también metales pesados provenientes de fuentes industriales, agrícola y de la escorrentía urbana. Los elementos traza son aquellos elementos que se encuentran en proporciones a niveles muy bajos de unas partes por millón o menos en un sistema dado.(Luz Edith Barba Ho, 2002)(Manahan, 2006).

Algunos de los metales pesados están entre los más dañinos de los contaminantes elementales y son de particular interés debido a su toxicidad para los humanos. Los metales pesados incluyen compuestos esenciales como el hierro y muy tóxicos como el cadmio y el mercurio la mayoría tiene una mayor afinidad por el azufre evitando la función de las enzimas y formando enlaces con ellas a través de sus grupos con azufre.(Manahan, 2006).

La tabla1 resume algunos elementos trazas importantes que se han encontrado en diferente tipo de aguas, siendo alguno de ellos importantes para la vida de plantas y animales en bajas concentraciones y letales a niveles muy altos. (Romero Ledezma, n.d.).

Tabla 2. Efectos e importancia de elementos traza en el ecosistema.

Elementos	Fuentes	Efectos e Importancia
Arsénico	Subproductos mineros, residuales químicos	Tóxico, posiblemente cancerígeno
Berilio	Carbón , residuos industriales	Tóxico
Boro	Carbón , detergentes residuos líquidos	Tóxico
Cromo	Recubrimientos metálicos	Tóxico para plantas y algas a niveles altos
Cobre	Recubrimientos metálicos minería, residuos industriales	Esencial como Cr(III), toxico como Cr(IV)
Flúor	Fuentes geológicas naturales	Tóxico a niveles superiores
Hierro	Residuos industriales, corrosión, agua acida de minas y acción microbiana	Nutriente esencial, daña piezas sanitarias formando manchas
Manganeso	Residuos industriales, drenajes y aguas acidas de las minas	Tóxico para las plantas y algas, daña piezas sanitarias
Mercurio	Residuos industriales, minería y carbón	Tóxico se moviliza como compuestos metálicos de mercurio por bacteria anaerobias
Molibdeno	Residuos industriales y fuentes naturales	Esencial para las plantas, tóxico para los animales
Plomo	Residuos industriales, minería y combustibles	Tóxico , dañino para la fauna
Yodo	Salmueras naturales e intrusiones salinas	Previene el bocio
Selenio	Fuentes naturales, carbón	Esencial a bajos niveles, tóxico a niveles altos
Zinc	Residuos industriales, recubrimientos metálicos	Elemento esencial, tóxico para las plantas en altos niveles

Fuente:(Manahan, 2006)

METODOLOGÍA.

Metodología de los parámetros de validación para metales pesados

Limites

Límite de detección (LOD): El límite de detección se puede calcular a partir de las siguientes expresiones:

$$LD = 3SB \quad (2)$$

SB: Desviación estándar de una serie de lecturas del blanco

Límite de cuantificación (LQ): Se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco.

$$LQ = 5SB \quad (3)$$

SB: Desviación estándar de una serie de lecturas del blanco

Rango de trabajo.

Rango lineal: rango de concentraciones de analito para las cuales el método brinda resultados proporcionales a la concentración

Notar que refiere al rango de concentraciones en las soluciones que se están midiendo más que a las concentraciones de analito en las muestras originales

En el extremo inferior del rango de concentraciones, los factores limitantes son los valores del LD y/o del límite de cuantificación

En el extremo superior del rango de concentraciones, las limitaciones aparecen por efectos varios que dependen de la respuesta del instrumento.

Linealidad

En este sentido se recomienda abarcar valores desde cercano al cero y valores superiores al valor de interés. El número de puntos a analizar deberá ser establecido por el analista (en general, se utiliza un mínimo de 4 valores).

Evaluar los estimadores de regresión lineal del gráfico: la pendiente (m), el coeficiente de correlación (r^2) y el punto de corte (intercepto) con el eje de las Y.

Se puede realizar una evaluación de curva de calibración global (construida con más de una curva de calibración de las mismas características) en la cual se puede realizar una evaluación estadística de prueba t-Student, como un mejor indicador del modelo lineal.

Se calcula un valor de t con n-2 grados de libertad y se compara con el valor tabulado de t para el nivel de confianza requerido ($\alpha = 0.05$), dos-colas, en este caso para un “n” que depende de los niveles de calibración.

Exactitud.

La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación.

Sesgo: Para determinar el sesgo puede utilizarse material de referencia, material fortificado, material control, material ensayo de aptitud: Para este fin, se debe medir un analito de concentración conocido y se determina la diferencia en valor absoluto entre el valor conocido y la media del valor obtenido. Cuanto más pequeño es el sesgo, mayor veracidad indica el método

$$S = X * Xa \quad (4)$$

Dónde:

s= sesgo

X = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas.

Xa = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

Para evaluar el sesgo, se debe realizar la prueba t, en la cual la $t_{obs} < t_{crit}$:

$$t_{\text{calcu}} = \frac{Xa - X}{s * \sqrt{n}} \quad (5)$$

Donde

t_{calc} = t observado o calculado

Xa = Valor esperado o valor certificado en concentración

X = Promedio de valores leídos u observados en concentración

S = Desviación estándar

n = Número de lecturas o valores observados.

Buscar t- Student teórico en tablas para grados de libertad y el porcentaje de seguridad deseado para un error. Usualmente se trabaja con un valor de 0,05.

Precisión:

La precisión podrá establecerse en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

Se puede determinar registrando a lo menos 5 o 6 mediciones bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo) de un analito.

Tabla 3. Valores medios de precisión

ANALISTA	MAV	JWC	DEM
FECHA	07/09/2016	10/09/2016	14/09/2016
2.210	2,24	2,23	2,15
2.210	2,22	2,33	2,12
2.210	2,20	2,22	2,15
2.210	2,21	2,26	2,23
Sumatoria	8,87	9,04	8,65
Xm	2,2175	2,26	2,1625
$\sum (X_{ij} - Xm)^2$	3,95E+00	3,93E+00	3,97E+00

Fuente: El autor

Donde se calcula:

Calculo de la sumatoria de diferencias dentro de grupos SDC_w .

$$SDC_w = \sum (X_{ij} - \bar{X})^2 \quad (6)$$

Cálculo del valor medio de las sumas de las diferencias al cuadrado dentro de grupos DCM_w

$$DCM_w = \frac{SDC_w}{12} \quad (7)$$

Cálculo de la media de las medias

$$\bar{X} = \frac{X_m}{3} \quad (8)$$

Cálculo de la sumatoria de la diferencia entre los grupos SDC_B

$$SDC_B = \sum 4(X_l - \bar{X})^2 \quad (9)$$

Cálculo del valor medio de las sumas de diferencias al cuadrado entre grupos DCM_B

$$DCM_B = \frac{SDC_B}{3} \quad (10)$$

Cálculo de la desviación estándar por repetibilidad S_r

$$S_r = \sqrt{DCM_w} \quad (11)$$

Calculo de la precisión intermedia S_L

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_w}{4} \quad (12)$$

Cálculo de la desviación estándar reproducibilidad S_R

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2} \quad (13)$$

Cálculo del coeficiente de variación de repetibilidad CV_r

$$\%CV = \frac{S_r}{\bar{X}} * 100 \quad (14)$$

Cálculo del coeficiente de variación de reproducibilidad CV_R

$$\%CV = \frac{S_R}{\bar{X}} * 100 \quad (15)$$

Para la prueba a F se determina un valor experimental que corresponde a un F tabulado expresado de la siguiente manera:

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W} \quad (16)$$

Si $F_{cal} < F_{tabulado}$ no hay diferencia significativa (Tixe Remache, 2013)

Incertidumbre

Fuentes de incertidumbre

Para el cálculo de la incertidumbre en este caso en particular se tomaron en cuenta las incertidumbres tales como: incertidumbre del material de referencia certificado, incertidumbre de aforo etc. Así como la repetibilidad y reproducibilidad del método a continuación se presenta un diagrama de espina de pescado explicando de mejor manera las fuentes de incertidumbre del método.

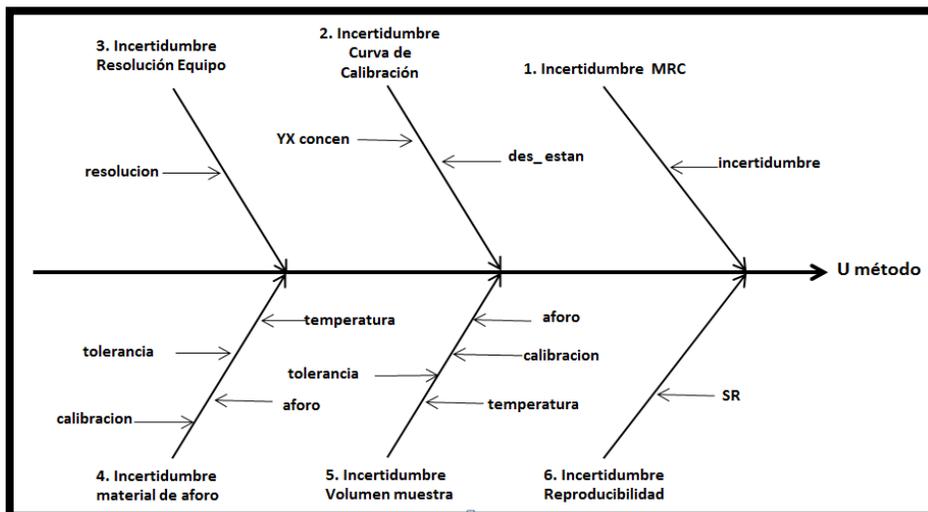


Figura 9. Fuentes de incertidumbre.
Fuente: El autor.

Cálculo de la incertidumbre

Incertidumbre Material de Referencia Certificado

Se toma en cuenta la incertidumbre dada por el certificado del material de referencia la cual se la divide para 2

$$U_{MRC} = \frac{U}{2} \quad (17)$$

Incertidumbre de la curva de calibración

Se utiliza la ecuación de “Ajuste lineal de la curva de calibración” para determinar la incertidumbre aportada por la curva de calibración

$$u_{(Y_x)} = \frac{s}{b1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(Y_{(x)} - \bar{Y}_{MRC})^2}{s_{xx}}} \quad (18)$$

En donde:

- **s**: Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal.
- **b1**: Pendiente de la curva de calibración.
- **p**: Número de réplicas de la muestra en estudio.
- **n**: Número de patrones para construir la curva de calibración.
- **Y(x)**: Concentración de la muestra.
- **Y_{MRC}**: Concentración promedio de los patrones.
- **sxx**: Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas.

Incertidumbre de la resolución del equipo

Se considera la resolución del equipo y la pendiente de la curva esto se encuentra expresado en la siguiente formula.

$$U_{Res} = \frac{\frac{Resolución}{Pendiente}}{\sqrt{3}} \quad (19)$$

Incertidumbre volumen de aforo

Incertidumbre debido a la tolerancia. Los balones de 100ml utilizados son de clase A y están calibradas, utilizando su respectiva tolerancia de $\pm 0,1$ ml

$$U_{Tol} = \frac{Tolerancia}{\sqrt{3}} \quad (20)$$

Incertidumbre debido a la temperatura

Para calcular esta incertidumbre necesitamos el coeficiente de dilatación del vidrio que es $0,00021$ $1/^\circ\text{C}$

Diferencia temperatura ($0,5^\circ\text{C}$)

$$U_{\Delta Tem} = \frac{V_0 * \Delta x * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \quad (21)$$

Incertidumbre debido a la Repetibilidad

Para obtener la Repetibilidad del volumen se pesan 10 veces al balón de 100 ml, y se saca la desviación estándar

$$U_{Rep} = \frac{S}{\sqrt{10}} \quad (22)$$

Incertidumbre de combinada de volumen de aforo

$$U_{Vol\ mue} = \sqrt{U_{Tol}^2 + U_{Rep}^2 + U_{\Delta Tem}^2} \quad (23)$$

Incertidumbre debido a la reproducibilidad

La incertidumbre aportada por la reproducibilidad se obtiene del análisis ANOVA

Incertidumbre combinada

Como todas las incertidumbres calculadas anteriormente son relativas necesitamos sumarlas como varianzas y obtener la raíz cuadrada de esta suma, para después multiplicar por el nivel de concentración con el que se está trabajando

$$U_{combinada} = 0,1mg / l x \sqrt{(U_{MRC})^2 + (u_{(y_x)})^2 + (U_{Res})^2 + (U_{Vol_{af0}})^2 + (U_{Vol_{mue}})^2 + (U_{Repro})^2} \quad (24)$$

Incertidumbre expandida

Para este caso se multiplica por 2 que es el factor de cobertura para una confianza del 95%.

$$U_{Expandida} = 2 x U_{combinada} \quad (25)$$

Porcentaje de incertidumbre

Representa que proporción del valor reportado es dudosa, pero en este caso en tanto por ciento, las incertidumbres porcentuales son adimensionales y dependen de la magnitud de la variable medida. Mientras menor sea el valor central mayor será el error porcentual cometido.

Gráficos de control

Las gráficas de control se encuentran entre las técnicas estadísticas de monitoreo y control de procesos en línea más importantes y útiles.

Periódicamente se toma una pequeña muestra del proceso, y se calculará el promedio (X) y el rango (R) de cada una. Debe recolectarse un total de al menos 30 medias individuales (esto es, diez muestras por matriz de agua) antes de calcular los límites de control.

Determinación de metales por espectrofotometría de absorción atómica en llama directa.

Se tomaron en cuenta los siguientes parámetros establecidos en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: method, 2012 Edition 2, método 3111^a

Medidas de seguridad

Tener precaución al momento de utilizar los diferentes ácidos como son el nítrico y clorhídrico ya que presentan acciones corrosivas produciendo quemaduras en la piel y mucosa de ahí la necesidad de usar guantes, mascarilla, mandil, y trabajar en una campana de extracción de gases.

Muestra.

Muestras de análisis.

Para el desarrollo de la validación se tomaran diferentes matrices de aguas, es decir, agua natural, residual y de consumo humano.

Agua de consumo humano: muestra de la llave obtenida en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Ambiental e Instrumental de la UTPL.

Agua natural: muestras obtenidas de las quebradas (velo de novia) procedentes de la provincia de Zamora Chinchipe.

Agua residual: muestra obtenida en el alcantarillado que desemboca en el río Zamora entre la Ave Orillas de Zamora y Ave Nueva Loja.

Preparación de la muestra.

Se agrega un volumen aproximadamente de 50 y 100 ml de agua muestra en un matraz Erlenmeyer de 250ml, seguido mediante una pipeta calibrada se añade 5ml de ácido nítrico.

Digestión de la muestra.

Se lleva a la plancha calentadora para realizar la digestión lenta y evaporar hasta un 1/5 del volumen (entre 10ml y 20ml), si es necesario se agrega más ácido nítrico para

completar la digestión, algo de suma importancia es evitar que la muestra se seque al momento de realizar la digestión, terminar la digestión y enfriar a temperatura ambiente.

Lectura de la muestra.

Con agua destilada lavara las paredes del Erlenmeyer si es necesario filtrar, pasar la muestra ya con digestión a un balón de aforo calibrado del volumen inicial de la muestra (50ml a 100ml), aforar y mezclar correctamente y luego analizar por espectrofotometría de Absorción atómica.

Nota: Si las concentraciones de la muestra para cada uno de los metales analizados es elevada, realizar factores de disolución.

RESULTADOS

Resultados de la validación del metal cobre.

Con los datos propuestos hemos demostrado que el método ha sido validado, en el cual se ha evaluado los parámetros como: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetitividad, reproducibilidad, incertidumbre y exactitud.

Resultados del estudio de validación

- Corrección de fondo: lámpara de deuterio (D2)
- Tipo de llama: aire - acetileno
- Intervalo de flujo de combustible: 2.5 a 10.00 L/min.

Linealidad.

Se desarrolló una curva de calibración para determinar la linealidad del método en la cual se prepararon soluciones de estándar de concentración teórica conocida.

Tabla 4. Valores para la curva de calibración de Cu en aguas.

X Concentración (mg/L)	Y Absorbancia
0,050	0,00526
0,500	0,04052
1,000	0,08162
2,000	0,15694
3,000	0,23396

Fuente: El autor

Con los datos de la tabla 9 se desarrolló la ecuación de ajuste de curvas para cobre la cual se presenta a continuación:

$$y = 0,0774x + 0,0023$$

Del mismo modo se obtiene un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9999, así se llega a comprobar que el método presenta una linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor a un r^2 0.995. (Eurachem, 1998) ver anexo II.

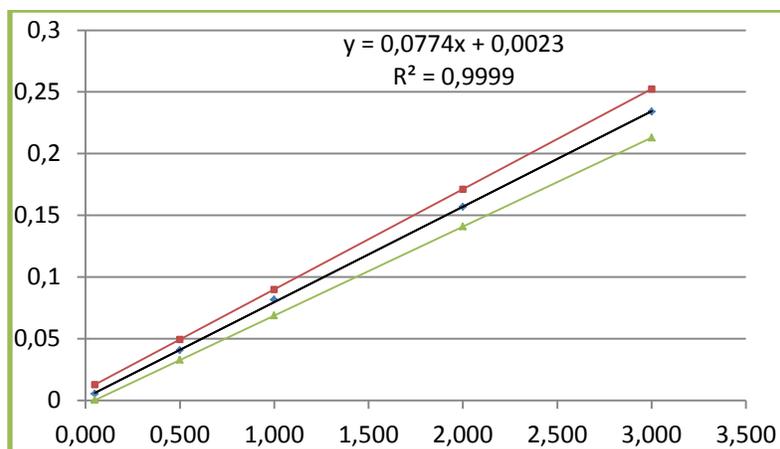


Figura 10. Curva de calibración para cobre.
Fuente: El autor.

Límite de detección y cuantificación

Para cada lectura del metal cobre se desarrolló la lectura de 10 blancos para la determinación de los límites de detección y cuantificación respectivamente.

Tabla 5. Límite de detección de cobre en aguas

Cálculo límite de detección y cuantificación de Cobre									
-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030	-0,030
Promedio	-0,030								
S (des stand)	0,018								
% CV	8,076								

Fuente: El autor

Límite de detección de 0.081

Límite de cuantificación de 0.0116.

Los cálculos correspondientes a los límites se muestran en el anexo III.

Rango de trabajo

Se determinó como rango de trabajo los valores correspondientes a 0.05 y 3.00 mg/l, Si se llegara a determinar una muestra superior a 3.00m/ l se efectuara una dilución de la muestra a tratar.

Veracidad

Tabla 6. Prueba t para cobre, en aguas

Nivel	t-calculado	t-crítico	t-calculado < al t-crítico
1	2,262	0,172	no hay diferencia significativa
2	2,262	0,299	no hay diferencia significativa
3	2,262	0,013	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor.

Precisión

Repetitividad y Reproducibilidad

Tabla 7. Porcentaje de repetibilidad de Cu en aguas

Nivel	% CV Repetibilidad calculado	< 5%
1	1,81%	Cumple condición
2	2,49%	Cumple condición
3	1,943%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 8. Porcentaje de reproducibilidad de Cu en aguas

Nivel	% CV Reproducibilidad calculado	< 10%
1	2,46%	Cumple condición
2	2,71%	Cumple condición
3	2,23%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 9. Análisis ANOVA de Cu en aguas

Nivel	f-calculado	f-crítico	F-Calculado < al F-Crítico
1	3,88	1,352	no hay diferencia significativa
2	3,88	0,809	no hay diferencia significativa
3	3,88	1,134	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

En los parámetros de veracidad y precisión de cobre en aguas se muestra un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de cobre. Los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad fueron menores al 10 % y la $t_{calculada}$ fue menor a la $t_{crítica}$ para todos los niveles de concentración, los cálculos correspondientes se encuentran en el anexo V

Exactitud

Se analizó muestras de agua por duplicado, se enriqueció con la solución de estándar de Cu de 1000 mg/L, a diferentes niveles de concentración (0.5, 0.8 y 1.0 mg/L) y para su determinación y se evaluó según el porcentaje de recuperación, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la tabla 10

Tabla 10. Recuperación para cobre en aguas

Recuperación de Cu para Agua Residual							
N°	Muestra	Concentraciones			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
					0,5	0,8	1,000
1	2,462	2,972	3,232	3,462	102%	96%	100%
2	2,630	3,132	3,456	3,612	100%	103%	98%
3	2,569	3,047	3,384	3,544	96%	102%	98%
4	2,562	3,074	3,360	3,524	102%	100%	96%
5	2,541	3,053	3,342	3,539	102%	100%	100%
6	2,542	3,027	3,365	3,529	97%	103%	99%
7	2,455	2,945	3,287	3,431	98%	104%	98%
8	2,460	2,983	3,262	3,445	105%	100%	99%
9	2,471	2,989	3,304	3,451	104%	104%	98%
10	2,585	3,077	3,414	3,567	98%	104%	98%

Fuente: El autor

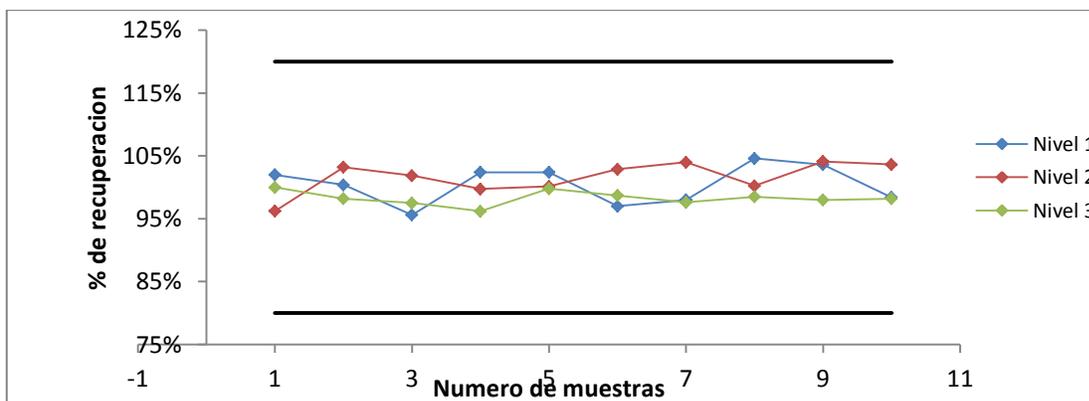


Figura 11. Gráfico o de control de cobre en aguas.

Fuente: El autor.

Como se puede observar en la figura 10, los datos obtenidos en el análisis de recuperación presentan una distribución normal, así se comprueba que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.

Incertidumbre

Se desarrolló la determinación de las fuentes de incertidumbre por separado, permitiendo así un mejor proceso de la misma (ver anexo VI). En la tabla 11 se presentan los valores de incertidumbres obtenidas por cada nivel de trabajo, en las diferentes matrices de agua, la incertidumbre expresa un nivel de confianza del 95% en el método. Los cálculos correspondientes se los muestra en el anexo VII.

Tabla 11 Incertidumbre de cobre en aguas

Concentración en mg/l	U Expandida	% Incertidumbre
0,45	0,0289	6,4%
1,15	0,0639	5,6%
2,54	0,1153	4,5%

Fuente: El autor

En la tabla 12 se muestra un resumen de los datos obtenidos en la validación de cobre en aguas.

Tabla 12 Resultados de la validación del metal cobre en aguas

Función respuesta		Instrumental			
Longitud de onda		324.75 nm			
R²		0.9997 ≥ 0.995			
Límite de Detección		0.081			
Límite de cuantificación		0.0116			
Veracidad (% de Recuperación)		96.3 a 101%			
PRECISION , INCERTIDUMBRE					
Nivel de concentración en mg/L	Repetitividad		Reproducibilidad		U expandida
	Sr	%Cvr	SR	%CvR	%U (K=2)
0,45	0,008	1,81%	0,0111	2,46%	6,4%
1,15	0,028	2,49%	0,0308	2,71%	5,6%
2,54	0,049	1,943%	0,0566	2,232%	4,5%

Fuente: El autor.

Resultados de la validación del metal zinc.

Con los datos propuestos hemos demostrado que el método ha sido validado, en el cual se ha evaluado los parámetros como: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetitividad, reproducibilidad, incertidumbre y exactitud.

Resultados del estudio de validación

- Corrección de fondo: lámpara de deuterio (D₂)
- Tipo de llama: aire - acetileno
- Intervalo de flujo de combustible: 2.5 a 10.00 L/min.

Linealidad.

Se desarrolló una curva de calibración para determinar la linealidad del método en la cual se prepararon soluciones de estándar de concentración teórica conocida.

Tabla 13. Valores de la curva de calibración de zinc en aguas

X Concentración (mg/L)	Y Absorbancia
0,050	0,03966
0,500	0,20624
1,000	0,41388
2,000	0,77134
3,000	1,10982

Fuente: El autor

Se desarrolló la ecuación de ajuste de curvas para zinc la cual se presenta a continuación:

$$y = 0,3636x + 0,00318$$

Del mismo modo se obtiene un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9989, así se llega a comprobar que el método presenta una linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor a 0.995. (Eurachem, 1998) ver anexo II.

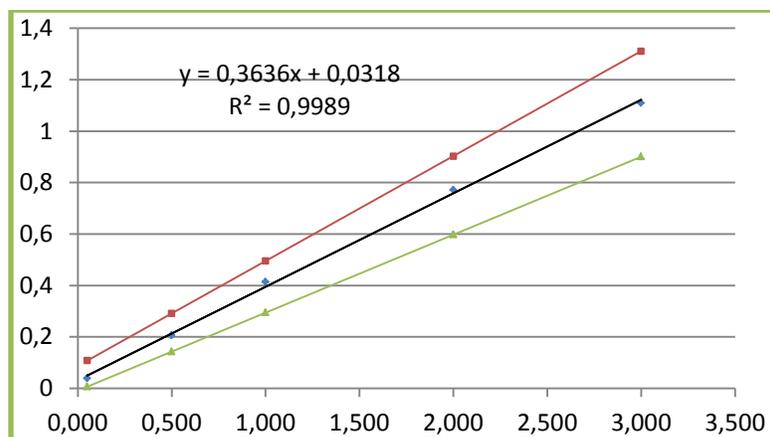


Figura 12. Curva de calibración para zinc.
Fuente: El autor.

Límite de detección y cuantificación

Para cada lectura del metal zinc se desarrolló la lectura de 10 blancos para la determinación de los límites de detección y cuantificación respectivamente.

Tabla 14. Límite de detección y cuantificación de zinc

Cálculo límite de detección y cuantificación Zinc									
-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049	-0,049
Promedio	-0,049								
S (des stand)	0,03180167								
% CV	35,923								

Fuente. El autor

Límite de detección de 0.18

Límite de cuantificación de 0.24.

Los cálculos correspondientes a los límites se muestran en el anexo III.

Rango de trabajo

Se determinó como rango de trabajo los valores correspondientes a 0.05 y 3.00 mg/l, siendo 3.00mg/L. Si se llegara a determinar una muestra superior a 3.00m/ l se efectuara una dilución de la muestra a tratar.

Veracidad

Tabla 15. Prueba t para zinc en aguas

Nivel	t-calculado	t-crítico	t-calculado < al t-crítico
1	2,262	0,137	no hay diferencia significativa
2	2,262	0,397	no hay diferencia significativa
3	2,262	0,003	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

Precisión

Repetitividad y Reproducibilidad

Tabla 16. Porcentaje de CV de la repetibilidad de Zn en aguas

Nivel	% CV Repetibilidad calculado	< 5%
1	3,08%	Cumple condición
2	2,91%	Cumple condición
3	2,36%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 17. Porcentaje de CV de la reproducibilidad de Zn en aguas

Nivel	% CV Reproducibilidad calculado	< 10%
1	2,595%	Cumple condición
2	3,240%	Cumple condición
3	3,10%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 18. Análisis ANOVA para Zn en aguas

Nivel	f-calculado	f-crítico	F-Calculado < al F-Crítico
1	3,88	0,680	no hay diferencia significativa
2	3,88	1,151	no hay diferencia significativa
3	3,88	0,854	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

En los parámetros de veracidad y precisión de zinc en aguas, se muestra un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de zinc. Los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad fueron menores al 10 %, y el $f_{\text{calculado}}$ fue menor a la $f_{\text{crítica}}$ para todos los niveles de concentración, el desarrollo de los resultados se encuentran en el anexo IV.

Exactitud

Se analizó muestras de agua por duplicado, se enriqueció con la solución de estándar de Zn de 1000 mg/L, a diferentes niveles de concentración (0.5, 0.8 y 1.0 mg/L) y para su

determinación y se evaluó según el porcentaje de recuperación, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la tabla 19.

Tabla 19. Recuperación para zinc

Recuperación de Zn para Agua natural							
N°	Muestra	Concentraciones			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
					0,5	0,8	1,000
1	1,443	1,953	2,242	2,421	102%	100%	98%
2	1,486	2,011	2,311	2,451	105%	103%	97%
3	1,427	1,925	2,216	2,425	100%	99%	100%
4	1,589	2,094	2,418	2,600	101%	104%	101%
5	1,497	1,979	2,309	2,482	96%	102%	99%
6	1,500	2,013	2,289	2,505	103%	99%	101%
7	1,407	1,899	2,226	2,419	98%	102%	101%
8	1,451	1,963	2,254	2,452	102%	100%	100%
9	1,445	1,967	2,254	2,443	104%	101%	100%
10	1,487	2,001	2,317	2,474	103%	104%	99%

Fuente: El autor

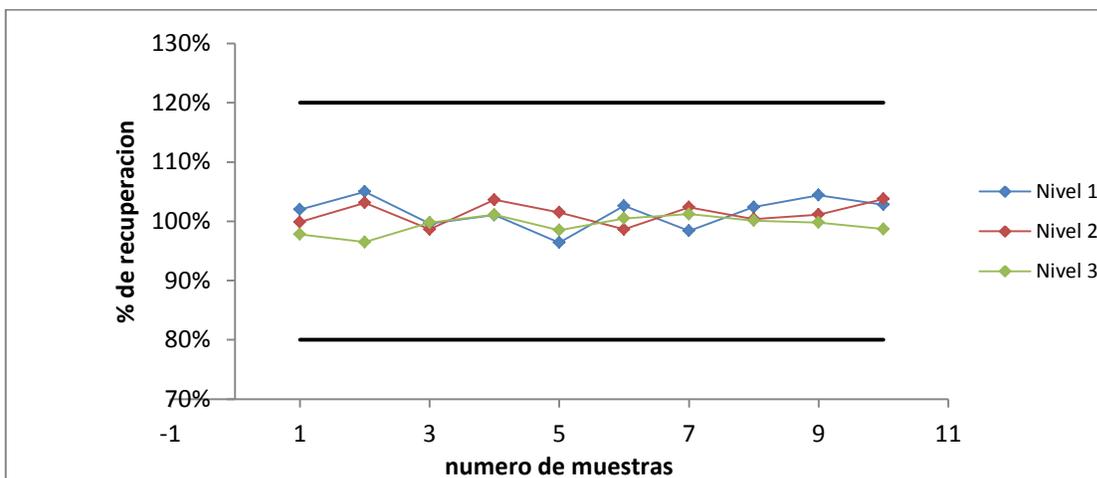


Figura 13. Gráfico de control del zinc.

Fuente. El autor

Como se puede observar en la figura 12, los límites máximos y mínimos del gráfico de control presentan una distribución normal de los resultados, y de esta manera, se comprueba que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.

Incertidumbre

Cada una de las fuentes de incertidumbre se la desarrolló por separado, permitiendo así un mejor proceso de la misma (ver anexo VI). Se presentan en la tabla 20 los valores de incertidumbres obtenidas por cada nivel de trabajo de zinc en las diferentes matrices de agua, la incertidumbre expresa un nivel de confianza del 95% en el método.

Tabla 20. Incertidumbre para zinc en aguas

Concentración en mg/l	U Expandida	% Incertidumbre
0,639	0,0619	9,69%
1,446	0,1346	9,31%
2,210	0,1251	5,66%

Fuente: El autor.

En la tabla 21 se muestra un resumen de los datos obtenidos en la validación de zinc en aguas

Tabla 21. Resultado de la validación del metal de zinc en aguas.

Función respuesta		Instrumental			
Longitud de onda		213.86 nm			
R ²		0.9987 ≥ 0.995			
Límite de Detección		0.017			
Límite de cuantificación		0.020			
Veracidad (% de Recuperación)		96.3 a 101%			
PRECISION , INCERTIDUMBRE					
Nivel de concentración en mg/L	Repetibilidad		Reproducibilidad		U expandida
	Sr	%Cv _r	SR	%Cv _R	%U (K=2)
0,639	0,020	3,08%	0,0198	3,10%	9,69%
1,446	0,042	2,917%	0,046	3,24%	9,31%
2,210	0,052	2,36%	0,0574	2,595%	5,66%

Fuente: El autor.

Resultados de la validación del metal manganeso.

Con los datos propuestos hemos demostrado que el método ha sido validado, en el cual se ha evaluado los parámetros como: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetitividad, reproducibilidad, incertidumbre y exactitud.

Resultados del estudio de validación

- Corrección de fondo: lámpara de deuterio (D₂)
- Tipo de llama: aire - acetileno
- Intervalo de flujo de combustible: 2.5 a 10.00 L/min.

Linealidad.

Se desarrolló una curva de calibración para determinar la linealidad del método en la cual se prepararon soluciones estándar de concentración teórica conocida.

Tabla 22. Valores de la curva de calibración de Mn en aguas

X Concentración (mg/L)	Y Absorbancia
0,050	0,00238
0,500	0,04490
1,000	0,0872
2,000	0,17186
3,000	0,25484

Fuente: El autor

Con los datos de la tabla 22 se desarrolló la ecuación de ajuste de curvas para manganeso la cual se presenta a continuación:

$$y = 0,0851x + 0,0007$$

Del mismo modo se obtiene un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9997, así se llega a comprobar que el método presenta una linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor a R^2 0.995. (Eurachem, 1998) ver anexo II.

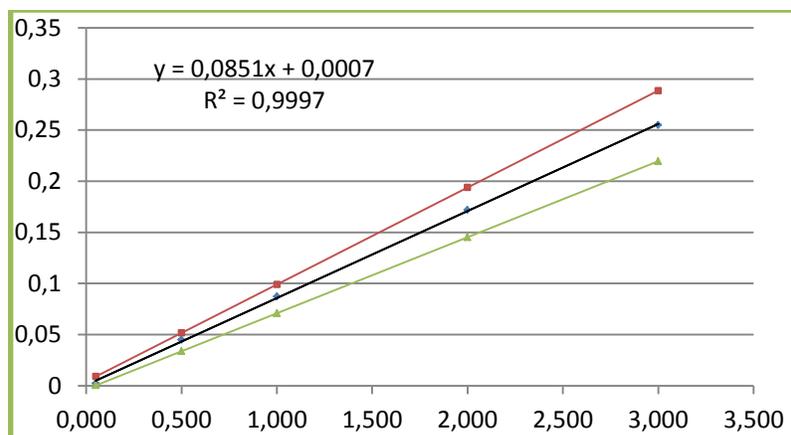


Figura 14. Curva de calibración de manganeso.

Fuente: El autor.

Límite de detección y cuantificación

Para cada lectura del metal manganeso se desarrolló la lectura de 10 blancos para la determinación de los límites de detección y cuantificación respectivamente

Tabla 23. Límites de detección y cuantificación de Mn en aguas

Cálculo límite de detección y cuantificación del Manganeso									
1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006	1,006
Promedio		1.006							
S (des stand)		0,019							
% CV		1,954							

Fuente: El autor

Límite de detección de 0.037

Límite de cuantificación de 0.058.

Los cálculos de la determinación de los límites correspondientes se muestran en el anexo III.

Rango de trabajo

Se determinó como rango de trabajo los valores correspondientes a 0.05 y 3.00 mg/l, siendo 3.00mg/L. Si se llegara a determinar una muestra superior a 3.00m/ l se efectuará una dilución de la muestra a tratar.

Veracidad

Tabla 24. Prueba t para Mn en aguas

Nivel	t-calculado	t-crítico	t-calculado < al t-crítico
1	2,262	0.116	no hay diferencia significativa
2	2,262	0.008	no hay diferencia significativa
3	2,262	0.023	no hay diferencia significativa

Fuente: el autor

Repetitividad y Reproducibilidad

Tabla 25. Porcentaje del CV de repetibilidad para Mn en aguas

Nivel	% CV Repetibilidad calculado	< 5%
1	1.71%	Cumple condición
2	2.26%	Cumple condición
3	1.70 %	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 26. Porcentaje del CV de reproducibilidad para Mn en aguas

Nivel	% CV Reproducibilidad calculado	< 10%
1	1.89 %	Cumple condición
2	2.31 %	Cumple condición
3	1.97 %	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 27. Análisis ANOVA para Mn en aguas

Nivel	f-calculado	f-crítico	F-Calculado < al F-Crítico
1	3,88	0.884	no hay diferencia significativa
2	3,88	0.800	no hay diferencia significativa
3	3,88	0.881	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

En los parámetros de veracidad y precisión de manganeso en aguas se muestra un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de manganeso. Los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad fueron menores al 10 % , donde la $t_{calculada}$ fue menor a la $t_{critica}$ para todos los niveles de concentración, el desarrollo de los parámetros correspondientes se encuentran en el anexo V.

Exactitud

Se analizó muestras de agua por duplicado, se enriqueció con la solución estándar de Mn de 1000 mg/L, a diferentes niveles de concentración (0.5, 0.8 y 1.0 mg/L) y para su determinación y se evaluó según el porcentaje de recuperación, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la tabla 28.

Tabla 28. Recuperación para manganeso en aguas

Recuperación de Mn para Agua consumo humano							
N°	Muestra	Concentraciones			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
					0,5	0,8	1,000
1	0,594	1,090	1,439	1,599	99%	106%	101%
2	0,666	1,167	1,465	1,622	100%	100%	96%
3	0,655	1,184	1,48	1,670	106%	103%	102%
4	0,651	1,164	1,500	1,624	103%	106%	97%
5	0,669	1,195	1,461	1,705	105%	99%	104%
6	0,626	1,104	1,405	1,639	96%	97%	101%
7	0,611	1,098	1,439	1,644	97%	104%	103%
8	0,624	1,106	1,424	1,610	96%	100%	99%
9	0,620	1,120	1,425	1,632	100%	101%	101%
10	0,609	1,087	1,42	1,610	96%	101%	100%

Fuente: El autor

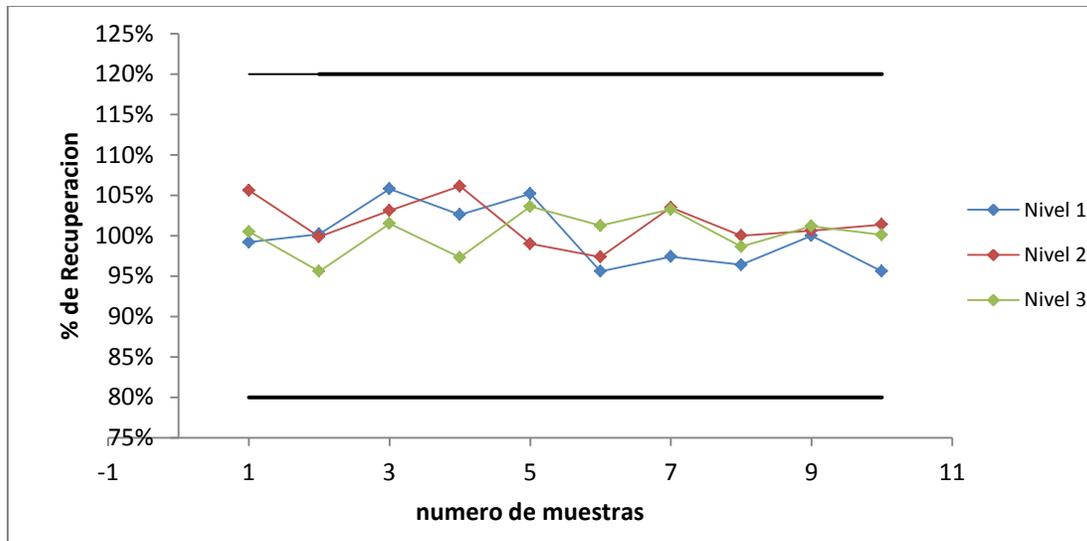


Figura 15. Gráfico de control del manganeso.

Fuente. El autor

Como se puede observar en la figura 14 los tres niveles se encuentran en los límites máximos y mínimos del gráfico de control, indicando una distribución normal los

resultados, y de esta manera, se comprueba que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.

Incertidumbre

Cada una de las fuentes de incertidumbre se la desarrolló por separado, permitiendo así un mejor proceso de la misma, (ver anexo VI). En la tabla 29 se presentan los valores de incertidumbres obtenidas por cada nivel de trabajo para manganeso en las diferentes matrices de agua, la incertidumbre expresa un nivel de confianza del 95% en el método.

Tabla 29. Incertidumbre de manganeso en aguas

Concentración	Incertidumbre	% Incertidumbre
0,619	0,0352	5,7%
0,996	0,0524	5,3%
2,329	0,0964	4,1%

Fuente: El autor

En la tabla 30 se muestra un resumen de los datos obtenidos en la validación de manganeso en aguas.

Tabla 30. Resultado de la validación del metal de manganeso en aguas.

Función respuesta		Instrumental			
Longitud de onda		279.48 nm			
R ²		0.9997 ≥ 0.995			
Límite de Detección		0.017			
Límite de cuantificación		0.020			
Veracidad (% de Recuperación)		96.3 a 101%			
PRECISION , INCERTIDUMBRE					
Nivel de concentración en mg/L	Repetibilidad		Reproducibilidad		U expandida
	Sr	%Cv _r	SR	%Cv _R	%U (K=2)
0.619	0.011	1.89%	0.0118	1.71%	5,7%
0.993	0.022	2.31%	0.0230	2.26%	5,3%
2.329	0.040	1.97%	0.0460	1.71%	4,1%

Fuente: El autor.

Resultados de la validación del metal plomo

Con los datos propuestos hemos demostrado que el método ha sido validado, en el cual se ha evaluado los parámetros como: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetitividad, reproducibilidad, incertidumbre y exactitud.

Resultados del estudio de validación

- Corrección de fondo: lámpara de deuterio (D₂)
- Tipo de llama: aire - acetileno
- Intervalo de flujo de combustible: 2.5 a 10.00 L/min.

Linealidad.

Se desarrolló una curva de calibración para determinar la linealidad del método en la cual se prepararon soluciones de estándar de concentración teórica conocida.

Tabla 31. Valores de plomo para la curva de calibración

X Concentración (mg/L)	Y Absorbancia
0,050	0,00212
0,500	0,01774
1,000	0,03278
2,000	0,06316
3,000	0,09738

Fuente: El autor

Con los datos de la tabla 31 se desarrolló la ecuación de ajuste de curvas para plomo la cual se presenta a continuación:

$$y = 0,0319x + 0,0008$$

Del mismo modo se obtiene un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9993, así se llega a comprobar que el método presenta una linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor a r^2 0.995. (Eurachem, 1998) ver anexo II.

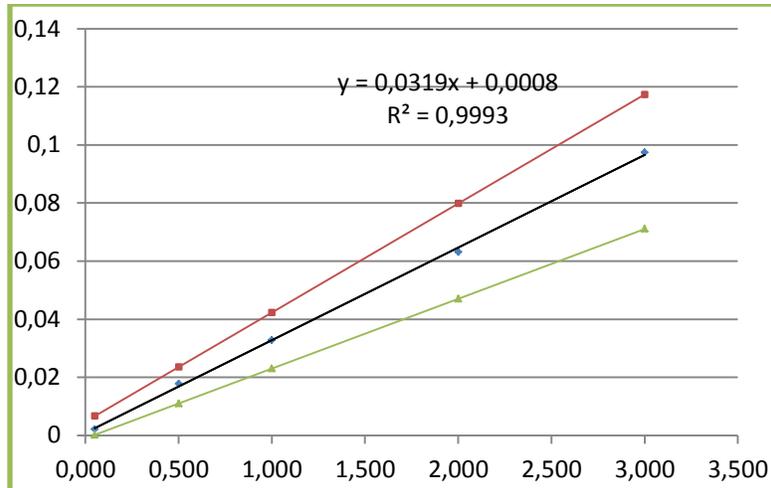


Figura 16. Curva de calibración para plomo.
Fuente: El autor.

Límite de detección y cuantificación

Para cada lectura del metal plomo se desarrolló la lectura de 10 blancos para la determinación de los límites de detección y cuantificación respectivamente.

Tabla 32. Límites de detección y cuantificación de plomo en aguas

Cálculo límite de detección y cuantificación Plomo									
0,448	0,448	0,448	0,448	0,448	0,448	0,448	0,448	0,448	0,448
Promedio	0,448								
S (des stand)	0,009113733								
% CV	2,0326								

Fuente: El autor

Límite de detección de 0.13

Límite de cuantificación de 0.19.

Los cálculos correspondientes sobre los límites se muestran en el anexo III.

Rango de trabajo

Se determinó como rango de trabajo los valores correspondientes a 0.05 y 3.00 mg/l, siendo 3.00mg/L. Si se llegara a determinar una muestra superior a 3.00mg/ l se efectuará una dilución de la muestra a tratar.

Veracidad

Tabla 33. Prueba t para plomo en aguas

Nivel	t-calculado	t-crítico	t-calculado < al t-crítico
1	2,262	0,224	no hay diferencia significativa
2	2,262	0,111	no hay diferencia significativa
3	2,262	0,013	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

Precisión

Repetitividad y Reproducibilidad

Tabla 34. Porcentaje de CV de repetibilidad de plomo en aguas

Nivel	% CV Repetibilidad calculado	< 5%
1	1,90%	Cumple condición
2	2,97%	Cumple condición
3	3,69%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 35. Porcentaje del CV de plomo en aguas.

Nivel	% CV Reproducibilidad calculado	< 10%
1	2,38%	Cumple condición
2	3,45%	Cumple condición
3	3,82%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 36. Análisis ANOVA para plomo en aguas

Nivel	f-calculado	f-crítico	F-Calculado < al F-Crítico
1	3,88	0,999	no hay diferencia significativa
2	3,88	1,785	no hay diferencia significativa
3	3,88	0,653	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

En los parámetros de veracidad y precisión de plomo en aguas se muestra un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de plomo. Los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad fueron menores al 10 % y la $t_{\text{calculada}}$ fue menor a la $t_{\text{crítica}}$ para todos los niveles de concentración el desarrollo del parámetros correspondientes se encuentran en el anexo V.

Exactitud

Se analizó muestras de agua por duplicado, se enriqueció con la solución de estándar de Pb de 1000 mg/L, a diferentes niveles de concentración (0.5, 0.8 y 1.0 mg/L) y para su determinación y se evaluó según el porcentaje de recuperación, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la tabla.37

Tabla 37. Recuperación para plomo en aguas.

Recuperación de Pb para Agua natural							
N°	Muestra	Concentraciones			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
					0,5	0,8	1,000
1	0,642	1,131	1,440	1,640	98%	100%	100%
2	0,692	1,217	1,510	1,693	105%	102%	100%
3	0,665	1,165	1,473	1,654	100%	101%	99%
4	0,659	1,148	1,489	1,677	98%	104%	102%
5	0,678	1,207	1,466	1,698	106%	99%	102%
6	0,576	1,085	1,381	1,604	102%	101%	103%
7	0,697	1,186	1,515	1,705	98%	102%	101%
8	0,632	1,134	1,460	1,667	100%	104%	104%
9	0,686	1,189	1,505	1,675	101%	102%	99%
10	0,657	1,168	1,469	1,689	102%	102%	103%

Fuente: El autor

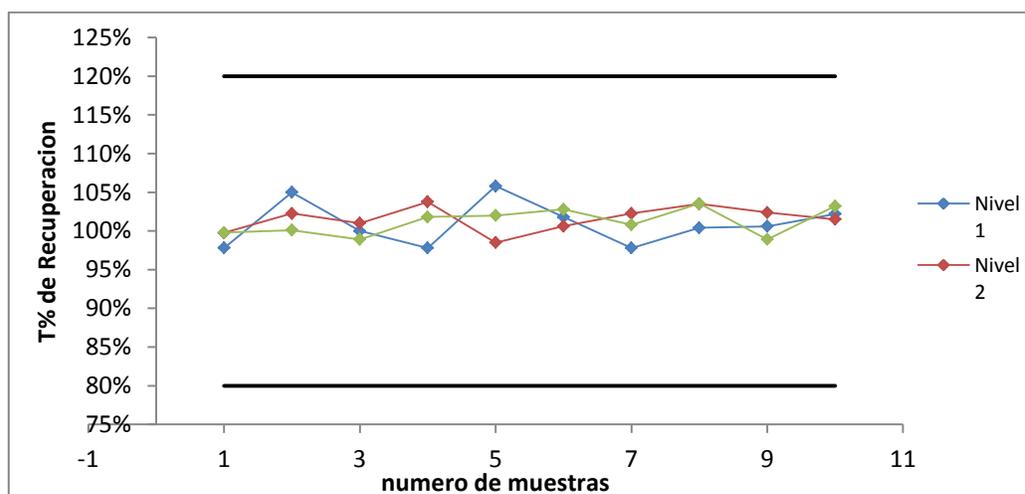


Figura 17. Gráfico de control del plomo.

Fuente: El autor

Como se puede observar en la figura 16 los tres niveles se encuentran en los límites máximos y mínimos del gráfico de control, indicando una distribución normal, y de esta manera, se comprueba que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.

Incertidumbre

Cada una de las fuentes de incertidumbre se la desarrolló por separado, permitiendo así un mejor proceso de la misma (ver anexo VI). En la tabla 38 se presentan los valores de incertidumbres obtenidas por cada nivel de trabajo para plomo en las diferentes matrices de agua, la incertidumbre expresa un nivel de confianza del 95% en el método.

Tabla 38. Incertidumbre de plomo en aguas

Concentración	Incertidumbre	% Incertidumbre
0,450	0,0443	9,8%
0,650	0,0587	9,0%
1,178	0,0968	8,2%

Fuente: El autor

En la tabla 39 se presenta un resumen de los datos obtenidos en la validación de plomo en las matrices de aguas.

Tabla 39. Resultado de la validación del metal de plomo en aguas.

Función respuesta		Instrumental			
Longitud de onda		217.00 nm			
R ²		0.9993 ≥ 0.995			
Límite de Detección		0.079			
Límite de cuantificación		0.131			
Veracidad (% de Recuperación)		98.3 a 103%			
PRECISION , INCERTIDUMBRE					
Nivel de concentración en mg/L	Repetibilidad		Reproducibilidad		U expandida
	Sr	%Cv _r	SR	%Cv _R	%U (K=2)
0,45	0,009	1,90%	0,0107	2,38%	9,8%
0,65	0,020	2,97%	0,0226	3,45%	9,0%
1,19	0,054	4,52%	0,0575	4,816%	8,2%

Fuente: El autor.

Resultados de la validación del metal Hierro.

Con los datos propuestos hemos demostrado que el método ha sido validado, en el cual se ha evaluado los parámetros como: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetitividad, reproducibilidad, incertidumbre y exactitud.

Resultados del estudio de validación

- Corrección de fondo: lámpara de deuterio (D₂)
- Tipo de llama: aire - acetileno
- Intervalo de flujo de combustible: 2.5 a 10.00 L/min.

Linealidad.

Se desarrolló una curva de calibración para determinar la linealidad del método en la cual se prepararon soluciones de estándar de concentración teórica conocida.

Tabla 40. Valores de hierro para la curva de calibración

X Concentración (mg/L)	Y Absorbancia
0,050	0,00576
0,500	0,02514
1,000	0,04118
3,000	0,10364
6,000	0,19188

Fuente: El autor

Con los datos de la tabla 39 se desarrolló la ecuación de ajuste de curvas para hierro la cual se presenta a continuación:

$$y = 0,0309x + 0,0084$$

Del mismo modo se obtiene un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9986, así se llega a comprobar que el método presenta una linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor a 0.995. (Eurachem, 1998) ver anexo II.

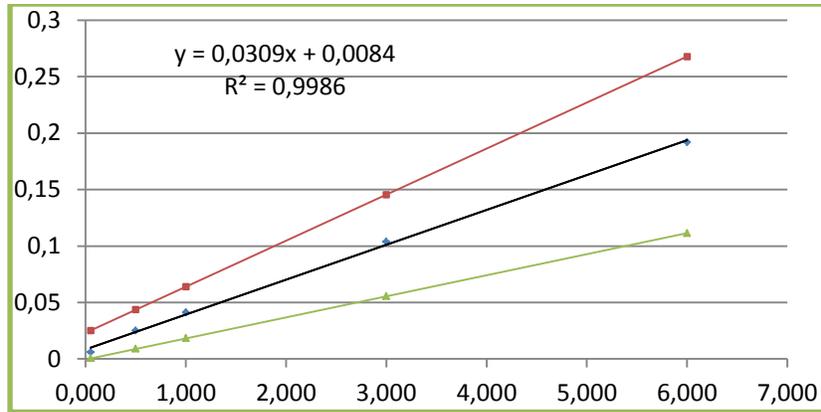


Figura 18. Curva de calibración para Hierro.
Fuente: El autor.

Límite de detección y cuantificación

Se desarrolló la lectura de 10 blancos para la determinación de los límites de detección y cuantificación respectivamente.

Tabla 41. Límites de detección y cuantificación de hierro en aguas.

Cálculo límite de detección y cuantificación de Hierro									
0,948	0,948	0,948	0,948	0,948	0,948	0,948	0,948	0,948	0,948
Promedio		0,947							
S (des stand)		0,01488							
% CV		1,572							

Fuente: El autor

Límite de detección de 0.43 y Límite de cuantificación de 0.62.

Los cálculos de los límites correspondientes se muestran en el anexo III.

Rango de trabajo

Se determinó como rango de trabajo los valores correspondientes a 0.05 y 6.00 mg/l, siendo 6.00mg/L Si se llegara a determinar una muestra superior a 6.00mg/ l se efectuará una dilución de la muestra a tratar.

Veracidad

Tabla 42. Prueba t para hierro en aguas

	t-calculado	t-crítico	t-calculado < al t-crítico
1	2,262	0,485	no hay diferencia significativa
2	2,262	0,200	no hay diferencia significativa
3	2,262	0,078	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

Precisión

Repetitividad y Reproducibilidad

Tabla 43. Porcentaje CV de la repetibilidad de hierro en agua

Nivel	% CV Repetibilidad calculado	< 5%
1	1,37%	Cumple condición
2	1,29%	Cumple condición
3	1,71%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 44. Porcentaje CV de la reproducibilidad de hierro en agua

Nivel	% CV Reproducibilidad calculado	< 10%
1	1,72%	Cumple condición
2	1,33%	Cumple condición
3	1,97%	Cumple condición

Fuente: El autor

Tabla 45. Análisis ANOVA de hierro en agua

Nivel	f-calculado	f-crítico	F-Calculado < al F-Crítico
1	3,88	2.151	no hay diferencia significativa
2	3,88	1.107	no hay diferencia significativa
3	3,88	1.679	no hay diferencia significativa

Fuente: El autor

En los parámetros de veracidad y precisión de hierro en aguas se muestra un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de hierro. Los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad fueron menores al 10 % y la $t_{calculada}$ fue menor a la $t_{crítica}$ para todos los niveles de concentración el desarrollo de los parámetros correspondientes se encuentra en el anexo V.

Exactitud

Se analizó muestras de agua por duplicado, se enriqueció con la solución de estándar de Fe de 1000 mg/L, a diferentes niveles de concentración (0.5, 0.8 y 1.0 mg/L) y para su determinación y se evaluó según el porcentaje de recuperación, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la tabla.46

Tabla 46. Recuperación para hierro en aguas

Recuperación de Fe para Agua de consumo humano							
N°	Muestra	Concentraciones			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
					0,5	0,8	1,000
1	0,948	1,448	1,746	1,948	100%	100%	100%
2	0,939	1,429	1,749	1,952	98%	101%	101%
3	0,944	1,424	1,745	1,970	96%	100%	103%
4	0,946	1,459	1,733	1,934	103%	98%	99%
5	0,935	1,417	1,721	1,921	96%	98%	99%
6	0,948	1,460	1,734	1,979	102%	98%	103%
7	0,939	1,462	1,750	1,929	105%	101%	99%
8	0,944	1,437	1,755	1,957	98%	101%	101%
9	0,946	1,426	1,749	1,978	96%	100%	103%
10	0,935	1,434	1,722	1,972	100%	98%	104%

Fuente: El autor

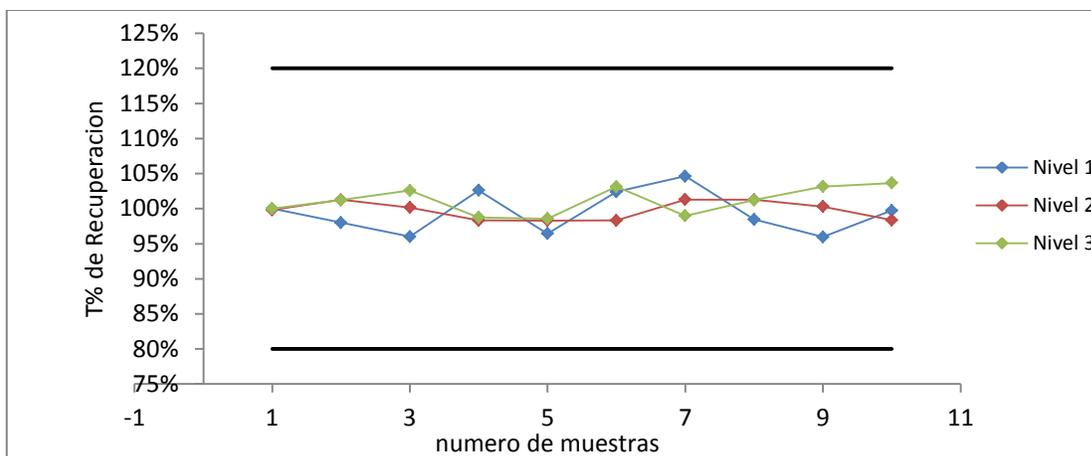


Figura 19. Gráfico de control del hierro
Fuente. El autor

Como se puede observar en la figura 18 los tres niveles se encuentran en los límites máximos y mínimos del gráfico de control, indicando que muestran una distribución normal de los resultados, y de esta manera, se comprueba que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.

Incertidumbre

Cada una de las fuentes de incertidumbre se la desarrolló por separado, permitiendo así un mejor proceso de la misma (ver anexo VI). En la tabla 47 se presentan los valores de incertidumbres obtenidas por cada nivel de trabajo, en las que se desarrolla la validación para hierro en las diferentes matrices de agua, la incertidumbre expresa un nivel de confianza del 95% en el método.

Tabla 47. Incertidumbre de hierro en aguas

Concentración	Incertidumbre	% Incertidumbre
0,950	0,0880	9,3%
1,549	0,0887	5,7%
2,329	0,1209	5,2%

Fuente: El autor

En la tabla 48 se muestra un breve resumen de los datos obtenidos para la validación de hierro en aguas.

Tabla 48. Resultado de la validación del metal de hierro en aguas.

Función respuesta		Instrumental			
Longitud de onda		205.91			
R ²		0.9986 ≥ 0.995			
Límite de Detección		0.171			
Límite de cuantificación		0.853			
Veracidad (% de Recuperación)		96.7 a 104%			
PRECISION , INCERTIDUMBRE					
Nivel de concentración en mg/L	Repetibilidad		Reproducibilidad		U expandida
	Sr	%Cv _r	SR	%Cv _R	%U (K=2)
0,950	0,013	1,36%	0,0155	1,63%	9,3%
1,549	0,020	1,29%	0,0206	1,33%	5,7%
2,329	0,040	1,71%	0,0460	1,977%	5,2%

Fuente: El autor.

CONCLUSIONES

En vista de los diferentes análisis desarrollados para la validación de metales pesados se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se validó el método para la determinación de metales pesados (Cu, Mn, Zn, Pb y Fe) en las diferentes matrices de agua, mediante Espectroscopia de Absorción Atómica en llama directa, en los laboratorios de la Universidad Técnica Particular de Loja.
- Se determinó un coeficiente de correlación para (Cu, Mn, Zn, Pb y Fe), consiguiendo como resultado para Cu de 0.999, Zn de 0.9989, Mn de 0.9997, Pb de 0.9993 y Fe de 0.9986, de esta manera, aseguramos que se desarrolló una correcta linealidad estadística, en las diferentes concentraciones en las cuales se trabajó.
- Se efectuó un análisis ANOVA donde se calculó tanto la repetibilidad y la reproducibilidad. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios arrojando porcentajes menores al 10 % siendo $F_{\text{calculada}}$ menor a la $F_{\text{crítica}}$ para todos los niveles de concentración, y en las diferentes matrices de agua.
- Los gráficos de control obtenidos en la determinación de metales pesados demuestran una clara distribución normal, así se llegó a la comprobación que se encuentran en los criterios de aceptación ya que los resultados se mantienen en un rango del 80 y 120%.
- Se pudo determinar de manera correcta y confiable con todas las variables propuestas para el desarrollo de la validación en los diferentes elementos analizados y en cada una de las matrices de agua estudiadas, teniendo un porcentaje de variación en la repetibilidad y reproducibilidad menor al 10%, una veracidad entre el 80% < %R < 120% una linealidad con un $r^2 > 0.995$ y una incertidumbre $U < 15\%$ ($K=2$), demostrando estadísticamente así que el método queda aceptado.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda tener en cuenta todos los parámetros de seguridad al momento de realizar los ensayos pertinentes con respecto al método estudiado ya que se manipula con ácidos, ya que son corrosivos, oxidantes los cuales afectan a la salud de los analistas o técnicos encargados.
- Al momento de realizar la curva de calibración se debe ajustar de una manera correcta el quemador, evitando así el desprendimiento del gas que se utiliza, ya que afecta de manera directa las vías respiratorias de las personas que se encuentran presentes en el momento de desarrollar la lectura.
- Es de suma importancia mantener el material volumétrico bien lavado y totalmente seco para la realización de los diferentes ensayos, además de ello se debe trabajar con material calibrado, de esta manera se garantiza una medida adecuada.
- Se debe trabajar con material calibrado y evitar la contaminación de los patrones para el desarrollo de las curvas de calibración.
- Tomar en cuenta la correcta identificación de fuentes de incertidumbre del método a validar.
- Verificar la fecha de caducidad del material de referencia calibrado ya que puede afectar los resultados en la verificación de la incertidumbre del método.
- Efectuar de manera correcta un plan de validación.
- Si es posible contar con todos los componentes del Equipo de absorción atómica completos y en buen estado para el desarrollo de la validación.

BIBLIOGRAFIA.

1. Barrenechea, A. (2004). Aspectos Físicoquímicos de la calidad del agua. Tratamiento de Agua Para Consumo Humano Plantas de Filtración Rápida Manual I: Teoría Tomo I, 1–54.
2. Castro Galván E, & F., M. T. (2000). *Cuantificación de la Incertidumbre en Mediciones Analíticas Eureachem*.
3. Correa, F. (2000). Grafica De Control Y Conceptos Estadísticos. *Estadística Y Control de Calidad*, 37.
4. Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). (1997). Expresión de la incertidumbre de medida en las calibraciones, 1–23.
5. Eurachem. (1998). the Fitness for Purpose of Analytical Methods. Eurachem Guide, ISBN: 0-94948926-12-0. Retrieved from <http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/valid.pdf>
6. Harris, D. C. (2006). *Análisis químico cuantitativo*. Reverte. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=H-8vZYdL70C&pgis=1>
7. Lambert, J. H. (1852). Ley de bouguer-lambert-beer.
8. Luz Edith Barba Ho. (2002). Conceptos básicos de la contaminación del agua y parámetros de medición, 13. Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsaar/e/fulltext/gestion/conceptos.pdf>
9. Manahan, S. E. (2006). *Introducción a la química ambiental*. Reverte. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=5NR8DIk1n68C&pgis=1>
10. MOLINA, C. A. (2008). validación de las técnicas para determinación de molibdeno y cromo en agua residual, tratada, cruda y de níquel en agua residual mediante espectrometría de absorción atómica por llama directa para el laboratorio de análisis de aguas y alimentos utp. universidad tecnológica de Pereira.
11. Norma Venezolana 2769-91. (n.d.). In *Norma Venezolana*.
12. Perkin. (2000). Guide to atomic spectroscopy techniques and applications, 40.
13. Rocha Castro, E. (2000). Espectrometría de absorción atómica. *Facultad de Ciencias Químicas*, 123–203.
14. Tixe Remache, A. M. (2013). validación de métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica. universidad central del ecuador.
15. Validación de métodos estadísticos y estimación de incertidumbre. (2014). *Organismo de Acreditación Ecuatoriano*.

ANEXOS

Anexo I

En la siguiente tabla se presentan los datos obtenidos hierro para la realización de la validación mediante espectrofotometría de absorción atómica, estos datos se obtuvieron ya que se enriqueció matrices de agua natural, consumo humano y residual.

Datos de las tres matrices de agua para hierro

N°	matriz 1	matriz 2	matriz 3
1	0,948	1,536	2,314
2	0,939	1,578	2,356
3	0,934	1,550	2,297
4	0,946	1,563	2,354
5	0,935	1,568	2,287
6	0,956	1,505	2,256
7	0,937	1,541	2,291
8	0,969	1,576	2,324
9	0,976	1,555	2,256
10	0,932	1,526	2,352
11	0,954	1,534	2,349
12	0,956	1,534	2,376
13	0,946	1,547	2,369
14	0,969	1,549	2,349
15	0,946	1,569	2,266
16	0,952	1,533	2,356
17	0,942	1,574	2,254
18	0,933	1,549	2,322
19	0,949	1,526	2,315
20	0,944	1,548	2,254
21	0,949	1,523	2,314
22	0,934	1,525	2,152
23	0,945	1,485	2,364
24	0,968	1,527	2,362
25	0,949	1,523	2,314

Fuente: El autor.

En la siguiente tabla se presentan los datos obtenidos de plomo para la realización de la validación mediante espectrofotometría de absorción atómica, estos datos se obtuvieron ya que se enriqueció matrices de agua natural, consumo humano y residual.

Datos de las tres matrices de agua para plomo

N°	Matriz 1	Matriz 2	matriz 3
1	0,448	0,642	1,110
2	0,435	0,652	1,235
3	0,446	0,665	1,178
4	0,456	0,659	1,198
5	0,434	0,648	1,196
6	0,454	0,576	1,178
7	0,446	0,657	1,218
8	0,458	0,642	1,151
9	0,461	0,636	1,141
10	0,447	0,647	1,123
11	0,462	0,657	1,110
12	0,442	0,651	1,234
13	0,457	0,648	1,031
14	0,446	0,643	1,141
15	0,462	0,643	1,131
16	0,443	0,652	1,124
17	0,442	0,652	1,214
18	0,422	0,652	1,235
19	0,426	0,642	1,213
20	0,425	0,632	1,120
21	0,453	0,632	1,142
22	0,470	0,632	1,236
23	0,422	0,621	1,241
24	0,416	0,625	1,133
25	0,415	0,321	1,254

Fuente: El autor.

En la siguiente tabla se presentan los datos obtenidos con el metal de zinc para la realización de la validación mediante espectrofotometría de absorción atómica, estos datos se obtuvieron ya que se enriqueció matrices de agua natural, consumo humano y residual.

Datos de las tres matrices de aguas para zinc

N°	matriz 1	matriz 2	Matriz 3
1	0,624	1,443	2,235
2	0,618	1,476	2,221
3	0,635	1,457	2,201
4	0,661	1,489	2,210
5	0,621	1,497	2,211
6	0,627	1,500	2,229
7	0,647	1,457	2,325
8	0,665	1,386	2,222
9	0,626	1,415	2,255
10	0,615	1,402	2,145
11	0,614	1,505	2,145
12	0,663	1,385	2,120
13	0,654	1,422	2,145
14	0,668	1,388	2,229
15	0,647	1,467	2,262
16	0,652	1,413	2,214
17	0,662	1,423	2,234
18	0,662	1,421	2,216
19	0,652	1,465	2,279
20	0,684	1,487	2,268
21	0,663	1,457	2,247
22	0,641	1,475	2,218
23	0,652	1,495	2,236
24	0,654	1,427	2,299
25	0,662	1,327	2,242

Fuente: El autor.

En la siguiente tabla se presentan los datos obtenidos con el metal de manganeso para la realización de la validación mediante espectrofotometría de absorción atómica, estos datos se obtuvieron ya que se enriqueció matrices de agua natural, consumo humano y residual.

Datos de las tres matrices de agua para manganeso

N°	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
1	0,655	1,006	2,314
2	0,629	0,978	2,356
3	0,624	0,990	2,297
4	0,622	1,023	2,354
5	0,618	0,958	2,287
6	0,625	0,970	2,256
7	0,617	0,989	2,291
8	0,623	0,978	2,324
9	0,625	0,985	2,256
10	0,604	1,006	2,352
11	0,639	1,034	2,349
12	0,622	1,034	2,376
13	0,622	0,987	2,369
14	0,626	0,993	2,349
15	0,628	0,979	2,266
16	0,623	1,023	2,249
17	0,622	0,985	2,265
18	0,623	0,999	2,316
19	0,628	1,033	2,258
20	0,630	1,001	2,314
21	0,630	0,975	2,232
22	0,625	0,985	2,215
23	0,623	0,996	2,237
24	0,629	0,965	2,317
25	0,690	0,985	2,240

Fuente: El autor.

En la siguiente tabla se presentan los datos obtenidos con de Cobre para la realización de la validación mediante espectrofotometría de absorción atómica, estos datos se obtuvieron ya que se enriqueció matrices de agua natural, consumo humano y residual.

Datos de las tres matrices de agua para cobre

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	0,441	1,152	2,462
2	0,470	1,119	2,630
3	0,465	1,082	2,569
4	0,460	1,102	2,562
5	0,456	1,144	2,541
6	0,456	1,162	2,542
7	0,451	1,155	2,455
8	0,450	1,105	2,460
9	0,453	1,145	2,471
10	0,467	1,168	2,585
11	0,440	1,159	2,534
12	0,452	1,181	2,556
13	0,442	1,103	2,544
14	0,449	1,148	2,575
15	0,451	1,124	2,539
16	0,442	1,157	2,416
17	0,452	1,155	2,570
18	0,447	1,185	2,417
19	0,456	1,133	2,488
20	0,450	1,024	2,456
21	0,456	1,165	2,487
22	0,442	1,166	2,466
23	0,447	1,190	2,486
24	0,437	1,186	2,659
25	0,447	1,199	2,486

Fuente: El autor.

A continuación en las siguientes tablas se muestran la composición de las matrices de los cinco metales sin enriquecer.

Datos de cobre en las tres matrices de agua sin enriquecer

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	-0.005	-0.006	-0.008
2	-0.001	-0.005	0.005
3	-0.006	-0.001	-0.015
4	-0.0012	-0.001	-0.006
5	-0.005	-0.004	-0.005
6	-0.008	-0.005	0.004
7	-0.004	-0.003	-0.012
8	-0.005	-0.001	-0.010
9	-0.008	-0.001	0.013
10	-0.004	-0.001	-0.005

Fuente: el autor

Datos de manganeso en las tres matrices de agua sin enriquecer

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	-0.003	-0.008	-0.012
2	-0.002	-0.005	-0.002
3	-0.003	-0.013	-0.003
4	-0.013	-0.008	-0.024
5	-0.010	-0.006	-0.018
6	-0.004	-0.014	-0.006
7	-0.003	-0.008	-0.013
8	-0.015	-0.001	-0.025
9	-0.008	-0.012	-0.003
10	-0.012	-0.005	-0.002

Fuente: el autor

Datos zinc en las tres matrices de agua sin enriquecer

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	-0.003	-0.003	-0.001
2	-0.001	-0.002	-0.005
3	-0.024	-0.010	-0.003
4	-0.013	-0.001	-0.008

5	-0.008	-0.002	-0.005
6	-0.016	-0.012	-0.003
7	-0.003	-0.001	-0.002
8	-0.010	-0.008	-0.012
9	-0.001	-0.001	-0.001
10	-0.05	-0.012	-0.004

Fuente: El autor.

Datos plomo en las tres matrices de agua sin enriquecer

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	-0.003	-0.003	-0.003
2	-0.002	-0.002	-0.001
3	-0.003	-0.001	-0.002
4	-0.001	-0.001	-0.001
5	-0.001	-0.001	-0.002
6	-0.002	-0.002	-0.002
7	-0.003	-0.003	-0.001
8	-0.002	-0.002	-0.002
9	-0.001	-0.001	-0.001
10	-0.003	-0.003	-0.001

Fuente: El autor.

Datos de hierro en las tres matrices de agua sin enriquecer

N°	matriz 1	matriz2	matriz 3
1	0.024	0.020	0.040
2	0.012	0.012	0.032
3	0.033	0.013	0.033
4	0.022	0.015	0.025
5	0.019	0.010	0.028
6	0.015	0.013	0.032
7	0.023	0.011	0.040
8	0.012	0.012	0.031
9	0.011	0.008	0.032
10	0.008	0.005	0.0038

Fuente: El autor.

ANEXO (II)

Calculo linealidad de zinc

Tabla 49. Cálculo de la pendiente e intercepto de zinc en aguas

N°	X (concentración Zn en mg/l)	Y Absorbancia	(X*Y)	X ²
1	0,050	0,03966	0,001983	0,003
2	0,500	0,20624	0,10312	0,250
3	1,000	0,41388	0,41388	1,000
4	2,000	0,77134	1,54268	4,000
5	3,000	1,10982	3,32946	9,000
sumatoria	6.550	2,54094	5,391123	14,253

Fuente: el autor

Pendiente

$$m = \frac{n \sum XY - (\sum X * \sum Y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$m = \frac{5(5.391) - (6.550 * 2.540)}{5(14.253) - (6.550)^2}$$

$$m = 0,3637$$

Intercepto

$$b = \frac{(\sum Y * \sum X^2) - (\sum X * \sum XY)}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$b = \frac{(2.540 * 14.253) - (6.550 * 5.391)}{5 * 14.253 - (6.550)^2}$$

$$b = 0,031$$

Tabla 50. Coeficiente de correlación de zinc en aguas

N°	X(Zn)	(X - \bar{x})	(X - \bar{x}) ²	Y	(Y - \bar{y})	(Y - \bar{y}) ²	(X - \bar{x})(Y - \bar{y})
1	0,050	-1,260	1,588	0,03966	-0,469	0,220	0,59034528
2	0,500	-0,810	0,656	0,20624	-0,302	0,091	0,24457788
3	1,000	-0,310	0,096	0,41388	-0,094	0,009	0,02923548
4	2,000	0,690	0,476	0,77134	0,263	0,069	0,18157488
5	3,000	1,690	2,856	1,10982	0,602	0,362	1,01675808
Sumatoria	6.550		5,672	2,54094		0,751	2,062
Media	1,310			0,508			

Fuente: El autor

$$r = \frac{\sum(X - \bar{x}) * (Y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(X - \bar{x})^2 * \sum(Y - \bar{y})^2}}$$

$$r = \frac{0.483}{\sqrt{5.672 * 0,041}}$$

$$r = 0,999727592$$

Se realizaron 5 curvas de calibración con la finalidad de determinar la pendiente máxima y mínima, así como el intercepto máximo y mínimo, estos se presentan en la siguiente tabla.

Pendiente e intercepto de Zn en aguas

b_{MIN}	0,33588516
b_{MAX}	0,389961502
a_{MIN}	-0,012254328
a_{Max}	0,080560566
a(intercepto)	0,033394735
b (pendiente)	0,362923331

Fuente. El autor

ANEXO III

Calculo del límite de detección. (Metal cobre).

Cálculo límite de detección Cobre									
0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Promedio	0,030								
S (des stand)	0,018								
% CV	8,076								

El límite de detección se puede calcular mediante la siguiente expresión:

$$LDD = XB + 3 * S_B$$

$$LDD = 0.028 + 3 (0.018)$$

$$LDD = 0.082$$

S_B = La desviación estándar de una serie de 10 blancos.

Cálculo del límite de cuantificación.

El límite de cuantificación se puede calcular mediante la siguiente expresión:

$$LDQ = xB + 5S_B$$

$$LDQ = 0.028 + 5 * 0.018$$

$$LDQ = 0.115$$

ANEXO IV

Veracidad para Manganeso

Con esto se determinan la coincidencia entre el valor de una serie de lecturas y el valor del estándar verdadero, el sesgo es el que nos indica que tan cercano o lejano se encuentra nuestro valor del verdadero.

Para evaluar la veracidad se realiza una prueba t, y el resultado debe ser que el $t_{\text{crítico}}$ (obtenido por tabla) tiene que ser mayor a $t_{\text{calculado}}$ (obtenido estadísticamente). La $t_{\text{crítico}}$ para la evaluación es 2,262

Para Nivel 1 de 0.619 mg/l

Lectura	Resultado mg/L	Xa	Sesgo s
1	0.594	0.623	-0.025
2	0.666	0.623	0.047
3	0.065	0.623	0.036
4	0.651	0.623	0.032
5	0.669	0.623	0.050
6	0.626	0.623	0.007
7	0.611	0.623	-0.008
8	0.624	0.623	0.005
9	0.620	0.623	-0.001
10	0.609	0.623	-0.010
Promedio	0.633	S(desv est)	0.026

$$t_{\text{cal}} = \frac{|0.623 - 0.633|}{0,823 \times \sqrt{10}} \quad t_{\text{cal}} = 0,116$$

Al comparar el $t_{\text{crítico}}$ con el $t_{\text{calculado}}$ podemos indicar que no hay diferencia significativa por lo tanto es aceptable para el nivel de lectura.

Para Nivel 2 de 0.996 mg/l

Lectura	Resultado mg/L	Xa	Sesgo s
1	0.983	0.996	-0.013
2	0.976	0.996	-0.020
3	0.982	0.996	-0.014
4	0.969	0.996	-0.027
5	0.978	0.996	-0.018
6	0.990	0.996	-0.006
7	0.986	0.996	-0.010
8	0.984	0.996	-0.012
9	1.013	0.996	0.017
10	1.034	0.996	0.038
Promedio	0.990	S(desv est)	0.019

$$t_{cal} = \frac{|0.996 - 0.990|}{2,1194x\sqrt{10}} \quad t_{cal} = 0,106$$

Al comparar el $t_{crítico}$ con el $t_{calculado}$ podemos indicar que el no hay diferencia significativa por lo tanto es aceptable para el nivel de lectura.

Para Nivel 3 de 2.329 mg/l

Lectura	Resultado mg/L	Xa	Sesgo s
1	2.361	2.329	0.032
2	2.349	2.329	0.019
3	2.311	2.329	-0.018
4	2.303	2.329	-0.027
5	2.392	2.329	0.063
6	2.356	2.329	0.027
7	2.335	2.329	0.006
8	2.291	2.329	-0.039
9	2.330	2.329	0.001
10	2.290	2.329	-0.040
Promedio	2.332	S(desv est)	0.03349

$$t_{cal} = \frac{|2.329 - 2.332|}{7,38542x \sqrt{10}} \quad t_{cal} = 0,133$$

Al comparar el $t_{crítico}$ con el $t_{calculado}$ podemos indicar que el no hay diferencia significativa por lo tanto es aceptable para el nivel de lectura.

ANEXO V

Precisión para Hierro

Para este parámetro se realizó un análisis ANOVA donde se calculó tanto la Repetibilidad y la reproducibilidad de Hierro. Para cada nivel de concentración los resultados obtenidos de los coeficientes de variación de reproducibilidad y repetibilidad deben ser menores al 10 % según "Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation" y el $t_{\text{calculado}}$ debe ser menor al $t_{\text{crítico}}$.

Para Nivel 1 de 0.950 mg/l

ANALISTA	MAV	JWC	DEM
FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015
0.950	0,948	0,956	0,954
0.950	0,934	0,937	0,956
0.950	0,934	0,969	0,946
0.950	0,946	0,976	0,969
0.950	0,935	0,932	0,946

Medias

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	Media
0.950	0,939	0,954	0,954	0,949

$p^*(xi-xmed)^2$

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCB	DCMB
0.950	0,00048	0,0001	0,0001	0,0007	0,000363

$\text{suma}((xi-xmed)^2)$

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCw
0.950	0,0002	0,0015	0,0004	0,0020

DCMw	Sr	S_L^2	SR	Cv repr%	CV repeti
0,00017	0,013	0,0001	0,0163	1,72%	1,37%

	Fcal	Ftab	Análisis
0.950	2,151	3,88	no hay diferencia significativa

Para Nivel 2 de 1.549 mg/l

ANALISTA	MAV	JWC	DEM
FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015
1.549	1,536	1,505	1,534
1.549	1,578	1,541	1,534
1.549	1,550	1,576	1,547
1.549	1,563	1,555	1,549
1.549	1,568	1,526	1,569

Medias

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	Media
1.549	1,559	1,540	1,547	1,549

$p*(xi-xmed)^2$

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCB	DCMB
1.549	0,0005	0,0003	0,00002	0,0009	0,000444

suma((xi-xmed)^2)

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCw
1.549	0,0011	0,003	0,0008	0,005

DCMw	Sr	S_L^2	SR	Cv repr%	CV repeti
0,00040	0,020	0,00002	0,0206	1,33%	1,29%

	Fcal	Ftab	Análisis
1.549	1,107	3,88	no hay diferencia significativa

Para Nivel 3 de 2.329 mg/l

ANALISTA	MAV	JWC	DEM
FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015
2.329	2,314	2,256	2,349
2.329	2,356	2,291	2,376
2.329	2,297	2,324	2,369

2.329	2,354	2,256	2,349
2.329	2,287	2,352	2,266

Medias

FECHA	07/07/2014	10/07/2014	14/07/2014	Media
2.329	2,322	2,296	2,342	2,320

$p^*(xi-xmed)^2$

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCB	DCMB
2.329	0,00002	0,0029	0,0024	0,01	0,002658

suma((xi-xmed)^2)

FECHA	07/09/2015	10/09/2015	14/09/2015	SDCw
2.329	0,004	0,007	0,008	0,0190

DCMw	Sr	S_L^2	SR	Cv repr%	CV repeti
0,00158	0,040	0,0005	0,0460	1,977%	1,71%
	Fcal	Ftab	Análisis		
2.329	1,679	3,88	no hay diferencia significativa		

ANEXO VII

Calculo incertidumbre de cobre en aguas

1. Incertidumbre Material de Referencia Certificado

El estándar de Cobre de 1000 mg/l tiene una incertidumbre de ± 3 mg/l

Incertidumbre del material de referencia de cobre

Incertidumbre	Unidades	Valor para hacerlo relativo	Unidades	Incertidumbre	Incertidumbre ²
1,5	mg/l	1000	mg/l	0,0015	0,000023

Fuente. El autor

$$U_{MRC} = \frac{U}{2}$$
$$U_{MRC} = \frac{1.5}{2}$$

2. Incertidumbre de la curva de calibración

Se utiliza la ecuación de “Ajuste lineal de la curva de calibración” para determinar la incertidumbre aportada por la curva de calibración.

$$u(y_x) = \frac{s}{b1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(Y(x) - \bar{Y}_{MRC})^2}{s_{xx}}}$$

s: Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal.

b1: Pendiente de la curva de calibración.

p: Número de réplicas de la muestra en estudio.

n: Número de patrones para construir la curva de calibración.

Y(x): Concentración de la muestra.

Y_{MRC}: Concentración promedio de los patrones.

s_{xx}: Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas.

Incertidumbre Curva de calibración de cobre

s	1,30E-03
b1	0,077
p	25
n	5
Y_(x)	0,452
Y_{MRX}	1,31
Sxx	14,25

Fuente: El autor

Remplazando en la ecuación

$$u_{(y_x)} = \frac{0,0013}{0,077} \sqrt{\frac{1}{25} + \frac{1}{5} + \frac{(0,452 - 1,31)^2}{14,25}}$$

$$u_{(y_x)} = 0,009077505 \text{ mg/L}$$

Se lo hace relativa dividiéndolo para el nivel de concentración con el que se está trabajando, en este caso son 0.452 mg/l.

$$u_{(y_x)} = 0.020082975$$

3. Incertidumbre de la resolución del equipo

La resolución del equipo Perkin Elmer 400 es de 0,0001, el valor de la pendiente es 0.077.

Incertidumbre del equipo

Incertidumbre	Unidades	Valor para hacerlo relativo	Unidades	Incertidumbre	Incertidumbre ²
0,000747599	mg/l	0,452	mg/l	0,001653981	0,0000027

Fuente: El equipo

$$U_{Res} = \frac{\frac{Resolución}{Pendiente}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{Res} = 0.000747599 \text{ mg/L}$$

Se divide para 0.625 mg/l ya que es en el nivel de concentración que se está trabajando, de esta manera se hace relativa la incertidumbre.

4. Incertidumbre volumen de aforo

El volumen de aforo es de 100 ml

a) Incertidumbre debido a la tolerancia

Los balones utilizados son de clase A y están calibradas, estos poseen una tolerancia de $\pm 0,1$ ml.

$$U_{Tot} = \frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}$$

$$U_{Tot} = \frac{0,1ml}{\sqrt{3}}$$

$$U_{Tot} = 0.057735026 \text{ ml}$$

b) Incertidumbre debido a la temperatura.

Para calcular esta incertidumbre necesitamos el coeficiente de dilatación del vidrio que es $0,00021 \text{ } 1/^{\circ}\text{C}$

Diferencia temperatura ($0,5^{\circ}\text{C}$)

$$U_{\Delta Tem} = \frac{V_0 * \Delta x * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\Delta Tem} = \frac{100 * 0,5 * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\Delta Tem} = 0,006065276 \text{ ml}$$

c) Incertidumbre debido a la Repetibilidad

Para obtener la Repetibilidad del volumen se pesan 10 veces al balón de 100 ml, y se saca la desviación estándar.

Incertidumbre de Repetibilidad.

Masa	99,7598	100,0147	99,7598	100,0147	99,7598	100,0147	99,7598	100,0147	99,7598	100,0147
Vol	99,7774	100,0323	99,7774	100,0323	99,7774	100,0323	99,7774	100,0323	99,7774	100,0323
Temperatura	21,35									
Densidad	0,99745143									
Promedio	100,0542106									
S(desv est)	0,037122554									

Fuente: El autor

$$U_{Rep} = \frac{0,037122554 \text{ ml}}{\sqrt{10}}$$

$$U_{Rep} = 0,011739182 \text{ ml}$$

Incertidumbre de combinada de aforo

$$U_{Vol\ mue} = \sqrt{U_{Tol}^2 + U_{Rep}^2 + U_{\Delta Tem}^2}$$

$$U_{Vol\ afo} = \sqrt{(0,057735026)^2 + (0,011739182)^2 + (0,006065276)^2}$$

$$U_{Vol\ afo} = 0,059227794\ ml$$

Incertidumbre del volumen de muestra

El volumen de muestra utilizado es de 100 ml,

a) Incertidumbre debido a la tolerancia

El balón utilizado es de clase A y está calibrado, que posee una tolerancia de $\pm 0,1\ ml$.

$$U_{Tol} = \frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}$$

$$U_{Tol} = \frac{0,1\ ml}{\sqrt{3}}$$

$$U_{Tol} = 0,0577350\ ml$$

b) Incertidumbre debido a la temperatura.

Para calcular esta incertidumbre necesitamos el coeficiente de dilatación del vidrio que es $0,00021\ 1/^\circ C$

Diferencia temperatura ($0,5^\circ C$)

$$U_{\Delta Tem} = \frac{V_0 * \Delta x * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\Delta Tem} = \frac{100 * 0,5 * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\Delta Tem} = 0,006064712\ ml$$

c) Incertidumbre debido a la Repetibilidad

Para obtener la Repetibilidad del volumen se pesan 10 veces el volumen de 100 ml de un balón de aforo, y se saca la desviación estándar.

Incertidumbre de repetibilidad del volumen de muestra

Masa	99,5078	99,7621	99,5078	99,7621	99,5078	99,7621	99,5078	99,7621	99,5078	99,7621
Vol	99,8749	100,1301	99,8749	100,1301	99,8749	100,1301	99,8749	100,1301	99,8749	100,1301
Temperatura	21,35									
Densidad	0,99745143									

Promedio	99,99720001
S(desv est)	0,193990492

Fuente: El autor

$$U_{Rep} = \frac{0,193990492 \text{ ml}}{\sqrt{10}}$$

$$U_{Rep} = 0,06134518 \text{ ml}$$

Incertidumbre de combinada de volumen para muestra.

$$U_{Vol Mues} = \sqrt{U_{Tol}^2 + U_{Rep}^2 + U_{\Delta Tem}^2}$$

$$U_{Vol mues} = \sqrt{(0,0577350)^2 + (0,06134518)^2 + (0,0100065)^2}$$

$$U_{Vol mue} = 0,084458939 \text{ ml}$$

5. Incertidumbre debido a la reproducibilidad

La incertidumbre aportada por la reproducibilidad se obtiene del análisis ANOVA para el nivel de 0.452 mg/l.

$$U_{Repro} = 0,011109397 \text{ mg/L}$$

Para hacerlo relativo se divide para el nivel de concentración con el que se está trabajando.

$$U_{Repro} = 0,245783119$$

Incertidumbre combinada para 0.452 mg/l de Cobre

Como todas las incertidumbres calculadas anteriormente son relativas necesitamos sumarlas como varianzas y obtener la raíz cuadrada de esta suma, para después multiplicar por el nivel de concentración con el que se está trabajando.

$$U_{combinada} = 0.452 \text{ mg/l} \times \sqrt{(U_{MRC})^2 + (u_{(y_x)})^2 + (U_{Res})^2 + (U_{Vol_{af0}})^2 + (U_{Vol_{mue}})^2 + (U_{Repro})^2}$$

$$U_{com} = 0.452 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \times \sqrt{(0,001)^2 + (0,009077505)^2 + (0,00067819)^2 + (0,059227794)^2 + (0,084458939)^2 + (0,011109397)^2}$$

$$U_{combinada} = 0,014389433 \text{ mg/L.}$$

Incertidumbre expandida

Para este caso se multiplica por 2 que es el factor de cobertura para una confianza del 95%.

$$U_{Expandida} = 2 \times U_{combinada}$$

$$U_{Expandida} = 2 \times (0,014389433 \text{ mg/L})$$

$$U_{Expandida} = 0,028778867 \text{ mg/L}$$

Porcentaje de incertidumbre

$$U_{Expandida} = 6.37\%.$$

Cartas de Control de las Matrices de agua natural



CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

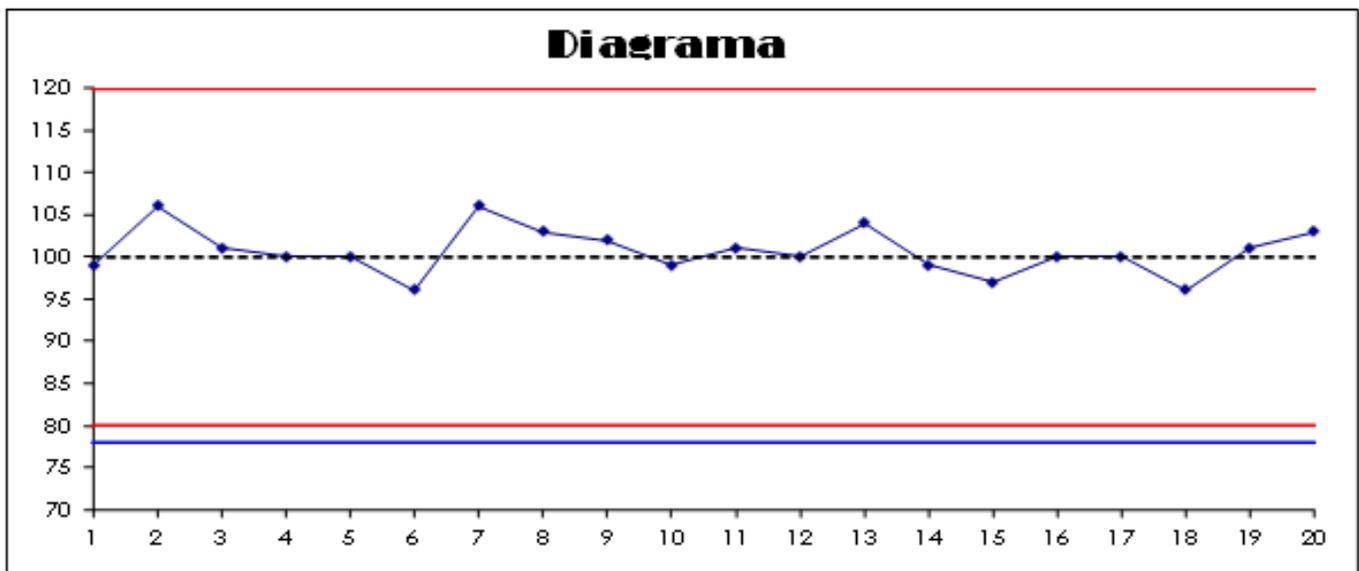
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchalca
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Manganeso
METODO:	LUTPL-Mn-ABS-048
ANÁLISIS	Manganeso en Absorción Atómica
UNIDAD	(%) Porcentaje

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2015/06/18	99	Ing. Diego Maza	Ok
2	2015/06/18	106	Ing. Miguel Guamán	Correcto
3	2015/06/18	101	Ing. James Calva	Bien
4	2015/06/18	100	Ing. Diego Maza	Bien
5	2015/06/18	100	Ing. Diego Maza	Ok
6	2015/06/18	96	Ing. James Calva	Ok
7	2015/06/18	106	Ing. Miguel Guamán	Correcto
8	2015/06/18	103	Ing. Diego Maza	Bien
9	2015/06/18	102	Ing. James Calva	Ok
10	2015/06/18	99	Ing. Diego Maza	Ok
11	2015/06/18	101	Ing. James Calva	Correcto
12	2015/06/18	100	Ing. Diego Maza	Ok
13	2015/06/18	104	Ing. Miguel Guamán	Correcto
14	2015/06/18	99	Ing. James Calva	Ok
15	2015/06/18	97	Ing. Diego Maza	Bien
16	2015/06/18	100	Ing. James Calva	Bien
17	2015/06/18	100	Ing. Diego Maza	Ok
18	2015/06/18	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2015/06/18	101	Ing. Diego Maza	Ok
20	2015/06/18	103	Ing. James Calva	Bien

Promedio
100
Lím. Inferior
80
Lím. Superior
120
Lím. Acción inferior
78
Lím acción superior
122



DOCUMENTO CONTROLADO Y CONFIDENCIAL



CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

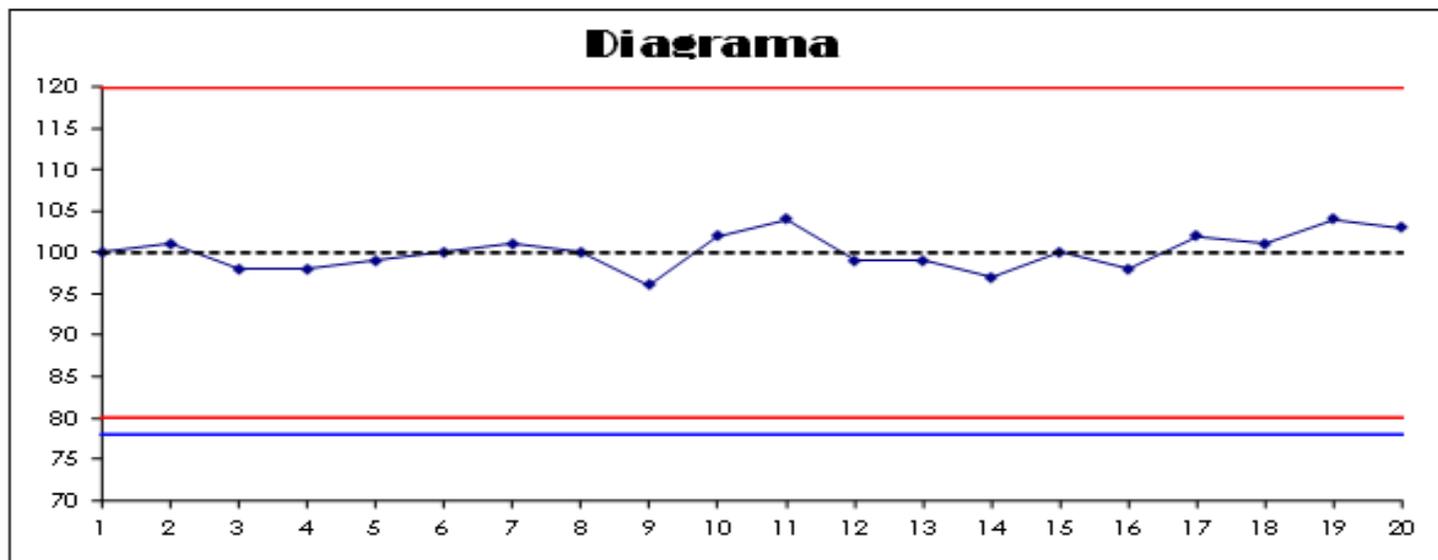
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchalceia
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Cobre
MÉTODO:	LUTPL-Cu-ABS-023
ANÁLISIS:	Cobre en Absorción Atómica
UNIDAD:	(%) Porcentaje

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2015/06/25	100	Ing. Miguel Guamán	OK
2	2015/06/25	101	Ing. Miguel Guamán	OK
3	2015/06/25	98	Ing. Diego Maza	Bien
4	2015/06/25	98	Ing. Diego Maza	Bien
5	2015/06/25	99	Ing. Diego Maza	Bien
6	2015/06/25	100	Ing. James Calva	OK
7	2015/06/25	101	Ing. Diego Maza	Correcto
8	2015/06/25	100	Ing. Diego Maza	OK
9	2015/06/25	96	Ing. Miguel Guamán	OK
10	2015/06/25	102	Ing. James Calva	Correcto
11	2015/06/25	104	Ing. Diego Maza	Correcto
12	2015/06/25	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
13	2015/06/25	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
14	2015/06/25	97	Ing. James Calva	Correcto
15	2015/06/25	100	Ing. Miguel Guamán	Bien
16	2015/06/25	98	Ing. Diego Maza	Ok
17	2015/06/25	102	Ing. Diego Maza	OK
18	2015/06/25	101	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2015/06/25	104	Ing. Miguel Guamán	Bien
20	2015/06/25	103	Ing. Diego Maza	Bien

Promedio
100
Lím. Inferior
80
Lím. Superior
120
Lím. Acción inferior
78
Lím acción superior
122



DOCUMENTO CONTROLADO Y CONFIDENCIAL



CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

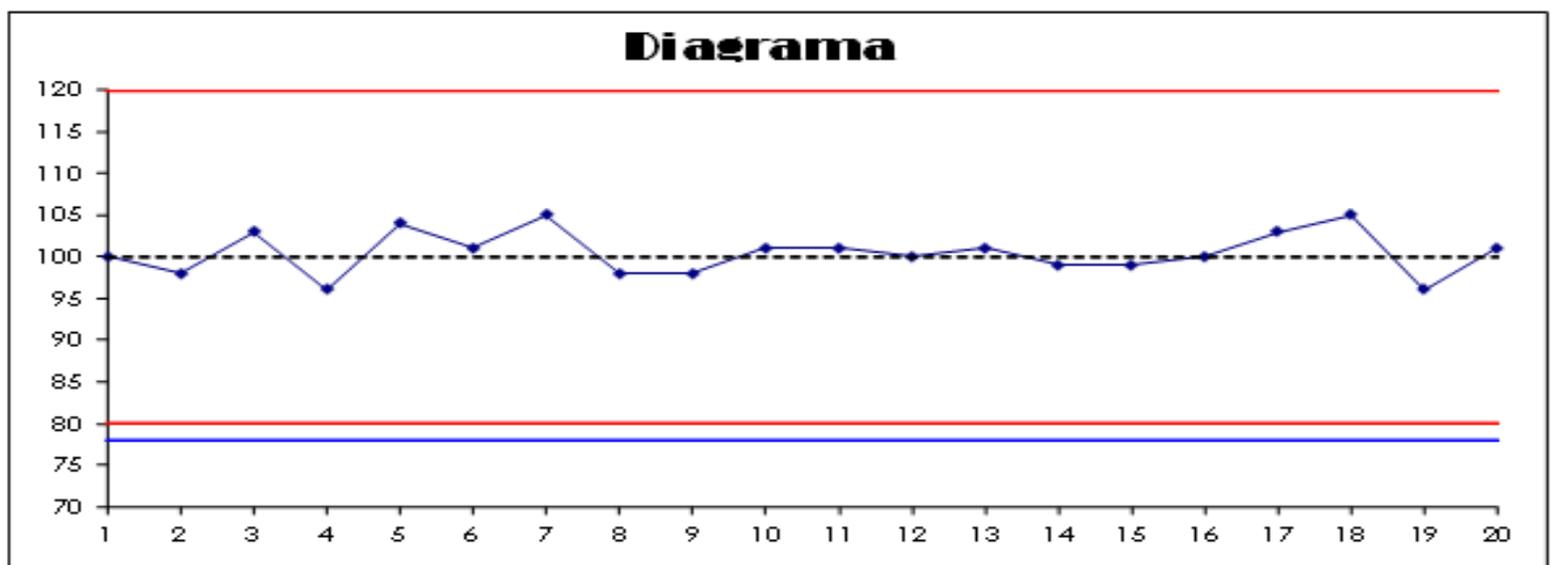
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patrio Puchalca
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Hierro
MÉTODO:	LUTPL-Fe-ABS-024
ANÁLISIS	Hierro en Absorción Atómica
UNIDAD	Porcentaje (%)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2015/06/10	100	Ing. Diego Maza	Bien
2	2015/06/10	98	Ing. James Calva	Bien
3	2015/06/10	103	Ing. Diego Maza	Bien
4	2015/06/10	96	Ing. Diego Maza	Bien
5	2015/06/10	104	Ing. Diego Maza	Bien
6	2015/06/10	101	Ing. James Calva	Bien
7	2015/06/10	105	Ing. Diego Maza	Ok
8	2015/06/10	98	Ing. James Calva	Correcto
9	2015/06/10	98	Ing. James Calva	Correcto
10	2015/06/10	101	Ing. Diego Maza	Ok
11	2015/06/10	101	Ing. James Calva	Ok
12	2015/06/10	100	Ing. Diego Maza	Correcto
13	2015/06/10	101	Ing. James Calva	ok
14	2015/06/10	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
15	2015/06/10	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
16	2015/06/10	100	Ing. Diego Maza	Correcto
17	2015/06/10	103	Ing. Diego Maza	Ok
18	2015/06/10	105	Ing. James Calva	Correcto
19	2015/06/10	96	Ing. Diego Maza	Ok
20	2015/06/10	101	Ing. Diego Maza	OK

Promedio
100
Lím. Inferior
80
Lím. Superior
120
Lím. Acción inferior
78
Lím acción superior
122



DOCUMENTO CONTROLADO Y CONFIDENCIAL



CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

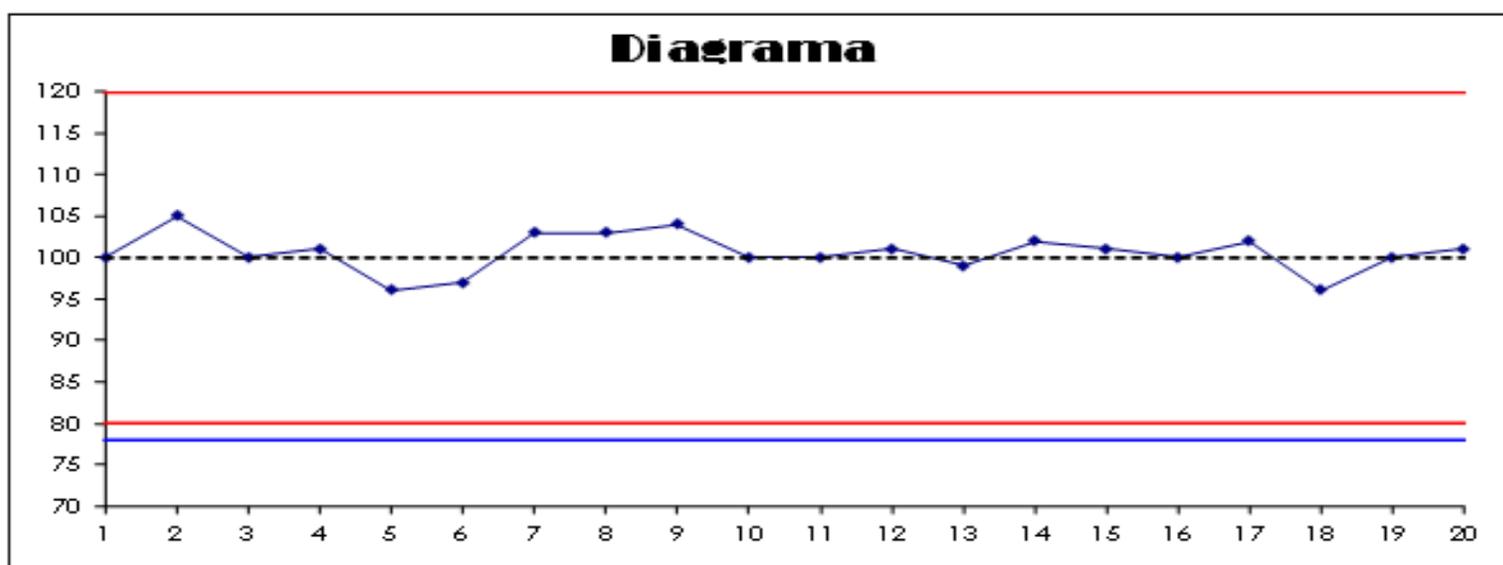
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patrio Puchalca
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Cinc
METODO:	LUTPL-Zn-ABS-046
ANÁLISIS	Cinc en Absorción Atómica
UNIDAD	(%) Porcentaje

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2015/06/24	100	Ing. Diego Maza	correcto
2	2015/06/24	105	Ing. James Calva	Ok
3	2015/06/24	100	Ing. Diego Maza	OK
4	2015/06/24	101	Ing. Diego Maza	Bien
5	2015/06/24	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
6	2015/06/24	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
7	2015/06/24	103	Ing. Diego Maza	Ok
8	2015/06/24	103	Ing. Miguel Guamán	Correcto
9	2015/06/24	104	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2015/06/24	100	Ing. Miguel Guamán	Ok
11	2015/06/24	100	Ing. James Calva	Ok
12	2015/06/24	101	Ing. James Calva	Bien
13	2015/06/24	99	Ing. James Calva	Correcto
14	2015/06/24	102	Ing. Diego Maza	Ok
15	2015/06/24	101	Ing. Diego Maza	Correcto
16	2015/06/24	100	Ing. Diego Maza	Correcto
17	2015/06/24	102	Ing. James Calva	Correcto
18	2015/06/24	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2015/06/24	100	Ing. Miguel Guamán	Bien
20	2015/06/24	101	Ing. Miguel Guamán	Bien

Promedio
100
Lím. Inferior
80
Lím. Superior
120
Lím. Acción inferior
78
Lím acción superior
122



DOCUMENTO CONTROLADO Y CONFIDENCIAL



CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

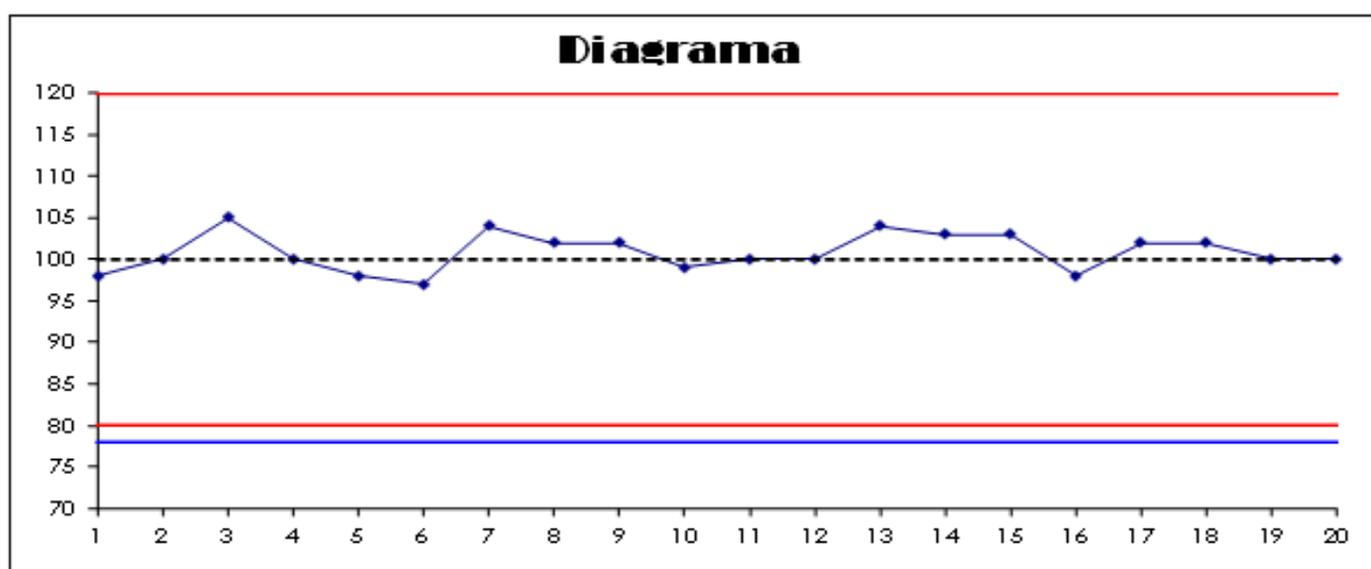
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patrio Puchalca
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Plomo
MÉTODO:	LUTPL-Pb-ABS-019
ANÁLISIS	Plomo en Absorción Atómica
UNIDAD	(%) Porcentaje

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2015/06/22	98	Ing. Diego Maza	Correcto
2	2015/06/22	100	Ing. James Calva	Bien
3	2015/06/22	105	Ing. James Calva	Correcto
4	2015/06/22	100	Ing. Miguel Guamán	Bien
5	2015/06/22	98	Ing. Diego Maza	Bien
6	2015/06/22	97	Ing. Miguel Guamán	Ok
7	2015/06/22	104	Ing. Diego Maza	Bien
8	2015/06/22	102	Ing. James Calva	Correcto
9	2015/06/22	102	Ing. Diego Maza	Bien
10	2015/06/22	99	Ing. Miguel Guamán	Ok
11	2015/06/22	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
12	2015/06/22	100	Ing. Diego Maza	Ok
13	2015/06/22	104	Ing. James Calva	Bien
14	2015/06/22	103	Ing. James Calva	Ok
15	2015/06/22	103	Ing. Diego Maza	Bien
16	2015/06/22	98	Ing. James Calva	OK
17	2015/06/22	102	Ing. Diego Maza	Bien
18	2015/06/22	102	Ing. Diego Maza	Bien
19	2015/06/22	100	Ing. Diego Maza	Bien
20	2015/06/22	100	Ing. Diego Maza	Correcto

Promedio	100
Lím. Inferior	80
Lím. Superior	120
Lím. Acción inferior	78
Lím acción superior	122



Anexos IX
Certificados de Estándares



Certificate of Analysis

1.19806.0100 Zinc standard solution traceable to SRM from NIST
Zn(NO₃)₂ in HNO₃ 0.5 mol/l 1000 mg/l Zn CertiPUR®
Batch HC117124

Batch Values

Concentration β (Zn) 1001 mg/l

*Determination method: Complexometric titration.
(traceable to NIST - SRM 682)
Accuracy of the method: +/- 2 mg/l*

*Date of release (DD.MM.YYYY): 04.05.2013
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.05.2016*

Dr. Stefan Frey

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature



Certificate of Analysis

Certipur® Reference Material

Lead ICP Standard 1000 mg/l Pb CertiPUR®
1.70328.0100 Lot No: HC894639

This Certificate of Analysis is based on the data from the Merck Calibration Laboratory for ICP-OES, according to DIN EN ISO / IEC 17025.
Accredited by the DKD (Deutscher Kalibrierdienst).

DAR Reg.-No.: DKD-K-14302
Ref. Calibration Certificate: 259/DKD-K-14302/08-02

Composition: Lead nitrate in nitric acid Suprapur® 2-3%

Assay: 991 mg/kg Analysis: ICP-OES
1003 mg/l (calculated)

Measurement ± 3 mg/kg (± 0.3%)

Uncertainty: This value represents the expanded uncertainty (*U*) for a coverage probability of 95%. Refer to page 2 for further details.

Traceability: This ICP Standard has been measured applying high precision ICP-OES in comparison to the corresponding NIST SRM® 3128, lot 030721

Trace impurities [µg/ml]:

Ag	<0.02	Cr	<0.02	In	<0.02	Ni	<0.02	Sb	<0.02	Tl	<0.02
Al	<0.05	Cu	<0.02	Ir	<0.02	Os	<0.20	Sc	<0.02	Tm	<0.02
As	<0.20	Dy	<0.02	K	<0.20	P	<0.20	Se	<0.20	U	<0.02
Au	<0.02	Er	<0.02	La	<0.02	Pb	*	Si	<0.20	V	<0.02
B	<0.05	Eu	<0.02	Li	<0.02	Pd	<0.02	Sm	<0.02	W	<0.05
Ba	<0.02	Fe	<0.05	Lu	<0.02	Pr	<0.02	Sn	<0.02	Y	<0.02
Be	<0.02	Ga	<0.02	Mg	<0.02	Pt	<0.02	Sr	<0.02	Yb	<0.02
Bi	<0.20	Gd	<0.02	Mn	<0.02	Rb	<0.02	Ta	<0.05	Zn	<0.02
Ca	<0.05	Ge	<0.02	Mo	<0.02	Re	<0.02	Tb	<0.02	Zr	<0.02
Cd	<0.02	Hf	<0.02	Na	<0.10	Rh	<0.02	Te	<0.20		
Ce	<0.02	Hg	<0.02	Nb	<0.05	Ru	<0.02	Th	<0.02		
Co	<0.02	Ho	<0.02	Nd	<0.02	S	<0.20	Ti	<0.05		

Date of release: 2014-02-01
Minimum shelf life: 2017-02-28

Wolfgang Germand
(responsible laboratory manager quality control)

Certificate of Analysis



1.19789.0100 Manganese standard solution traceable to SRM from
NIST $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$ in HNO_3 0,5 mol/l 1000 mg/l Mn
CertiPUR®
Batch HC626253

Batch Values

Concentration β (Mn) 1000 mg/l

*Determination method: Complexometric titration.
(traceable to NIST - SRM 682)*

Accuracy of the method: +/- 2 mg/l

Test date (DD.MM.YYYY): 0.1.11.2013

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.10.2016

Wolfgang Gernand

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature



Certificate of Analysis

Certipur® Reference Material

Copper ICP Standard 1000 mg/l Cu CertiPUR®
1.70314.0100 Lot No: **HC753094**

This Certificate of Analysis is based on the data from the Merck Calibration Laboratory for ICP-OES, according to DIN EN ISO / IEC 17025. Accredited by the DKD (Deutscher Kalibrierdienst), the accreditation body at PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt).

DAR Reg.-No.: DKD-K-14302
 Ref. Calibration Certificate: 186/DKD-K-14302/07-04

Composition: Copper nitrate in nitric acid Suprapur® 2-3%

Assay: **983 mg/kg** **Analysis: ICP-OES**
997 mg/l (calculated)

Measurement ± 3 mg/kg (± 0.3%)

Uncertainty: This value represents the expanded uncertainty (*U*) for a coverage probability of 95%. Refer to page 2 for further details.

Traceability: This ICP Standard has been measured applying high precision ICP-OES in comparison to the corresponding **NIST SRM® 3114, lot 011017**

Trace impurities µg/ml:

Ag	<0.02	Cr	<0.02	In	<0.02	Ni	<0.02	Sb	<0.02	Tl	<0.02
Al	<0.05	Cu	*	Ir	<0.02	Os	<0.20	Sc	<0.02	Tm	<0.02
As	<0.20	Dy	<0.02	K	<0.20	P	<0.20	Se	<0.20	U	<0.02
Au	<0.02	Er	<0.02	La	<0.02	Pb	<0.05	Si	<0.20	V	<0.02
B	<0.05	Eu	<0.02	Li	<0.02	Pd	<0.02	Sm	<0.02	W	<0.10
Ba	<0.02	Fe	<0.05	Lu	<0.02	Pr	<0.02	Sn	<0.02	Y	<0.02
Be	<0.02	Ga	<0.02	Mg	<0.02	Pt	<0.02	Sr	<0.02	Yb	<0.02
Bi	<0.20	Gd	<0.02	Mn	<0.02	Rb	<0.02	Ta	<0.10	Zn	<0.02
Ca	<0.05	Ge	<0.02	Mo	<0.02	Re	<0.02	Tb	<0.02	Zr	<0.02
Cd	<0.02	Hf	<0.02	Na	<0.10	Rh	<0.05	Te	<0.20		
Ce	<0.02	Hg	<0.02	Nb	<0.05	Ru	<0.02	Th	<0.02		
Co	<0.02	Ho	<0.02	Nd	<0.02	S	<0.20	Ti	<0.05		

Date of release: 25. April 2013

Minimum shelf life: 30. April 2016

Wolfgang Gernand
 (responsible laboratory manager quality control)

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



AccuStandard® Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
www.AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Catalog No: AA27N-1
Description: Iron AA Standard
Element: Iron (Fe)
SRM: 3126a
Lot: 213075097
Matrix: 2-6% Nitric acid
Hazards: **CORROSIVE** - Refer to SDS for safety info

Date Certified: Jul 22, 2013
Expiration: Jul 22, 2018
Concentration: 1000 µg/mL

Sample Size: 100 mL
Storage Condition: Ambient



Danger 1

- Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
 Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Component	SRM #	Prepared Concentration (µg/mL)
Fe Iron	3126a	1000

In order to verify the concentration(s), the final solution was checked by plasma emission spectroscopy (ICP) against material traceable to the above listed NIST SRM(s).

This standard was prepared using ACS grade or better starting materials, high purity acids and ASTM Type I 18 megohm deionized water.

The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±5%. See reverse side for details.

Balances used during preparation are calibrated regularly using NIST traceable weights.

All glassware used in preparation is Class A and calibrated regularly.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be ±0.5% of the stated value until its expiration date provided it is kept tightly capped and stored under the conditions stated above.

Certified By

Lydia Snyder, Inorganic QC Manager

Page 1 of 1

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO Guide 34, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001

OR-090190-001
Rev. 7/11