



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

TITULACIÓN DE INGENIERO QUÍMICO

Validación de métodos analíticos para: DBO, DQO, nitritos, sólidos totales, cloruros y dureza total para análisis de aguas naturales, aguas de consumo humano y aguas residuales en el laboratorio de Ingeniería Ambiental (Laboratorios UTP).

Proyecto de fin de titulación

AUTOR:

Maza Estrada Diego Ernesto

DIRECTOR:

Guamán Caraguay José Miguel, Ing.

Loja – Ecuador

2013



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>

2013

CERTIFICACIÓN**Ingeniero:**

José Miguel Guamán Caraguay

Tutor del Trabajo de Fin de Titulación**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo, denominado: “Validación de métodos analíticos para: DBO, DQO, Nitritos, Sólidos Totales, Cloruros y Dureza Total para Análisis de Aguas Naturales, Consumo Humano y Residuales en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (Laboratorios UTPL).”, realizado por el profesional en formación Maza Estrada, Diego Ernesto; cumple con los requisitos establecidos en las normas generales para la Graduación en la Universidad Técnica Particular de Loja, tanto en el aspecto de forma como de contenido, por lo cual me permito autorizar su presentación para los fines pertinentes.

Loja, abril 2013

f)

Guamán Caraguay José Miguel

CI:.....

CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Maza Estrada, Diego Ernesto, declaro ser autor del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja, que en su parte textual indica: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual e investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f)

Maza Estrada Diego Ernesto

CI:.....

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a:

Dios, por permitirme vivir y estar conmigo en cada momento de mi vida, por haber sido el ser que guía mi camino y dejarme conocer aquellas personas que han sido mi compañía y apoyo en el transcurso de mis estudios.

Mis padres Luis Maza y Ernestina Estrada, por regalarme la vida y ser las personas más importantes en toda mi vida y lo máspreciado que tengo, ya que son el pilar fundamental en todo lo que soy.

Mis hermanos Edison, Luisín, Maritza, Patricia y Yessenia, por estar siempre conmigo dándome consejos, apoyándome e impulsando mi deseo de superación.

A mis sobrinos, a quienes quisiera servir como ejemplo.

EN FIN ESTE TRABAJO VA DEDICADO A TODOS USTEDES QUE SIEMPRE HAN
ESTADO A MI LADO Y SON EL SOPORTE FUNDAMENTAL DE MI VIDA.

AGRADECIMIENTO

Al finalizar el trabajo de fin de carrera quiero agradecer a todas las personas que directa e indirectamente estuvieron presentes en todo este proyecto de vida:

En primer lugar debo agradecer al Ing. José Miguel Guamán quien fue mi tutor del proyecto y gracias a su apoyo, confianza y su capacidad, logré salir adelante.

De la misma manera y con gran exaltación agradezco al Ing. Celso Romero y al Ing. Silvio Aguilar quienes me apoyaron y me dieron su confianza desde que yo empecé hacer gestión productiva en Ingeniería Ambiental, ya que me han ayudado en mi crecimiento personal como profesional.

A todo el personal de la Sección Departamental de Ingeniería Ambiental quienes me abrieron las puertas para poder realizar mi proyecto de fin de carrera.

A todos los profesores que fueron parte de mi desarrollo profesional en Ingeniería Química ya que gracias a ellos conseguí los conocimientos necesarios para poder llegar a culminar mi carrera.

A mis compañeros incondicionales: David Ordóñez, Katherine Chamba, Jorge Guaycha, Alex González, Pablo Gonzaga, Pablo Jumbo, Nathalie Pineda, Diana Jara, Galo Ojeda, María José Valarezo, Manuel Andrade, Soraya Jácome, Joana Bustamante, Jéssica Cuesta, Vanessa Jiménez, John Montoya quienes me han brindado su amistad, hemos vivido buenos y malos momentos y han estado presentes en mi formación profesional.

A mis padres, hermanos, sobrinos y más familiares, les agradezco por esas palabras de aliento en momentos difíciles ya que con el apoyo de todos ellos he llegado a ser lo que soy.

GRACIAS A TODOS POR SER PARTE DE MI FORMACIÓN PERSONAL COMO
PROFESIONAL.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	i
CESIÓN DE DERECHOS	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	3
FIN DEL PROYECTO	3
PROPÓSITO DEL PROYECTO	3
OBJETIVOS	4
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
ANTECEDENTES	5
1. MARCO TEÓRICO	7
1.1. Validación de Métodos Analíticos	8
1.1.1. Validación.....	8
1.1.2. Validación de un procedimiento analítico	8
1.1.3. Límite de detección]	8
1.1.4. Límite de cuantificación	8
1.1.5. Rango de trabajo	8
1.1.6. Linealidad	9
1.1.7. Exactitud.....	9
1.1.8. Método Analítico.....	9
1.1.9. Plan de validación.....	9
1.1.10. Precisión	9
1.1.11. Repetibilidad.....	9
1.1.12. Reproducibilidad	9
1.1.13. Robustez	9
1.1.14. Sensibilidad	10
1.1.15. Incertidumbre.....	10

1.2. Parámetros indicadores de contaminación del agua	10
1.2.1. Alteraciones Químicas del Agua	10
1.2.2. Alteraciones Físicas del Agua	11
1.3. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible.....	11
2. METODOLOGÍA	14
Determinación de DBO	15
Determinación de DQO	23
Determinación de nitritos.....	29
Determinación de sólidos totales	35
Determinación de cloruros.....	41
Determinación de dureza total	46
3. RESULTADOS.....	52
Resultado validación DBO	53
Resultado validación DQO	58
Resultado validación nitritos	64
Resultado validación sólidos totales	70
Resultado validación cloruros.....	75
Resultado validación dureza total	80
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	85
 BIBLIOGRAFÍA.....	 89
 ANEXOS	 91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Componentes de un Espectrofotómetro	13
Figura 2 Preparación de nutrientes para DBO	19
Figura 3 Preparación estándares para DBO	19
Figura 4 Colocación de la muestras, reactivos y tapado de la botella para DBO.....	19
Figura 5 Botellas de DBO en la incubadora a 20°C	20
Figura 6 Selección escala y medición DBO.....	20
Figura 7 Preparación estándares para DQO	25
Figura 8 Adición y agitación de muestra	26
Figura 9 Colocación de viales para DQO en el termoreactor.....	26
Figura 10 Lectura en el Espectrofotómetro.....	26
Figura 11 Filtros para verificación del Espectrofotómetro	30
Figura 12 Preparación de estandares para nitritos.....	31
Figura 13 Adición de muestra y reactivos para nitritos	31
Figura 14 Reacción colorimétrica de nitritos	32
Figura 15 Medición nitritos en espectrofotómetro.....	32
Figura 16 Preparación cápsulas.....	37
Figura 17 Preparación estándares para sólidos totales	37
Figura 18 Colocación muestra en cápsula.....	37
Figura 19 Análisis de la muestra.....	38
Figura 20 Preparación estándares para cloruros.....	43
Figura 21 Adición de la muestra	43
Figura 22 Adición de cromato de potasio	43
Figura 23 Titulación de una muestra de cloruros.....	44
Figura 24 Preparación estándares para dureza total	48
Figura 25 Adición de la muestra a analizar.....	48
Figura 26 Adición de reactivos necesarios para titulación de dureza total	49
Figura 27 Titulación de dureza total	49
Figura 28 Gráfico de control para DBO.....	56
Figura 29 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de DBO	57
Figura 30 Curva de calibración para DQO.....	59
Figura 31 Gráfico de control para DQO.....	62
Figura 32 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de DQO	63
Figura 33 Curva de calibración de nitritos	65
Figura 34 Gráfico de control para nitritos.....	68
Figura 35 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de nitritos	69
Figura 36 Gráfico de control para sólidos totales	73

Figura 37 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de sólidos totales	74
Figura 38 Gráfico de control para cloruros	78
Figura 39 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de cloruros.....	79
Figura 40 Gráfico de control para dureza total	83
Figura 41 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de dureza total	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Selección del volumen de muestra para DBO.....	18
Tabla 2	LDD y LDQ para DBO	53
Tabla 3	Repetibilidad para DBO	54
Tabla 4	Reproducibilidad para DBO, prueba F para varianza de dos muestras	55
Tabla 5	Reproducibilidad para DBO, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas	55
Tabla 6	Recuperación para DBO matriz agua residual	56
Tabla 7	Incertidumbre DBO.....	57
Tabla 8	Valores de DQO para la curva de calibración.....	58
Tabla 9	LDD y LDQ para DQO	59
Tabla 10	Repetibilidad para DQO.....	60
Tabla 11	Reproducibilidad para DQO, prueba F para varianza de dos muestras.....	61
Tabla 12	Reproducibilidad para DQO, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas.....	61
Tabla 13	Recuperación para DQO	62
Tabla 14	Incertidumbre para DQO.....	63
Tabla 15	Valores de nitritos para la curva de calibración	64
Tabla 16	LDD y LDQ para nitritos	65
Tabla 17	Repetibilidad para nitritos	66
Tabla 18	Reproducibilidad de nitritos, prueba F para varianza de dos muestras	67
Tabla 19	Reproducibilidad de nitritos, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas.....	67
Tabla 20	Recuperación de nitritos matriz agua residual.....	68
Tabla 21	Incertidumbre de nitritos	69
Tabla 22	LDD y LDQ para sólidos totales.....	70
Tabla 23	Repetibilidad de sólidos totales.....	71
Tabla 24	Reproducibilidad de sólidos totales, prueba F para varianza de dos muestras.....	72
Tabla 25	Reproducibilidad de sólidos totales, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas	72
Tabla 26	Recuperación de sólidos totales matriz agua natural.....	73
Tabla 27	Incertidumbre sólidos totales	74
Tabla 28	LDD y LDQ para cloruros	75
Tabla 29	Repetibilidad de cloruros	76
Tabla 30	Reproducibilidad de cloruros, prueba F para varianza de dos muestras	77

Tabla 31 Reproducibilidad de cloruros, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas.....	77
Tabla 32 Recuperación para cloruros	78
Tabla 33 Incertidumbre cloruros	79
Tabla 34 LDD y LDQ para dureza total.....	80
Tabla 35 Repetibilidad de dureza total.....	81
Tabla 36 Reproducibilidad de dureza total, prueba F para varianza de dos muestras.....	82
Tabla 37 Reproducibilidad de dureza total, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas.....	82
Tabla 38 Recuperación para dureza total	83
Tabla 39 Incertidumbre dureza total	84

RESUMEN

La metodología de esta investigación se basa principalmente en el uso de métodos estandarizados publicados en el Standard Methods 2012, para la validación se utilizó la Guía Eurachem, como referencia.

Se empleó un método colorimétrico para realizar las pruebas de DQO y nitritos, donde se usó un espectrofotómetro DR-800 de la marca HACH, así mismo para dureza total y Cloruros se recurrió a métodos volumétricos en los que el cambio de color en la muestra mostraba la culminación de la titulación, para sólidos totales se aplicó un método gravimétrico en el cual se evapora el agua presente en la muestra y por diferencia de peso se obtiene la cantidad de sólidos en la muestra, y para DQO se dispuso un método respirométrico, usando un equipo OxiTop de la marca VELP.

El proceso de validación como el desarrollo de los procedimientos analíticos, se realizaron con el fin de cumplir con los requisitos técnicos señalados en la Norma ISO/IEC: 17025 para la acreditación de los Laboratorios UTPL

ABSTRACT

The methodology of this research is mainly based on the use of standardized methods published in Standard Methods 2012, was used to validate the Eurachem Guide as reference.

A colorimetric method was used for testing COD and nitrites, which used a spectrophotometer DR-800 Hach, likewise for total hardness and chloride was resorted volumetric methods to in which color change in the sample showed the completion of the degree, for total solids was applied a gravimetric method in which water evaporates in the sample and by difference in weights is obtained the amount of solids in the sample, and to BOD were available a respirometric method, using OxiTop team VELP brand.

The validation process as the development of the analytical procedure, were performed in order to comply with the technical requirements specified in ISO / IEC: 17025 for the Accreditation of Laboratories UTPL.

INTRODUCCIÓN

En los laboratorios UTPL pertenecientes a la sección departamental de Ingeniería Ambiental de la Universidad Técnica Particular de Loja, se realiza convenios internos o externos para determinar la calidad, de aguas de consumo humano, aguas naturales y aguas residuales, para lo cual se ha implementado un sistema de calidad, que permita garantizar los resultados.

El proceso de acreditación de laboratorio conlleva la validación de métodos; de ahí surge la necesidad de validar las metodologías de: DBO₅, DQO, nitritos, sólidos totales, cloruros y dureza total, para incrementar los parámetros en el alcance.

Los métodos de análisis incluidos en el presente documento están publicados en el *Standard Methods*, por lo tanto son métodos oficiales. Sin embargo, ello no garantiza que el funcionamiento sea satisfactorio en el laboratorio, por lo que siempre que un laboratorio aplica un método, debe validarlo bajo sus condiciones ya que cualquier cambio introducido puede afectar su desempeño. Para realizar la presente investigación se utiliza sustancias de referencia certificados.

El objetivo principal de la investigación es validar los métodos antes mencionados para lo cual es menester fijar los parámetros de la validación: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, rango de trabajo, veracidad, precisión, sensibilidad, gráficos de control, incertidumbre; para ello cuenta con equipos calibrados, material calibrado y sustancias de referencia certificados que garantizan los resultados.

JUSTIFICACIÓN

En vista de que todos los parámetros que definen la calidad, no están acreditados, surge la necesidad de desarrollar esta investigación.

La validación de métodos analíticos se enmarca en las buenas prácticas de laboratorio que buscan garantizar los resultados mediante un control exhaustivo de los procedimientos, equipos, métodos, registros, control e instalaciones.

En la validación se asegura la calidad y validez de los resultados obtenidos en los ensayos, teniendo en cuenta la matriz con la que se trabaja, el equipo y el aseguramiento de la calidad que se utiliza.

Según las necesidades del laboratorio los métodos a validarse son: DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno), DQO (Demanda Química de Oxígeno), nitritos, sólidos totales, dureza total y cloruros, para la validación de estos ensayos se utilizará métodos estandarizados publicados en el Standard Methods edición 22 de 2012.

Para la validación de estos métodos hay que adaptarlos a las condiciones, equipos y personal de los laboratorios UTPL perteneciente a la Sección Departamental de Ingeniería Ambiental.

FIN DEL PROYECTO

Validación de métodos físico-químicos para DBO, DQO, Sólidos Totales, Nitritos, Cloruros y Dureza Total, en los laboratorios UTPL de la sección Departamental de Ingeniería Ambiental en las matrices de agua potable, agua natural y agua residual.

PROPÓSITO DEL PROYECTO

Garantizar los resultados obtenidos para los ensayos de DBO, DQO, sólidos totales, nitritos, cloruros y dureza total en las matrices antes mencionadas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Validar los métodos para determinar los parámetros físico-químicos de DBO, DQO, Nitritos, Sólidos Totales, Dureza Total y Cloruros en aguas naturales, agua potable y agua residual con el fin de garantizar los resultados obtenidos por el laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fijar los parámetros de la validación: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango de trabajo, veracidad, precisión, sensibilidad, gráficos de control, e incertidumbre.
- Realizar la validación para cada método propuesto en las matrices objeto de ensayo.

ANTECEDENTES

1. Algunos laboratorios de análisis de aguas de diferentes universidades y países, realizan validaciones con el fin de adecuar los métodos a las condiciones de sus laboratorios.
Para la validación de DBO se utilizó el Equipo OxiTop fabricado por VELP SCIENTIFICA utilizando el método respirométrico, previamente en la “Universidad Tecnológica de Pereira” se realizó una validación de DBO₅ por el mismo método y comprándolo por el método WinKler, pero notifica que no se hallaron valores reproducibles, luego con la información de Standard Methods realizaron varios ensayos sin conseguir datos reproducibles.
Finalmente al recolectar toda la información obtenida durante el proceso y hacer una revisión documental más detallada se pudieron establecer las condiciones óptimas de análisis.[1]
2. En la Universidad Tecnológica de Pereira se validó DQO con referencia al Standard Methods mediante un método calorimétrico, obteniendo dos rangos de trabajo el primero de 0 a 300 mg/l y el segundo de 300 a 1600 mg/l, de tal manera que obtienen en los dos casos anteriores coeficientes de correlación mayores a 0.995, que indica linealidad del parámetro en el rango propuesto[1]. Para realizar esta validación en este parámetro se utilizó el espectrofotómetro DR-800 HACH.
3. En cuanto a sólidos totales hay un estudio realizado en el que utilizan un horno de microondas.[2] El método de microondas es el mismo que del Standard Methods, sólo que se reemplaza la estufa por el horno microondas y menor tiempo de secado.[3] Dando como resultado que al utilizar un horno microondas y compararlo con el de una estufa los datos obtenidos son similares según la prueba de hipótesis en el análisis de varianza. Además es un proceso que economiza tiempo y costos.[2]
4. En nitritos se realizó una validación en la UTPL, en este caso utilizaron un espectrofotómetro THERMO – SPECTRONIC, modelo HELIOS BETA , obteniendo un rango de trabajo de 0,06 a 1,7 mg/l.[4]
5. En lo concerniente a dureza total la validación utiliza un método volumétrico y la metodología del Standard Methods.[3]
Hasta el momento en cloruros no se ha encontrado validaciones pero se utilizará el procedimiento del Standard Methods. [3]

6. Si bien el laboratorio está acreditado, los parámetros objeto de estudios no están en el alcance, y para la validación se utilizará los métodos publicados en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.*

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Validación de Métodos Analíticos

- 1.1.1. Validación:** Confirmación que se da por la recopilación de análisis de la evidencia objetiva que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico propuesto.[5, 6]:
- 1.1.2. Validación de un procedimiento analítico:** Procedimiento para establecer por medio de estudios laboratoriales una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas[6]. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no sólo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.[7]
- 1.1.3. Límite de detección:** Cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito.[7]
- 1.1.4. Límite de cuantificación:** Cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en las matrices.[7, 8]
- 1.1.5. Rango de trabajo:** Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. En el extremo inferior del intervalo de concentración, el factor limitante para cualquier caso, es el valor del límite de cuantificación.[7] Para los casos donde los resultados están en función de absorbancia y concentración, se interpreta la linealidad como la capacidad del método para obtener resultados de los análisis proporcionales a la concentración del analito. El rango de trabajo es, entonces, el rango de concentraciones en el cual el método da resultados proporcionales a la concentración. El extremo superior de este rango de concentración, es el valor hasta donde llega la respuesta lineal de la ecuación de regresión. Si los resultados están dados sólo en valores de concentración, no se genera linealidad, puesto que los resultados están en función de una sola variable. Por consiguiente, el extremo superior del rango de trabajo será el valor del estándar de mayor concentración del analito. [9]

- 1.1.6. Linealidad:** Habilidad del procedimiento analítico de obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra.[7]
- 1.1.7. Exactitud:** Expresa la cercanía entre el valor aceptado, sea como un valor convencional verdadero (material de referencia), sea como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o estándar de una farmacopea) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces.[7]
- 1.1.8. Método Analítico:** Adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado.[7]
- 1.1.9. Plan de validación:** Documento tipo protocolo en el cual se definen las pruebas o parámetros de validación necesarios y el diseño experimental a desarrollar en base a los requerimientos del método.[5]
- 1.1.10. Precisión:** Expresa la cercanía de coincidencia entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas. Puede considerarse a tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.[6]
Debe determinarse utilizando muestras originales y homogéneas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea puede ser determinada usando muestras preparadas o una disolución de la muestra.[6, 7]
- 1.1.11. Repetibilidad:** Precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.[7]
- 1.1.12. Reproducibilidad:** Expresa la precisión entre laboratorios o entre analistas como resultado de estudios interlaboratorios diseñados para estandarizar la metodología.[7]
- 1.1.13. Robustez:** Medida de la capacidad de un procedimiento analítico de permanecer inafectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y provee una indicación de su fiabilidad en condiciones de uso normales.[5, 7]

1.1.14. Sensibilidad: Es la capacidad para discriminar pequeñas diferencias en la concentración del analito. Dos factores limitan la sensibilidad: la pendiente de la curva de calibración y la precisión.[5, 8]

1.1.15. Incertidumbre: Es el parámetro asociado al resultado, es decir caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden ser atribuidos al mesurando. En este sentido, es importante que para un método validado por el laboratorio, se realice la determinación de las diferentes fuentes o componentes de la incertidumbre de la medición presentes.[5]

1.2. Parámetros indicadores de contaminación del agua

La contaminación del agua consiste en una modificación, generalmente provocada por el hombre de la calidad del agua, haciéndola impropia y peligrosa para el consumo humano, la industria, la agricultura, y la vida natural.[10]

1.2.1. Alteraciones Químicas del Agua

DBO: (Demanda Bioquímica de Oxígeno) DBO_5 es la cantidad de oxígeno disuelto requerido por los microorganismos para la oxidación aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Se mide a los cinco días. Su valor da idea de la calidad del agua desde el punto de vista de la materia orgánica presente y permite suponer cuanto oxígeno será necesario para la depuración de esas aguas e ir comprobando cual está siendo la eficacia del tratamiento depurador en una planta.[11]

DQO: (Demanda Química de Oxígeno) Es la cantidad de oxígeno que se necesita para oxidar los materiales contenidos en el agua con un oxidante químico (normalmente dicromato potásico en medio ácido). En la mayoría de los casos, guarda una buena relación con la DBO por lo que es de gran utilidad al no necesitar los cinco días de la DBO. Sin embargo la DQO no diferencia entre materia biodegradable y el resto y no suministra información sobre la velocidad de degradación en condiciones naturales.[11]

Nitrito: Los nitritos provienen de una oxidación incompleta del amoníaco, o de una reducción de los nitratos que pueden estar presentes en el agua.[12]

Es un estado intermedio de la oxidación del nitrógeno lo cual indica actividad bacteriológica.[3, 11]

Cloruros: Es uno de los aniones inorgánicos principales en el agua natural y residual. En el agua potable, el sabor salado producido por el cloruro, es variable y depende de la composición química del agua.[3]

Dureza Total: Es una propiedad debida a la presencia de iones metálicos polivalentes capaces de reaccionar con el jabón y formar precipitados, los elementos que principalmente constituyen la dureza son iones de calcio y magnesio. La dureza es indeseable en algunos procesos tales como: el lavado doméstico e industrial, provocando que se consuma más jabón, al producirse sales insolubles. En calderas y sistemas enfriados por agua, se producen incrustaciones en las tuberías y una pérdida en la eficiencia de la transferencia de calor, además da un sabor indeseable al agua. [3, 12]

1.2.2. Alteraciones Físicas del Agua

Sólidos Totales: Son los materiales suspendidos o disueltos en aguas limpias y aguas residuales, Los sólidos afectan negativamente la calidad del agua. Los sólidos totales es la expresión que se aplica a los residuos de material que queda en un recipiente después de evaporación de la muestra a 105°C.[3]

1.3. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

Utiliza la radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) de espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde la región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas. Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. [13]

En laboratorios de química y bioquímica son utilizados para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, como las trazas de metales en cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo.[13]

Espectrofotómetro HACH: Es un Instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que

contiene una cantidad conocida de la misma sustancia. Las sustancias pueden absorber energía radiante. La absorción de las radiaciones UV, visibles e IR depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. EL color de las sustancias se debe a que absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas. Los componentes de un espectrofotómetro son los siguientes:[14]

Fuente de luz: Ilumina la muestra, debe cumplir con las siguientes condiciones: estabilidad, direccionalidad, distribución de energía espectral continua y larga vida.

Las fuentes empleadas son: lámpara de wolframio (también llamado tungsteno), lámpara de arco de xenón y lámpara de deuterio que es utilizada en los laboratorios atómicos.[13, 14]

Monocromador: Aísla las radiaciones de longitud de onda deseada que inciden o se reflejan desde el conjunto, se usa para obtener luz monocromática. Está constituido por las rendijas de entrada y salida, colimadores y el elemento de dispersión. El colimador se ubica entre la rendija de entrada y salida. Es un lente que lleva el haz de luz que entra con una determinada longitud de onda hacia un prisma el cual separa todas las longitudes de onda de ese haz y la longitud deseada se dirige hacia otra lente que direcciona ese haz hacia la rendija de salida.[13]

Compartimiento de Muestra: Es donde tiene lugar la interacción, Resonancia Electromagnética (R.E.M) con la materia (debe producirse donde no haya absorción ni dispersión de las longitudes de onda). Es importante destacar, que durante este proceso, se aplica la ley de Lambert-Beer en su máxima expresión, con base en sus leyes de absorción, en lo que concierne al paso de la molécula de fundamental-excitado. [14]

Detector: Mide la intensidad de la luz y amplifica la señal. El detector es un fotomultiplicador que produce una corriente eléctrica dependiente de la intensidad de la luz incidente. La corriente eléctrica del fotomultiplicador es procesada por la electrónica del elemento; se produce una señal que es una medida de la atenuación de la luz en la celda de muestreo. [13]

Registrador: Convierte el fenómeno físico, en números proporcionales al analito en cuestión. [13]

Fotodetectores: En los instrumentos modernos se encuentra una serie de 16 fotodetectores para percibir la señal en forma simultánea en 16 longitudes de onda,

cubriendo el espectro visible. Esto reduce el tiempo de medida, y minimiza las partes móviles del equipo.[14]

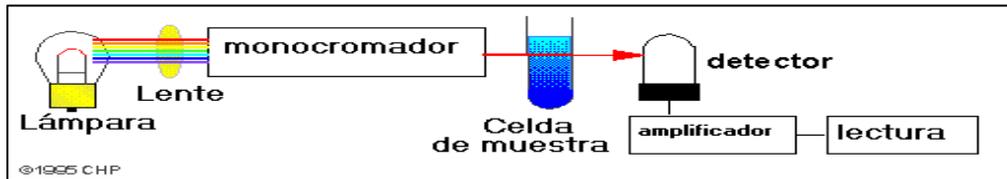


Figura 1 Componentes de un Espectrofotómetro

Fuente: Disponible en: Partes del espectrofotómetro Uv-Vis. < <http://arturobola.tripod.com/spectro/xxx.htm>>

2. METODOLOGÍA

DETERMINACIÓN DE DBO

1. Alcance

El método es aplicable a análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales, así como también a aguas residuales. Este método es apropiado para determinar la cantidad de DBO en las matrices propuestas.

2. Descripción del tipo de ítem

La muestra es agua.

3. Principio

La prueba analítica de la DBO estima la cantidad de oxígeno que se requiere para degradar la materia orgánica de una muestra de agua, por medio de una población microbiana heterogénea.[1] Expresa el grado de contaminación de un agua residual por materia orgánica degradable por oxidación biológica.[15]

El agua residual contiene una cierta flora bacteriana, que tras un tiempo de incubación, actúa degradando la materia orgánica contenida en el agua residual. Si cierta cantidad del agua a analizar se introduce en un recipiente, y éste se cierra herméticamente, se crea un sistema que contiene el agua a analizar, con su flora bacteriana y aire, el cual contiene un 21% de oxígeno. En un tiempo determinado, los microorganismos consumen todo o parte del oxígeno contenido en el sistema al degradar la materia orgánica, liberando una cierta cantidad de anhídrido carbónico gaseoso. Suponiendo que se inhibe la nitrificación y que se retira del sistema el CO₂ gaseoso producido, la depresión que se registra en el sistema se deberá exclusivamente al descenso de la presión parcial del oxígeno, como consecuencia del consumo de oxígeno en la oxidación biológica de la materia orgánica.[15]

Los métodos respirométricos proporcionan una medida directa del oxígeno consumido por los microorganismos de un entorno de aire o enriquecida con oxígeno en un recipiente cerrado en condiciones de temperatura y agitación constantes.[3]

4. Plan de validación

Se tomará como base de validación la generación de muestras con adición de analitos (concentración esperada).

Se analizó 4 niveles de concentración 42, 84, 105 y 210 mg/l, logrando obtener por cada concentración 25 repeticiones. Se logra hacer 2 repeticiones de los 4 niveles por semana. En la siguiente semana se preparan nuevas concentraciones ya que el estándar de DBO es estable sólo por un día. En cada ensayo se prepara un blanco y una recuperación de cualquier nivel con el fin de comprobar el método. De esta manera se ocupaba el set completo del OxiTop. Como este ensayo tiene un tiempo de duración de 5 días la validación se la realizó en 5 meses.

Cabe resaltar que se utilizó el método de la dilución ya que en la mayoría de bibliografía consultada es el método que proporciona mejores resultados.[15]

Contemplándose: Límite de detección y límite de cuantificación, recuperación, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C

Humedad Relativa: 45-75 %

6. Medidas de seguridad

Utilizar implementos de seguridad como guantes, gafas, mascarilla y mandil, para la inoculación de microorganismos.

7. Equipos y materiales

a) OxiTop: VELP SCINETIFICA. Sistema que cuenta con equipo de agitación de 10 plazas, botellas de DBO, varillas de agitación, Sensores de DBO y elementos para absorción alcalina

- Equipo de Agitación: 230V/50 Hz o 60 Hz o 115V/60Hz, potencia 2W, velocidad de agitación 60 rpm.
- Botellas DBO: Botella de vidrio topacio de 500ml.
- Sensores DBO: Sonda de presión electrónica, fuente de alimentación de 2 baterías de litio (250mAh) type CR2430.
- Elementos para absorción alcalina: Para colocar pastillas de KOH para la absorción de dióxido de carbono.

b) Incubadora LAB-LINE: Ambi-Hi-Low. Chamber N° 3550. 120V, 4,5Amp, 60Hz

- c) Probetas: 1 probeta de 50ml, 1 probeta de 100ml y una probeta de 500ml limpias y en perfecto estado.
- d) Pipetas: Pipetas de 10ml y de 5ml calibradas, limpias y en perfecto estado.
- e) Vasos de precipitación: Limpios y en perfecto estado
- f) Balones de aforo: Balones de aforo de 1000ml y balones de 2000ml, calibrados, limpios y en perfecto estado.

8. Reactivos, patrones de referencia y material de referencia

Reactivo	Fórmula	Código de laboratorio	Numero de catálogo	Marca	Proveedor sugerido
Patrón DBO	NA	LUTPL-MR-SSDBO-019	1.00718.0001	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Hidróxido de Potasio	KOH	LUTPL-KOH-0026	1.05033.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Hidróxido de Sodio	NaOH	LUTPL-NaOH-0018	30620	Riedel-de Haën	ESPECTROCROM
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	IQA-PRY-RM-00023	30743	SIGMA	ESPECTROCROM
Cloruro de Hierro Hexahidratado	FeCl ₃ ·6H ₂ O	LUTPL-FeCl ₃ -0020	1.03943.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Cloruro de Calcio Dihidratado	CaCl ₂ ·2H ₂ O	LUTPL-CaCl ₂ -0009	1.02382.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Sulfato de Magnesio Heptahidratado	MgSO ₄ ·7H ₂ O	LUTPL-MgSO ₄ -0022	1.05886.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Fosfato de potasio Monobásico	KH ₂ PO ₄	LUTPL-KH ₂ PO ₄ -0027	1.04873.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Fosfato di-sódico	Na ₂ HPO ₄	LUTPL-K ₂ HPO ₄ -0056	1.06586.0500	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Fosfato di-Potásico	K ₂ HPO ₄	LUTPL-Na ₂ HPO ₄ -0057	1.05104.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Cloruro de Amonio	NH ₄ Cl	LUTPL-NH ₄ CL-0005	1.01145.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Sulfito Sódico	Na ₂ SO ₃	LUTPL-Na ₂ SO ₃ -0033	1.06657.0500	MERCK	AUSTROQUÍMICOS

NA= No Aplica

Solución A: Pesar 0,25g de Cloruro Férrico Hexahidratado (FeCl₃·6 H₂O) en 1L de agua destilada.

Solución B: Pesar 36,43g de Cloruro de Calcio Dihidratado (CaCl₂·2 H₂O) en 1L de agua destilada.

Solución C: Pesar 22,5g de Sulfato de Magnesio Heptahidratado (MgSO₄·7 H₂O) en 1L de agua destilada.

Solución D: (Tampón) Pesar 8,5g de Fosfato Potásico Monobásico (KH₂PO₄), 17,69g de Fosfato Di-Sódico (Na₂HPO₄), 21,7g de Fosfato Di-Potásico (K₂HPO₄), 1,7 g de Cloruro de Amónico (NH₄Cl) en 1L de agua destilada

Preparación de agua de dilución: Por cada litro de agua destilada se le adicionaran 1ml de las soluciones A, B, C y D.

Solución de hidróxido de sodio 1 N: Disolver 4g de NaOH en agua destilada y aforar a 100 ml.

Solución de Ácido Sulfúrico 1 N: Disolver 2,8 ml de H₂SO₄ en agua destilada y aforar a 100 ml.

9. Determinación

a) Almacenamiento de la muestra: La muestra debe analizarse inmediatamente después de recolectarla, o enfriándola durante su almacenamiento. Si se va iniciar el análisis en un plazo de 2 horas a partir de la toma de muestra el enfriamiento no es necesario, pero si no se va a iniciar en dicho plazo, consérvese la muestra 4 - 7 °C desde el momento de la recogida de la muestra. En ningún caso se inicie el análisis después de 24 horas del muestreo.[3]

b) Preparación: Comprobar que el pH de la muestra esté en un intervalo de 6 a 8, si es necesario ajustar con solución de hidróxido de sodio o con ácido sulfúrico.[3]

Si la muestra va a ser diluida, preparar agua de dilución. [3]

c) Selección de escalas del Manómetro: El equipo mide valores comprendidos entre 90-250-600-1000 ppm respectivamente. Las escalas dan directamente el valor de oxígeno consumido en mg O₂/L, después de un tiempo del período establecido.

Colocar el volumen de muestra de acuerdo a la escala presente en los cabezales de OxiTop mostrada en la Tabla 1.

Tabla 1 Selección del volumen de muestra para DBO

Escala	Volumen de Muestra
1000 mg/l	100 ml
600 mg/l	150 ml
250 mg/l	250 ml
90 mg/l	400 ml

Fuente: VELP SCIENTIFICA. Sistema D.B.O

d) Inicio del Ciclo de Medición: Colocar dentro de las botellas el volumen de muestra de acuerdo a la escala elegida, medido con una probeta. Introducir un agitador magnético en cada botella. Llenar los depósitos de álcalis con KOH (absorbente de dióxido de carbono).

Colocar las botellas en su posición dentro del equipo. Introducir el equipo de OxiTop en una incubadora a 20°C para la medición de la DBO. Coloque los sensores en cada

botella, resetee cada sensor para eliminar cualquier valor almacenado, seleccione la escala e inicie el ciclo de medición.

- e) Incubación: Incubar los frascos con las muestras preparadas durante 5 días a $20 \pm 1^\circ\text{C}$.
- f) Determinación de DBO: Los valores obtenidos por los sensores proporcionan directamente la medida de DBO.
- g) Figuras Explicativas:



Figura 2 Preparación de nutrientes para DBO

Fuente: El Autor



Figura 3 Preparación estándares para DBO

Fuente: El Autor



Figura 4 Colocación de las muestras, reactivos y tapado de la botella para DBO

Fuente: El Autor



Figura 5 Botellas de DBO en la incubadora a 20°C
Fuente: El Autor

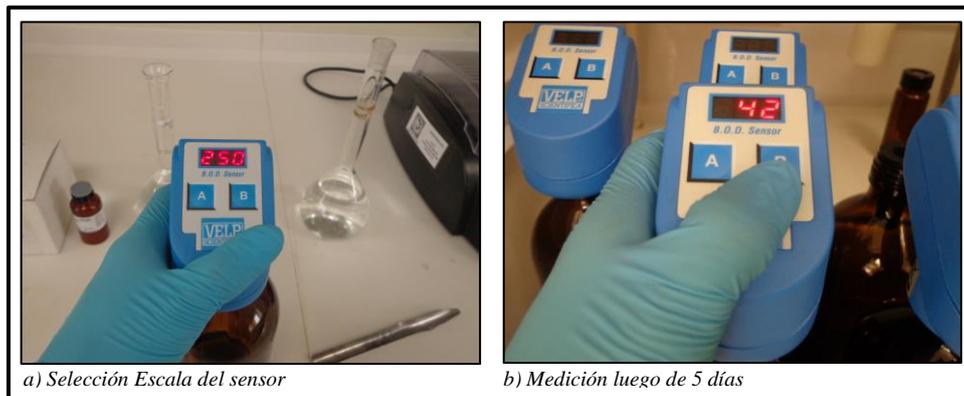
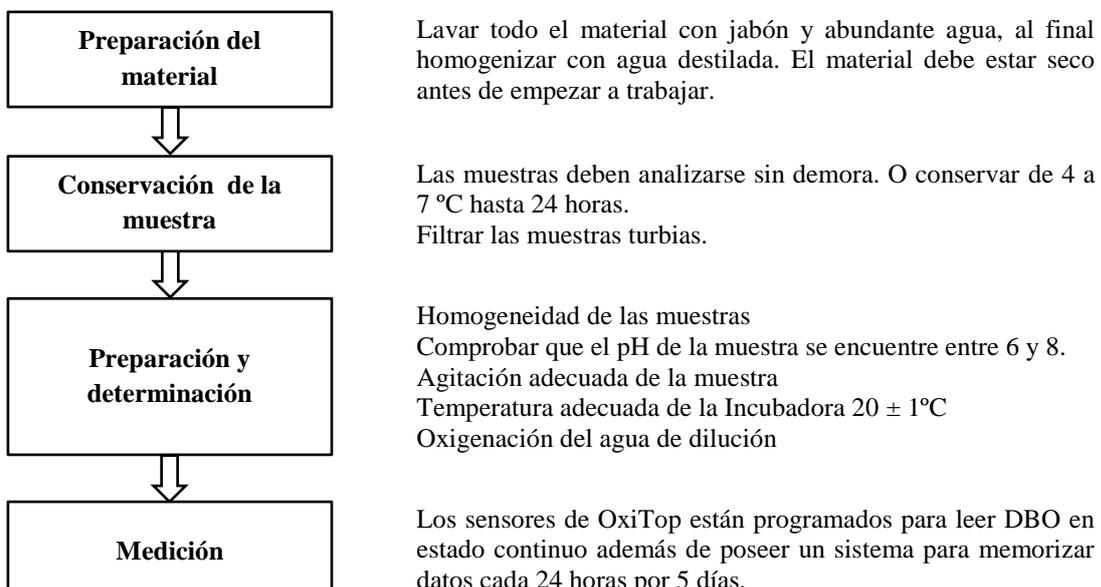


Figura 6 Selección escala y medición DBO
Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

Los residuos generados se almacenan en recipientes etiquetados, para posteriormente ser eliminados por INCINEROX (Empresa Gestora de Residuos).

12. Cálculos

Lectura obtenida directamente del equipo OxiTop en mg/l de O₂.

13. Autocontrol y aseguramiento de calidad

Se realiza la recuperación a partir de una solución madre de 1050 mg de O₂/L, añadiendo 50 ml de la solución madre y aforándola en un balón de 250 ml con agua muestra. Se procede hacer la lectura como una muestra normal. También se hace la lectura del agua muestra. Se realiza el siguiente cálculo.

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

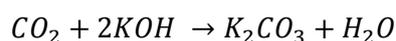
A= Concentración de la muestra enriquecida con solución madre en mg de O₂/l.

B= Concentración de la muestra en mg de O₂/l.

C= Concentración del solución preparada en mg de O₂/l.

Interferencias

EL DBO system es inestable al cambio de temperatura en la incubadora, debido que es un sistema en el que se trabaja con el cambio de presión, que produce la siguiente reacción



el CO₂ es producido por microorganismos que consumen la materia orgánica y oxígeno disuelto presente en la muestra, al estar en agitación el O₂ presente en los frascos se disuelve en el agua y el CO₂ disuelto pasa al ambiente del frasco herméticamente cerrado y reacciona con el KOH que se encuentra en los depósitos de álcalis. Esto produce un descenso de presión los cuales son leídos e interpretados por los sensores de DBO. Cualquier cambio de temperatura externa perturba la presión dentro del frasco y puede aumentar y disminuir la lectura, por eso se recomienda que la temperatura se encuentre estable en 20 ±1°C.[3, 16]

La determinación ser afectada por sustancia que son tóxicas para los microorganismos, como: Metales (cromo y cobre), halógenos libres y bactericidas, peróxidos y reductores; sulfitos y Fe²⁺. [3]

14. Criterios de aceptación y rechazo

Para la recuperación se utiliza sustancias de referencia, sus valores deben estar dentro de los límites establecidos en las cartas control respectivas (Ver anexo VIII). Recuperación comprendida entre 94 – 106%.

15. Expresión de resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas

Ejemplo: 111; 11.1; 1.11; 0,111

Unidades(mg O2/l)	Decimales
0- 90	1
0 – 1000	Sin decimales

16. Incertidumbre

En el siguiente cuadro se presenta la incertidumbre del método, la cual ha sido calculado por niveles de concentración.

Concentración (mg/l)	U expandida mg/l
13 – 41	2,86
42 – 83	9,282
84 – 104	18,045
105 – 209	22,745
210	45,982

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 5210 D. Respirometric Method 2012, Edition 22.

DETERMINACIÓN DE DQO

1. Alcance

El método es aplicable a análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales, así como también a aguas residuales. Este método es apropiado para determinar la cantidad de DQO en las matrices propuestas.

2. Descripción del tipo ítem

La muestra es agua

3. Principio

La Demanda Química de Oxígeno se expresa en miligramos de Oxígeno/litro, es la cantidad de oxígeno consumido por las materias existentes en el agua, que son oxidables en condiciones operatorias definidas. La medida corresponde a una estimación de las materias oxidables presentes en el agua, ya sea su origen orgánico o inorgánico.[15]

En condiciones definidas, ciertas materias contenidas en el agua se oxidan con un exceso de dicromato potásico, en medio ácido y en presencia de sulfato de plata y de sulfato de mercurio. El exceso de dicromato potásico se valora con sulfato de hierro y amonio.[3, 15]

4. Plan de validación

Se tomará como base de validación la generación de muestras con adición de analitos (concentración esperada).

Se analizó 6 niveles de concentraciones 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 mg/l, logrando obtener por cada nivel 25 repeticiones. Se realiza la lectura de 2 repeticiones en cada concentración por día, durante la primera semana, realizando el método 3 veces por semana, se ejecuta el mismo procedimiento, hasta completar las 25 repeticiones por cada nivel.

Realizándose la lectura de todas las concentraciones en 3 semanas. Se hace correr un blanco cada vez que se realiza el método.

Contemplándose: Límite de detección y límite de cuantificación, linealidad, recuperación, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C.

Humedad Relativa: 45-75 %.

6. Medidas de seguridad

Tener cuidado al momento de colocar la muestra en los viales de DQO ya que al reaccionar se calientan, utilizar los implementos de seguridad como guantes, mascarilla, gafas y mandil.

7. Equipos y materiales

- Espectrofotómetro: HACH, modelo DR-2800, frecuencia 50-60 Hz, voltaje 15 v, se recomienda dejar encendido 15 minutos para su estabilización.
- Reactor Químico: HACH, modelo DRB-200, rango de 37 – 165 °C, frecuencia de 50/60 Hz, voltaje 100-240 V.
- Balanza: Sartorius, modelo TE 214S, frecuencia de 40 -60 Hz, rango de 0-210g, voltaje de 110V, calibrada y limpia.
- Estufa: Memmert, modelo EFE 600, frecuencia de 50- 60 Hz, rango de 21,3 – 200, voltaje 110 V, limpia y en buen estado.
- Varillas indicadoras universales de pH: En perfecto estado
- Pipetas: Pipetas de 2 ml, 5ml y 10 ml calibrados, limpias, secas y en buen estado.
- Balones de aforo: Balones de aforo de 25, 50, 100 y 200 ml calibrados limpios y en buen estado

8. Reactivos, patrones de referencia, material de referencia

Reactivo	Fórmula	Código de laboratorio	Número de catálogo	Marca	Proveedor sugerido
Test de cubetas DQO	NA	LUTPL-DQO(20-1500)mg/l-0054	21259-25	HACH	HDM
Estándar DQO 1000 mg/l	NA	LUTPL-MR-SSDQO(1000 mg/l)-0021	12186-29	HACH	HDM
Estándar DQO 300 mg/l	NA	LUTPL-MR-SSDQO(300 mg/l)-0020	22539-29	HACH	HDM
Ftalato Acido de Potasio	C ₈ H ₅ O ₄ K	LUTPI-KHC ₈ H ₄ O ₄ -0016	39496LJ	SIGMA-ALDRICH	ESPECTROCROM

NA= No Aplica

Preparación de solución patrón de Ftalato Ácido de Potasio: Disolver 0,424g de Ftalato Ácido de Potasio con agua destilada en un balón de aforo de 1000ml, y aforarlo.

9. Determinación

- a) Tratamiento de la muestra: La muestra debe analizarse el mismo día de su recolección; si no es posible, almacenar la muestra en un ambiente oscuro a 4 - 7°C hasta 24 horas máximo.
- b) Procedimiento operativo:
- Agitar y homogenizar la muestra
 - Pipetear 2 ml de muestra y añadir sobre la pared interna de los tubos test. De DQO.
 - Cerrar firmemente los tubos de DQO
 - Agitar vigorosamente los tubos de DQO, tener cuidado ya que se calienta.
 - Introducir los tubos de DQO en el Termoreactor precalentado a 150°C, programar a una temperatura de 150°C durante 2 horas. Pasado este tiempo sacar los tubos de DQO, colocarlos en una gradilla para tubos de ensayo para que se enfríen hasta temperatura ambiente.
 - Encender el espectrofotómetro DR-2800.
 - Seleccionar “programas almacenados”
 - Seleccionar programa 435
 - Limpiar el exterior de los tubos de DQO, realizar la lectura en el espectrofotómetro DR-2800.

Nota: El procedimiento es tomado del manual del espectrofotómetro DR-2800

- c) Figuras explicativas:



Figura 7 Preparación estándares para DQO
Fuente: El Autor

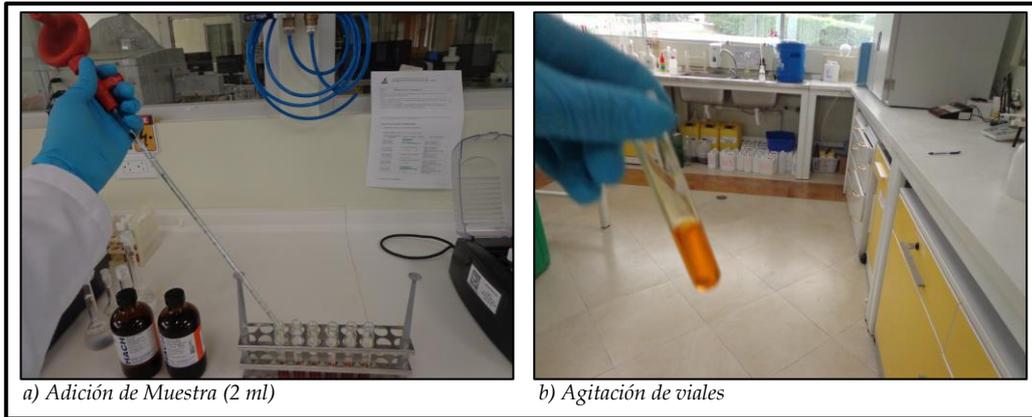


Figura 8 Adición y agitación de muestra

Fuente: El Autor

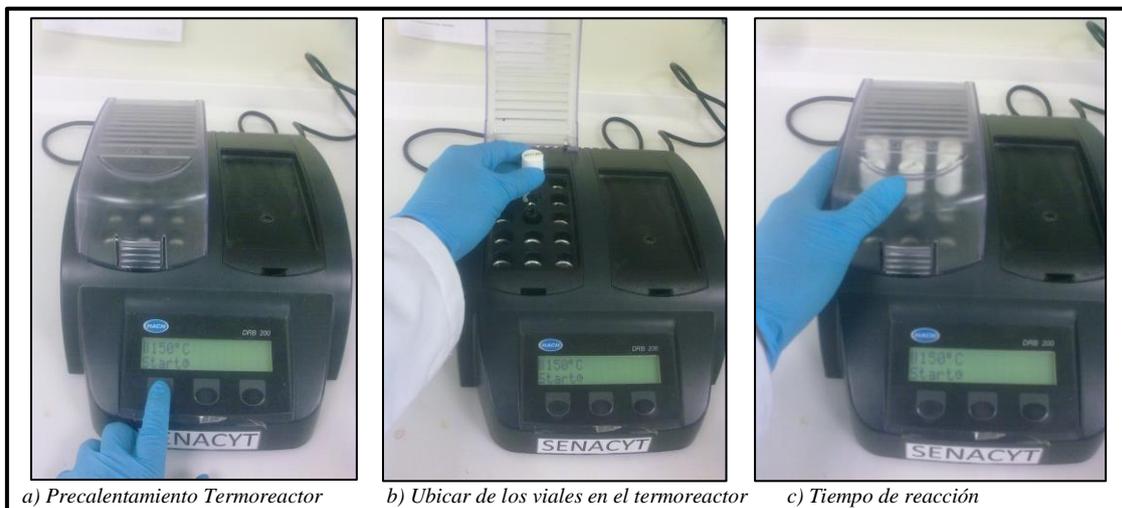


Figura 9 Colocación de viales para DQO en el termoreactor

Fuente: El Autor

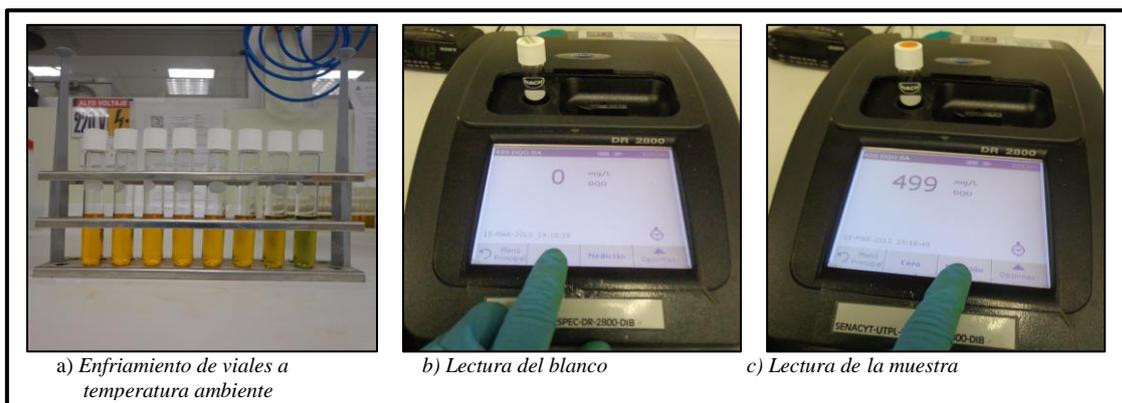
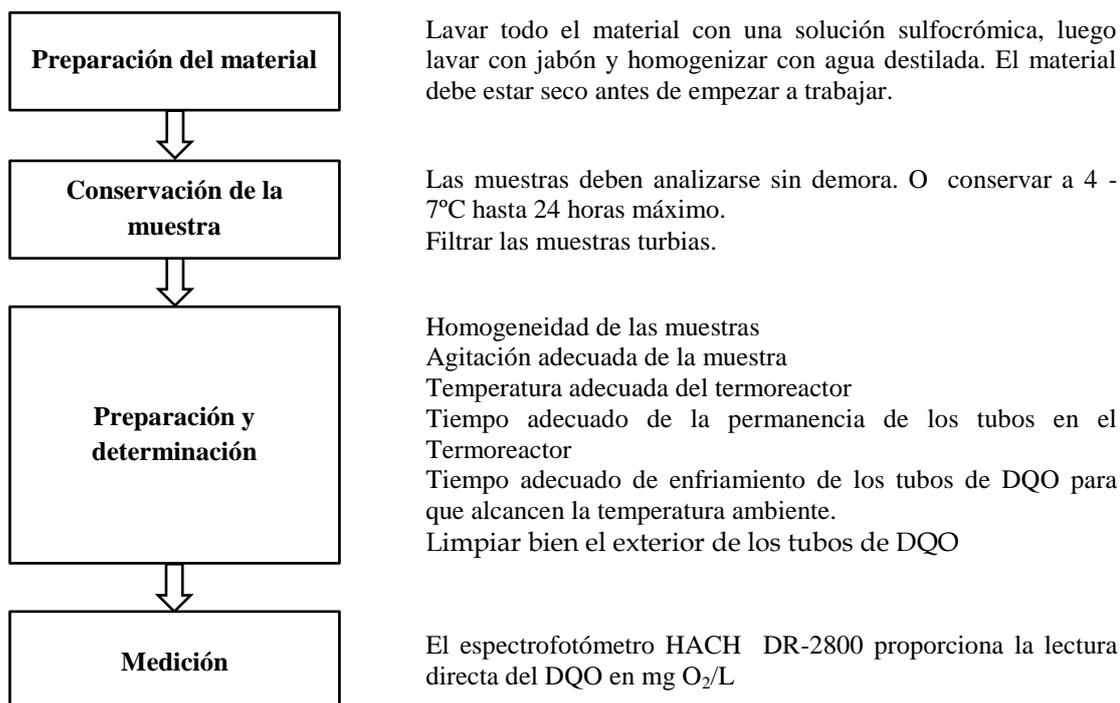


Figura 10 Lectura en el Espectrofotómetro

Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

Los residuos generalmente se almacenan en recipientes etiquetados, para ser posteriormente eliminados por INCINEROX (Empresa Gestora de Residuos).

12. Cálculos

Lectura directa en mg/l de O₂.

13. Autocontrol y aseguramiento de calidad

Se realiza la recuperación a partir del estándar de 300 mg de O₂/L, añadiendo 10 ml de la solución madre y aforándola en un balón de 50 ml con agua muestra. Se procede hacer la lectura como una muestra normal. También se hace la lectura del agua muestra. Se realiza el siguiente cálculo.

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

A= Concentración de la muestra enriquecida con solución madre en mg de O₂/l.

B= Concentración de la muestra en mg de O₂/l.

C= Concentración del solución preparada en mg de O₂/l.

Interferencias

La determinación no tiene interferencias por las concentraciones de las sustancias extrañas indicadas en la siguiente tabla.

Concentración de sustancias extrañas en mg/l o en %								
Cl ⁻	Ce ³⁺	CrO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	SO ₃ ²⁻	H ₂ O ₂	NaNO ₃	Na ₂ SO ₄	Na ₃ PO ₄
2000	25	50	50	25	50	10%	10%	10%

Fuente: Standard Methods, twelfth edition, 2012

14. Criterios de aceptación y rechazo

Para el material de referencia sus valores deben estar dentro de los límites establecidos en las cartas control respectivas (Ver anexo VIII). Recuperación comprendida entre 94 – 106%

15. Expresión de resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas

Ejemplo: 11,1 ; 1.11; 0,111; 1,11x10³

16. Incertidumbre

Concentración (mg/l)	U expandida
10 – 19	1,531
20 – 49	1,689
50 – 99	4,306
100 – 199	7,244
200 – 499	13,036
500 – 999	16,092
1000	38,693

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 5220 D Closed Reflux, calorimetric Method 2012, Edition 22

DETERMINACIÓN DE NITRITOS

1. Alcance

El método es aplicable para análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales así como también aguas residuales. Este método es apropiado para determinar nitritos en las matrices propuestas.

2. Descripción del tipo ítem

La muestra es agua

3. Principio

El nitrito (NO_2^-) se determina por la formación de un colorante purpura rojizo, producido a pH de 2 a 2,5 por acoplamiento de sulfanilamina diazotizada con diclorhidrato N- (1-naftil)-etilendiamina (diclorhidrato de NED).[3]

4. Plan de validación

Se tomará como base de validación la generación de muestras con adición de analitos (concentración esperada).

Se analizará 5 niveles de concentración 0,05 – 0,1 – 0,3 – 0,5 – 0,8 mg/l obteniendo por cada concentración 25 repeticiones. Se hará la lectura de 5 repeticiones por 3 niveles de lectura cada día en la primera semana, en la segunda semana se lee los siguientes tres niveles de concentración.

Contemplándose: Límite de detección y límite de cuantificación, linealidad, recuperación, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C

Humedad Relativa: 45-75 %

6. Medidas de seguridad

Usar los implementos de seguridad como guantes, gafas, mascarilla y mandil.

7. Equipos y materiales

a. Espectrofotómetro.- HACH; modelo DR 2800, frecuencia 50-60 Hz, voltaje 15 v, se recomienda dejar encendido 15 minutos para su estabilización.

- b. Balones de aforo.- Se utilizó un balón de 100ml y balones de 250 ml calibrados.
- c. Pipetas.- Se utilizaron pipetas de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25ml calibradas, limpias y en perfecto estado.
- d. Celdas de vidrio de 25 ml.- Se utilizaron celdas para el espectrofotómetro HACH DR 2800 limpias y en perfecto estado.

8. Reactivos

Reactivo	Fórmula	Código de Laboratorio	Numero de catalogo	Marca	Proveedor
Nitriver 3	NA	LUTPL-Nitriver3-0041	14065-99	HACH	HDM
Solución Patrón de Nitrito	NO ₂ ⁻	LUTPL-MR-NO2-015	1.19899.0500	Merck	AUSTROQUÍMICOS

NA>No aplica

9. Determinación

- a) Tratamiento de la muestra.- Las muestras deben analizarse inmediatamente después del muestreo; caso contrario consérvese a 4 -7°C hasta 24 horas. Filtrar las muestras turbias.
- b) Preparación de estándares.- Se prepara un estándar 10 ppm a partir del estándar madre de 1000 ppm, del estándar de 10 ppm se hacen concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8 mg de NO₂⁻ /L, tomando alícuotas de 1.25, 2.5, 5, 7.5, 12,5 y 20 ml del estándar de 10 ppm, a cada uno se lo afora hasta un volumen de 250 ml.
- c) Verificación del espectrofotómetro.- La verificación del espectrofotómetro se realiza mediante filtros que tienen establecidos valores de absorbancia.



Figura 11 Filtros para verificación del Espectrofotómetro
Fuente: El Autor

d) Procedimiento

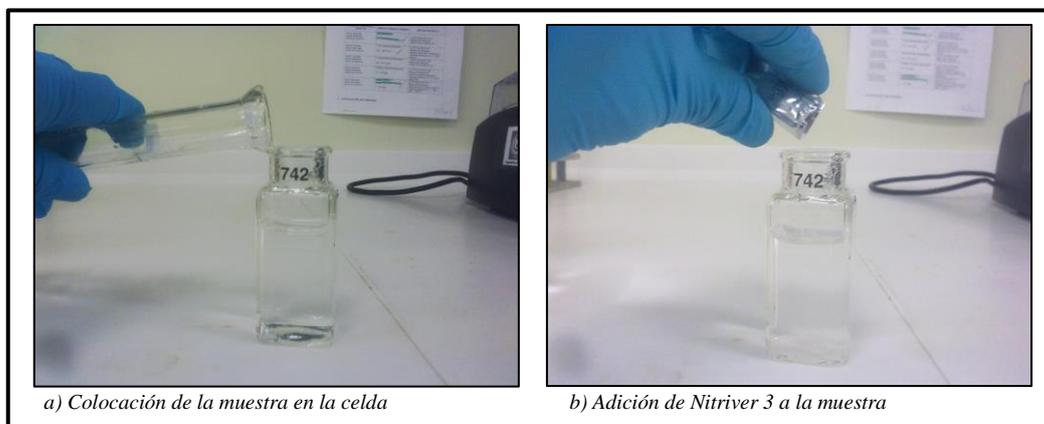
- Encender el espectrofotómetro DR-2800
- Seleccionar “programas almacenados”
- Seleccionar programa 371

- Fijar celda de 25ml de agua muestra
- Adicionar el contenido de una almohadilla de NITRIVER 3 a la celda y agitar
- Presionar el icono del reloj en la pantalla del espectrofotómetro y seleccionar 20 minutos (tiempo de reacción)
- Fijar una segunda celda agua muestra (blanco)
- Colocar el blanco en la cavidad de medida
- Pess: Cero
- Colocar la muestra
- Press: Medición
- Colocar un patrón y leer.
- Lavar las celdas con solución sulfocrómica y jabón, enjuagar con abundante agua destilada. Homogenizar las celdas con agua muestra dos veces y limpiar las superficies externas con papel (libre de pelusas) y llenar la celda con muestra.

e) Figuras explicativas



Figura 12 Preparación de estándares para nitritos
Fuente: El Autor



a) Colocación de la muestra en la celda

b) Adición de Nitriver 3 a la muestra

Figura 13 Adición de muestra y reactivos para nitritos
Fuente: El Autor

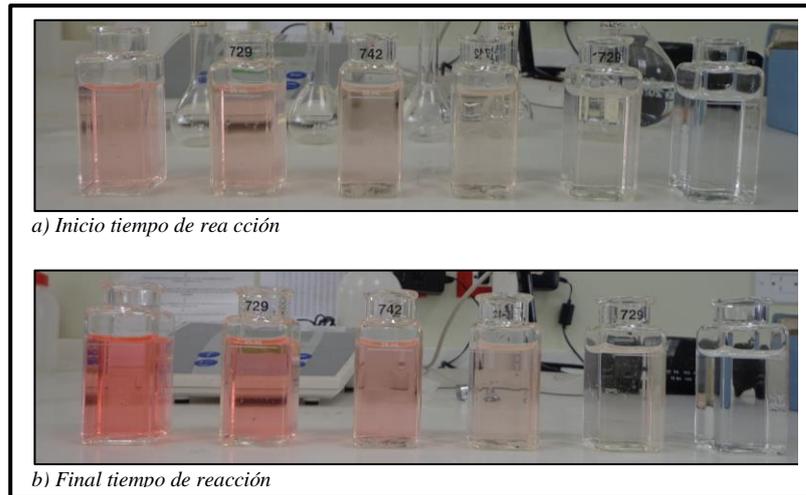


Figura 14 Reacción colorimétrica de nitritos
Fuente: El Autor

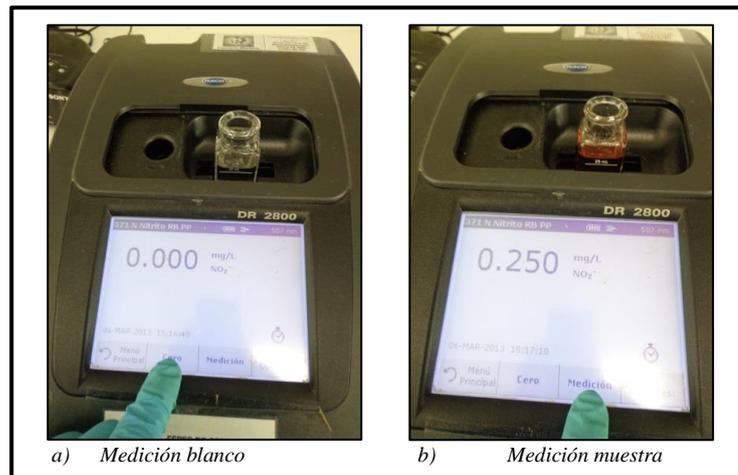
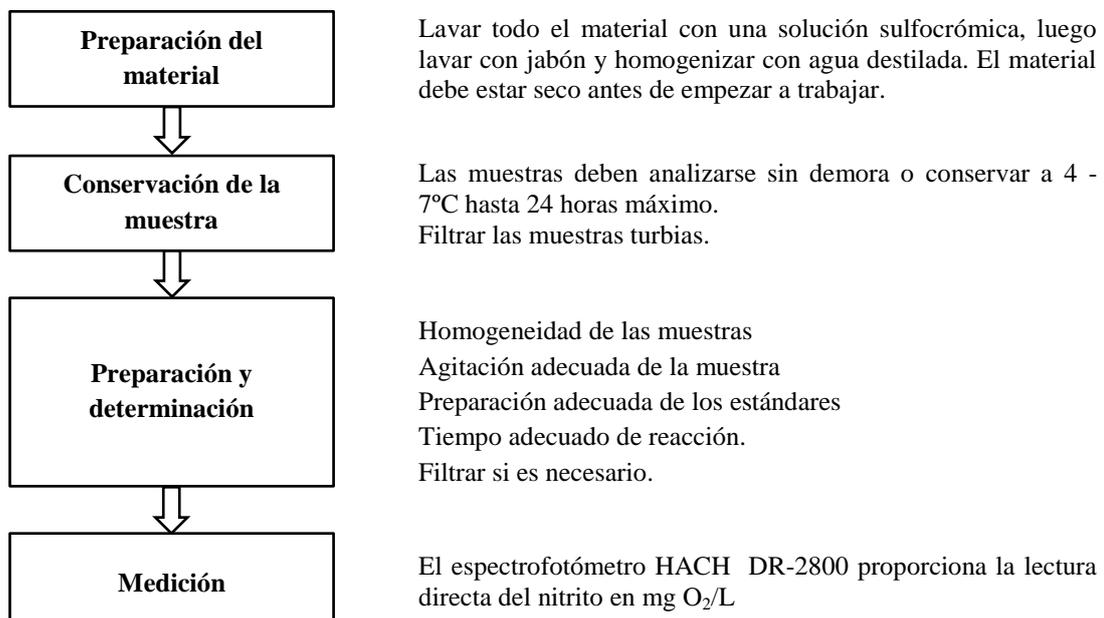


Figura 15 Medición nitritos en espectrofotómetro
Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

Los residuos generados se almacenan en recipientes etiquetados, para ser posteriormente eliminados por INCINEROX (Empresa Gestora de Residuos).

12. Cálculos

Lectura directa de NO_2^- en mg/l

13. Autocontrol y aseguramiento de calidad

Se realiza la recuperación a partir del estándar de 1000 mg de NO_2^- /l, preparando primeramente una solución madre de 10 ppm, a partir de esta se realiza la recuperación. Se añade 5 ml de la solución madre y se afora en un balón de 100 ml con agua muestra. Se procede hacer la lectura como una muestra normal. También se hace la lectura del agua muestra. Se realiza el siguiente cálculo.

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

A= Concentración de la muestra enriquecida con solución madre en mg de NO_2^- /l.

B= Concentración de la muestra en mg de NO_2^- /l.

C= Concentración del solución preparada en mg NO_2^- /l.

Interferencias

Es importante que no haya presencia de iones:

Sb^{3+} , Au^{3+} , Bi^{3+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+

El ion cúprico puede catalizar la descomposición de la sal de diazonio y por lo tanto producir resultados bajos.[3]

14. Criterios de aceptación y rechazo

Para el material de referencia sus valores deben estar dentro de los límites en las cartas control respectivas (Ver anexo VIII). Recuperación comprendida entre 94 y 106 %

15. Expresión de resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas:

Ejemplo: 11.1; 1.11; 0.111; 1.11×10^{-3}

16. Incertidumbre

Concentración mg/l	U expandida
0,02 – 0,049	0,0035
0,05 – 0,099	0,0051
0,1 – 0,299	0,0083
0,3 – 0,499	0,0131
0,5 – 0,8	0,0179

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 4500-NO₂-B
2012, Edition 22.

DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

1. Alcance

El método es aplicable para análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales así como también aguas residuales. Este método es apropiado para determinar nitritos en las matrices propuestas.

2. Descripción de tipo de ítem

La muestra es agua.

3. Principio

Se evapora una muestra correctamente mezclada, en una cápsula pesada y secada a peso constante en un horno a 103 – 105°C el aumento de peso sobre la cápsula vacía representa los sólidos totales. Es posible que en muestras de aguas residuales los resultados de sólidos totales representen la suma de los sólidos disueltos y suspendidos.[2, 3]

4. Plan de validación

Se toma como base la adición de analito por medio de una balanza, en la que se pesó 1g de NaCl estándar primario y se lo diluyó a 1 litro de agua destilada con la que se consiguió una concentración de 1000 mg/l de sólidos totales, por otro lado, también se hizo otra concentración de 5000 mg/l la cual sería el límite máximo en la validación.

Para hacer las diferentes concentraciones, se partió de la solución de 1000 mg/l, se hicieron concentraciones de 50, 100, 500, 1000 mg/l por cada concentración se realizaron 25 ensayos, cada día se realizaba 5 repeticiones de 3 niveles haciéndose 50 repeticiones por semana. Ejecutándose todos los niveles con sus respectivas repeticiones en un mes

Contemplándose: Límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C

Humedad Relativa: 45-75 %

6. Medidas de seguridad

Utilizar implementos de seguridad: guantes, mascarilla, gafas y mandil.

7. Equipos y materiales

- Cápsulas de evaporación: Cápsulas de 100 ml de capacidad, fabricadas con porcelana de 90 mm de diámetro.
- Estufa: Memmert, modelo EFE 600, frecuencia de 50- 60 Hz, rango de 21,3 – 200, voltaje 110 V, limpia y en buen estado.
- Desecador: Provisto de un desecante que contiene sílica gel con indicador colorimétrico de concentración de humedad, que puede ser reutilizable luego de secarlo.
- Balanza Analítica: Sartorius, modelo TE 214S, frecuencia de 40 -60 Hz, rango de 0- 210g, voltaje de 110V, calibrada y limpia.
- Balones: Balón de 1000ml calibrado, limpio y en buen estado
- Vaso de Precipitación: Vasos de precipitación limpios y en buen estado.
- Probeta: Probeta plástica de 100ml, limpia y en buen estado

8. Reactivos, patrones de referencia y material de referencia

Reactivo	Fórmula	Código de laboratorio	Número de catálogo	Marca	Proveedor sugerido
Cloruro de Sodio estándar primario	NaCl	LUTPL-NaCl-0034	1.06404.1000	Merck	AUSTROQUÍMICOS

9. Determinación

- Preparación de la cápsula de evaporación: Si se va a medir sólidos volátiles, incinérese una cápsula de evaporación limpia a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ en una mufla durante una hora. Si solamente se va a medir los sólidos totales, caliéntese la cápsula a $103 - 105^\circ\text{C}$ en un estufa durante una hora. Consérvese la cápsula en el desecador hasta que se necesite. Pesar inmediatamente.
- Análisis de la muestra: Elijase un volumen de muestra que proporcione un residuo entre 2.5 y 200 mg/l. Transfiérase un volumen medido de muestra bien mezclada a la cápsula pesada previamente y evapórese hasta que se seque en un baño de vapor o un horno de secado. En caso contrario añádanse a la misma cápsula después de la evaporación, nuevas porciones de muestra. Si la evaporación se lleva a cabo en un horno de secado, reducir la temperatura hasta 2°C aproximadamente debajo del punto de ebullición, a fin de evitar salpicaduras. Secar la muestra evaporada al menos durante una hora en un horno a $103 - 105^\circ\text{C}$, enfriar la cápsula en desecador para equilibrar la temperatura y pesar. Repítase el ciclo de secado, enfriado, desecación y pesado hasta obtener un peso

constante, o hasta que la pérdida de peso sea menor del 4 por 100 del peso previo o menor de 0.5 mg (escoger la menor de ambas).

c) *Figuras explicativas*



Figura 16 Preparación cápsulas
Fuente: El Autor

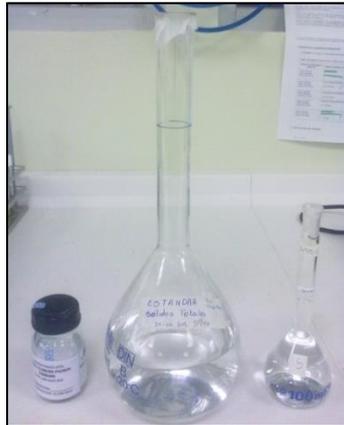


Figura 17 Preparación estándares para sólidos totales
Fuente: El Autor



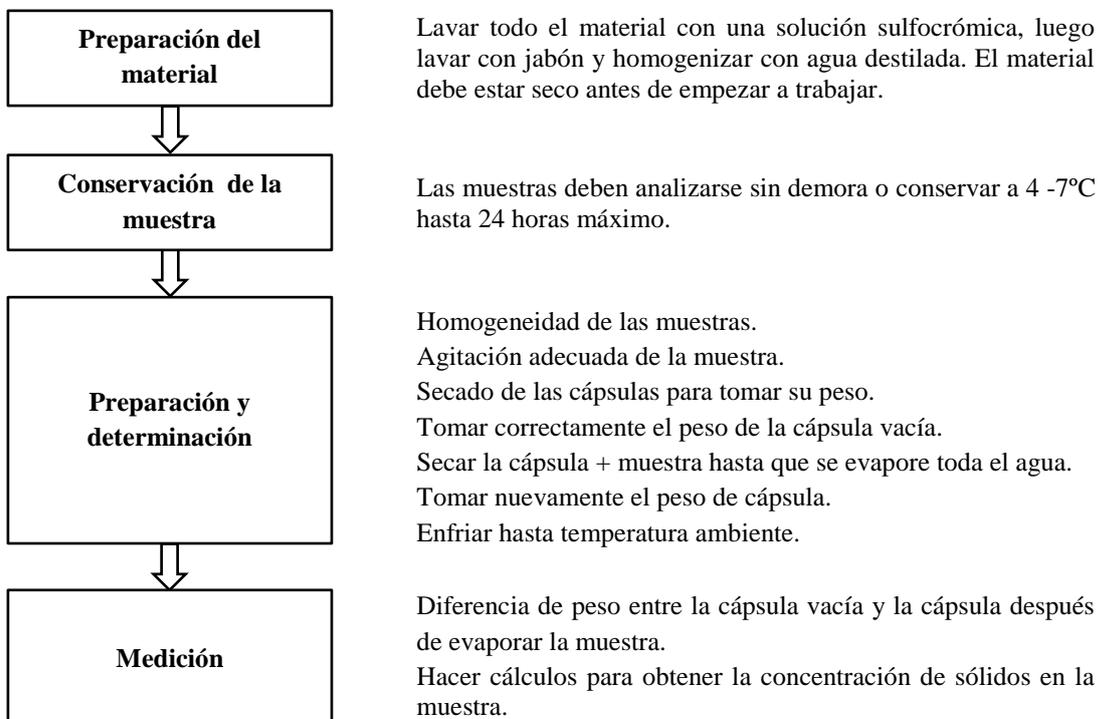
Figura 18 Colocación muestra en cápsula
Fuente: El Autor



Figura 19 Análisis de la muestra

Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

No Aplica

12. Cálculos

$$\text{mg de sólidos totales / l} = \frac{(A - B) * 1000}{\text{vol. de muestra, ml}}$$

Dónde:

A= peso de residuo seco + cápsula, mg, y

B= peso de la cápsula vacía, mg.

13. Autocontrol y aseguramiento de calidad,

Se realiza una recuperación a partir de un estándar de NaCl, se adiciona a una muestra una cierta cantidad de masa de NaCl y se procede como una muestra normal.

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

A= Concentración de la muestra más la masa adicionada de NaCl en mg/l

B= Concentración de sólidos totales en la muestra en mg/l

C= Concentración de la masa adicionada del NaCl en mg/l.

Interferencias

En agua fuertemente desmineralizada con una concentración significativa de calcio, magnesio, cloruro y/o sulfato puede ser higroscópica y requerir un secado prolongado, una desecación adecuada y un pesado rápido. Elimine las partículas gruesas flotables o los aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos, si se decide que su inclusión no es deseable en el resultado final. Dispérsense con un mezclador la grasa y el aceite flotantes antes de separar una porción de muestra para el análisis. Puesto que un residuo excesivo en la cápsula puede formar una costra hidrófila, límitese el tamaño de la muestra para que proporcione un residuo no mayor de 200 miligramos.[3]

14. Criterios de aceptación y rechazo

Para el material de referencia sus valores deben estar dentro de los límites establecidos en las cartas control respectivas (Ver anexo VIII). Recuperación comprendida entre 94 – 106%

El duplicado de un set de muestras no debe exceder de 0.05%

15. Expresión de resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas:

Ejemplo: 11.1; 1.11; 0.111; 1.11×10^{-3}

16. Incertidumbre

Concentración en mg/l	U Expandida
10 – 49	1,973
50 – 99	2,858
100 – 499	6,892
500 – 1000	11,158
1000 – 5000	37,311

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 2540 Solids- B. 2012, Edition 22.

DETERMINACIÓN DE CLORUROS

1. Alcance

El método es aplicable para análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales así como también aguas residuales. Este método es apropiado para determinar cloruros en las matrices propuestas.

2. Descripción de tipo De ítem

La muestra es agua.

3. Principio

La determinación de cloruros por este método se basa en una valoración con nitrato de plata utilizando como indicador cromato de potasio. La plata reacciona con los cloruros para formar un precipitado de cloruro de plata de color blanco. En las inmediaciones del punto de equivalencia al agotarse el ión cloruro, empieza la precipitación del cromato. La formación de cromato de plata puede identificarse por el cambio de color de la disolución a anaranjado-rojizo así como en la forma del precipitado. En este momento se da por terminada la valoración.[3]

4. Plan de validación

A partir del estándar de 1000 ppm de cloruro se preparan 5 concentraciones de: 5, 10, 50, 100, 500, el límite máximo fue la concentración del estándar patrón, por cada una de estas concentraciones se hicieron 25 repeticiones de cada una.

La validación de este método se realizó en 3 semanas, haciendo 10 repeticiones de los ensayos las 2 primeras semanas y en la última semana se realizaron los 5 ensayos faltantes y además se prepararon recuperaciones con el fin de comprobar la confiabilidad del método.

Contemplándose: Límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C

Humedad Relativa: 45-75 %

6. Medidas de seguridad

Usar las implementaciones de seguridad: guantes, mascarilla, gafas y mandil.

7. Equipos y materiales

- Vaso de precipitación: Vasos de 250 ml limpios y en perfecto estado.
- Bureta: Bureta de 50 ml calibrada, limpia, en perfecto estado.
- Pipetas volumétricas: Pipetas de 50 ml limpias en perfecto estado y calibradas.
- Pipetas: Pipetas de 5, 10, 25 ml limpias calibradas y en perfecto estado.
- Soporte universal: En perfecto estado.
- Balanza: Sartorius, modelo TE 214S, frecuencia de 40 -60 Hz, rango de 0-210g, voltaje de 110V, calibrada y limpia.
- Estufa: Memmert, modelo EFE 600, frecuencia de 50- 60 Hz, rango de 21,3 – 200, voltaje 110 V, limpia en buen estado y calibrada.

8. Reactivos, patrones de referencia, material de referencia

Reactivo	Fórmula	Código de Laboratorio	Número de Catálogo	Marca	Proveedor sugerido
Estándar Cloruro	Cl ⁻	LUTPL-MR-CINa-004	1.19897.0500	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Nitrato de plata	AgNO ₃	LUTP-AgNO ₃ -0023	1.01512.0250	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Cromato de potasio	K ₂ CrO ₄	LUTPL-K ₂ CrO ₄ -0013	3058-01	J.T.Baker	TECNOAUSTRAL
Hidróxido de Sodio	NaOH	LUTPL-NaOH-0018	30620	Riedel-de Haën	TECNOAUSTRAL
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	IQA-PRY-RM-00023	30743	SIGMA - AIDRICH	ESPECTROCROM

9. Determinación

- Tratamiento de la muestra: La muestra debe analizarse el mismo día de su recolección; caso contrario, almacenar la muestra en un ambiente oscuro a 4 - 7°C hasta 24 horas como máximo.
- Procedimiento Operativo
 - Utilizar un volumen de muestra de 100 ml. Ajustar el pH entre 7 y 10 utilizando las disoluciones de hidróxido de sodio (0,1N) y/o ácido sulfúrico (0,1N).

- Si la muestra tiene mucho color, añadir de 3 a 5 ml de una solución de hidróxido de aluminio antes de acondicionar, mezclar, dejar sedimentar y filtrar con papel filtro.

c) Valoración:

- A 100 ml de muestra acondicionada, adicionar 1 ml de disolución indicadora de cromato de potasio. Valorar con la disolución patrón de nitrato de plata hasta el cambio de color de amarillo a naranja rojizo, manteniendo un criterio constante en el punto final.
- Titular un blanco (agua destilada) con todos los reactivos.

d) Figuras explicativas:



Figura 20 Preparación estándares para cloruros
Fuente: El Autor



Figura 21 Adición de la muestra
Fuente: El Autor

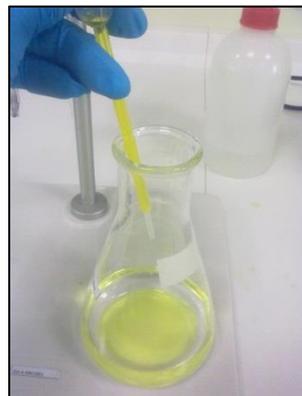


Figura 22 Adición de cromato de potasio
Fuente: El Autor

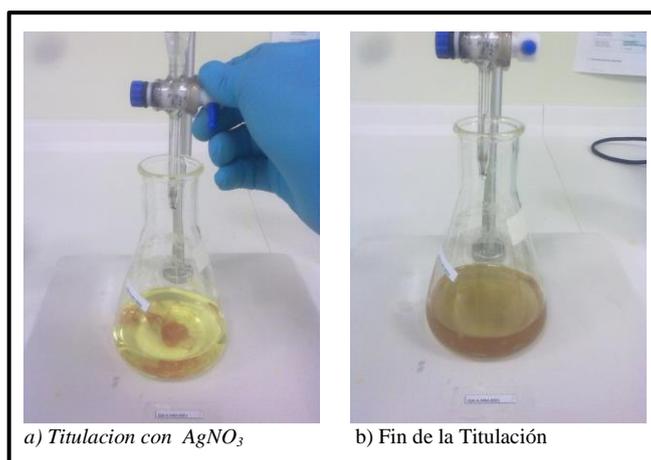
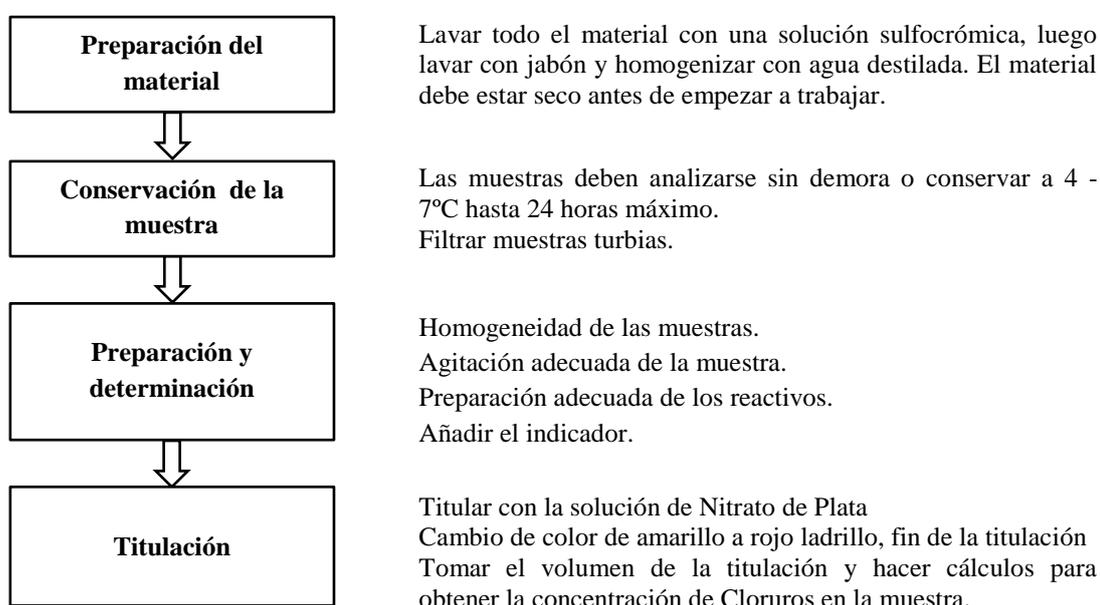


Figura 23 Titulación de una muestra de cloruros
Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

Los residuos generados se almacenan en recipientes etiquetados, para ser posteriormente eliminados por INCINEROX (Empresa Gestora de Residuos).

12. Cálculos

$$mg/l Cl^- = \frac{V_1 * N_{AgNO_3} * meq Cl^- * 10 \times 10^6}{V_2}$$

V_1 =Volumen de solución de Nitrato de Plata utilizado

N_1 =normalidad del nitrato de Plata

V_2 =Volumen de muestra analizada

meq Cl^- = Miliequivalente químico del ion cloruro

13. Autocontrol y Aseguramiento de Calidad,

Para el aseguramiento de la calidad se realiza un enriquecimiento, adicionando 0,5 ml del estándar de 1000 mg/l y aforándola en un balón de 100 ml con agua muestra. Se procede hacer procedimiento del ensayo como una muestra normal.

Se realiza el siguiente cálculo:

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

A= Concentración de la muestra enriquecida con el estándar en mg/l.

B= Concentración de cloruros en la muestra en mg/l.

C= Concentración de la solución de cloruro preparada en mg/l.

Interferencias

Muestras que contengan iones de sulfuro, tiosulfato y sulfito interfieren. Pero pueden ser eliminadas con un tratamiento previo con peróxido de hidrogeno. El ortofosfato en cantidades mayores a 25 mg/l interfiere ya que precipita como fosfato de plata y el hierro por encima de 10 mg/l interfiere ya que enmascara el punto final de la titulación.[3]

14. Criterios de Aceptación y Rechazo

Para el material de referencia sus valores deben estar dentro de los límites establecidos en las cartas control respectivas (Ver anexo VIII). Recuperación comprendida entre 94 – 106%

15. Expresión de Resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas:

Ejemplo: 11.1; 1.11; 0.111; 1.11×10^{-3}

16. Incertidumbre

Concentración (mg/l)	U expandida
2,43 – 4,99	0,4357
5 – 9,99	0,6294
10 – 49,99	1,7991
50 – 99,99	2,6340
100 – 499,9	4,5218
500 – 1000	10,2045

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 4500-Cl⁻ B Argentometric Method. 2012, Edition 22.

DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL

1. Alcance

El método es aplicable para análisis en aguas de: consumo humano, aguas naturales así como también aguas residuales. Este método es apropiado para determinar dureza total en las matrices propuestas.

2. Descripción del tipo ítem

La muestra es Agua

3. Principio

El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y sus sales sódicas forman un complejo (quetal) soluble cuando se adiciona una cierta cantidad de cationes metálicos. Si se adiciona una pequeña cantidad de indicador o una solución que contiene iones Ca y Mg a pH 10 +/- 1 la solución se tornará rojo vino. Si a continuación se añade EDTA como titulador, se forman complejos de calcio y magnesio y una vez agotados todos los iones, la solución cambia de color de rojo vino a azul en el punto final de la titulación.[3, 12]

La precisión del viraje mejora cuando aumenta el pH, pero esto debe ser controlado para evitar que se precipite el calcio y el magnesio bajo las formas de CaCO_3 y Mg(OH)_2 . Se fijan 5 minutos como tiempo límite de duración de la titulación para reducir al mínimo la tendencia de precipitación de CaCO_3 . [3]

4. Plan de validación

A partir del estándar de 193 ppm de dureza total se preparan 5 concentraciones de: 5, 10, 50, 100, 193, el límite máximo fue la concentración del estándar patrón, por cada una de estas concentraciones se hicieron 25 repeticiones.

Como volumen de muestra se tomó 50 ml de cada concentración con el fin de obtener buenos resultados.

La validación de este método se realizó en 3 semanas, haciendo 10 repeticiones de los ensayos las 2 primeras semanas y en la última semana se realizaron los 5 ensayos faltantes y además se prepararon recuperaciones con el fin de comprobar la confiabilidad del método.

Cabe acotar que para obtener buenos resultados de este método, cuando el volumen de la titulación es demasiado bajo se necesita incrementar el volumen de la muestra, tomando en cuenta lo señalado en el Standard Methods en el cual indica que si la dureza de una muestra es demasiado baja (menor a 5 mg/l) se debe incrementar el volumen entre 100 y 1000 ml.[3]

Contemplándose: Límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), gráficos de control, incertidumbre.

5. Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales en las que normalmente se trabaja son:

Temperatura: 17-24 °C

Humedad Relativa: 45-75 %

6. Medidas de seguridad

Usar implementos de seguridad: guantes, gafas, mascarilla y mandil.

7. Equipos y materiales

a) Agitador Vortex: Termolyne, modelo M16700 Mixer, frecuencia 60 HZ, voltaje 120V.

b) Balanza: Sartorius, modelo TE 214S, frecuencia de 40 -60 Hz, rango de 0-210g, voltaje de 110V, calibrada y limpia.

c) Pipetas: Pipetas de 5, 10, 25 ml calibradas, limpias y en perfecto estado.

d) Balones de aforo: Balones de aforo de 100, 250, 500 ml limpios, en perfecto estado y calibrados.

e) Bureta: Bureta de 50 ml limpia calibrada y en perfecto estado.

f) Vasos de precipitación: vasos de precipitación de 50, 100 y 250 ml limpios y en perfecto estado

8. Reactivos, patrones de referencia, material de referencia.

Reactivo	Fórmula	Código de laboratorio	Número de catálogo	Marca	Proveedor sugerido
Manver	NA	LUTPL-Manver2-0030	851-99	HACH	HDM
EDTA	$C_{10}H_{14}O_8N_2$ N $a_2 - 2H_2O$	LUTPL- $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8-$ 0037	1.08418.0250	MERCK	AUSTROQUÍMICOS
Hardness/TSS - WP	NA	LUTPL-MR-DUREZA-017	QC3074-500ML	SIGMA-ALDRICH	AUSTROQUIMICOS
Hidróxido de Potasio	KOH	LUTP-KOH-0026	1.05033.1000	MERCK	AUSTROQUÍMICOS

NA → No aplica

Solución de EDTA 0.01M: Disolver 3.723 g de EDTA (sal disociada) en agua destilada y aforar a 1000ml.

9. Determinación

a) Tratamiento de la muestra: La muestra debe analizarse el mismo día de su recolección; si es inevitable, almacenar la muestra en un ambiente oscuro a 4 - 7°C hasta 24 horas.

b) Procedimiento Operativo

Utilizar un volumen de muestra de 10 ml. Ajustar el pH entre 7 y 10 utilizando las disoluciones de hidróxido de sodio (0,1N) y/o ácido sulfúrico (0,1N).

c) Titulación:

- Tomar una alícuota de 50 ml de una muestra en un vaso de precipitación.
- Agregar aproximadamente 3 gotas de la solución Buffer pH 10.
- Agregar 1 almohadilla de Manver.
- Titular con EDTA, agitar constantemente hasta el cambio de color de rosa a azul.

d) Figuras Explicativas:



Figura 24 Preparación estándares para dureza total
Fuente: El Autor



Figura 25 Adición de la muestra a analizar
Fuente: El Autor

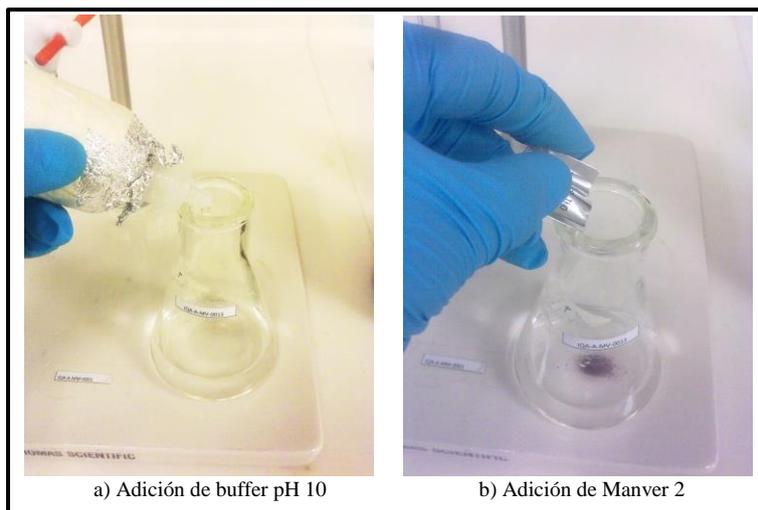


Figura 26 Adición de reactivos necesarios para titulación de dureza total
Fuente: El Autor

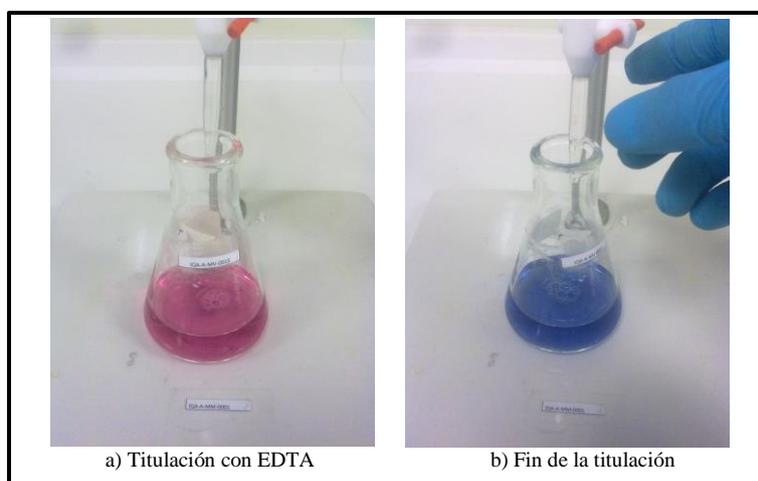
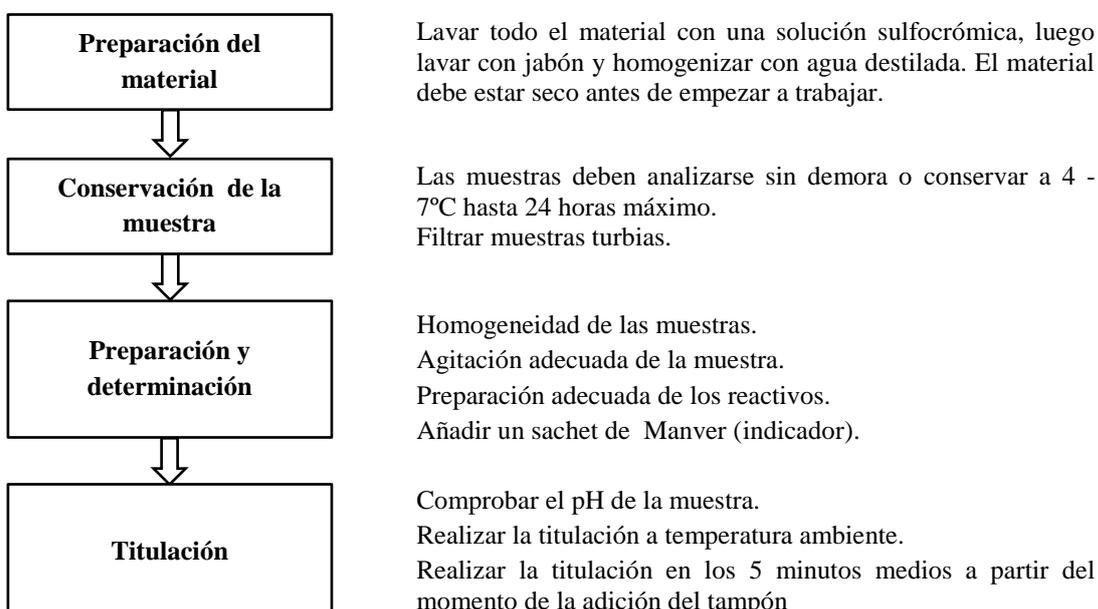


Figura 27 Titulación de dureza total
Fuente: El Autor

10. Diagrama de puntos críticos



11. Eliminación de residuos

Los residuos generados se almacenan en recipientes etiquetados, para ser posteriormente eliminados por INCINEROX (Empresa Gestora de Residuos).

12. Cálculos

$$\text{Dureza Total: mg/l} = \frac{V_1 * M_{EDTA} * \text{mmol CaCO}_3 * 10E6}{V_2}$$

V_1 =Volumen de solución de EDTA utilizado

M= Molaridad del EDTA

V_2 =Volumen de muestra analizada

mmol CaCO_3^- = mili mol del CaCO_3

13. Autocontrol y aseguramiento de calidad

Para el aseguramiento de la calidad se realiza un enriquecimiento, adicionando 2,5 ml del estándar de 193 mg/l y aforándola en un balón de 50 ml con agua muestra. Se procede hacer procedimiento del ensayo como una muestra normal.

Se realiza el siguiente cálculo:

$$\% \text{ Recuperación} = \left(\frac{A - B}{C} \right) * 100$$

A= Concentración de la muestra enriquecida con el estándar en mg/l.

B= Concentración de dureza total en la muestra en mg/l.

C= Concentración de la solución de dureza preparada en mg/l.

Interferencias

En la tabla se encuentran la lista de la mayor parte de las sustancias que interfieren. Sí existen más de una sustancia interferentes, los límites dados en la tabla pueden variar. La turbidez se elimina por filtración.[3]

Interferencias	Al	Ba	Cd	Co	Cu	Fe	Pb	Mn	Ni	Sr	Zn	Polifosfato
Con. máx. sin interferir (ppm)	20	*	*	20	30	30	*	1	20	*	*	10

* Si están presentes son titulados como dureza

Fuente: Standard Methods, twelfth edition, 2012

14. Criterios de aceptación y rechazo

La recuperación debe estar entre el 94 – 106 % y debe graficarse en la carta control respectiva (Ver anexo VIII).

15. Expresión de resultados

Los resultados se expresan con tres cifras significativas:

Ejemplo: 11.1; 1.11; 0.111; 1.11×10^{-3}

16. Incertidumbre

Concentración (mg/l)	U expandida
5	0,483
10	0,785
50	1,394
100	3,812
193	7,518

17. Bibliografía

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método 2340 C. EDTA
Titrimetric Method. 2012, Edition 22.

3. RESULTADOS

RESULTADO VALIDACIÓN DBO

Los resultados presentados a continuación muestran que el método ha sido validado, en el cual se ha examinado: límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control, no se presenta linealidad ya que es un método respirométrico y además el equipo reporta la lectura directamente en unidades de mg/l de O₂.

Título del Método Analítico

Método VELD SCIENTIFICA adaptado a APHA 5210 – BOD B. 5-Day BOD Test

Resultados del estudio de validación

- **Límite de detección y cuantificación**

Por cada análisis que se realizó para DBO se hizo 10 blancos, de esta manera se determinó el límite más bajo en la que puede ser detectable el analito. En la Tabla 2 se presentan los datos obtenidos para el cálculo del límite de detección y límite de cuantificación.

Tabla 2 LDD y LDQ para DBO

Nº Ensayos	Blancos para DBO (mg/l)
1	8,9
2	9,7
3	10,1
4	7,8
5	9,5
6	8,6
7	9,8
8	10,4
9	9,3
10	10,2
Media	9,43
S	0,806
% CV	8,547
LDD	11,85
LDQ	13,46

Fuente: El Autor

El método respirométrico OxiTop para el análisis de DBO se reportó un límite de detección (LDD) de 11,85 y un límite de cuantificación (LDQ) de 13,46. Determinando el límite de cuantificación como el nivel más bajo en el que el analito puede ser detectado y cuantificado, por lo tanto se lo considera como la concentración que alcanza un nivel aceptable de precisión, confirmando lo señalado en la “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” en la cual indica que el límite de cuantificación no

debe exceder el 20% del coeficiente de variación. Los cálculos correspondientes se muestran en el Anexo III.

- **Rango de Trabajo**

Como límite máximo de trabajo se estableció el estándar con mayor concentración en el laboratorio el cual es de 210 mg/l.

Con lo mencionado anteriormente podemos establecer que el rango de trabajo es de 13,46 a 210 mg/l, es decir que este método reportará resultados de alta confianza a estas concentraciones. Si en algún caso alguna muestra tiene una concentración mayor a 210 mg/l se debe hacer una dilución.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 3 se presenta los datos obtenidos del análisis de repetibilidad. Se usó un análisis de varianza ANOVA, en el cual se evaluó el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos para repetibilidad.

Tabla 3 Repetibilidad para DBO

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coefficiente de variación (%)
1	1,397	2,87	No	3,54
2	1,342	2,87	No	1,97
3	1,018	2,87	No	3,23

Fuente: El Autor

Comparando los resultados del $F_{\text{Experimental}}$ con el $F_{\text{Crítico}}$, se puede observar que no hay diferencia significativa ya que $F_{\text{Experimental}} < F_{\text{Crítico}}$, cumpliendo con el criterio de aceptación que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

El coeficiente de variación en cada nivel en la Tabla 3 es menor al 15 %, cumpliendo con el criterio de aceptación. Se puede verificar lo estipulado tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” que en su parte pertinente menciona que el coeficiente de variación debe ser menor al 15% para que haya repetibilidad.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 4 y 5 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, en la cual se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos de reproducibilidad se muestran en el Anexo VI.

Tabla 4 Reproducibilidad para DBO, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F Experimental	F Crítico	Diferencia
2	2,8142	3,18	No
3	0,3941	3,18	No

Fuente: El Autor

Como se puede ver en la Tabla 4 el $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$, mostrando que no hay diferencia significativa, señalando que cumple con el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

Tabla 5 Reproducibilidad para DBO, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T Experimental	T Crítico	Diferencia
2	0,4353	2,262	No
3	0,7873	2,262	No

Fuente: El Autor

Como resultados de la prueba T se demuestra que $T_{\text{Crítico}} > T_{\text{Experimental}}$ por lo tanto no hay diferencia significativa, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual indica que el $T_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $T_{\text{Experimental}}$.

Con los resultados obtenidos en la prueba T como en la prueba F, se demuestra que no hay diferencia, por lo tanto el método es reproducible.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Se analizó muestras de agua residual, de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció con un patrón de “BOD Standard” (material de referencia certificado), en diferentes niveles de concentración (42, 105 y 210 mg/l). Para su determinación se evalúa en base al porcentaje de recuperación. Obteniéndose los siguientes datos que se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6 Recuperación para DBO matriz agua residual

Nº	Concentración de la muestra (mg/l)	Muestra enriquecida			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
		42 ppm	105 ppm	210 ppm			
1	186	229	287	404	102%	96%	104%
2	96	136	204	301	95%	103%	98%
3	232	276	339	441	105%	102%	100%
4	103	146	205	321	102%	97%	104%
5	148	188	257	357	95%	104%	100%
6	167	210	268	388	102%	96%	105%
7	85	127	191	297	100%	101%	101%
8	79	122	182	279	102%	98%	95%
9	135	178	243	351	102%	103%	103%
10	154	195	261	365	98%	102%	100%

Fuente: El Autor

Según la ecuación de Horwitz el porcentaje de recuperación se encuentra entre el 84 y 116%, con este criterio podemos decir que la recuperación obtenida en la Tabla 6 cumple con el criterio de aceptación. Además cumple con el criterio establecido en el laboratorio en el cual la recuperación debe estar comprendida entre 94 y 106%.

- **Gráficos de control**

Con los datos obtenidos en la recuperación para DBO, se pueden crear los gráficos de control como se muestra en la Figura 28.

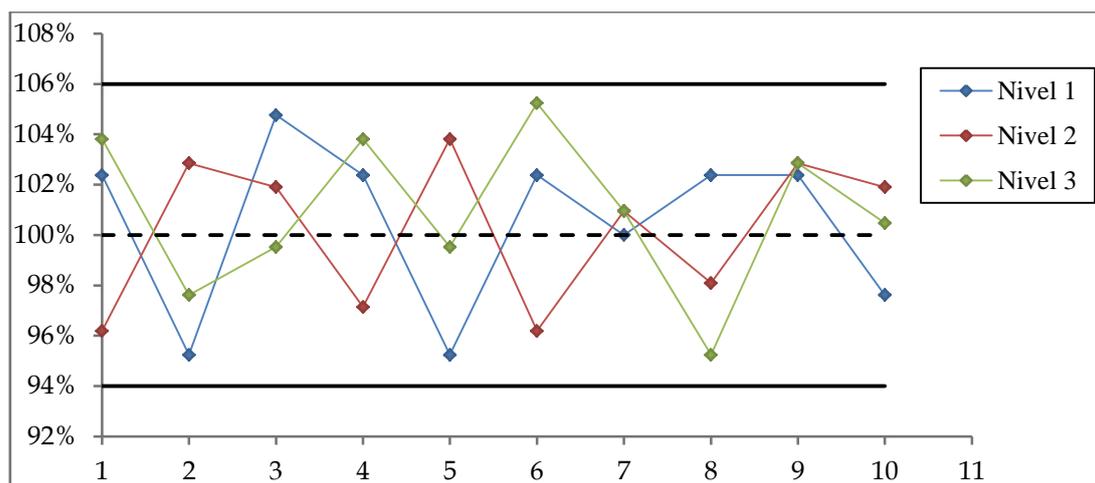


Figura 28 Gráfico de control para DBO

Fuente: El Autor

Como se puede observar, todos los datos obtenidos en el análisis de recuperación para DBO están dentro de los límites máximos y mínimos en el gráfico de control. También se puede comprobar que no hay tendencias en los resultados. Con lo cual se corrobora el criterio de aceptación expuesto en la recuperación.

• Incertidumbre

En la Figura 29 se muestran las fuentes principales de incertidumbre para DBO, así como cada componente de las fuentes principales, que se han identificado a partir del desarrollo de la validación del método. A cada fuente de incertidumbre se la trató por separado con el fin de encontrar la contribución que tiene en el valor final. En el Anexo VII se presentan los cálculos para incertidumbre.

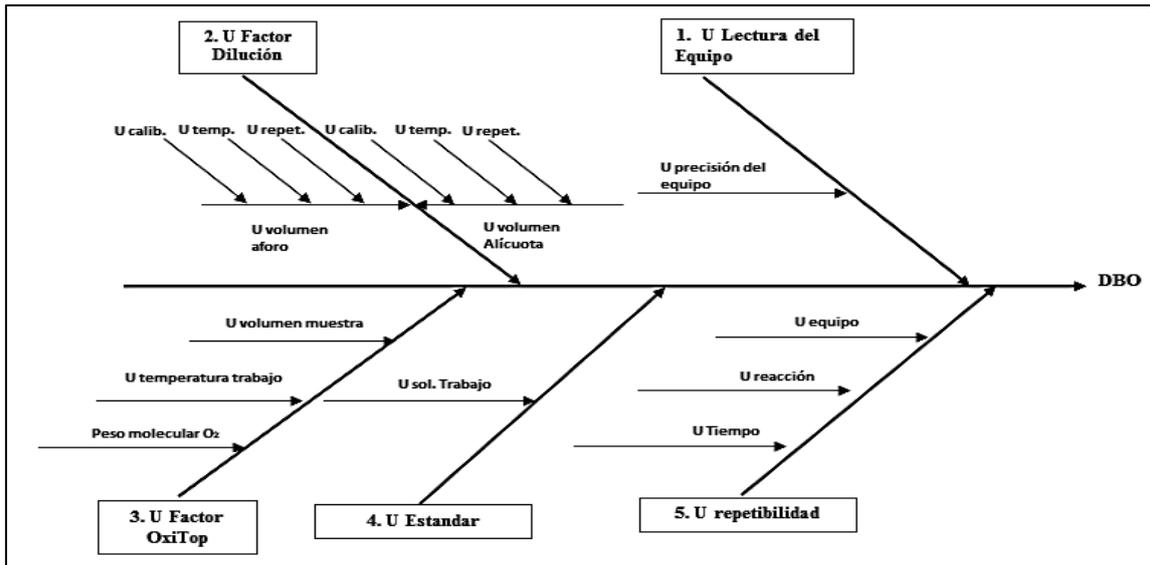


Figura 29 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de DBO
Fuente: El Autor

En la Tabla 7 se muestran los valores de incertidumbre obtenidas por cada nivel de trabajo en los que se realizó la validación. La incertidumbre expandida expresa un nivel de confianza del 95% en el método.[17]

Tabla 7 Incertidumbre DBO

Concentración mg/l	U expandida mg/l
13	2,86
42	9,282
84	18,045
105	22,745
210	45,982

Fuente: El Autor

RESULTADOS VALIDACIÓN DQO

Los resultados presentados a continuación muestran que el método ha sido validado, en el cual se ha examinado: linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control.

Título del Método Analítico

Método HACH adaptado a APHA 5220 – COD D. Colorimetric Method

Resultados del estudio de validación

- **Linealidad**

Se realizó una curva de calibración (ver Figura 30) con el fin de determinar la linealidad del método, en la cual se prepararon soluciones estándar de concentración teórica conocida usando “Chemical Oxygen Demand Standard Solution 1000 mg/l COD” (estandar de referencia certificado).

En cada una de estas concentraciones se hicieron 25 repeticiones, calculando la media por cada concentración, de esta manera obtenemos los datos de Tabla 8, en el Anexo IV se encuentran los cálculos correspondientes.

Tabla 8 Valores de DQO para la curva de calibración

X Concentración (mg/l)	Y Absorbancia
10	0,0046
20	0,0095
50	0,0230
100	0,0450
200	0,0910
500	0,2207
1000	0,4314

Fuente: El Autor

Con los datos de la Tabla 8 se realizaron cálculos, obteniendo la ecuación de ajuste de curvas para DQO la cual es:

$$y = 0,00043x - 0,002$$

Y obteniendo un coeficiente de correlación (r^2) es de 0,9998 indicando que el método tiene linealidad estadística ya que cumple con la condición de ser mayor o igual a 0,995.[7]

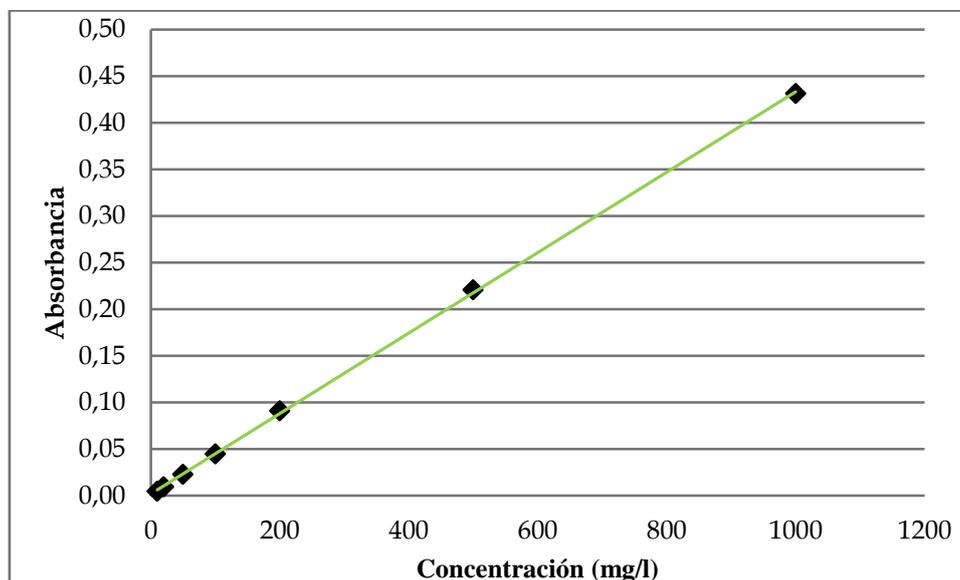


Figura 30 Curva de calibración para DQO

Fuente: El Autor

- **Límite de detección y cuantificación**

Para determinar tanto el límite de detección como el límite de cuantificación en DQO, se enriqueció agua destilada con una concentración teórica conocida de 10 mg/l del estándar de DQO, esto con el fin de determinar la concentración más baja que pueda lograr una repetibilidad del 80 al 120%. [18] En la Tabla 9 se presentan los datos obtenidos.

Tabla 9 LDD y LDQ para DQO

Nº Ensayos	Blancos para DQO (mg/l)
1	11
2	9
3	8
4	9
5	11
6	10
7	9
8	10
9	12
10	9
Media	9,667
S	1,229
% CV	12,717
LDD	13,354
LDQ	15,813

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 9 la concentración de 10 mg/l fue la que obtuvo un coeficiente de variación de 12,72%, reportando un límite de detección de 13,35 y un límite de cuantificación de 15,81. Por lo tanto se considera que esta concentración alcanza un nivel aceptable de precisión, confirmando lo señalado en la “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” la cual indica que el límite de cuantificación no debe exceder el 20% del coeficiente de variación.

- **Rango de Trabajo**

Ya que la solución de DQO de 1000 mg/l es el estándar de mayor concentración en el laboratorio se estableció a esta como el límite máximo de trabajo.

Con lo señalado anteriormente podemos establecer que el rango de trabajo es de 13,74 a 1000 mg/l, indicando que el método reporta resultados confiables a estas concentraciones. Si hubiera muestras con concentraciones superiores a 1000 mg/l, se debe hacer una dilución, de tal manera que entren dentro del rango de trabajo.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 10 se presenta los datos obtenidos del análisis de repetibilidad. Se usó un análisis de varianza ANOVA, en el cual se evaluó el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos para repetibilidad.

Tabla 10 Repetibilidad para DQO

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coefficiente de variación (%)
1	0,889	2,87	No	4,195
2	0,291	2,87	No	3,588
3	2,117	2,87	No	1,486

Fuente: El Autor

Al comparar los resultados del $F_{\text{Experimental}}$ con el $F_{\text{Crítico}}$, se puede observar que no hay diferencia significativa ya que $F_{\text{Experimental}}$ es menor que el $F_{\text{Crítico}}$, cumpliendo con el criterio de aceptación que indica que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

Además el coeficiente de variación cumple con el criterio de aceptación, demostrando que hay repetibilidad del método. Se puede verificar lo señalado tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” que en su parte pertinente menciona que el coeficiente de variación debe ser menor al 15%.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 11 y 12 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, en la cual se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos de reproducibilidad se muestran en el Anexo VI.

Tabla 11 Reproducibilidad para DQO, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F Experimental	F Crítico	Diferencia
2	0,941	3,18	No
3	0,353	3,18	No

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 11 el $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$, señalando que no hay diferencia significativa en el método, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

Tabla 12 Reproducibilidad para DQO, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T Experimental	T Crítico	Diferencia
2	0,136	2,262	No
3	0,014	2,262	No

Fuente: El Autor

Como se puede ver en la Tabla 12 el $T_{\text{Crítico}} > T_{\text{Experimental}}$ demostrando que no hay diferencia significativa, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual indica que el $T_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $T_{\text{Experimental}}$.

Como resultado del análisis de la prueba F y la prueba T se demuestra que no hay diferencia significativa, con lo cual podemos indicar que el método es reproducible.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Se analizó por duplicado muestras de agua residual, de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció con la solución estándar de DQO de 1000 mg/l, diferentes niveles de concentración (50, 100 y 200 mg/l). Para su determinación se evalúa en base al porcentaje de recuperación obtenido. En la Tabla 13 se presentan los resultados para recuperación.

Tabla 13 Recuperación para DQO

Nº	Concentración de la muestra (mg/l)	Concentraciones + Muestra			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
		50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l			
1	85	133	189	283	96%	104%	99%
2	112	164	210	315	104%	98%	102%
3	167	218	263	362	102%	96%	98%
4	62	111	165	256	98%	103%	97%
5	84	132	182	288	96%	98%	102%
6	211	261	307	419	100%	96%	104%
7	103	151	207	300	96%	104%	99%
8	127	179	230	323	104%	103%	98%
9	76	124	174	279	96%	98%	102%
10	132	182	235	325	100%	103%	97%

Fuente: El Autor

Como se puede observar en la Tabla 13 los resultados obtenidos en la recuperación, cumplen con el criterio según la ecuación de Horwitz, la cual indica que la recuperación debe estar comprendida entre un 84 y 116%, además cumplen con el criterio establecido en el laboratorio donde la recuperación debe estar entre un 94 y 106%.

- **Gráfico de control**

Con los resultados de recuperación obtenidos en la Tabla 13 se crea el gráfico de control que se muestra en la Figura 31.

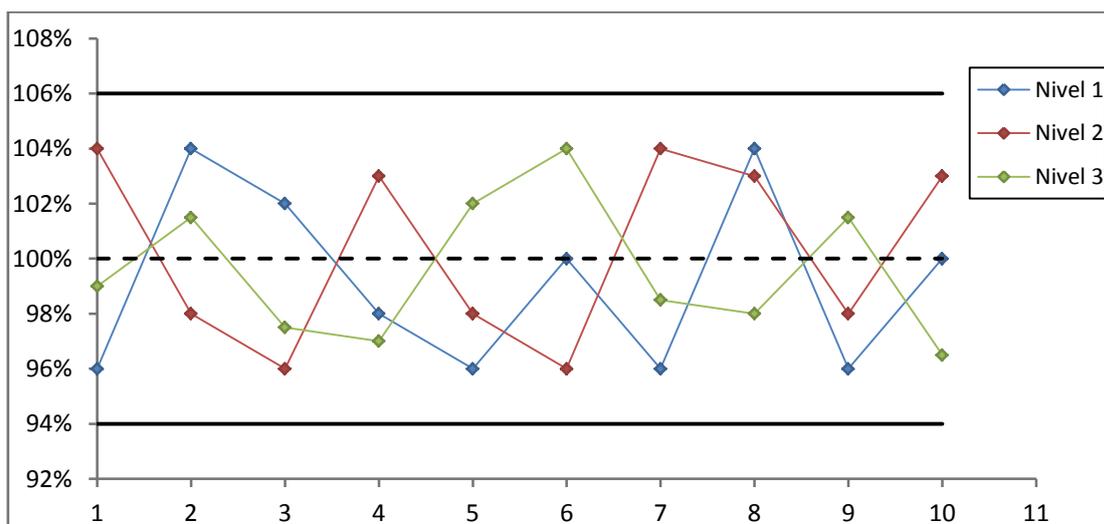


Figura 31 Gráfico de control para DQO

Fuente: El Autor

Como se puede observar en la Figura 31 los tres niveles se encuentran dentro de los límites máximos y mínimos del gráfico de control, además se comprobó con esto que no

hay tendencias en los resultados obtenidos, Indicando que la recuperación cumple con el criterio de aceptación ya que los valores están comprendidos entre un 94 Y 106 %.

- **Incertidumbre**

En la Figura 32 se muestran las fuentes de incertidumbre para DQO, así como cada componente de las fuentes principales, que han sido identificadas en el transcurso de la validación. Cada fuente de incertidumbre se la trató por separado de tal manera que se evaluó la contribución que tiene en el valor final. Los cálculos de la incertidumbre se presentan en el Anexo VII.

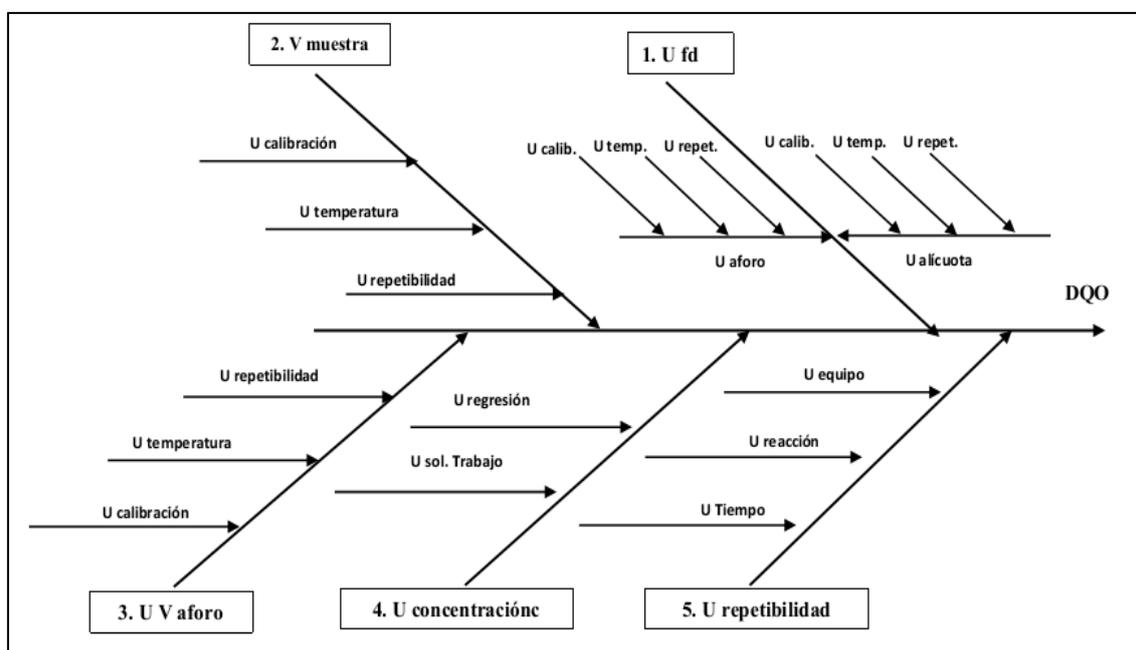


Figura 32 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de DQO

Fuente: El Autor

En la Tabla 14 se muestra la incertidumbre obtenida por cada nivel de trabajo. La incertidumbre expandida expresa un nivel de confianza del 95% en el método.[17]

Tabla 14 Incertidumbre para DQO

Concentración mg/l	U expandida mg/l
10 – 19	1,531
20 – 49	1,689
50 – 99	4,306
100 – 199	7,244
200 – 449	13,036
500 – 999	16,092
1000	38,693

Fuente: El Autor

RESULTADOS VALIDACIÓN NITRITOS

Los resultados presentados a continuación muestran la validación del método, en el cual se ha examinado: linealidad límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control.

Título del Método Analítico

Método HACH adaptado a APHA 4500 – NO₂⁻ B. Colorimetric Method

Resultados del estudio de validación

- **Linealidad**

Para determinar la linealidad del método se elaboró una curva de calibración a partir de los datos de la Tabla 15, para realizar dicha curva se prepararon soluciones estándar de concentración teórica conocida usando “Nitrite Standard Solution” (material de referencia certificado). En la Figura33 se muestra la curva obtenida.

En cada una de estas concentraciones se hicieron 25 repeticiones, extrayendo una media por cada concentración, de esta manera obtenemos los datos de Tabla 8, en el Anexo IV se encuentran los cálculos correspondientes.

Tabla 15 Valores de nitritos para la curva de calibración

X concentración mg/l	Y Absorbancia
0,05	0,0864
0,1	0,1703
0,3	0,5205
0,5	0,8769
0,8	1,3974

Fuente: El Autor

La ecuación de ajuste de curvas a partir de los datos obtenidos es:

$$y = 1,74322x - 0,0056$$

El coeficiente de correlación (r^2) es de 0,9995 indicando que el método tiene linealidad ya que cumple con la condición de ser mayor a 0,995.

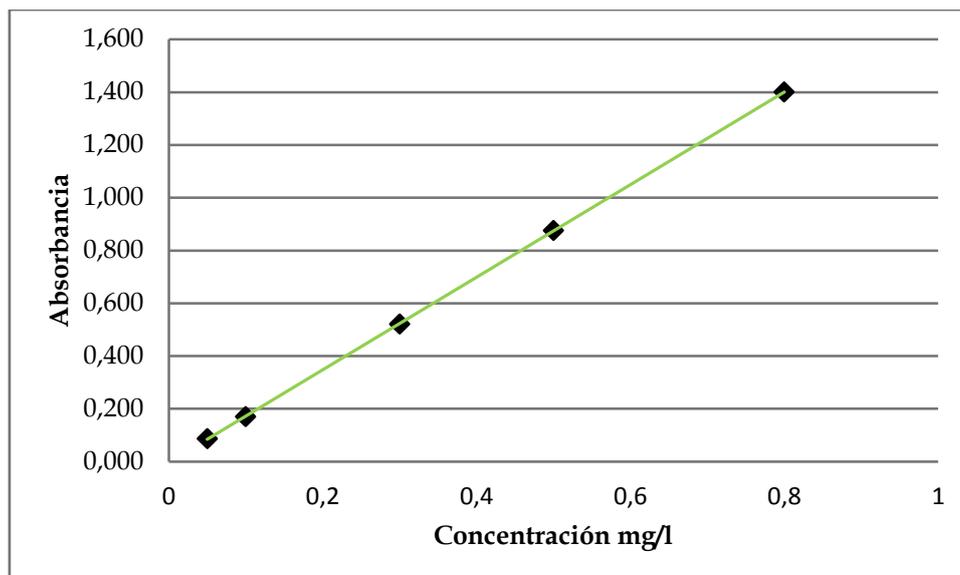


Figura 33 Curva de calibración de nitritos

Fuente: El Autor

- **Límite de detección y cuantificación**

Para determinar tanto el límite de detección como el límite de cuantificación de nitritos, se enriqueció agua destilada con una concentración teórica conocida de 0,010 mg/l del estándar de nitritos “Nitrite standard solution” (material de referencia certificado), esto con el fin de determinar la concentración más baja que pueda reportar una repetibilidad del 80 al 120%. [18]

En la Tabla 16 se presentan los datos obtenidos.

Tabla 16 LDD y LDQ para nitritos

Nº Ensayos	Blancos para nitrito (mg/l)
1	0,012
2	0,011
3	0,009
4	0,015
5	0,010
6	0,012
7	0,012
8	0,013
9	0,010
10	0,011
Media	0,0115
S	0,0017
% CV	14,921
LDD	0,0167
LDQ	0,0201

Fuente: El Autor

La concentración de 0,010 mg/l fue la que se utilizó para determinar el límite de detección y límite de cuantificación, dando como resultado los valores de 0,0167 y 0,0201 mg/l respectivamente, obteniendo una repetibilidad del 14,92 %. Por lo tanto se

considera que esta concentración alcanza un nivel aceptable de precisión, confirmando lo señalado en la “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” la cual indica que el límite de cuantificación no debe exceder el 20% del coeficiente de variación.

En el Anexo III se muestran los cálculos correspondientes.

- **Rango de trabajo**

El límite máximo para nitrito es 0,8 mg/l, debido a que el espectrofotómetro DR-2800 tiene capacidad de leer hasta esta concentración.

Con lo señalado anteriormente se establece que el rango de trabajo es de 0,0201 a 0,8 mg/l, es decir que este método alcanzará los resultados de alta confianza a estas concentraciones. Si hay muestras con concentraciones superiores al límite máximo se debe hacer una dilución.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 17 se presenta los datos obtenidos del análisis de repetibilidad. En el cual se evalúa el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos respectivos.

Tabla 17 Repetibilidad para nitritos

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coefficiente de variación (%)
1	2,322	2,87	No	2,82
2	0,479	2,87	No	1,31
3	2,172	2,87	No	0,38

Fuente: El Autor

Para determinar si el método es repetible se utilizó un análisis de varianza ANOVA en el cual se comprobó que el $F_{\text{Experimental}} < F_{\text{Crítico}}$ como se puede observar en la Tabla 17, cumpliendo con el criterio de aceptación, el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$ demostrando que no hay diferencia significativa.

Al evaluar el coeficiente de variación se determina que cumple con el criterio de aceptación, demostrando que hay repetibilidad del método. Se puede verificar lo mencionado tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” que en su parte pertinente menciona que el coeficiente de variación debe ser menor al 15%.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 18 y 19 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, en el cual se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos de reproducibilidad se muestran en el Anexo VI.

Tabla 18 Reproducibilidad de nitritos, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F Experimental	F Crítico	Diferencia
2	0,1204	3,18	No
3	1,5849	3,18	No

Fuente: El Autor

Como se puede observar en la Tabla 18 el $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$, indicando que no hay diferencia significativa, cumpliendo con el criterio de aceptación que indica que el $F_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

Tabla 19 Reproducibilidad de nitritos, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T Experimental	T Crítico	Diferencia
2	0,0949	2,262	No
3	0,7788	2,262	No

Fuente: El Autor

Como se puede ver en la Tabla 19 el $T_{\text{Crítico}} > T_{\text{Experimental}}$, por lo tanto no hay diferencia significativa, cumpliendo con el criterio de aceptación que demuestra que el $T_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $T_{\text{Experimental}}$.

Como en las dos pruebas anteriores no hay diferencia significativa, se demuestra que el método es reproducible.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Para el análisis de exactitud se analizó por duplicado muestras de agua residual de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció con la solución madre de nitrito de 10 mg/l, diferentes niveles de concentración (0,1, 0,3 y 0,5 mg/l). Para su determinación se evaluó el porcentaje de recuperación obtenido. En la Tabla 20 se muestran los resultados para recuperación en nitrito.

Tabla 20 Recuperación de nitritos matriz agua residual

Nº	Concentración de la muestra (mg/l)	Concentraciones + muestra			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
		0,1 mg/l	0,3 mg/l	0,5 mg/l			
1	0,247	0,349	0,544	0,735	102%	99%	98%
2	0,261	0,358	0,556	0,765	97%	98%	101%
3	0,254	0,352	0,558	0,740	98%	101%	97%
4	0,239	0,343	0,545	0,749	104%	102%	102%
5	0,282	0,377	0,572	0,787	95%	97%	101%
6	0,243	0,341	0,539	0,739	98%	99%	99%
7	0,258	0,360	0,564	0,751	102%	102%	99%
8	0,262	0,363	0,553	0,769	101%	97%	101%
9	0,258	0,355	0,566	0,751	97%	103%	99%
10	0,274	0,376	0,570	0,773	102%	99%	100%

Fuente: El Autor

El criterio de aceptación de recuperación según la ecuación de Horwitz tiene que estar comprendida entre un 84 y 116%, con lo cual se puede corroborar que la recuperación en nitritos cumple esta condición como se observa en la Tabla 20, asimismo cumple con el criterio establecido en el laboratorio el mismo que indica que la recuperación debe estar entre 94 y 106%.

- **Gráficos de control**

A partir de los resultados obtenidos en la recuperación de nitritos podemos realizar el gráfico de control que se muestra en la Figura 34.

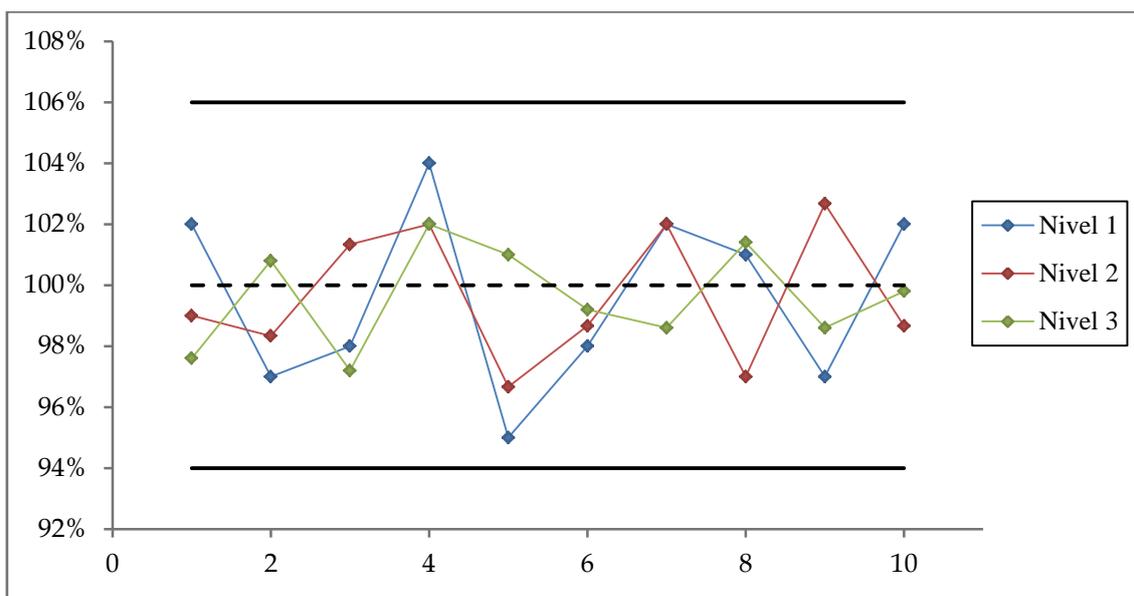


Figura 34 Gráfico de control para nitritos

Fuente: El Autor

Todos los datos obtenidos en el análisis de recuperación para nitritos están dentro de los límites máximos y mínimos en el gráfico de control, como se observa en la Figura 34. Con lo cual se confirma el criterio de aceptación expuesto en la recuperación. Al mismo tiempo que se verifica que no existen tendencias en los resultados presentes en el gráfico de control.

- **Incertidumbre**

En la Figura 35 se muestran las fuentes principales de incertidumbre para nitritos, así como cada componente de las fuentes principales, que se han identificado a partir del desarrollo de la validación del método. Cada fuente de incertidumbre se la trató por separado de tal manera que se evaluó la contribución que tiene en el valor final. En el Anexo VII se presentan los cálculos para incertidumbre.

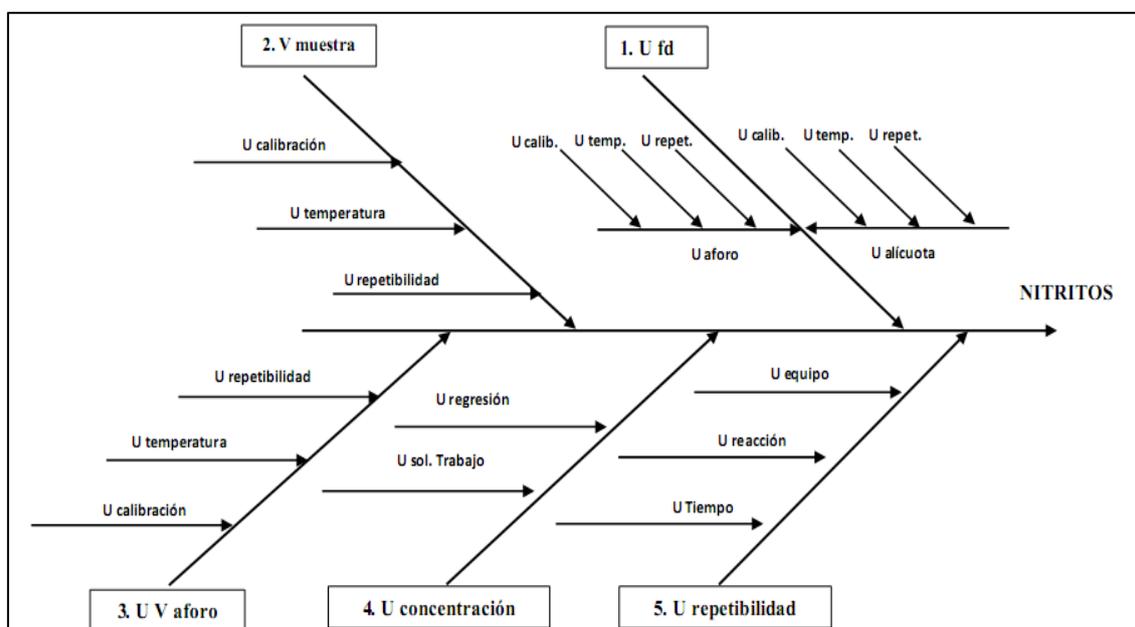


Figura 35 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de nitritos

Fuente: El Autor

En la Tabla 21 se presenta la incertidumbre del método por nivel de trabajo. La incertidumbre expandida demuestra que método posee un nivel de confianza del 95%. [17]

Tabla 21 Incertidumbre de nitritos

Concentración mg/l	U expandida mg/l
0,012 – 0,05	0,0035
0,09 – 0,1	0,0051
0,29 – 0,3	0,0083
0,49 – 0,5	0,0131
0,8	0,0179

Fuente: El Autor

RESULTADO VALIDACIÓN SÓLIDOS TOTALES

Los datos obtenidos se muestran en el Anexo II, en los resultados presentados a continuación se examinó: límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control. No se presenta linealidad debido a que es un método gravimétrico y por lo tanto los cálculos proporcionan directamente la concentración en mg/l de sólidos totales. Con lo cual se demuestra la validación del método, cumpliendo con los criterios de aceptación que se requieren.

Título del Método Analítico

Método APHA 2540 – B. Total Solids Dried at 103 – 105 °C

Resultados del estudio de validación

- **Límite de detección y cuantificación**

Se analizaron 10 blancos, evaporando 100 ml de agua destilada obteniéndose así el límite más bajo, en el cual el analito puede ser detectable, en la Tabla 22 se muestran los resultados obtenidos para el límite de detección (LDD) y límite de cuantificación (LDQ).

Tabla 22 LDD y LDQ para sólidos totales

Nº Ensayos	Blancos para sólidos totales (mg/l)
1	5
2	7
3	5
4	5
5	4
6	5
7	6
8	7
9	4
10	5
Media	5,333
S	1,059
% CV	19,863
LDD	8,511
LDQ	10,630

Fuente: El autor

Los resultados obtenidos para sólidos totales, alcanzaron un límite de detección de 8,51 mg/l y un límite de cuantificación de 10,63 mg/l. Siendo el límite de cuantificación el nivel más bajo en el que el analito puede ser detectado y cuantificado, por lo tanto se lo considera cómo la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, confirmando lo señalado en la “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” en la cual indica que el límite de cuantificación no

debe exceder el 20% del coeficiente de variación. En el Anexo III se muestran los cálculos respectivos.

- **Rango de trabajo**

Como límite máximo de trabajo para sólidos totales es 5000 mg/l, que fue la máxima concentración con la que se trabajó, proporcionando una recuperación de 100,1% estando dentro del rango de recuperación comprendida entre 94y 106%.

Por lo tanto el rango de trabajo está comprendido entre 10,63 y 5000 mg/l, con esto se puede indicar que el método reporta valores de alta confianza a estas concentraciones. Si en algún caso una muestra contiene una concentración mayor al límite máximo se debe hacer una dilución.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 23 se presenta los datos obtenidos del análisis de repetibilidad mediante el análisis de varianza ANOVA. En el cual se evalúa el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos respectivos.

Tabla 23 Repetibilidad de sólidos totales

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coeficiente de variación (%)
1	2,436	2,87	No	3,932
2	2,285	2,87	No	1,328
3	1,317	2,87	No	0,649

Fuente: EL Autor

Al comparar los resultados obtenidos en el análisis del **F-Experimental** con los datos del **F-Crítico**, se verificó que no hay diferencia significativa en el método, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual indica que el **F-Crítico** tiene que ser mayor al **F-Experimental**.

Por otro lado el coeficiente de variación cumple con el criterio de aceptación, demostrando que hay repetibilidad del método. Se puede verificar lo estipulado tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” que en su parte pertinente menciona que el coeficiente de variación debe ser menor al 15 o 16% respectivamente.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 24 y 25 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, en donde se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos concernientes se muestran en el Anexo VI.

Tabla 24 Reproducibilidad de sólidos totales, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F Experimental	F Crítico	Diferencia
2	0,301	3,18	No
3	1,224	3,18	No

Fuente: El Autor

$F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$: Consecuentemente cumple con el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ es mayor que el $F_{\text{Experimental}}$, demostrando que no hay diferencia significativa, así mismo muestra la reproducibilidad del método.

Tabla 25 Reproducibilidad de sólidos totales, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T Experimental	T Crítico	Diferencia
2	1,2028	2,262	No
3	0,4073	2,262	No

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 25 el método es reproducible, indicando que no hay diferencia significativa debido a que el $T_{\text{Crítico}} > T_{\text{Experimental}}$, cumpliendo el criterio de aceptación el cual manifiesta que el $T_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor al $T_{\text{Experimental}}$.

Se confirma la reproducibilidad del método debido a que tanto en la prueba F como en la prueba T no hay diferencia significativa, cumpliendo con los criterios de aceptación respectivos.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Para el análisis de exactitud se analizó por duplicado muestras de agua natural de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció adicionando cierta masa del estándar de NaCl “Standard Sodium Chloride”, se pesó alrededor de 50, 100 y 500 mg. Para su determinación se evaluó el porcentaje de recuperación obtenido. En la Tabla 26 se muestran los resultados para recuperación en sólidos totales.

Tabla 26 Recuperación de sólidos totales matriz agua natural

Nº	Concentración de la muestra en mg/l	Masa de NaCl adicionada			Masa de NaCl + muestra			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
1	65	53	100	500	118	168	557	100%	103%	98%
2	53	55	103	505	105	154	566	95%	98%	102%
3	85	50	98	497	135	185	587	100%	102%	101%
4	65	51	101	501	115	164	551	98%	98%	97%
5	54	49	100	503	103	158	554	100%	104%	99%
6	97	53	102	499	151	198	586	102%	99%	98%
7	73	51	99	502	123	168	573	98%	96%	100%
8	68	54	105	504	122	175	579	100%	102%	101%
9	73	56	100	500	128	176	568	98%	103%	99%
10	45	48	103	498	94	145	535	102%	97%	98%

Fuente: El Autor

Como se puede observar los resultados obtenidos en la Tabla 26, se encuentran dentro del rango comprendido entre el 84 y 116% según la ecuación de Horwitz, cumpliendo con el criterio de aceptación, también cumple con el criterio establecido en el laboratorio el mismo que indica que la recuperación debe estar entre 94 y 106%.

- **Gráfico de control**

Con los datos de recuperación obtenidos en la Tabla 26 se realizó la Figura 36 que corresponde al gráfico de control.

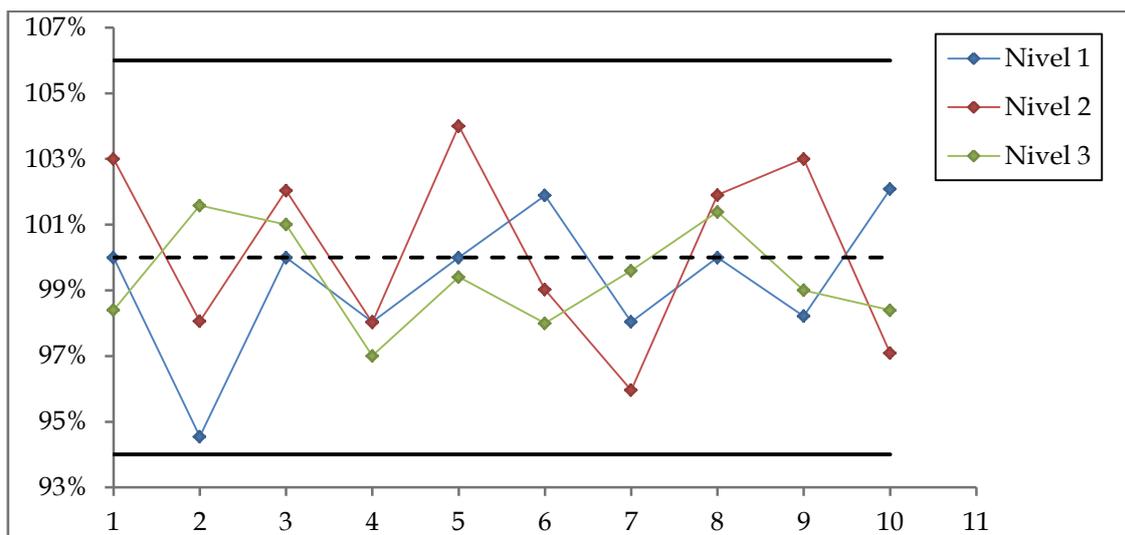


Figura 36 Gráfico de control para sólidos totales

Fuente: El Autor

Como se puede observar en la Figura 36 los datos se encuentran dentro de los límites máximos y mínimos del gráfico de control. Con lo que corrobora el criterio de aceptación

para la recuperación el cual indica que debe estar entre 94 y 106 %. También se comprobó que no existen tendencias en los resultados del gráfico.

- **Incertidumbre**

En la Figura 37 se presentan las fuentes de incertidumbre para sólidos totales, que han sido identificadas así como las fuentes que son explícitas que provienen de otras fuentes como certificados, manuales, entre otras.

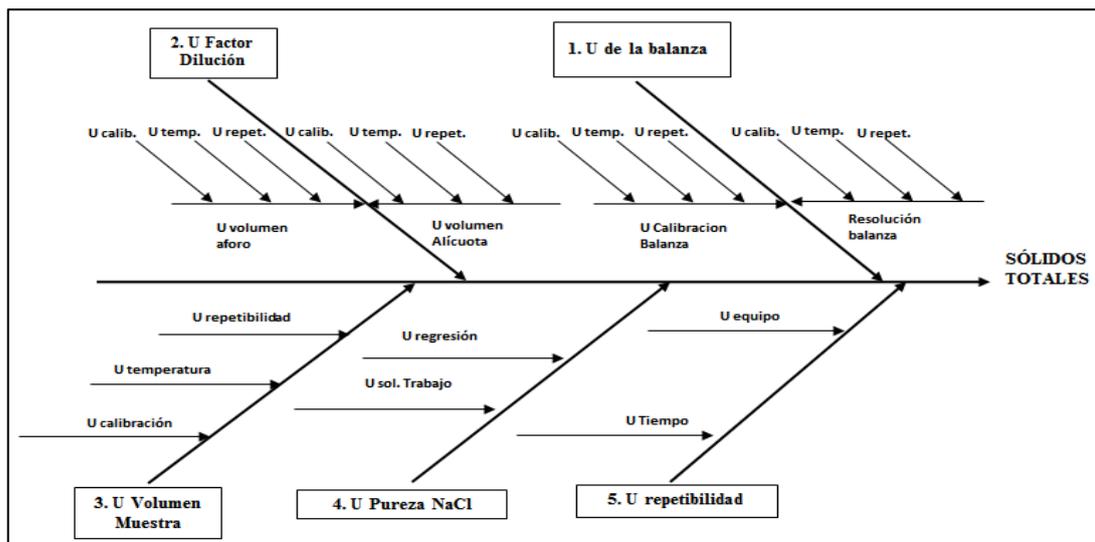


Figura 37 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de sólidos totales

Fuente: El Autor

En la Tabla 27 se presenta la incertidumbre que se ha calculado en la validación de sólidos totales, los resultados obtenidos se muestran por nivel de trabajo. La incertidumbre expandida demuestra que el método posee un 95% de confianza.[17]

Tabla 27 Incertidumbre sólidos totales

Concentración mg/l	U expandida mg/l
50	3,9415
100	5,6950
500	13,5666
1000	21,7776
5000	50,8384

Fuente: El Autor

RESULTADO VALIDACIÓN CLORUROS

Los datos obtenidos se muestran en el Anexo II, los resultados presentados a continuación se examinó: límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control. No se presenta linealidad debido a que es un método volumétrico y por lo tanto los cálculos proporcionan directamente la concentración en mg/l de Cl⁻. Con lo cual se demuestra la validación del método, cumpliendo con los criterios de aceptación que se requieren.

Título del Método Analítico

Método APHA 4500 – Cl⁻ B. Argentometric Method

Resultados del estudio de validación

- **Límite de detección y cuantificación**

Se analizaron 10 blancos, usando de 100 ml de agua destilada con la finalidad de determinar el límite más bajo de detección del analito, se procedió como una muestra normal obteniendo los siguientes resultados mostrados en la Tabla 28.

Tabla 28 LDD y LDQ para cloruros

Nº Ensayos	Blancos para cloruro (mg/l)
1	1,500
2	1,749
3	1,250
4	1,250
5	1,749
6	1,500
7	1,250
8	1,500
9	1,250
10	1,500
Media	1,450
S	0,197
% CV	13,579
LDD	2,040
LDQ	2,434

Fuente: El Autor

Los resultados obtenidos en cloruros, alcanzaron un límite de detección de 2,040 mg/l y un límite de cuantificación de 2,43 mg/l. Siendo el límite de cuantificación el nivel más bajo en el que el analito puede ser detectado y cuantificado, por lo tanto se lo considera cómo la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, corroborando lo señalado en la “Guidance for Industry”

Bioanalytical Method Validation” en la cual indica que el límite de cuantificación no debe exceder el 20% del coeficiente de variación.

- **Rango de trabajo**

Como límite máximo de trabajo para cloruros es 1000 mg/l, que fue la máxima concentración con la que se trabajó, proporcionando una recuperación de 100,4% estando dentro del rango de recuperación comprendida entre 106 y 94%.

Por lo tanto el rango de trabajo está comprendido entre 2,43 y 1000 mg/l, con esto se indica que el método reporta valores de alta confianza a estas concentraciones.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 29 se presenta los datos obtenidos del análisis de repetibilidad mediante el análisis de varianza ANOVA. En el cual se evaluó el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos concernientes.

Tabla 29 Repetibilidad de cloruros

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coefficiente de variación (%)
1	0,325	2,87	No	4,11
2	0,995	2,87	No	1,02
3	0,602	2,87	No	1,25

Fuente: EL Autor

Al realizar la comparación del $F_{\text{Crítico}}$ con el $F_{\text{Experimental}}$ en la Tabla 29 se puede observar que no hay diferencia significativa, cumpliendo el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ tiene que ser mayor al $F_{\text{Experimental}}$.

En lo concerniente al criterio de aceptación para el coeficiente de variación, cumple con la condición que se establece tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” donde mencionan que el coeficiente de variación debe ser menor al 15%, de esta manera se puede confirmar que el método es repetible.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 30 y 31 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, donde se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos de reproducibilidad se muestran en el Anexo VI.

Tabla 30 Reproducibilidad de cloruros, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F _{Experimental}	F _{Crítico}	Diferencia
2	1,135	3,18	No
3	2,342	3,18	No

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 30 el $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$ demostrando que no hay diferencia significativa, ya que cumple con el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ tiene que ser mayor al $F_{\text{Experimental}}$.

Tabla 31 Reproducibilidad de cloruros, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T _{Experimental}	T _{Crítico}	Diferencia
2	0,744	2,262	No
3	1,104	2,262	No

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 31 no hay diferencia significativa, ya que los valores del $T_{\text{Crítico}}$ son mayores que los calculados en el $T_{\text{Experimental}}$ cumpliendo con el criterio de aceptación en cual manifiesta que el $T_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor al $T_{\text{Experimental}}$.

Como la prueba F y la prueba T no presentan diferencia significativa, se demuestra que el método es reproducible.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Para el análisis de exactitud se analizó por duplicado muestras de agua natural de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció con una solución estándar de “Chloride Standard Solution” (material de referencia certificado), en diferentes niveles de concentración (10, 20 y 100 mg/l). Para su determinación se evaluó en base al porcentaje de recuperación obtenido. En la tabla 32 se presentan los resultados para recuperación en cloruro.

Tabla 32 Recuperación para cloruros

N°	Concentración de la muestra en mg/l	Concentraciones + muestra			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
		10 mg/l	50 mg/l	100 mg/l			
1	6,9	17,2	56,5	104,9	103%	99%	98%
2	8,9	18,7	58,9	109,8	98%	100%	101%
3	4,5	14,7	54,9	106,5	102%	101%	102%
4	5,5	15,2	56,9	105,9	97%	103%	100%
5	6,4	16,2	55,9	107,5	98%	99%	101%
6	8,3	18,4	58,7	110,4	101%	101%	102%
7	6,3	16,5	54,6	106,5	102%	97%	100%
8	7,5	17,2	58,6	108,9	97%	102%	101%
9	4,9	15,4	55,5	104,9	105%	101%	100%
10	4,2	14,5	53,7	103,4	103%	99%	99%

Fuente: El Autor

Según la ecuación de Horwitz el porcentaje de recuperación debe estar comprendido entre el 84 y 116%, por lo tanto los resultados obtenidos en la Tabla 32 cumplen con este criterio, además cumplen con el criterio establecido en el laboratorio en el cual se establece que la recuperación debe estar entre un 94 y 106%.

- **Gráfico de control**

Con los datos de recuperación obtenidos en la Tabla 32 se realizó el gráfico de control que se presenta en la Figura 38.

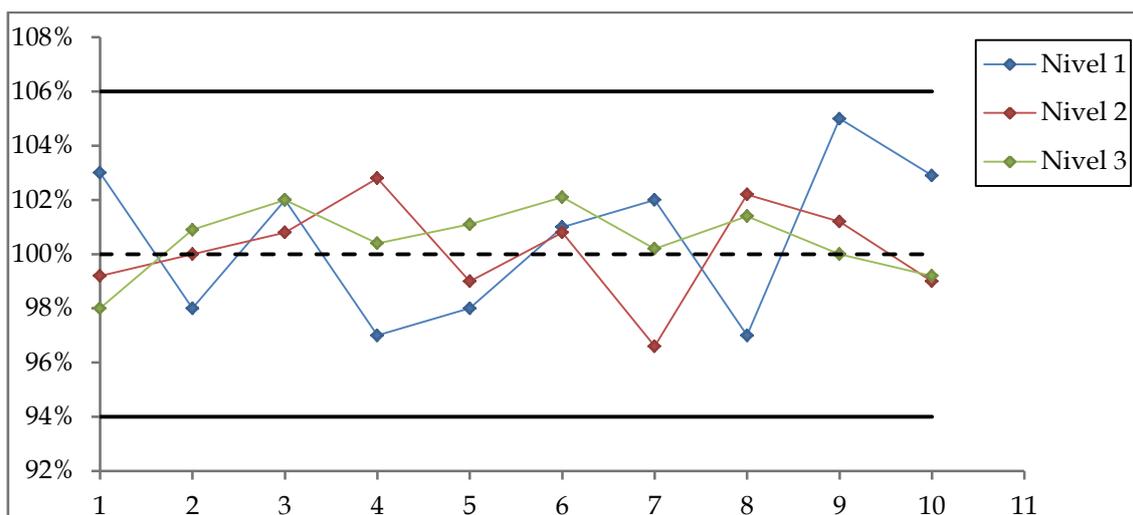


Figura 38 Gráfico de control para cloruros

Fuente: El Autor

Como se observa los tres niveles se encuentran dentro de los límites máximos y mínimos del gráfico de control, también se comprobó que no existe tendencia en los resultados,

con esto podemos indicar que el criterio de aceptación se cumple ya que los valores están comprendidos entre del 94 al 106 %.

- **Incertidumbre**

En la Figura 39 se muestran las fuentes de incertidumbre para cloruros, que han sido identificadas en el transcurso de la validación, así como las fuentes que son explícitas que provienen de otras fuentes como certificados, manuales, entre otras. Los cálculos de la incertidumbre para cloruros se presentan en el Anexo VII.

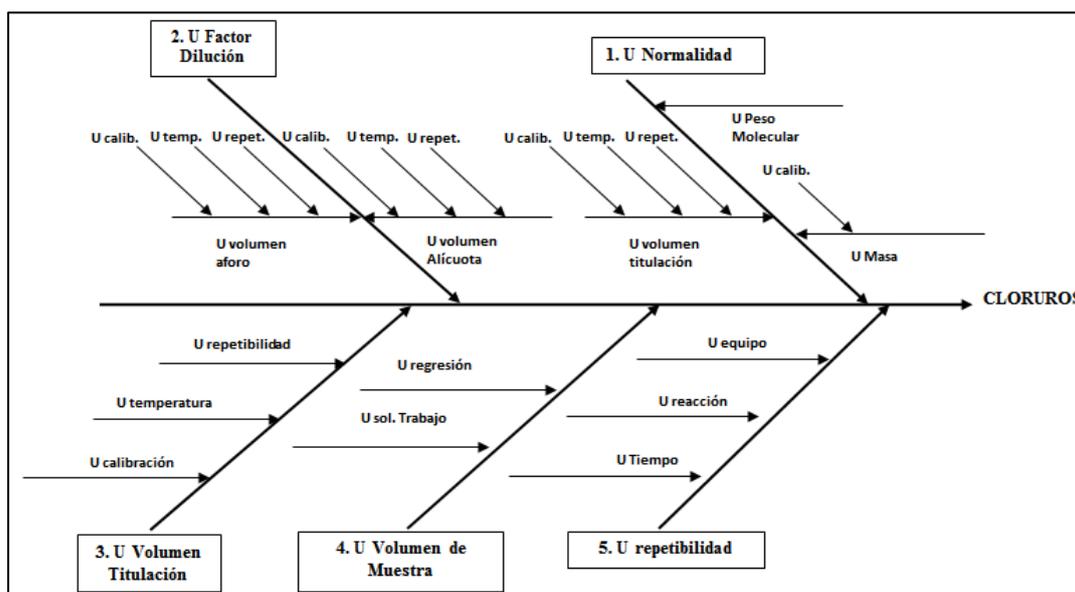


Figura 39 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de cloruros

Fuente: El Autor

En la Tabla 33 se presentan los valores de incertidumbre que se han obtenido en la validación, los resultados obtenidos se muestran por nivel de trabajo. La incertidumbre expandida indica que el método reportar un 95% de confianza.[17]

Tabla 33 Incertidumbre cloruros

Concentración mg/l	U expandida mg/l
5	0,4357
10	0,6294
50	1,7991
100	2,6340
500	4,5218
1000	10,2045

Fuente: El Autor

RESULTADO VALIDACIÓN DUREZA TOTAL

Los datos obtenidos se muestran en el Anexo II, en los resultados presentados a continuación se examinó: límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y gráficos de control. No se presenta linealidad debido a que es un método volumétrico y por lo tanto los cálculos proporcionan directamente la concentración en mg/l de dureza total. Con lo cual se demuestra la validación para dureza total, cumpliendo con los criterios de aceptación requeridos.

Título del Método Analítico

Método APHA 2340 – C. EDTA Titrimetric Method

Resultados del estudio de validación

- **Límite de detección y cuantificación**

Para este método se analizaron 10 blancos de agua destilada con la finalidad de encontrar el límite de detección más bajo, se procedió como una muestra normal, los datos se muestran en la Tabla 34.

Tabla 34 LDD y LDQ para dureza total

Nº Ensayos	Blancos para dureza total (mg/l)
1	1,0400
2	0,9776
3	0,9984
4	1,0608
5	1,0192
6	1,0400
7	1,0816
8	1,0192
9	1,0608
10	1,0400
Media	1,0338
S	0,0311
% CV	3,0069
LDD	1,1270
LDQ	1,1892

Fuente: El Autor

En los resultados obtenidos para dureza total, se obtuvo un límite de detección de 1,13 mg/l y un límite de cuantificación de 1,19 mg/l. Siendo el límite de cuantificación el nivel más bajo en el que el analito puede ser detectado y cuantificado, por lo tanto se lo considera cómo la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, confirmando lo señalado en la “Guidance for Industry”

Bioanalytical Method Validation” en la cual indica que el límite de cuantificación no debe exceder el 20% del coeficiente de variación. En el Anexo III se muestran los cálculos correspondientes.

- **Rango de trabajo**

Como límite máximo de trabajo para dureza total es 193 mg/l, ya que es el estándar de mayor concentración que posee el laboratorio y con el que se trabajó, proporcionando una recuperación de 100,4% estando dentro del rango de recuperación comprendida entre 94 y 106%.

Por lo tanto el rango de trabajo está comprendido entre 1,19 y 193 mg/l, con esto se indica que el método obtiene valores de alta confianza a estas concentraciones. Si existieran muestras con concentraciones mayores al límite máximo de trabajo se necesita hacer una dilución.

- **Repetibilidad**

En la Tabla 35 se presenta los datos obtenidos de repetibilidad para dureza total mediante un análisis de varianza ANOVA. En el cual se evalúa el cálculo de los cuadrados medios y el nivel de significancia respecto a la prueba F, con un nivel de confianza del 95%. [5] En el Anexo V se presentan los cálculos concernientes.

Tabla 35 Repetibilidad de dureza total

Nivel	F-Experimental	F-Crítico	Diferencia	Coefficiente de variación (%)
1	0,231	2,87	No	3,491
2	0,586	2,87	No	3,143
3	0,325	2,87	No	2,246

Fuente: EL Autor

Al realizar la comparación de los resultados obtenidos en la Tabla 35, se puede concluir que el método no presenta diferencia significativa debido a que cumple con el criterio de aceptación el cual indica que el que el $F_{\text{Crítico}}$ tiene que ser mayor que el $F_{\text{Experimental}}$.

En lo referente al criterio de aceptación para el coeficiente de variación, cumple con la condición que se establece tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” donde mencionan que el coeficiente de variación debe ser menor al 15%, de esta manera se puede confirmar que el método es repetible.

- **Reproducibilidad**

En el Tabla 36 y 37 se muestra el análisis de reproducibilidad para el nivel 2 y 3, en el cual se realiza una prueba T de varianzas y una prueba F. Los cálculos de reproducibilidad se muestran en el Anexo VI.

Tabla 36 Reproducibilidad de dureza total, prueba F para varianza de dos muestras

Nivel	F Experimental	F Crítico	Diferencia
2	0,889	3,18	No
3	1,211	3,18	No

Fuente: El Autor

Como se puede ver en la Tabla 36 el $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$: De esta manera se confirma que no hay diferencia significativa, ya que cumple con el criterio de aceptación el cual indica que el $F_{\text{Crítico}}$ tiene que ser mayor al $F_{\text{Experimental}}$.

Tabla 37 Reproducibilidad de dureza total, prueba T para 2 variables correlacionadas o pareadas

Nivel	T Experimental	T Crítico	Diferencia
2	0,129	2,262	No
3	0,407	2,262	No

Fuente: El Autor

Como se observa en la Tabla 37 no hay diferencia significativa, ya que los valores del $T_{\text{Crítico}}$ son mayores que los calculados en el $T_{\text{Experimental}}$, cumpliendo con el criterio de aceptación en cual manifiesta que el $T_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor al $T_{\text{Experimental}}$.

Con los resultados presentados en la Tabla 36 y 37 se puede demostrar que el método es reproducible, debido a que tanto la prueba F como la prueba T no presentan diferencia significativa.

Nota: El análisis de reproducibilidad para la prueba T, lo realizó el mismo analista pero en diferentes semanas.

- **Exactitud**

Se analizó por duplicado muestras de agua natural de esta manera se encontró la concentración del analito en la matriz. Se enriqueció con una solución estándar de “Hardness/TSS - WP” (material de referencia certificado), en diferentes niveles de concentración (5, 50 y 100 mg/l). Para su determinación se evalúa en base al porcentaje de recuperación obtenido. En la Tabla 38 se presentan los resultados para recuperación en dureza total.

Tabla 38 Recuperación para dureza total

Nº	Concentración de la muestra (mg/l)	Concentraciones + muestra			Recuperación		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
		5 mg/l	50 mg/l	100 mg/l			
1	9,36	14,56	59,80	108,16	104%	101%	99%
2	16,64	21,49	68,12	115,44	97%	103%	99%
3	12,48	17,33	61,36	113,36	97%	98%	101%
4	11,44	16,64	62,40	109,20	104%	102%	98%
5	10,4	15,25	59,80	111,28	97%	99%	101%
6	13,52	18,72	64,48	114,40	104%	102%	101%
7	7,28	12,48	57,72	104,00	104%	101%	97%
8	14,56	19,76	63,44	112,32	104%	98%	98%
9	8,32	13,27	59,28	108,16	99%	102%	100%
10	15,6	20,80	67,08	117,52	104%	103%	102%

Fuente: El Autor

Como se puede observar en la Tabla 38 el porcentaje de recuperación se encuentra dentro del criterio según la ecuación de Horwitz, en el cual indica que debe estar entre 84 y 116%, además cumple con el criterio establecido en el laboratorio en el cual indica que la recuperación debe estar entre un 94 y 106 %.

- **Gráfico de control**

Con los resultados obtenidos en la Tabla 38 se realiza el gráfico de control para dureza total.

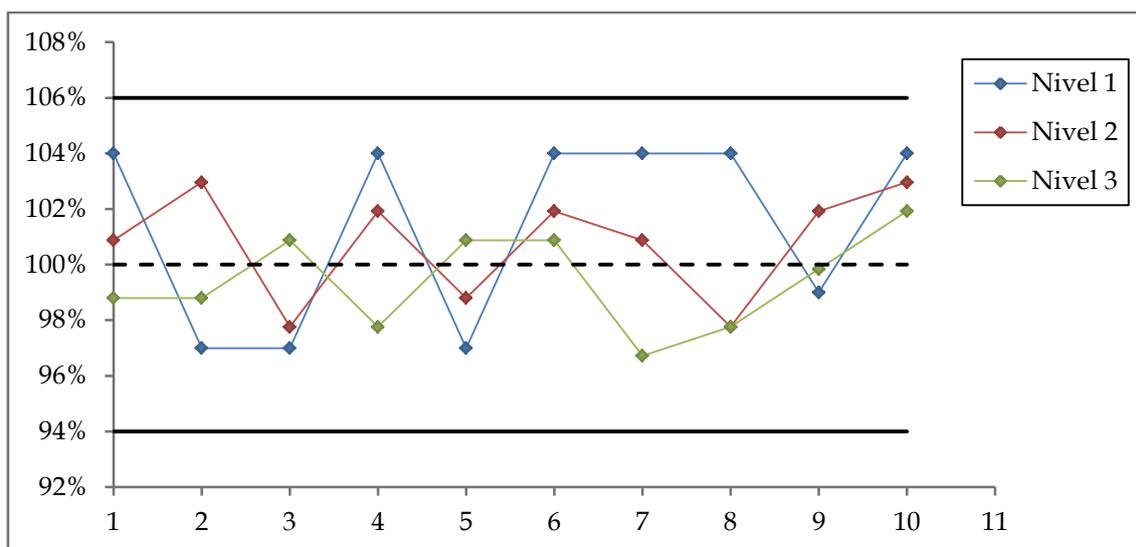


Figura 40 Gráfico de control para dureza total

Fuente: El Autor

Como se observa en la Figura 40 los tres niveles se encuentran dentro de los límites máximos y mínimos del gráfico de control, también se comprobó que no existe tendencia

en los resultados, con esto podemos indicar que el criterio de aceptación se cumple ya que los valores están comprendidos entre del 94 al 106 %.

- **Incertidumbre**

En la Figura 41 se muestran las fuentes de incertidumbre para dureza total, que han sido identificadas en el transcurso de la validación, así como las fuentes que son explícitas que provienen de otras fuentes como certificados, manuales, entre otras. Los cálculos de la incertidumbre para cloruros se presentan en el Anexo VII.

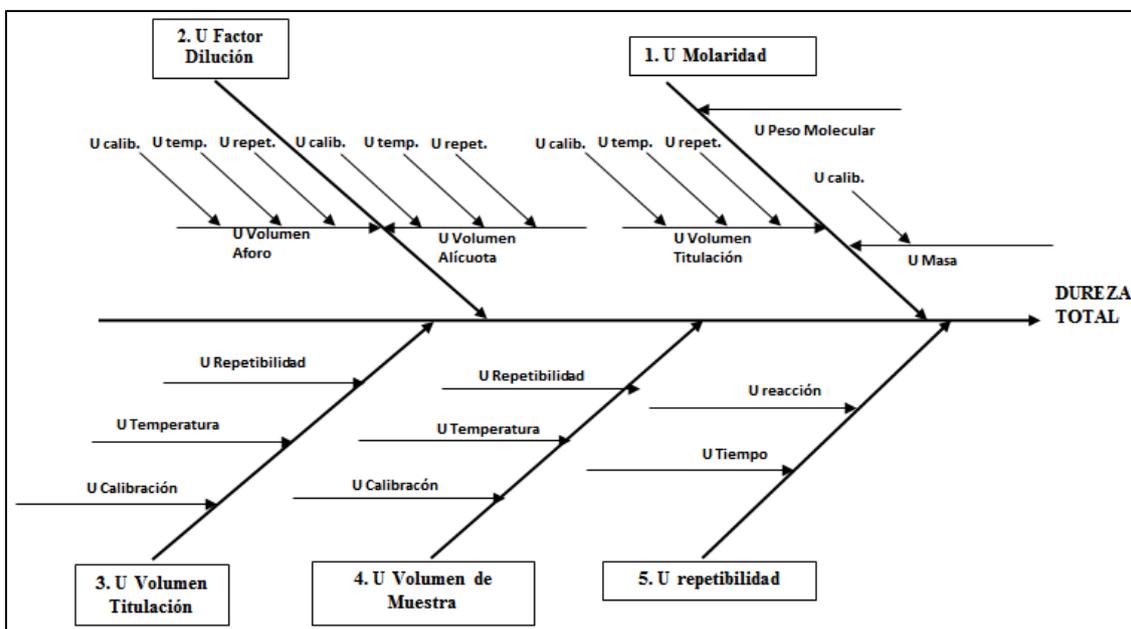


Figura 41 Diagrama causa efecto para fuentes de incertidumbre de dureza total
Fuente: El Autor

En la Tabla 39 se presenta la incertidumbre en la validación de dureza total, los resultados obtenidos se muestran por nivel de trabajo. La incertidumbre expandida reporta un 95% de confianza en el valor del método.[17]

Tabla 39 Incertidumbre dureza total

Concentración mg/l	U expandida mg/l
5	0,483
10	0,785
50	1,394
100	3,811
193	7,518

Fuente: El Autor

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En base a los diferentes análisis que se realizó en la validación se llegó a las siguientes conclusiones.

- Se logró validar métodos físicos químicos para la cuantificación de DBO, DQO, nitritos, sólidos totales, cloruros y dureza total en aguas residuales, aguas naturales y agua potable, analizando parámetros como linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, gráficos de control e incertidumbre, cumpliendo cada uno de estos con los criterios de aceptación requeridos.
- En la linealidad tanto de DQO como de nitrito se determina que el coeficiente de correlación es mayor a 0,995 lo que indica que el método posee linealidad estadística para las diferentes concentraciones con las que se trabajó por lo tanto cumplen con los requisitos indicados en “Análisis instrumental: Algunas herramientas de enseñanza-aprendizaje adaptadas al EEES”
- El coeficiente de variación de cada uno de los métodos en los diferentes niveles de concentración, proporcionó valores menores al 15%, cumpliendo con los criterios de aceptación que se muestran tanto en “Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation” como en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos” lo que indica que los métodos tiene repetibilidad.
- Para la determinación de repetibilidad se usó un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95%, comprobando que no hay diferencia significativa en ninguno de los niveles en los diferentes métodos, cumpliendo con el criterio de aceptación que indica que el $F_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor al $F_{\text{Experimental}}$, señalado en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos”
- Para reproducibilidad se usó una prueba t-student para 2 variables correlacionadas o pareada, usando la misma muestra, el mismo analista pero el ensayo se los realizó en diferentes semanas, como resultado de esto se obtuvo que los métodos en los diferentes niveles cumplen con el criterio de aceptación el cual indica que $T_{\text{Crítico}}$ debe ser mayor al $T_{\text{Experimental}}$, indicado en “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos”

- Se logró establecer por medio de estudios de laboratorio una base de datos que demuestra que los métodos analíticos validados, tienen las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos del laboratorio.

Recomendaciones

- En la determinación de dureza total se recomienda aumentar volumen de muestra si el volumen de titulación es demasiado bajo con la finalidad de obtener resultados con mayor precisión.
- Cuando se desequen las cápsulas en sólidos totales tomar el tiempo exacto (40 minutos), ya que empiezan a ganar humedad y esto produce resultados erróneos.
- Cada vez que se haga un ensayo el técnico analista deberá realizar una recuperación del método con la finalidad de verificar los resultados.
- Las botellas de incubación, magnetos y depósitos de álcalis para DBO se recomienda lavarlas bien con agua caliente, sin la utilización de detergente ya que su alta concentración en DBO puede afectar las mediciones posteriores si quedan trazas del detergente en los recipientes.
- Una vez realizada la validación de estos ensayos se debe participar en interlaboratorios para acreditar los mismos.
- Para DBO se recomienda preparar agua de dilución cada vez que se va realizar el ensayo, ya que los nutrientes se pueden degradar y los microorganismos no desarrollen, y el ensayo no obtenga un buen resultado.
- La incubadora Lab-Line Ambi-Hi-Low, para poder hacer el ensayo de DBO necesariamente tiene que estar a $20 \pm 1^\circ\text{C}$, ya que un cambio brusco en la temperatura hace que los sensores DBO den resultados erróneos.
- Al momento de hacer la lectura para nitrito, DQO, las celdas tiene que estar en perfecto estado y totalmente limpias, de esta manera se obtendrá buenos resultados en la lectura.
- Se tiene que trabajar con materiales de referencia certificados y en perfecto estado ya que de esta forma se obtendrán resultados confiables (en el Anexo IX se muestran los certificados de análisis).
- Se debe trabajar con material volumétrico de vidrio limpio, seco, en buen estado y debidamente calibrado mediante calibraciones internas por el personal del laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. LEÓN, C., 2009, *Estandarización y validación de una técnica para medición de la demanda bioquímica de oxígeno por el método respirométrico y la demanda química de oxígeno por el método colorimétrico*, Univesidad Tecnológica de Pereira: Pereira - Colombia.
2. *Validación secundaria de sólidos totales de aguas empleando horno microondas*. 2012 (Fecha de consulta: 2-09-2012)]; Available from: <http://www.validacionesquimicasymicrobiologicas.com/>.
3. RICE, E. and others, 2012, *Standard Methods For The Examination Of Water and Wastewater*. Vol. Twelfth edition. Washington, Dc 20001-3710: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
4. CASTILLO, D. and J. PÉREZ, 2008, *Implemetación y validación de técnicas analíticas para el control de calidad en aguas de consumo humano y aguas residuales.*, Univeridad Técnica Particular de Loja: Loja - Ecuador. p. 407.
5. DUFFAU, B. and others. 2010, *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos"*. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA; Available from: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documentotecnico>.
6. BIEVRE, P. and y. otros. 2005, *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. GUÍA EURACHEM. (Fecha de consulta: 27-06-2012)]; Segunda Edición:[Available from: <http://www.metroquimica.com.ar/descargas/Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf>].
7. *Guía de validación de métodos analíticos*. 2009, MINISTERIO DE SALUD (Fecha de consulta 19-07-2012); Available from: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/empresas/protocolos/guiavalidacionmetodosanaliticos.pdf>.
8. VEGA, G. 2011, *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. (Fecha de consulta: 08-11-2012); Available from: www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/.../cvfq032011.pdf.
9. BÁEZ, M., 2009, *Validación de métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente*, Escuela Politécnica del Ejército: Sangolqui - Ecuador

10. OROZCO, C. and others, 2008, *Contaminación ambiental "Una visión desde la química"*. Vol. Primera Edición. España: Thomson Editores Spain. 681.
11. ECHARRI, L., 1998, *Ciencias de la tierra y del medio ambiente*, Teide.
12. PAUTA, G., 1998, *Manual de teoría y prácticas de análisis de aguas*, Universidad de Cuenca "Facultad de Ingeniería": Cuenca.
13. SKOOG, D. and others, 2001, *Principios de Análisis Instrumental*. Vol. Quinta Edición. España: McGRAW -HILL/ Interamericana de España, S.A.U 1023.
14. RUBINSON, K. and others, 2001, *Análisis Instrumental*. Vol. Primera Edición. España: Pearson Educación S.A. 872.
15. Jesús, F. and others. 2005, *Métodos analíticos para aguas residuales*. Proyecto Life 2005 (Fecha de consulta: 23-06-2011); Available from: <http://www.fundacionglobalnature.org/macrophytes/documentacion/Cap%EDtulos%20Manual/Cap%EDtulos%20Anexos1.pdf>.
16. ÁVILA, M. and othres. 2011, *Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅)*. Corporación Universitaria de la Costa. (Fecha de consulta: 27-08-2012); Available from: http://www.slideshare.net/slideshow/slideshow_removed?title=Experiencia+DBO&type=document.
17. ELLISON, R. and others, 2012, *Quantifying uncertainty in analytical measurement*. EURACHEM CITAC. Vol. Third edition.: QUAM:2012.P1.
18. *Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation*. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070107.pdf>.

ANEXOS

ANEXO I

Cálculos

1. Cloruros

Estandarización de la solución de nitrato de plata

Se preparó una solución de nitrato de plata de concentración 0,0141 N

Masa molecular del $\text{AgNO}_3 = 169,87 \text{ g/mol}$

1 N \longrightarrow 169,87g AgNO_3

0,0141 N \longrightarrow x

$$x = \frac{0,0141 \text{ N} * 169,78 \text{ g}}{1 \text{ N}}$$

$$x = 2,395 \text{ g}$$

Se preparó 500 ml de solución valorante

1000 ml \longrightarrow 2,395 g

500 ml \longrightarrow x

$$x = \frac{500 \text{ ml} * 2,395 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 1,1975 \text{ g}$$

Luego se pesó aproximadamente 0,01 g de NaCl y se lo diluyó en 50 ml de agua destilada.

Esta solución nos permitirá estandarizar la solución de nitrato de plata.

Peso de NaCl= 0,0122 g

Al realizar la valoración se gastó un volumen de 15,4 ml de la solución de AgNO_3 . Para evitar errores en la valoración se corre un blanco con agua destilada gastándose 0,4 ml.

Se utiliza la siguiente fórmula para determinar la normalidad real del nitrato de plata:

Eq_{NaCl} = Equivalente Químico NaCl: 58,45 g/mol

$$NR = \frac{W_{\text{NaCl}} \times 1000}{V_{\text{gastado}} \times \text{Eq}_{\text{NaCl}}}$$

$$NR = \frac{0,0122 \times 1000}{(15,4 - 0,4) \times 58,45}$$

$$NR = \frac{0,0122 \times 1000}{(15,4 - 0,4) \times 58,45}$$

$$NR = 0,0139 N$$

2. Dureza Total

Estandarización de la solución de EDTA

La solución de EDTA 0,0104 M se estandarizó, pesando alrededor de 0,1 g de CaCO_3 , a ésta se la disolvió en 100 ml y luego se tomó una alícuota de 10 ml y se la tituló con EDTA

$$\begin{array}{l} 100 \text{ ml} \longrightarrow 0,1037 \text{ g CaCO}_3 \\ 10 \text{ ml} \longrightarrow x \end{array}$$

$$x = 0,01037 \text{ g CaCO}_3$$

El volumen de la titulación fue 10 ml

$$MR = \frac{g\text{CaCO}_3 \times 1000}{V \times \text{Masa molecular CaCO}_3}$$

$$MR = \frac{0,01037 \times 1000}{10 \times 100,98}$$

$$MR = 0,0103 M$$

ANEXO II

Resultados Obtenidos

DBO

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos de DBO, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron debido a que se enriqueció matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual con el patrón DBO “BOD Standard” de concentración de 210 mg/l.

Nº	42 ppm	84 ppm	105 ppm	210 ppm
1	40	83	102	228
2	43	87	105	217
3	42	84	104	228
4	44	82	98	217
5	40	85	107	223
6	42	82	104	220
7	45	83	107	223
8	42	89	104	227
9	42	87	106	211
10	41	83	108	209
11	42	82	105	229
12	43	85	103	227
13	42	81	109	228
14	43	82	104	226
15	43	84	109	210
16	39	87	96	227
17	43	86	106	210
18	39	85	107	221
19	42	85	105	228
20	41	84	100	226
21	40	85	107	213
22	41	84	103	209
23	43	82	105	225
24	42	87	108	221
25	43	84	107	214

Fuente: El Autor

DQO

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos para DQO, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron debido a que se enriqueció matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual con el estándar de DQO “Chemical Oxygen Demand Estándar solution” de concentración de 1000 mg/l.

Nº	20 ppm		50 ppm		100 ppm		200 ppm		500 ppm		1000 ppm	
	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.	Conc.	Abs.
1	21	0,010	49	0,022	106	0,047	206	0,092	494	0,219	1014	0,459
2	20	0,009	50	0,022	106	0,047	208	0,092	491	0,218	993	0,441
3	21	0,010	54	0,024	100	0,044	204	0,090	512	0,217	1001	0,444
4	19	0,009	53	0,023	106	0,047	198	0,088	497	0,220	1024	0,455
5	19	0,009	50	0,022	106	0,044	193	0,086	495	0,220	1002	0,445
6	21	0,010	50	0,022	101	0,045	209	0,093	498	0,221	1002	0,445
7	21	0,010	52	0,023	109	0,048	204	0,091	495	0,220	1020	0,453
8	20	0,009	55	0,025	99	0,044	209	0,093	497	0,220	993	0,441
9	20	0,009	51	0,023	100	0,045	204	0,091	499	0,221	1005	0,448
10	21	0,011	48	0,021	97	0,043	220	0,097	495	0,220	995	0,442
11	19	0,009	53	0,025	101	0,045	212	0,094	498	0,221	1001	0,444
12	19	0,009	54	0,024	100	0,044	206	0,092	490	0,217	1020	0,453
13	19	0,009	48	0,021	95	0,043	206	0,091	498	0,221	1002	0,445
14	20	0,009	53	0,024	98	0,043	206	0,092	519	0,224	993	0,442
15	21	0,010	53	0,024	100	0,044	203	0,090	491	0,218	1023	0,454
16	20	0,010	51	0,023	104	0,046	190	0,084	492	0,219	1030	0,457
17	20	0,010	50	0,022	99	0,044	209	0,093	500	0,222	987	0,452
18	20	0,009	54	0,024	101	0,045	211	0,093	501	0,222	1000	0,444
19	19	0,009	53	0,024	108	0,048	206	0,092	501	0,222	998	0,443
20	21	0,010	51	0,023	100	0,044	210	0,094	495	0,220	996	0,442
21	19	0,009	55	0,025	101	0,045	208	0,092	510	0,222	995	0,442
22	21	0,010	51	0,023	106	0,047	192	0,085	514	0,228	1002	0,445
23	19	0,009	48	0,021	100	0,044	202	0,090	505	0,224	1023	0,454
24	21	0,010	50	0,022	98	0,043	199	0,089	498	0,221	1012	0,448
25	20	0,009	50	0,022	101	0,045	204	0,090	497	0,220	1008	0,470

Fuente: El Autor

NITRITOS

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos de nitritos, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron debido a que se enriqueció matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual, a partir de la solución madre de nitrito de concentración de 10 mg/l, la misma que fue preparada a partir del estándar de nitrito “Nitrite standard solution traceable” de concentración de 1000 mg/l.

N°	0,05 ppm		0,1 ppm		0,3 ppm		0,5 ppm		0,8 ppm	
	Conc	Abs	Conc	Abs	Conc	Abs	Conc	Abs	Conc	Abs
1	0,048	0,086	0,098	0,171	0,293	0,517	0,497	0,877	0,789	1,394
2	0,048	0,085	0,096	0,169	0,296	0,523	0,493	0,871	0,787	1,390
3	0,049	0,086	0,098	0,170	0,295	0,521	0,494	0,873	0,788	1,392
4	0,048	0,086	0,094	0,168	0,293	0,517	0,496	0,876	0,790	1,396
5	0,046	0,081	0,099	0,171	0,296	0,520	0,497	0,878	0,791	1,398
6	0,047	0,084	0,099	0,171	0,300	0,530	0,501	0,885	0,793	1,403
7	0,048	0,086	0,099	0,172	0,291	0,515	0,496	0,876	0,792	1,401
8	0,047	0,085	0,100	0,172	0,295	0,521	0,500	0,883	0,789	1,393
9	0,045	0,082	0,095	0,168	0,293	0,513	0,494	0,872	0,792	1,399
10	0,047	0,084	0,095	0,168	0,296	0,522	0,496	0,876	0,792	1,400
11	0,050	0,089	0,098	0,171	0,295	0,521	0,496	0,876	0,794	1,404
12	0,051	0,091	0,101	0,172	0,296	0,523	0,501	0,886	0,790	1,394
13	0,050	0,089	0,101	0,172	0,285	0,503	0,493	0,871	0,795	1,405
14	0,049	0,088	0,098	0,170	0,293	0,517	0,500	0,883	0,793	1,403
15	0,049	0,088	0,098	0,170	0,294	0,523	0,495	0,875	0,794	1,404
16	0,048	0,086	0,094	0,165	0,294	0,519	0,492	0,871	0,793	1,403
17	0,048	0,086	0,095	0,166	0,295	0,521	0,498	0,880	0,790	1,396
18	0,050	0,090	0,096	0,171	0,293	0,517	0,497	0,878	0,791	1,398
19	0,048	0,087	0,098	0,174	0,299	0,528	0,496	0,877	0,790	1,396
20	0,048	0,086	0,096	0,170	0,301	0,530	0,493	0,872	0,795	1,406
21	0,047	0,085	0,098	0,171	0,300	0,530	0,495	0,876	0,785	1,387
22	0,048	0,087	0,099	0,172	0,296	0,523	0,493	0,873	0,792	1,400
23	0,047	0,085	0,094	0,167	0,288	0,508	0,496	0,875	0,789	1,394
24	0,051	0,090	0,101	0,179	0,293	0,517	0,501	0,886	0,786	1,388
25	0,048	0,087	0,094	0,167	0,303	0,533	0,497	0,877	0,788	1,392

Fuente: El Autor

SÓLIDOS TOTALES

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos de sólidos totales, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron debido a que se enriqueció matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual, a partir de la solución madre de 1000 mg/l, esta se preparó disolviendo 1g de NaCl estándar primario (material de referencia certificado) y disolviéndola en 1l de agua destilada. Para el estándar de 5000 mg/l se diluyó 5g de NaCl estándar primario en 1l de agua.

N°	50 ppm	100 ppm	500 ppm	1000 ppm	5000 ppm
1	47	99	494	1008	4998
2	47	105	497	989	4941
3	51	100	509	1002	5016
4	48	103	502	1001	5002
5	47	105	505	1020	4946
6	49	100	490	999	5012
7	46	95	495	1011	4994
8	51	96	492	997	5002
9	49	104	501	997	5054
10	47	102	499	1000	5010
11	50	96	505	1002	5014
12	46	100	501	1010	5032
13	51	103	499	1000	5031
14	48	99	499	1002	5034
15	47	100	508	993	5004
16	51	102	509	997	5032
17	49	96	509	994	5025
18	52	99	504	1026	4971
19	50	101	502	1020	5071
20	53	103	508	1010	4961
21	49	94	500	1031	5002
22	49	95	489	998	5057
23	48	99	498	1014	4984
24	47	100	493	1013	4987
25	50	94	515	1006	4979

Fuente: El Autor

CLORUROS

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos de cloruros, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron enriqueció las matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual, con diferentes concentraciones a partir del estándar “Chloride standard solution” de concentración 1000 mg/l

Nº	5 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm	500 ppm	1000 ppm
1	5,129	10,207	52,356	103,138	536,817	1044,638
2	5,383	10,461	50,325	102,631	526,661	1054,795
3	4,875	9,953	51,341	105,169	516,505	1014,169
4	5,383	9,953	51,849	101,107	511,426	1024,325
5	4,875	10,715	52,864	102,123	516,505	1029,404
6	4,875	10,461	51,341	103,646	531,739	1034,482
7	5,383	10,461	51,849	103,138	506,348	1024,325
8	4,875	10,715	52,864	102,631	501,270	1029,404
9	5,383	9,953	51,341	102,123	516,505	1044,638
10	5,383	9,953	51,849	102,631	501,270	1004,012
11	5,129	10,207	51,341	103,646	506,348	1009,091
12	5,383	10,207	49,309	105,169	506,348	1009,091
13	5,383	10,715	52,864	103,646	536,817	1024,325
14	4,875	10,461	53,372	102,631	516,505	1019,247
15	5,383	10,715	51,341	104,154	521,583	1019,247
16	5,383	9,953	49,309	102,631	506,348	1024,325
17	5,129	10,461	51,849	102,631	516,505	1029,404
18	5,129	10,207	53,372	102,123	516,505	1029,404
19	5,383	10,207	51,341	103,138	526,661	1029,404
20	4,875	10,715	49,309	104,154	501,270	1009,091
21	5,383	10,461	51,849	105,169	521,583	1034,482
22	5,383	10,461	51,849	102,123	531,739	1044,638
23	5,383	10,207	49,309	104,154	496,192	1029,404
24	5,129	10,461	51,341	103,646	536,817	1024,325
25	5,129	9,953	52,864	102,631	511,426	1009,091

Fuente: El Autor

Dureza total

En la siguiente Tabla se presentan los datos obtenidos de dureza total, con los cuales se realizó la validación. Éstos se obtuvieron enriqueciendo las matrices de agua natural, agua de consumo y agua residual, con diferentes concentraciones a partir del estándar “Hardness/TSS - WP” de concentración 193 mg/l

N°	5 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm	193 ppm
1	4,85	10,05	53,04	100,88	196,56
2	5,20	10,40	52,00	98,80	201,76
3	4,85	9,71	52,00	102,96	186,16
4	5,20	10,40	49,92	98,80	191,36
5	4,85	10,05	53,04	102,96	196,56
6	5,20	10,40	52,00	96,72	191,36
7	4,85	10,40	48,88	102,96	196,56
8	5,20	9,71	50,96	100,88	191,36
9	4,85	10,40	49,92	96,72	196,56
10	5,17	9,71	53,04	100,88	201,76
11	4,85	10,05	48,88	100,88	196,56
12	5,20	10,05	49,92	102,96	201,76
13	4,85	9,71	53,04	96,72	191,36
14	4,85	10,05	50,96	102,96	196,56
15	5,20	10,40	53,04	98,80	191,36
16	5,20	10,40	50,96	102,96	191,36
17	5,20	10,40	52,00	100,88	196,56
18	5,20	10,05	53,04	96,72	186,16
19	4,85	9,71	53,04	102,96	196,56
20	5,20	10,40	50,96	100,88	196,56
21	4,85	10,05	53,04	96,72	201,76
22	5,20	9,71	50,96	102,96	196,56
23	4,85	10,40	49,92	102,96	196,56
24	5,20	10,05	49,92	102,96	196,56
25	4,85	10,40	52,00	98,80	191,36

Fuente: El Autor

ANEXO III

Cálculo límite detección (dureza total)

Conc. (Dureza)	Concentraciones medidas mg/l										Media	Desv. Est.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	1,04	0,9776	0,9984	1,0608	1,0192	1,04	1,0816	1,0192	1,0608	1,04	1,034	0,031

$$X_{(LoD)} = \bar{X}_{(B)} + 3s_{(B)}$$

$$X_{(LoD)} = 1,034 + 3 * (0,031)$$

$$X_{(LoD)} = 1,13 \text{ mg/l}$$

Cálculo límite cuantificación (dureza total)

$$X_{(LoD)} = \bar{X}_{(B)} + 5s_{(B)}$$

$$X_{(LoD)} = 1,034 + 5 * (0,031)$$

$$X_{(LoD)} = 1,19 \text{ mg/l}$$

ANEXO IV

Cálculo de la linealidad para Nitritos

	X (concentración nitritos en mg/l)	Y (Absorbancia)
	0,05	0,0864
	0,1	0,1703
	0,3	0,5205
	0,5	0,8769
	0,8	1,3974
Sumatoria	1,750	3,051

Cálculo de la pendiente e intercepto

	X (concentración nitritos en mg/l)	Y Absorbancia	(X*Y)	X²
1	0,05	0,0864	0,00432	0,0025
2	0,1	0,1703	0,01703	0,01
3	0,3	0,5205	0,15614	0,09
4	0,5	0,8769	0,43846	0,25
5	0,8	1,3974	1,11795	0,64
sumatoria	1,750	3,051	1,734	0,993

Pendiente

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

$$m = \frac{5(1,734) - (1,750 * 3,051)}{5(0,993) - (1,750)^2}$$

$$m = 1,75233$$

Intercepto

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

$$b = \frac{(3,051 * 0,993) - (1,750 * 1,734)}{5 * 0,993 - (1,750)^2}$$

$$b = -0,0030$$

Coeficiente de Correlación

	X(NO2)	(X - \bar{x})	(X - \bar{x})²	Y	(Y - \bar{y})	(Y - \bar{y})²	(X - \bar{x})(Y - \bar{y})
1	0,05	-0,300	0,09000	0,086	-0,524	0,275	0,1572
2	0,1	-0,250	0,06250	0,170	-0,440	0,194	0,1100
4	0,3	-0,050	0,00250	0,520	-0,090	0,008	0,0045
5	0,5	0,150	0,02250	0,877	0,267	0,071	0,0400
6	0,8	0,450	0,20250	1,397	0,787	0,620	0,3542
Sumatoria	1,750		0,380	3,051		1,167	0,6659
media	0,350			0,610			

Coefficiente de correlación

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

$$r = \frac{0,6659}{\sqrt{0,380 * 1,167}}$$

$$r = 0,9999$$

Cálculo de residuos

X(NO2)	Y	y' pronóstico	yi =residuo
0,05	0,0864	0,08460	0,00176
0,1	0,1703	0,17221	-0,00193
0,3	0,5205	0,52268	-0,00220
0,5	0,8769	0,87314	0,00378
0,8	1,3974	1,39884	-0,00140

y' pronóstico

$$y' = x * m + b$$

$$y' = 0,05 * 1,75233 + (-0,003)$$

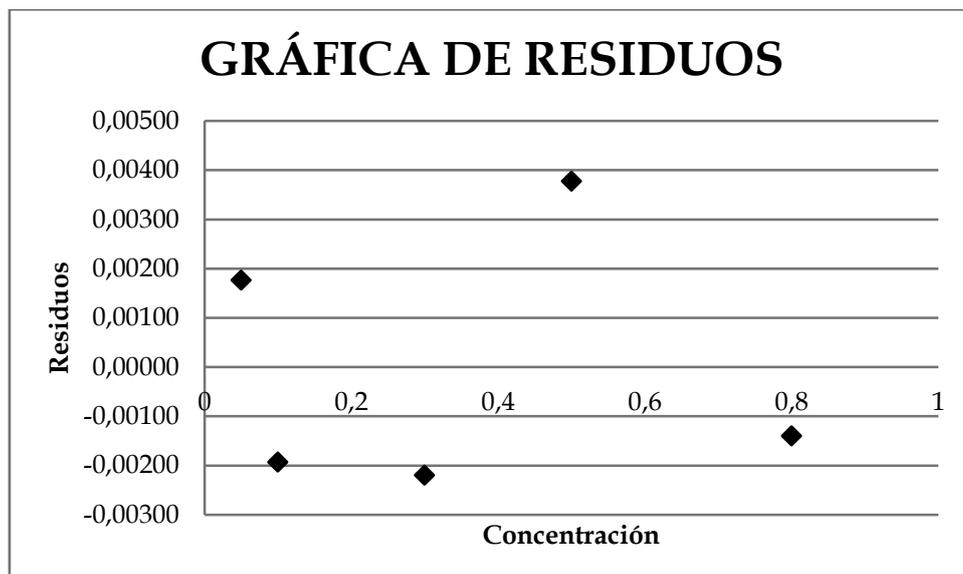
$$y' = 0,08460$$

Residuo

$$yi = y - y'pronóstico$$

$$yi = 0,0864 - 0,08460$$

$$yi = 0,00176$$



ANEXO V

Cálculo Repetibilidad (Dureza Total)

Para el nivel 2

Concentraciones					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
	53,04	52,00	48,88	50,96	53,04
	52,00	48,88	49,92	52,00	50,96
	52,00	50,96	53,04	53,04	49,92
	49,92	49,92	50,96	53,04	49,92
	53,04	53,04	53,04	50,96	52,00
Media muestra	52,00	50,96	51,17	52,00	51,17
Número de datos	5	5	5	5	5

Gran media muestra

$$\bar{x} = \frac{\bar{X}_{día1} + \bar{X}_{día2} + \bar{X}_{día3} + \bar{X}_{día4} + \bar{X}_{día5}}{n}$$
$$\bar{x} = \frac{52,00 + 50,96 + 51,17 + 52,00 + 51,17}{5}$$
$$\bar{x} = 51,46$$

Variación Cuadrática

$$V_T = \sum (x_{1día1} - \bar{x})^2 + \sum (x_{2día1} - \bar{x})^2 + \dots + \sum (x_{5día5} - \bar{x})^2$$

$$V_T = 47,85$$

Variación al cuadrado entre las muestras por filas

$$V_R = n \sum (\bar{X}_{día} - \bar{x})^2$$

$$V_R = 5((52,00 - 51,46)^2 + (50,96 - 51,46)^2 + (51,17 - 51,46)^2 + (52,00 - 51,46)^2 + (52,27 - 51,46)^2)$$

$$V_R = 5,019$$

Variación al cuadrado debido al error aleatorio

$$V_e = V_T - V_R$$

$$V_e = 47,85 - 9,84$$

$$V_e = 42,831$$

Variación cuadrática	Valor	Grados de libertad	Cuadrados medios	F
Entre muestras por filas (V_R)	5,019	4	$\frac{V_R}{m-1} = 1,255$	0,583
Error aleatorio (V_e)	42,831	20	$\frac{V_e}{mn-m} = 2,152$	
Total (V_T)	47,85	24		

ANEXO VI

Cálculo Reproducibilidad (Cloruros)

Prueba F para varianza de dos muestras.

Análisis reproducibilidad en cloruros para el nivel 2					
A	B	A- \bar{A}	B- \bar{B}	(A-A) ²	(B-B) ²
103,138	102,631	0,305	-0,609	0,0928	0,3714
102,631	102,631	-0,203	-0,609	0,0413	0,3714
105,170	102,123	2,336	-1,117	5,4568	1,2481
101,107	103,138	-1,727	-0,102	2,9811	0,0103
102,123	104,154	-0,711	0,914	0,5054	0,8355
103,646	105,170	0,813	1,930	0,6602	3,7238
103,138	102,123	0,305	-1,117	0,0928	1,2481
102,631	104,154	-0,203	0,914	0,0413	0,8355
102,123	103,646	-0,711	0,406	0,5054	0,1650
102,631	102,631	-0,203	-0,609	0,0413	0,3714
Sumatoria	102,834	103,240	Sumatoria	10,4184	9,1806
			Desviación	1,0759	1,0099
			Varianza	1,1575	1,0199

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

$$s = \sqrt{\frac{10,4184}{10 - 1}}$$

$$s = 1,0759$$

$$V_A = s^2$$

$$V_A = (1,0759)^2$$

$$V_A = 1,1575$$

$$F = \frac{V_A}{V_B}$$

$$F = \frac{1,1575}{1,0199}$$

$$F = 1,135$$

	A	B
Media	102,834	103,240
Varianza	1,1575	1,0199
Observaciones	10	10
Grados de Libertad	9	9
F	2,7694	
Valor critico F	1,135	
Diferencia	NO	

No hay diferencia significativa debido a que $F_{\text{Crítico}} > F_{\text{Experimental}}$ $2,7694 > 1,135$

Prueba t para 2 variables correlacionadas o pareadas.

Concentraciones obtenidas en diferentes semanas		X Δ
A	B	
5,129	5,129	0,000
5,383	5,383	0,000
4,875	5,383	-0,508
5,383	4,875	0,508
4,875	5,383	-0,508
4,875	5,383	-0,508
5,383	5,129	0,254
4,875	5,129	-0,254
5,383	5,383	0,000
5,383	4,875	0,508
MEDIA		-0,05078
Desviación Estándar		0,393
Grados de libertad		9
Valor T crítico		2,262

$$x_{\Delta} = \frac{\sum(A - B)}{n}$$

$$x_{\Delta} = \frac{-0,578}{10}$$

$$x_{\Delta} = -0,0578$$

$$t_{calc} = \frac{|x_{\Delta}|}{\left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)}$$

$$t_{calc} = \frac{|-0,0578|}{\left(\frac{0,393}{\sqrt{10}}\right)}$$

$$t_{calc} = 0,4082$$

No hay diferencia significativa ya que el T_{Crítico} > T_{Experimental} 2,269 > 0,4082

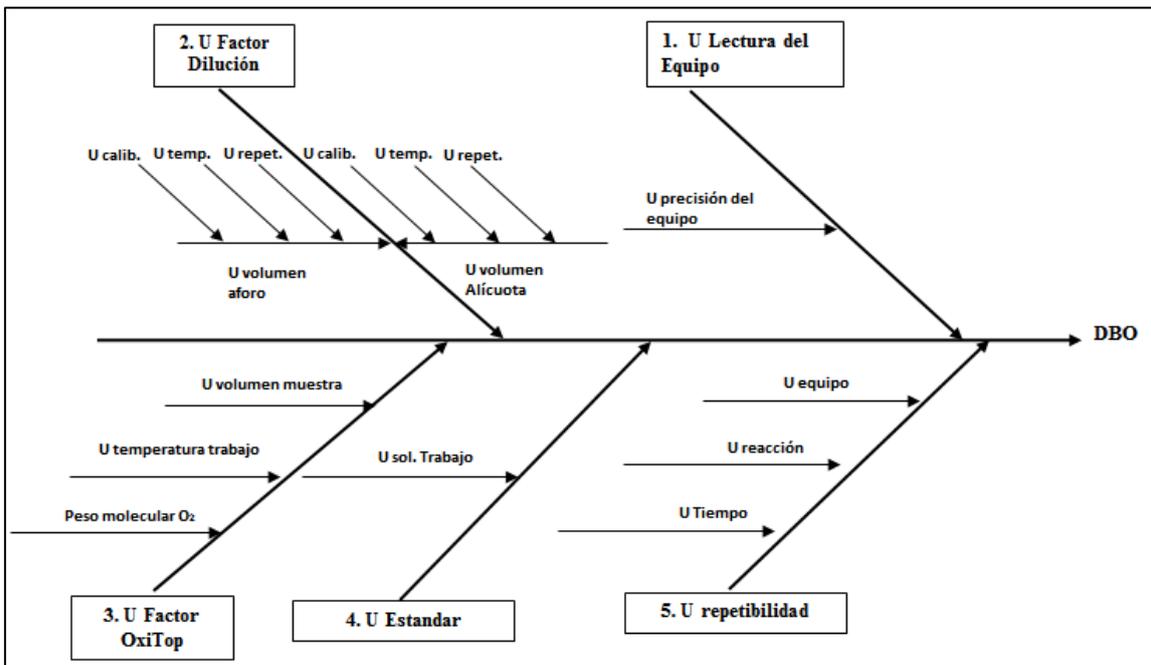
ANEXO VII

Cálculo Incertidumbre

Para el cálculo de la incertidumbre se presentan un ejemplo de un nivel de un método como se muestra en la siguiente tabla.

Método	Cálculo de incertidumbre
Respirométrico	DQO
Colorimétrico	Nitritos
Gravimétrico	Sólidos Totales
Volumétrico	Cloruros

Incertidumbre DBO



Fuente: El Autor

1. Incertidumbre debido a la lectura del equipo

Máxima lectura esperada = 105

Precisión del equipo = 1 dígito

$$U(L) = \sqrt{\left(\frac{\text{Presión}}{\sqrt{3} * \text{Max}_{lectura}}\right)^2}$$

$$U(L) = \sqrt{\left(\frac{1}{\sqrt{3} * 105}\right)^2}$$

$$U(L) = 0,0055$$

2. Incertidumbre factor dilución

Incertidumbre alícuota de 125ml (para este proceso se mide en un balón de 100 y un balón de 25 ml con esto completamos la alícuota)

Marca	Volumen	Tolerancia
Balón	100	±0,1

Repeticiones	Volumen
99,3556	99,5347
99,4208	99,6000
99,5040	99,6833
99,5903	99,7698
99,4649	99,6442
99,5501	99,7295
99,5049	99,6842
99,5034	99,6827
99,5741	99,7536
99,5048	99,6841
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,070453

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times V \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,1ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times 6,5ml \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0779167 ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{7,5 \times 10^{-3} ml^2 + 0,011255ml + 6,071 \times 10^{-3}}$$

$$U_{Aforo} = 0,15756 ml$$

Marca	Volumen	Tolerancia
Balón	25	±0,04

Repeticiones	Volumen
24,9581	25,0031
24,9503	24,9953
24,9589	25,0039
24,9507	24,9957
24,9587	25,0037
24,9507	24,9957
24,9616	25,0066
24,9540	24,9990
24,9594	25,0044
24,9492	24,9942
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0046617

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times V \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,04ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times 25ml \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0046617ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{5,333 \times 10^{-4} ml^2 + 1,011255 \times 10^{-4} ml^2 + 2,1731 \times 10^{-5} ml^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,025838 ml$$

Incertidumbre combinada aforo

$$U_{fd} = fd \times \sqrt{\left(\frac{U_{Aforo}}{V_{Aforo}}\right)^2 + \left(\frac{U_{Alicuota}}{V_{Alicuota}}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 125 \times \sqrt{\left(\frac{0,15756ml}{100ml}\right)^2 + \left(\frac{0,025838ml}{25ml}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 0,18019$$

Incertidumbre volumen de aforo

Marca	Volumen	Tolerancia
GERMANY	250	± 0,15

Repeticiones	Volumen
249,9300	250,3804
249,9900	250,4405
250,0100	250,4606
250,1000	250,5507
250,0400	250,4906
249,9000	250,3504
250,1300	250,5808
250,0800	250,5307
250,1000	250,5507
249,9700	250,4205
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0780649

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times V \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,15ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5 \times 250ml \times 2,1E^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,078064 ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,15764ml$$

Incertidumbre combinada Factor dilución

$$U_{fd} = fd \times \sqrt{\left(\frac{U_{Aforo}}{V_{Aforo}}\right)^2 + \left(\frac{U_{Alicuota}}{V_{Alicuota}}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 2 \times \sqrt{\left(\frac{0,15764ml}{250ml}\right)^2 + \left(\frac{0,18019ml}{125ml}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 0,00315$$

3. Incertidumbre Factor OxiTop

Ecuación Factor OxiTop

M(O₂)	Peso molecular del oxígeno (32000 mg/mol)	32000
R	Constante de gas (83,144 l mbar/mol K)	83,144
To	Temperatura de referencia (273 k)	273
Tm	Temperatura de incubadora (293 K)	293
Vtot	Volumen botella	500
VI	Volumen muestra	250
a	coeficiente de absorción de BUNSEN (0,03103
Dp (O₂)	[hPa]	0,01

$$BOD = \frac{M(O_2)}{RT_m} \left(\frac{V_{tot} - V_m}{V_m} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \Delta p(O_2)$$

$$BOD = 0,01357$$

Incertidumbre FO

$$U_{(FO)} = \sqrt{\left[\left(\frac{F_{BOD}}{\sqrt{3} * MmO_2} \right)^2 + \left(\frac{U_{Vm}}{\sqrt{3} * V_m} \right)^2 + \left(\frac{U\Delta pO_2}{\sqrt{3} * T_a} \right)^2 \right] * 2}$$

$$U_{(FO)} = \sqrt{\left[\left(\frac{0,0136}{\sqrt{3} * 32} \right)^2 + \left(\frac{0,15764}{\sqrt{3} * 250} \right)^2 + \left(\frac{1}{\sqrt{3} * 20} \right)^2 \right] * 2}$$

$$U_{(FO)} = 0,04083$$

4. Incertidumbre del estándar

Descripción	ppm
Patrón DBO	± 20

$$U_{estandar} = \frac{U}{k}$$

$$U_{estandar} = \frac{20}{2}$$

$$U_{estandar} = 10$$

Incertidumbre de la concentración

$$U_{Co} = \sqrt{\frac{U_{estandar}}{Co}}$$

$$U_{Co} = \sqrt{\frac{10}{210}}$$

$$U_{Co} = 0,218$$

5. Incertidumbre repetibilidad

102	
105	
104	
98	
107	
104	
107	
104	
106	
108	
Media	104,5
Desviación estándar	3,205204

$$U_{\text{Repetibilidad}} = S$$

$$U_{\text{Repetibilidad}} = 3,205204$$

Incertidumbre combinada para DBO

$$U_{DBO} = C_{O_{DBO}} * \sqrt{U_{\text{Lectura}}^2 + \left(\frac{U_{Fd}}{Fd}\right)^2 + U_{\text{Factor OxiTop}}^2 + \left(\frac{U_{\text{Estándar}}}{Co}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{repetibilidad}}}{Co}\right)^2}$$

$$U_{DBO} = 105 * \sqrt{(0,0055)^2 + \left(\frac{0,00315}{2}\right)^2 + (0,04083)^2 + \left(\frac{0,208}{105}\right)^2 + \left(\frac{3,205204}{105}\right)^2}$$

$$U_{DBO} = 105 * \sqrt{3,025 \times 10^{-5} + 2,481 \times 10^{-6} + 1,6671 \times 10^{-3} + 3,924 \times 10^{-6} + 9,407 \times 10^{-4}}$$

$$U_{DBO} = 105 * \sqrt{3,025 \times 10^{-5} + 2,481 \times 10^{-6} + 1,6671 \times 10^{-3} + 3,924 \times 10^{-6} + 9,407 \times 10^{-4}}$$

$$U_{DBO} = 11,3605$$

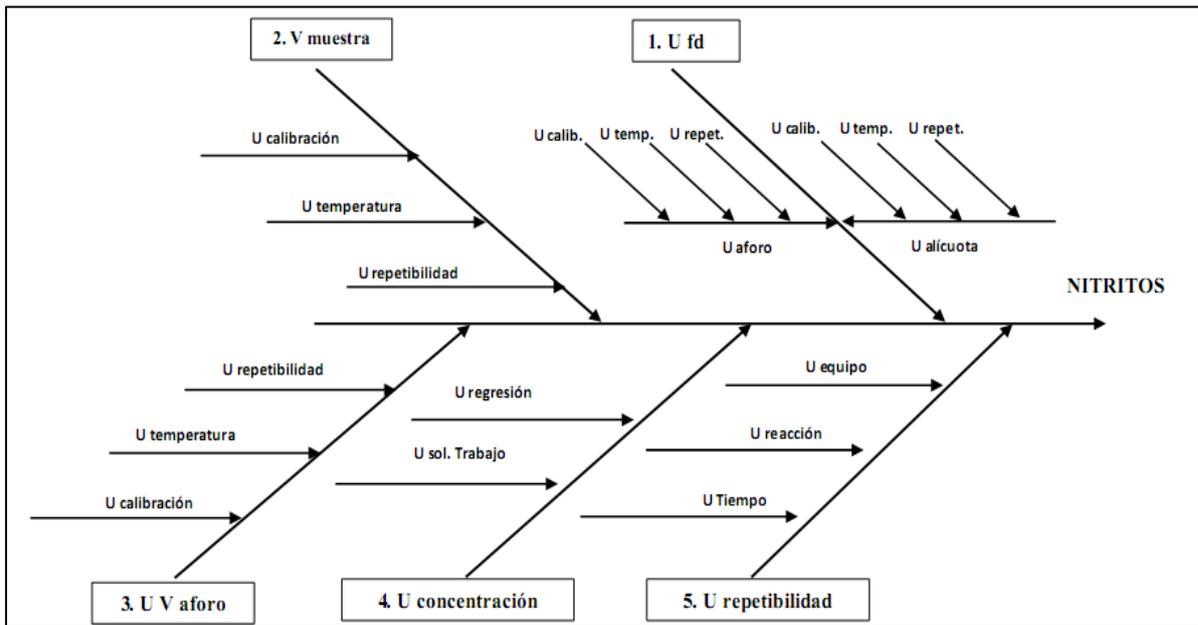
Incertidumbre expandida

$$U_{\text{Expandida}} = U_{DBO} \times 2$$

$$U_{\text{Expandida}} = 11,3605 \times 2$$

$$U_{\text{Expandida}} = 22,72$$

Incertidumbre Nitritos



Fuente: El Autor

1. Incertidumbre del factor dilución

Incertidumbre debido al aforo

Se utiliza una distribución rectangular debido a que los resultados son igualmente
Piensan

Marca	Volumen	Tolerancia
GERMANY/ balón	250	$\pm 0,15$

Repeticiones	Volumen
249,9300	250,3804
249,9900	250,4405
250,0100	250,4605
250,1000	250,5507
250,0400	250,4906
249,9000	250,3503
250,1300	250,5807
250,0800	250,5307
250,1000	250,5507
249,9700	250,4205
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0780649

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,15 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 250 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0780649 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,0075 \text{ ml}^2 + 0,011255 \text{ ml}^2 + 0,00609413 \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,157635$$

Incertidumbre debido a la alícuota

Marca	Volumen	Tolerancia
Pipeta/ BRAND	7,5	± 0,1

Repeticiones	Volumen
7,498	7,511513
7,499	7,512515
7,501	7,514519
7,497	7,510511
7,498	7,511513
7,498	7,511814
7,502	7,515520
7,499	7,512515
7,498	7,511613
7,501	7,514418
Temp. °C	20
δ (g/ml)	0,998201
S	0,00162708

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,05 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 7,5 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,00162708 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,0008333 \text{ ml}^2 + 1,01292 \times 10^{-5} \text{ ml}^2 + 2,64741 \times 10^{-6} \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,029088 \text{ ml}$$

Incertidumbre combinada del factor dilución

$$U_{fd} = fd \sqrt{\left(\frac{U_{Aforo}}{V_{Aforo}}\right)^2 + \left(\frac{U_{Alícuota}}{V_{Alícuota}}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 33,33 \times \sqrt{\left(\frac{0,157635 \text{ ml}}{250 \text{ ml}}\right)^2 + \left(\frac{0,029088 \text{ ml}}{7,5 \text{ ml}}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 33,33 \times \sqrt{3,97581 \times 10^{-7} + 8,001923 \times 10^{-5}}$$

$$U_{fd} = 0,1305018$$

2. Incertidumbre del volumen de muestra

Marca	Volumen	Tolerancia
GERMANY/ balón	25	± 0,05

Repeticiones	Volumen
24,9638	25,0029
24,9631	24,9951
24,9629	25,0037
24,9622	24,9955
24,9637	25,0035
24,9639	24,9955
24,9630	25,0065
24,9620	24,9988
24,9626	25,0042
24,9626	24,9940
Temp. °C	20
δ (g/ml)	0,9982064
S	0,000662857

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,05 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 25 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,000662857 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{8,333 \times 10^{-4} \text{ ml}^2 + 1,1255 \times 10^{-4} \text{ ml}^2 + 4,394 \times 10^{-7} \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,030762308 \text{ ml}$$

3. Incertidumbre de la concentración

3.1. Incertidumbre debido a la solución de trabajo

$$C_{Sol\ Trabajo} = \frac{C_{Estandar} * V_{Estandar}}{V_{Sol\ Trabajo}}$$

$$C_{Sol\ Trabajo} = \frac{1000\ ppm * 2\ ml}{200\ ml}$$

$$C_{Sol\ Trabajo} = 10\ ppm$$

Incertidumbre debido a la pureza

Descripción	ppm
CertiPUR Nitritos	± 5

$$U_{Aforo} = \frac{U}{k}$$

$$U_{Aforo} = \frac{5}{2}$$

$$U_{Aforo} = 2,5$$

Incertidumbre debido al balón de 200

Marca	Volumen	Tolerancia
GERMANY/ balón	200	± 0,2

Repeticiones	Volumen
199,9265	200,2868
199,9568	200,3172
199,9485	200,3089
199,9159	200,2762
199,9309	200,2912
199,9255	200,2858
199,9803	200,3407
199,9634	200,3238
199,9574	200,3178
199,9486	200,3090
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0202286

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,2 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 200 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0702556 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,01333333 \text{ ml}^2 + 0,007203 \text{ ml}^2 + 0,0004092 \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,14472571 \text{ ml}$$

Incertidumbre debido a la alícuota de 2 ml

Marca	Volumen	Tolerancia
Pipeta/ BRAND	2	± 0,02

Repeticiones	Volumen
1,9981	2,0066
1,9878	1,9962
1,9863	1,9947
1,9948	2,0033
1,9836	1,9920
1,9987	2,0072
1,9832	1,9916
1,9867	1,9951
1,9964	2,0049
1,9998	2,0083
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,006630454

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,01 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 2 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,06630454 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{3,33310^{-5} \text{ ml}^2 + 7,203 \times 10^{-7} \text{ ml}^2 + 4,3963 \times 10^{-5} \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,008832698 \text{ ml}$$

Incertidumbre combinado de la solución de trabajo

$$U_{Sol Trabajo} = Conc \sqrt{\left(\frac{U_{concnetración}}{Concnetración}\right)^2 + \left(\frac{U_{V.balón}}{V.balón}\right)^2 + \left(\frac{U_{Alicuota}}{Alicuota}\right)^2}$$

$$U_{Sol Trabajo} = 10 ppm \sqrt{\left(\frac{2,5}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0,14472571}{200}\right)^2 + \left(\frac{0,008832698}{2}\right)^2}$$

$$U_{Sol Trabajo} = 10 ppm \sqrt{6,25 \times 10^{-6} + 5,2364 \times 10^{-7} + 1,95041 \times 10^{-5}}$$

$$U_{Sol Trabajo} = 0,051261855 ppm$$

3.2. Incertidumbre debido a la curva de calibración

Pendiente	1,7432
Intersección con el eje x	-0,00563

Nº	X Concentración	(X - \bar{X}) ²	Y Absorbancia	(Y - \bar{Y}) ²
1	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
2	0,048	0,0887	0,0850	0,27617
3	0,049	0,0881	0,0860	0,27512
4	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
5	0,046	0,0899	0,0810	0,28039
6	0,047	0,0893	0,0840	0,27722
7	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
8	0,047	0,0893	0,0850	0,27617
9	0,052	0,0863	0,0920	0,26886
10	0,047	0,0893	0,0840	0,27722
11	0,05	0,0875	0,0890	0,27198
12	0,051	0,0869	0,0910	0,26990
13	0,05	0,0875	0,0890	0,27198
14	0,049	0,0881	0,0880	0,27303
15	0,049	0,0881	0,0880	0,27303
16	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
17	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
18	0,05	0,0875	0,0900	0,27094
19	0,048	0,0887	0,0870	0,27407
20	0,048	0,0887	0,0860	0,27512
21	0,047	0,0893	0,0850	0,27617
22	0,048	0,0887	0,0870	0,27407
23	0,047	0,0893	0,0850	0,27617
24	0,051	0,0869	0,0900	0,27094
25	0,048	0,0887	0,0870	0,27407
26	0,098	0,0614	0,1710	0,19318
27	0,096	0,0624	0,1690	0,19494
28	0,098	0,0614	0,1700	0,19406
29	0,094	0,0634	0,1680	0,19582

Nº	X Concentración	$(X - \bar{X})^2$	Y Absorbancia	$(Y - \bar{Y})^2$
30	0,099	0,0609	0,1710	0,19318
31	0,099	0,0609	0,1710	0,19318
32	0,099	0,0609	0,1720	0,19230
33	0,1	0,0604	0,1720	0,19230
34	0,095	0,0629	0,1680	0,19582
35	0,095	0,0629	0,1680	0,19582
36	0,098	0,0614	0,1710	0,19318
37	0,101	0,0599	0,1720	0,19230
38	0,101	0,0599	0,1720	0,19230
39	0,098	0,0614	0,1700	0,19406
40	0,098	0,0614	0,1700	0,19406
41	0,094	0,0634	0,1650	0,19849
42	0,095	0,0629	0,1660	0,19760
43	0,096	0,0624	0,1710	0,19318
44	0,098	0,0614	0,1740	0,19055
45	0,096	0,0624	0,1700	0,19406
46	0,098	0,0614	0,1710	0,19318
47	0,099	0,0609	0,1720	0,19230
48	0,094	0,0634	0,1670	0,19671
49	0,101	0,0599	0,1790	0,18621
50	0,094	0,0634	0,1670	0,19671
51	0,293	0,0028	0,5170	0,00875
52	0,296	0,0025	0,5230	0,00766
53	0,295	0,0026	0,5210	0,00801
54	0,293	0,0028	0,5170	0,00875
55	0,296	0,0025	0,5200	0,00819
56	0,3	0,0021	0,5300	0,00648
57	0,291	0,0030	0,5150	0,00912
58	0,295	0,0026	0,5210	0,00801
59	0,293	0,0028	0,5130	0,00951
60	0,296	0,0025	0,5220	0,00784
61	0,295	0,0026	0,5210	0,00801
62	0,296	0,0025	0,5230	0,00766
63	0,293	0,0028	0,5030	0,01156
64	0,293	0,0028	0,5170	0,00875
65	0,294	0,0027	0,5230	0,00766
66	0,294	0,0027	0,5190	0,00838
67	0,295	0,0026	0,5210	0,00801
68	0,293	0,0028	0,5170	0,00875
69	0,299	0,0022	0,5280	0,00681
70	0,301	0,0020	0,5300	0,00648
71	0,3	0,0021	0,5300	0,00648
72	0,296	0,0025	0,5230	0,00766
73	0,298	0,0023	0,5080	0,01051

Nº	X Concentración	$(X - \bar{X})^2$	Y Absorbancia	$(Y - \bar{Y})^2$
74	0,293	0,0028	0,5170	0,00875
75	0,303	0,0018	0,5330	0,00601
76	0,497	0,0229	0,8770	0,07101
77	0,493	0,0217	0,8710	0,06785
78	0,494	0,0220	0,8730	0,06890
79	0,496	0,0226	0,8760	0,07048
80	0,497	0,0229	0,8780	0,07155
81	0,501	0,0241	0,8850	0,07534
82	0,496	0,0226	0,8760	0,07048
83	0,5	0,0238	0,8830	0,07425
84	0,494	0,0220	0,8720	0,06837
85	0,496	0,0226	0,8760	0,07048
86	0,496	0,0226	0,8760	0,07048
87	0,501	0,0241	0,8860	0,07589
88	0,493	0,0217	0,8710	0,06785
89	0,5	0,0238	0,8830	0,07425
90	0,495	0,0223	0,8750	0,06995
91	0,492	0,0214	0,8710	0,06785
92	0,498	0,0232	0,8800	0,07262
93	0,497	0,0229	0,8780	0,07155
94	0,496	0,0226	0,8770	0,07101
95	0,493	0,0217	0,8720	0,06837
96	0,495	0,0223	0,8760	0,07048
97	0,493	0,0217	0,8730	0,06890
98	0,496	0,0226	0,8750	0,06995
99	0,501	0,0241	0,8860	0,07589
100	0,497	0,0229	0,8770	0,07101
101	0,789	0,1965	1,3940	0,61384
102	0,787	0,1947	1,3900	0,60759
103	0,788	0,1956	1,3920	0,61071
104	0,79	0,1973	1,3960	0,61698
105	0,791	0,1982	1,3980	0,62012
106	0,793	0,2000	1,4030	0,62802
107	0,792	0,1991	1,4010	0,62486
108	0,789	0,1965	1,3930	0,61227
109	0,792	0,1991	1,3990	0,62170
110	0,792	0,1991	1,4000	0,62328
111	0,794	0,2009	1,4040	0,62961
112	0,79	0,1973	1,3940	0,61384
113	0,795	0,2018	1,4050	0,63120
114	0,793	0,2000	1,4030	0,62802
115	0,794	0,2009	1,4040	0,62961
116	0,793	0,2000	1,4030	0,62802
117	0,79	0,1973	1,3960	0,61698

Nº	X Concentración	$(X - \bar{X})^2$	Y Absorbancia	$(Y - \bar{Y})^2$
118	0,791	0,1982	1,3980	0,62012
119	0,79	0,1973	1,3960	0,61698
120	0,795	0,2018	1,4060	0,63279
121	0,785	0,1929	1,3870	0,60292
122	0,792	0,1991	1,4000	0,62328
123	0,789	0,1965	1,3940	0,61384
124	0,795	0,2018	1,4060	0,63279
125	0,788	0,1956	1,3920	0,61071
Promedio	0,345768		0,61052	
Suma		9,3396		29,4904364
Suma de cuadrados	9,33964			
Std ErrY (y/x)	0,78484494			

Fuente: El Autor

$$S_{parcial} = (C - (b + (m * A)))^2$$

$$S_{parcial} = 0,5202 - (-0,00563 + (1,7432 * 0,3))$$

$$S_{parcial} = 7,616 \times 10^{-6}$$

$$S_{total} = \sqrt{\frac{\sum S_{parcial}}{(n - 2)}}$$

$$S_{total} = \sqrt{\frac{6,3497 \times 10^{-4}}{(125 - 2)}}$$

$$S_{total} = 0,0022721$$

$$S_{xx} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y}_i)^2}{n - 2}}$$

$$S_{xx} = \sqrt{\frac{29,490436}{125 - 2}}$$

$$S_{xx} = 0,4896526$$

Para este ejemplo se tomó la concentración de 0,3

$$U(Co) = \frac{S_{total}}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(Co - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

$$U(Co) = \frac{0,0022721}{1,7432} \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{1}{125} + \frac{(0,3 - 0,345768)^2}{0,487172}}$$

$$U(Co) = 0,000816$$

Incertidumbre combinada de la concentración

$$U(Co) = Co * \sqrt{\left(\frac{U_{Sol\ Trabajo}}{Co\ Sol\ Trabajo}\right)^2 + \left(\frac{U_{curva\ de\ calibración}}{Co}\right)^2}$$

$$U(Co) = 0,3\ ppm * \sqrt{\left(\frac{0,051261855}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,000816}{0,3}\right)^2}$$

$$U(Co) = 0,3\ ppm * \sqrt{5,126182 \times 10^{-3} + 2,72 \times 10^{-2}}$$

$$U(Co) = 0,001740872\ ppm$$

4. Incertidumbre de la repetibilidad

	Co (mg/l)
	0,2968
	0,3002
	0,2990
	0,2968
	0,2985
	0,3042
	0,2956
	0,2990
	0,2945
	0,2996
Promedio	0,29874
S	0,0035574

$$U_{Repetibilidad} = S$$

$$U_{Repetibilidad} = 0,00355574$$

Incertidumbre combinada Nitritos

$$U_{Combinada} = Co_{Nitrito} * \sqrt{\left(\frac{U_{V.aforo}}{V.aforo}\right)^2 + \left(\frac{U_{V.muestra}}{V.muestra}\right)^2 + \left(\frac{U_{Co}}{Co}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd}}{fd}\right)^2 + \left(\frac{U_{Repetibilidad}}{Co_{Nitrito}}\right)^2}$$

$$U_{Combinada} = 0,3 * \sqrt{\left(\frac{0,157635}{250}\right)^2 + \left(\frac{0,030762}{25}\right)^2 + \left(\frac{0,001741}{0,3}\right)^2 + \left(\frac{1,148617}{33,33}\right)^2 + \left(\frac{0,00356}{0,29874}\right)^2}$$

$$U_{Combinada} = 0,3 * \sqrt{3,9758 \times 10^{-7} + 1,5141 \times 10^{-6} + 3,3674 \times 10^{-5} + 1,544 \times 10^{-5} + 1,4048 \times 10^{-4}}$$

$$U_{Combinada} = 0,3 * \sqrt{0,00019151}$$

$$U_{Combinada} = 0,00415158\ mg/l$$

Calculo incertidumbre expandida

$$U_{\text{Expandida}} = k * U_{\text{combinada}}$$

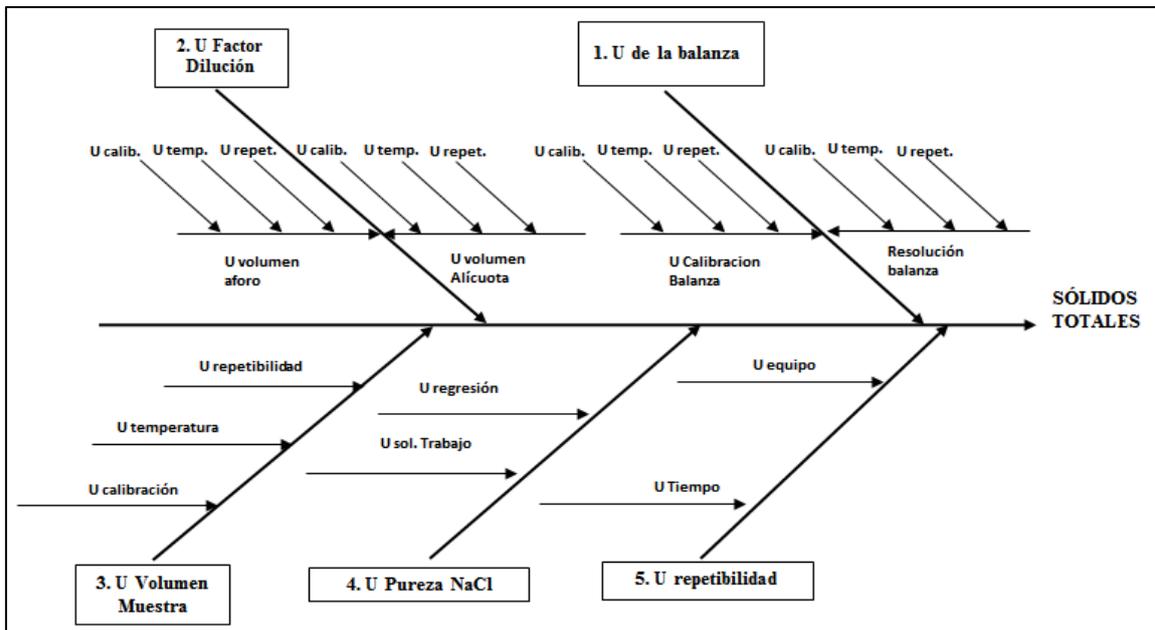
$$U_{\text{Expandida}} = 2 * 0,00415158$$

$$U_{\text{Expandida}} = 0,0083$$

Concentración mg/l	U expandida mg/l
0,05	0,0035
0,1	0,0051
0,3	0,0083
0,5	0,0131
0,8	0,0179

Fuente: El Autor

Incertidumbre Sólidos Totales



Fuente: El Autor

1. Incertidumbre debido a la balanza

Incertidumbre de la resolución de la balanza

$R_b = 0,002$ (resolución balanza)

$$U_{\text{Resolución}} = \frac{R_b}{\sqrt{3}} \times 2$$

$$U_{\text{Resolución}} = \frac{0,002}{\sqrt{3}} \times 2$$

$$U_{\text{Resolución}} = 2,3094 \times 10^{-3}$$

Incertidumbre de la calibración de la balanza

$I_b = 0,00014$ (incertidumbre calibración balanza)

$$U_{\text{Calibración}} = \frac{I_b}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\text{Calibración}} = \frac{0,00014}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\text{Calibración}} = 8,0829 \times 10^{-5}$$

Incertidumbre combinada de la balanza

$$U_{Balanza} = \sqrt{U_{Resolución}^2 + U_{Calibración}^2}$$

$$U_{Balanza} = \sqrt{(2,3094 \times 10^{-3})^2 + (8,0829 \times 10^{-4})^2}$$

$$U_{Balanza} = \sqrt{0,0244677}$$

2. Pureza del estándar NaCl

Pureza	99,92	0,05%
U pureza	0,04618802	

$$U_{pureza} = \frac{Pureza - 100}{\sqrt{3}}$$

$$U_{pureza} = \frac{99,92 - 100}{\sqrt{3}}$$

$$U_{pureza} = 0,046188$$

3. Incertidumbre debido al factor dilución

Incertidumbre debido al aforo

Marca	Volumen	Tolerancia
Balón	1000	± 0,1

Repeticiones	Volumen
1000,0034	1001,8056
999,9956	1001,7978
999,9975	1001,7997
1000,0024	1001,8046
1000,0067	1001,8090
1000,0023	1001,8045
999,9986	1001,8008
999,9954	1001,7976
999,9991	1001,8013
1000,0084	1001,8107
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0044648

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,1 \text{ ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 1000 \text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0044648 \text{ ml})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,003333 \text{ ml}^2 + 0,180075 \text{ ml}^2 + 1,99343 \times 10^{-5} \text{ ml}^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,4282853 \text{ ml}$$

Incertidumbre debido a la masa diluida

	0,9954
	1,0015
	1,0342
	1,0021
	1,0032
	0,9993
	1,0011
	1,0002
	1,0014
	1,0022
Promedio	1,00406
S	0,010808453

$$U_{C_{soluto}} = \sqrt{\left(\frac{\partial C_{soluto}}{\partial m} \times U_m\right)^2 + \left(\frac{\partial C_{soluto}}{\partial p} \times U_p\right)^2 + \left(\frac{\partial C_{soluto}}{\partial U_{v1000}} \times U_{v1000}\right)^2}$$

$$\left(\frac{\partial f}{\partial X_i}\right) = F = \frac{W * P}{V}$$

Donde			
W	1000 mgr	1,00406	gr
P	99,92%	0,9992	
V	1000ml	1000	ml

$$C_m \partial \left(\frac{C_{soluto}}{m}\right) = \frac{\partial \left(\frac{w * p}{V}\right)}{\frac{w}{1}} = \frac{w * p}{w * V} = \frac{P}{V} = 0,0009992$$

$$C_p \partial \left(\frac{C_{soluto}}{p}\right) = \frac{\partial \left(\frac{w * p}{V}\right)}{\frac{p}{1}} = \frac{w * p}{p * V} = \frac{w}{V} = 0,0100406$$

$$C_v \partial \left(\frac{C_{soluto}}{v}\right) = \frac{\partial \left(\frac{w * p}{V}\right)}{\frac{v}{1}} = \frac{w * p}{V * V} = \frac{w * p}{V^2} = 1,00326 \times 10^{-6}$$

Incertidumbre combinada

$$U_{C_{\text{soluto}}} = \sqrt{\left(\frac{\partial C_{\text{soluto}}}{\partial m} \times U_m\right)^2 + \left(\frac{\partial C_{\text{soluto}}}{\partial p} \times U_p\right)^2 + \left(\frac{\partial C_{\text{soluto}}}{\partial U_{v1000}} \times U_{v1000}\right)^2}$$

$$U_{C_{\text{soluto}}} = \sqrt{(0,0009992)^2 + (0,0100406)^2 + (1,00326 \times 10^{-5})^2}$$

$$U_{C_{\text{soluto}}} = 0,00141652$$

4. Incertidumbre balanza para determinar la diferencia de la pesada de las cápsulas. W

92,6262
92,6207
92,6214
92,6232
92,6247
92,624
92,6253
92,6261
92,6258
92,6256

Promedio	92,6243
S	0,001961292

$$U_{\text{Repetibilidad}} = S$$

$$U_{\text{Repetibilidad}} = 0,001961292$$

5. Incertidumbre debido a la repetibilidad

Masa	Concentración
0,0051	47
0,0051	47
0,0055	51
0,0052	48
0,0051	47
0,0053	49
0,0050	46
0,0055	51
0,0053	49
0,0051	47
Media	48,88
Repetibilidad	1,921804707

$$U_{\text{Repetibilidad}} = S$$

$$U_{\text{Repetibilidad}} = 1,9218047072$$

Incertidumbre combinada Sólidos Totales

$$U_{Comb} = C_o * \sqrt{(U_{balanza})^2 + \left(\frac{U_{pureza}}{Pureza}\right)^2 + \left(\frac{U_{Aforo}}{Aforo}\right)^2 + \left(\frac{U_{masa\ diluida}}{Masa}\right)^2 + \left(\frac{U_{Repetibilidad}}{CO_{Nitrito}}\right)^2}$$

$$U_{Comb} = 50 * \sqrt{(0,0023108)^2 + \left(\frac{0,046188}{99,92}\right)^2 + \left(\frac{0,428285}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0,0010805}{1,00406}\right)^2 + \left(\frac{1,921805}{48,88}\right)^2}$$

$$U_{Comb} = 50 * \sqrt{5,3398 \times 10^{-6} + 2,1368 \times 10^{-7} + 1,8343 \times 10^{-7} + 1,9903 \times 10^{-6} + 0,001546}$$

$$U_{Comb} = 50 * \sqrt{5,3398 \times 10^{-6} + 2,1368 \times 10^{-7} + 1,8343 \times 10^{-7} + 1,9903 \times 10^{-6} + 0,001546}$$

$$U_{Comb} = 50 * \sqrt{0,001553537}$$

$$U_{Comb} = 1,97075$$

Incertidumbre Expandida

$$U_{Expandida} = k * U_{combinada}$$

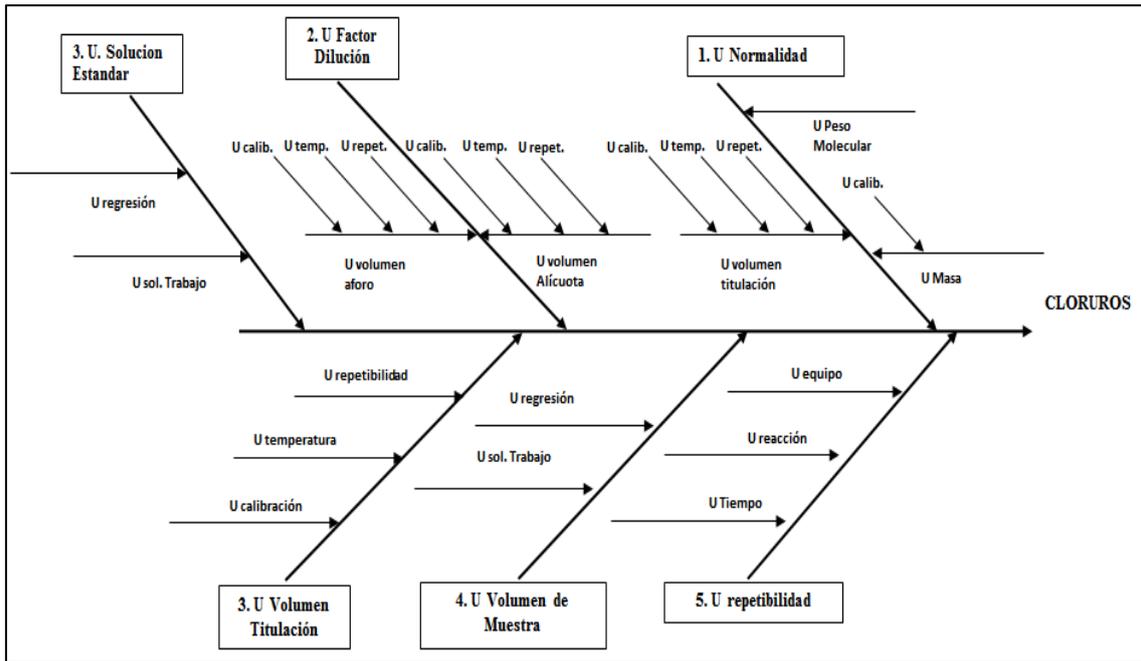
$$U_{Expandida} = 2 * 1,970758$$

$$U_{Expandida} = 3,941494$$

Concentración mg/l	U expandida
50	3,9415
100	5,6950
500	13,5666
1000	21,7776
5000	50,8384

Fuente: El Autor

Incertidumbre Cloruros



Fuente: El Autor

1. Incertidumbre debido a la normalidad

Incertidumbre debido al peso molecular

Elemento	Peso Atómico	U declarada	U estándar	calculo	U Estándar Total
Na	22,98977	0,000002	0,00000115	22,98977	0,0000265
Cl	35,453	0,0008	0,000462	35,453	0,0163750

$$U_{\text{Estándar}} = \frac{U_{\text{declarada}}}{\sqrt{3}}$$

$$U_{\text{Estándar Total}} = U_{\text{estandar}} * \text{Cálculo}$$

$$U_{\text{Peso Molecular}} = \sqrt{U_{\text{Est. total Na}}^2 + U_{\text{Est. total Cl}}^2}$$

$$U_{\text{Peso Molecular}} = \sqrt{(0,0000265)^2 + (0,016375)^2}$$

$$U_{\text{Peso Molecular}} = 0,016375$$

Incertidumbre debido a la masa

Incertidumbre debido a la calibración de la balanza

$$U_{\text{calibración balanza}} = 0,00014$$

Incertidumbre debido a la masa

	Repeticiones
	0,1037
	0,1035
	0,1096
	0,1032
	0,1156
	0,1045
	0,1067
	0,1004
	0,1087
	0,1036
S(repetibilidad)	0,004366858

$$U_{Peso\ Muestra} = \sqrt{2 * (U_{calibración}^2 + U_{repetibilidad}^2)}$$

$$U_{Peso\ Muestra} = \sqrt{2 * (0,00014^2 + 0,004366858^2)}$$

$$U_{Peso\ Muestra} = 0,0061788$$

Incertidumbre debido a la titulación

Incertidumbre debido a la bureta

Marca	Volumen	Tolerancia
Bureta	50	±0,05

Repeticiones	Volumen
12,75	12,7730
12,70	12,7229
12,80	12,8231
12,75	12,7730
12,75	12,7730
12,80	12,8231
12,75	12,7730
12,70	12,7229
12,80	12,8231
12,70	12,7229
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0408984

$$U_{\text{Titulación}} = \sqrt{U_{\text{Calibración}}^2 + U_{\text{Temperatura}}^2 + U_{\text{Repetibilidad}}^2}$$

$$U_{\text{Titulación}} = \sqrt{\left(\frac{\text{Tolerancia}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ\text{C} * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{\text{Repeticiones}})^2}$$

$$U_{\text{Titulación}} = \sqrt{\left(\frac{0,05\text{ml}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ\text{C} * 15\text{ ml} * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0408984\text{ ml})^2}$$

$$U_{\text{Titulación}} = \sqrt{0,0008333\text{ ml}^2 + 4,05169 \times 10^{-5}\text{ ml}^2 + 0,0016727\text{ ml}^2}$$

$$U_{\text{Titulación}} = 0,0504632\text{ ml}$$

Incertidumbre combinada de la normalidad

$$U_{\text{Normalidad}} = \text{Normalidad}_{\text{AgNO}_3} \sqrt{\left(\frac{U_{V. \text{Titulación}}}{V. \text{Titulación}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{masa}}}{\text{masa}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{masa molecular}}}{\text{Masa molecular}}\right)^2}$$

$$U_{\text{Normalidad}} = 0,0141 \sqrt{\left(\frac{0,0504632}{15}\right)^2 + \left(\frac{0,0061788}{0,1}\right)^2 + \left(\frac{0,016375}{100,9}\right)^2}$$

$$U_{\text{Normalidad}} = 0,0141 \sqrt{1,1318 \times 10^{-5} + 0,0038178 + 2,63378 \times 10^{-8}}$$

$$U_{\text{Normalidad}} = 0,00087251$$

2. Incertidumbre debido al factor dilución

Incertidumbre del aforo

Marca	Volumen	Tolerancia
Balón	250	± 0,15

Repeticiones	Volumen
249,9300	250,3804
249,9900	250,4405
250,0100	250,4606
250,1000	250,5507
250,0400	250,4906
249,9000	250,3504
250,1300	250,5808
250,0800	250,5307
250,1000	250,5507
249,9700	250,4205
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0780649

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,15 ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 250 ml * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0780649 ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,0075 ml^2 + 0,011255 ml^2 + 0,00609413 ml^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,157635 ml$$

Incertidumbre debido a la alícuota

Marca	Volumen	Tolerancia
Pipeta	2,5	± 0,03

Repeticiones	Volumen
2,4980	2,5025
2,4586	2,4630
2,4975	2,5020
2,4958	2,5003
2,4925	2,4970
2,4972	2,5017
2,4895	2,4940
2,5016	2,5061
2,5068	2,5113
2,4973	2,5018
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,013135

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,03 ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 2,5 ml * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,013135 ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,0003 ml^2 + 1,1255 \times 10^{-6} ml^2 + 1,725 \times 10^{-4} ml^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,0217635 ml$$

Incertidumbre combinada factor dilución

$$U_{fd} = fd \times \sqrt{\left(\frac{U_{Aforo}}{V_{Aforo}}\right)^2 + \left(\frac{U_{Alícuota}}{V_{Alícuota}}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 100 \times \sqrt{\left(\frac{0,157562ml}{250ml}\right)^2 + \left(\frac{0,0217635 ml}{2,5 ml}\right)^2}$$

$$U_{fd} = 100 \times \sqrt{3,97213 \times 10^{-7} + 7,56496 \times 10^{-5}}$$

$$U_{fd} = 0,87205$$

3. Incertidumbre debido al volumen de titulación

Marca	Volumen	Tolerancia
Bureta	50	±0,05

Repeticiones	Volumen
2,3054	2,3096
2,3423	2,3465
2,2768	2,2809
2,2543	2,2584
2,3784	2,3827
2,3478	2,3520
2,3354	2,3396
2,3445	2,3487
2,2745	2,2786
2,2699	2,2740
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,0422323

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,05ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 2,3 ml * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,0422323ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,0008333 ml^2 + 9,5259 \times 10^{-7} ml^2 + 0,0017836 ml^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,05116496ml$$

4. Incertidumbre debido al volumen de muestra

Marca	Volumen	Tolerancia
Balón	100	±0,1

Repeticiones	Volumen
99,3556	99,5347
99,4208	99,6000
99,5040	99,6833
99,5903	99,7698
99,4649	99,6442
99,5501	99,7295
99,5049	99,6842
99,5034	99,6827
99,5741	99,7536
99,5048	99,6841
Temp. °C	20
δ(g/ml)	0,998201
S	0,070453

$$U_{Aforo} = \sqrt{U_{Calibración}^2 + U_{Temperatura}^2 + U_{Repetibilidad}^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{Tolerancia}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * V * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (S_{Repeticiones})^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{\left(\frac{0,1ml}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{3,5^\circ C * 100ml * 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,070453ml)^2}$$

$$U_{Aforo} = \sqrt{0,008333 ml^2 + 0,011255 ml^2 + 6,071 \times 10^{-2} ml^2}$$

$$U_{Aforo} = 0,100487 ml$$

5. Incertidumbre debido a la repetibilidad

Co (mg/l)	
10,07	
10,26	
9,93	
9,82	
10,44	
10,28	
10,22	
10,27	
9,92	
9,89	
S	0,21109604

$$U_{\text{Repetibilidad}} = S$$

$$U_{\text{Repetibilidad}} = 0,04743416$$

Incertidumbre combinada Cloruros

$$U_{\text{Combinada}} = Co \sqrt{U_{\text{Normalidad}}^2 + \left(\frac{U_{\text{Fd}}}{\text{Fd}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{V. Titulación}}}{\text{V. Titulación}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{V. Muestra}}}{\text{V. Muestra}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{Repetibilidad}}}{\text{Co. Promedio}}\right)^2}$$

$$U_{\text{Combinada}} = 10\text{ppm} \sqrt{(0,00087251)^2 + \left(\frac{0,87205036}{100}\right)^2 + \left(\frac{0,0511165}{2,32}\right)^2 + \left(\frac{0,100487}{100}\right)^2 + \left(\frac{0,04743416}{10,329}\right)^2}$$

$$U_{\text{Combinada}} = 10\text{ppm} \sqrt{7,658 \times 10^{-7} + 7,605 \times 10^{-5} + 4,949 \times 10^{-4} + 1,010 \times 10^{-6} + 2,10895 \times 10^{-5}}$$

$$U_{\text{Combinada}} = 0,314699$$

Incertidumbre Expandida cloruros

$$U_{\text{Expandida}} = k * U_{\text{combinada}}$$

$$U_{\text{Expandida}} = 2 * 0,314699$$

$$U_{\text{Expandida}} = 0,6294$$

Concentración mg/l	U expandida
5	0,4357
10	0,6294
50	1,7991
100	2,6340
500	4,5218
1000	10,2045

Fuente: El Autor

ANEXO VIII
CARTAS CONTROL



CARTAS CONTROL

INGENIERÍA AMBIENTAL

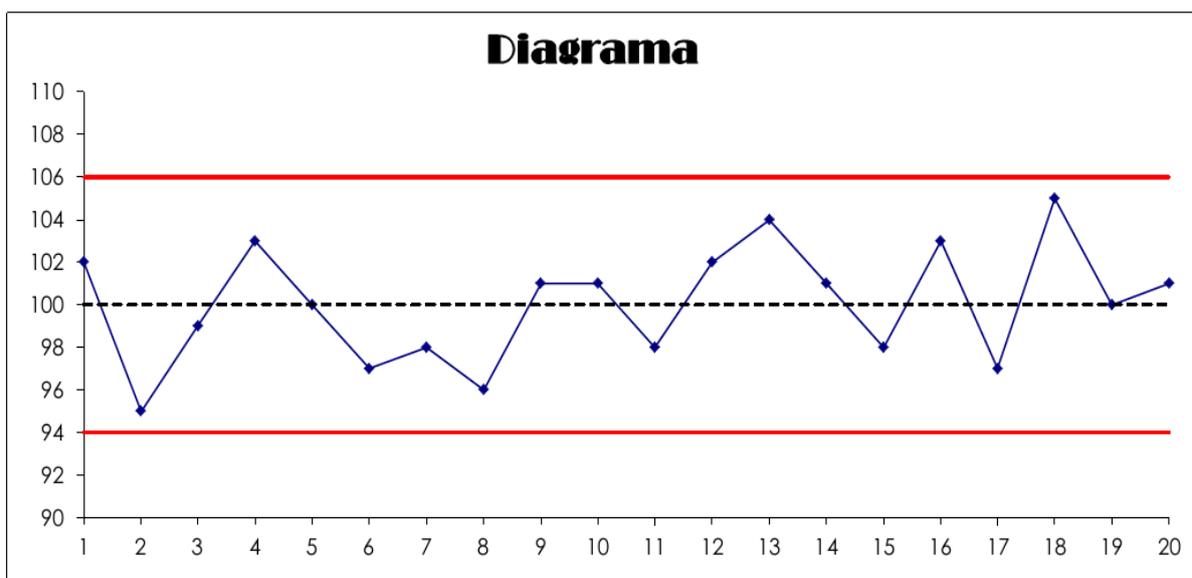
CODIGO: R 5.9.3
 REVISION: 0
 FECHA: 2011-09-26
 Elaborado por:
 Patricio Puchaicela
 Aprobado por:
 Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
METODO:	LUTPL-DBO-RESP-014
ANALISIS:	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)
UNIDAD:	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2012/09/05	102	Ing. Miguel Guamán	Bien
2	2012/09/12	95	Ing. Miguel Guamán	Correcto
3	2012/09/19	99	Ing. Miguel Guamán	OK
4	2012/09/26	103	Ing. Miguel Guamán	Correcto
5	2012/10/03	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
6	2012/10/10	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
7	2012/10/17	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
8	2012/10/17	96	Ing. Miguel Guamán	OK
9	2012/10/24	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2012/10/31	101	Ing. Miguel Guamán	Bien
11	2012/11/07	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
12	2012/11/15	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
13	2012/11/21	104	Ing. Miguel Guamán	OK
14	2012/11/28	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
15	2012/12/04	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
16	2012/12/12	103	Ing. Miguel Guamán	Bien
17	2012/12/19	97	Ing. Miguel Guamán	Correcto
18	2013/01/08	105	Ing. Miguel Guamán	OK
19	2013/01/08	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
20	2013/01/15	101	Ing. Miguel Guamán	Bien

Promedio
100
Llm. Inferior
94
Llm. Superior
106
Llm. Acción inferior
88
Llm acción superior
112





CARTAS CONTROL

INGENIERÍA AMBIENTAL

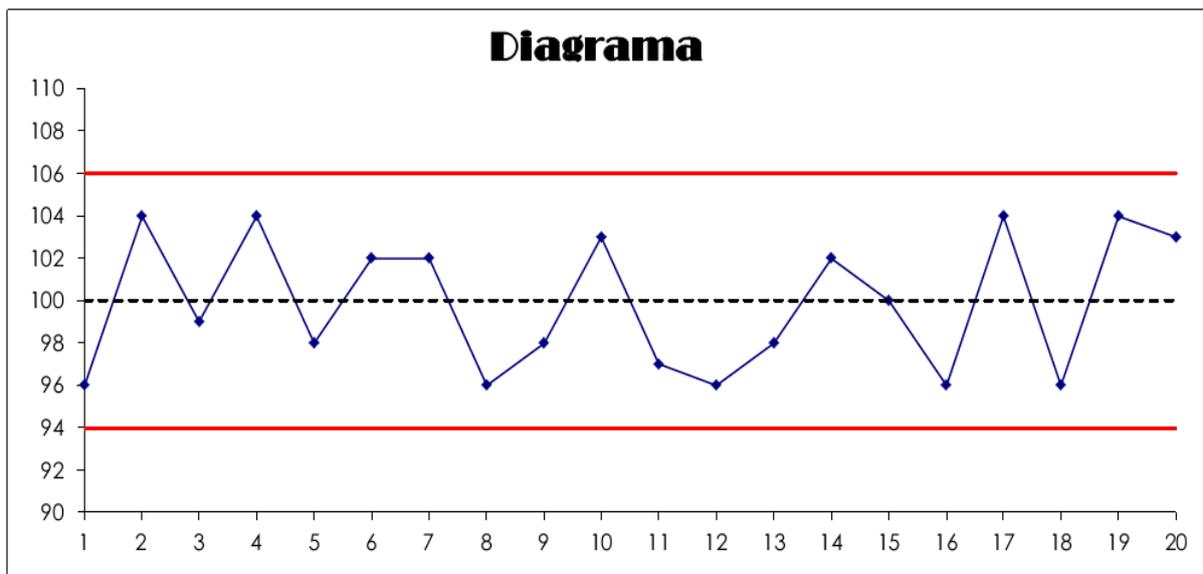
CODIGO: R 5.9.3
 REVISION: 0
 FECHA: 2011-09-26
 Elaborado por:
 Patricio Puchaicela
 Aprobado por:
 Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
METODO:	LUTPL-DQO-ESPECT-015
ANÁLISIS	Demanda Química de Oxígeno (DQO)
UNIDAD	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2013/01/08	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
2	2013/01/10	104	Ing. Miguel Guamán	OK
3	2013/01/10	99	Ing. Miguel Guamán	Correcto
4	2013/01/14	104	Ing. Miguel Guamán	Bien
5	2013/01/14	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
6	2013/01/16	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
7	2013/01/18	102	Ing. Miguel Guamán	Bien
8	2013/01/18	96	Ing. Miguel Guamán	OK
9	2013/01/21	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2013/01/21	103	Ing. Miguel Guamán	OK
11	2013/01/23	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
12	2013/01/23	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
13	2013/01/25	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
14	2013/01/25	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
15	2013/01/28	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
16	2013/01/31	96	Ing. Miguel Guamán	OK
17	2013/01/31	104	Ing. Miguel Guamán	Bien
18	2013/02/04	96	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2013/02/05	104	Ing. Miguel Guamán	OK
20	2013/02/06	103	Ing. Miguel Guamán	Bien

Promedio	100
Lím. Inferior	94
Lím. Superior	106
Lím. Acción Inferior	88
Lím acción superior	112





CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

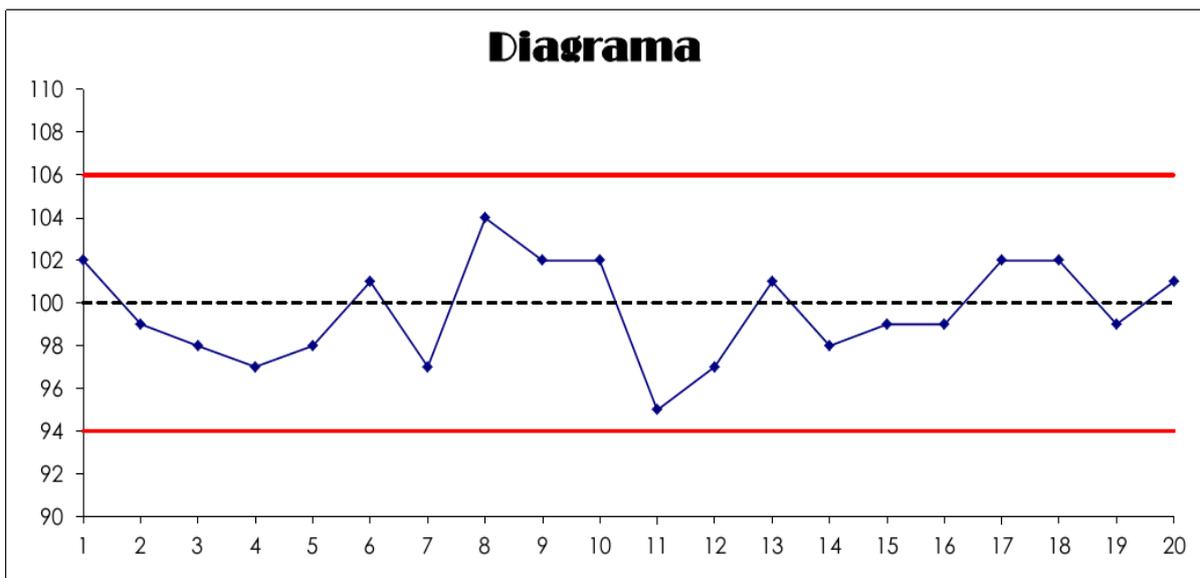
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchaicela
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
METODO:	LUTPL-NO2-HACH-010
ANÁLISIS	Nitrito
UNIDAD	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2012/08/21	102	Ing. Miguel Guamán	Bien
2	2012/08/23	99	Ing. Miguel Guamán	Correcto
3	2012/08/23	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
4	2012/08/28	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
5	2012/08/28	98	Ing. Miguel Guamán	OK
6	2012/08/30	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
7	2012/08/30	97	Ing. Miguel Guamán	Correcto
8	2012/09/04	104	Ing. Miguel Guamán	Bien
9	2012/09/04	102	Ing. Miguel Guamán	Bien
10	2012/09/06	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
11	2012/09/06	95	Ing. Miguel Guamán	Bien
12	2012/09/11	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
13	2012/09/11	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
14	2012/09/13	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
15	2012/09/13	99	Ing. Miguel Guamán	OK
16	2012/09/18	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
17	2012/09/18	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
18	2012/09/20	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
19	2012/09/20	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
20	2012/09/25	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto

Promedio
100
Lim. Inferior
94
Lim. Superior
106
Lim. Acción Inferior
88
Lim acción superior
112





CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

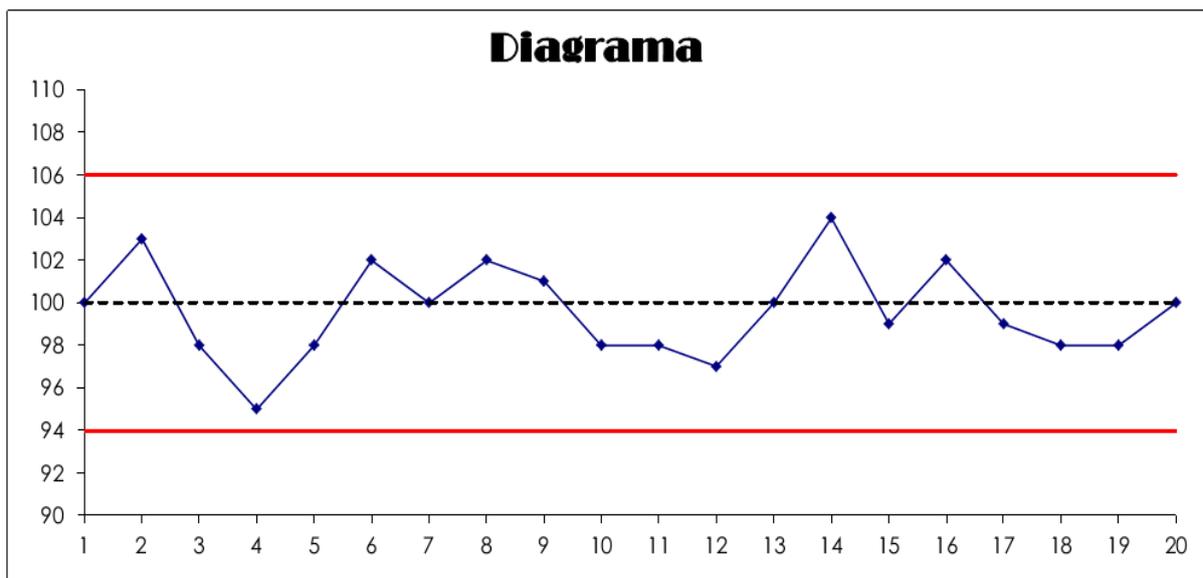
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchaicela
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
MÉTODO:	LUTPL-ST-GRAV-004
ANÁLISIS	Sólidos Totales
UNIDAD	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2012/10/11	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
2	2012/10/12	103	Ing. Miguel Guamán	Correcto
3	2012/10/15	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
4	2012/10/16	95	Ing. Miguel Guamán	OK
5	2012/10/18	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
6	2012/10/19	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
7	2012/10/22	100	Ing. Miguel Guamán	Bien
8	2012/10/23	102	Ing. Miguel Guamán	OK
9	2012/10/25	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2012/10/26	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
11	2012/10/29	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
12	2012/10/30	97	Ing. Miguel Guamán	OK
13	2012/11/05	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
14	2012/11/06	104	Ing. Miguel Guamán	OK
15	2012/11/08	99	Ing. Miguel Guamán	OK
16	2012/11/09	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
17	2012/11/12	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
18	2012/11/13	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2012/11/15	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
20	2012/11/15	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto

Promedio
100
Lim. Inferior
94
Lim. Superior
106
Lim. Acción Inferior
88
Lim acción superior
112





CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

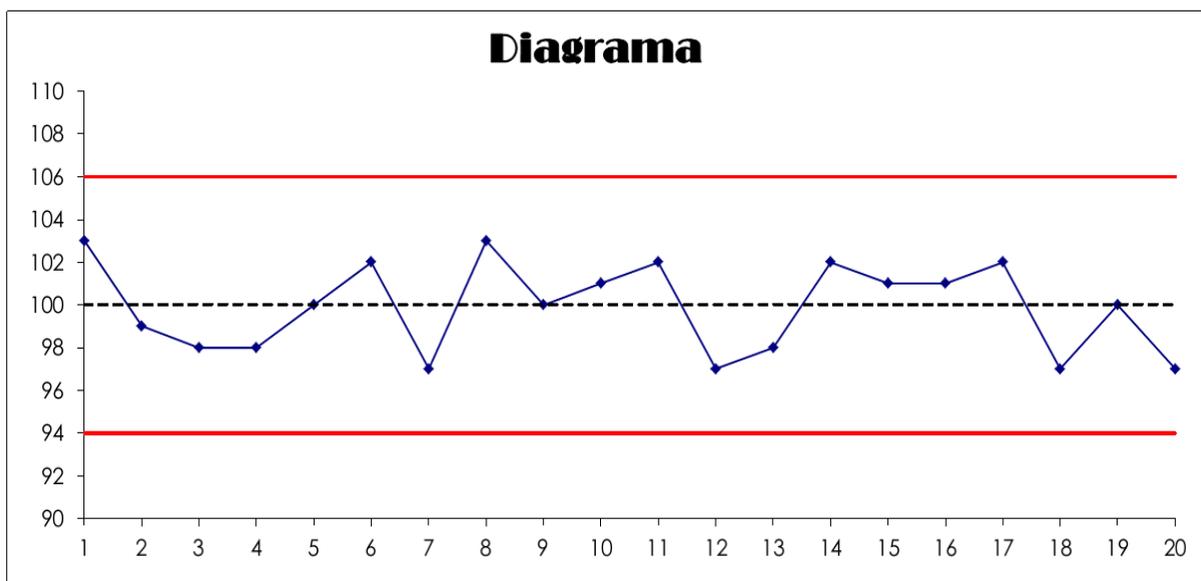
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchaicela
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
METODO:	LUTPL-CI-VOL-008
ANÁLISIS:	Cloruro
UNIDAD:	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2012/10/03	103	Ing. Miguel Guamán	Bien
2	2012/10/05	99	Ing. Miguel Guamán	Bien
3	2012/10/05	98	Ing. Miguel Guamán	Correcto
4	2012/10/08	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
5	2012/10/08	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
6	2012/10/10	102	Ing. Miguel Guamán	Bien
7	2012/10/10	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
8	2012/10/12	103	Ing. Miguel Guamán	Correcto
9	2012/10/12	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2012/10/15	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
11	2012/10/15	102	Ing. Miguel Guamán	OK
12	2012/10/17	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
13	2012/10/17	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
14	2012/10/19	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
15	2012/10/19	101	Ing. Miguel Guamán	OK
16	2012/10/22	101	Ing. Miguel Guamán	Bien
17	2012/10/22	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
18	2012/10/24	97	Ing. Miguel Guamán	OK
19	2012/10/24	100	Ing. Miguel Guamán	OK
20	2012/10/26	97	Ing. Miguel Guamán	Bien

Promedio
100
Lim. Inferior
94
Lim. Superior
106
Lim. Acción Inferior
88
Lim acción superior
112





CARTAS CONTROL
INGENIERÍA AMBIENTAL

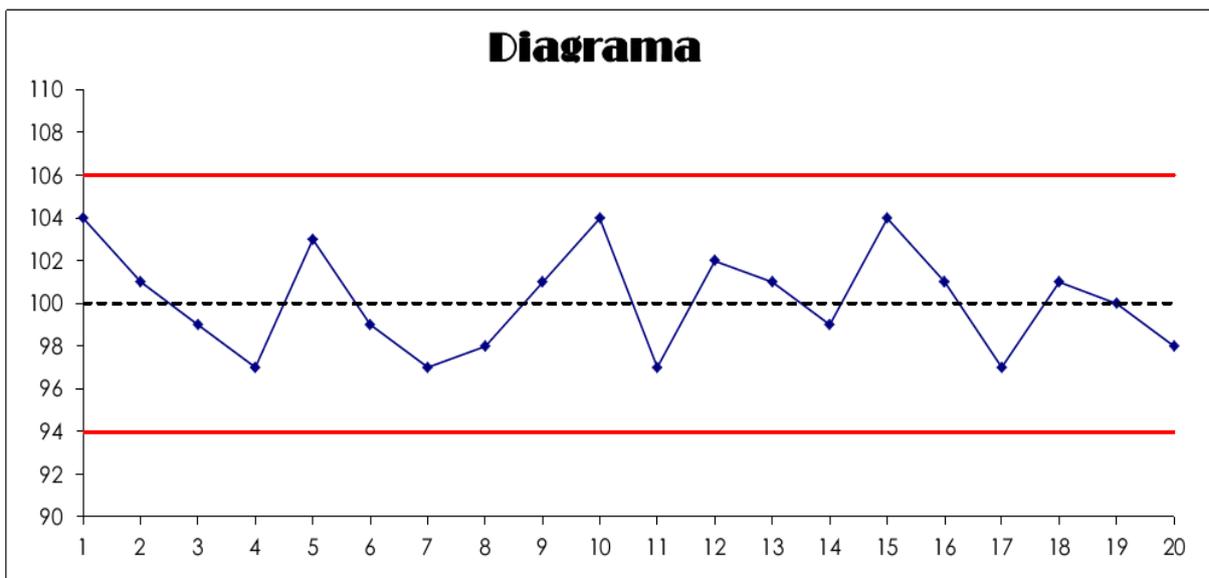
CODIGO: R 5.9.3
REVISION: 0
FECHA: 2011-09-26
Elaborado por:
Patricio Puchaicela
Aprobado por:
Miguel Guamán.

Carta Control R 5.9.3.

MUESTRA CONTROL:	Sustancia de Referencia
MÉTODO:	LUTPL-DT-VOL-007
ANÁLISIS	Dureza Total
UNIDAD	% (Recuperación)

#	Fecha	Resultado	Responsable	Observación
1	2012/08/21	104	Ing. Miguel Guamán	Bien
2	2012/08/24	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
3	2012/08/28	99	Ing. Miguel Guamán	Correcto
4	2012/08/31	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
5	2012/09/04	103	Ing. Miguel Guamán	OK
6	2012/09/06	99	Ing. Miguel Guamán	Correcto
7	2012/09/10	97	Ing. Miguel Guamán	OK
8	2012/09/12	98	Ing. Miguel Guamán	Bien
9	2012/09/12	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
10	2012/09/14	104	Ing. Miguel Guamán	Correcto
11	2012/09/14	97	Ing. Miguel Guamán	Bien
12	2012/09/14	102	Ing. Miguel Guamán	Correcto
13	2012/09/19	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
14	2012/09/20	99	Ing. Miguel Guamán	Correcto
15	2012/09/24	104	Ing. Miguel Guamán	OK
16	2012/09/25	101	Ing. Miguel Guamán	Correcto
17	2012/09/26	97	Ing. Miguel Guamán	OK
18	2012/09/27	101	Ing. Miguel Guamán	Bien
19	2012/09/28	100	Ing. Miguel Guamán	Correcto
20	2012/10/02	98	Ing. Miguel Guamán	OK

Promedio
100
Lim. Inferior
94
Lim. Superior
106
Lim. Acción Inferior
88
Lim acción superior
112



ANEXO IX
CERTIFICADOS DE ESTÁNDARES



Certificate of Analysis

1.00718.0001 BOD Standard (analogous to EN 1899) for
10 x 1l standard solution 210 ± 20 mg/l Spectroquant®

Batch HC122422

Batch Values

Assay (BSB)

190 - 230 mg/l

Date of release (DD.MM.YYYY): 10.08.2011

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.07.2013

Dr. Stefan Frey

responsible laboratory manager quality control

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



An ISO 9001 Certified Company

Certificate of Analysis

COMMODITY: **Chemical Oxygen Demand Standard Solution 1000 mg/l COD**
COMMODITY NUMBER: **22539-29** MANUFACTURE DATE: DATE OF ANALYSIS:
LOT NUMBER: **A2296** **10/22/2012** **10/23/2012**

<i>TEST</i>	<i>SPECIFICATIONS</i>	<i>RESULTS</i>
COD Concentration	950 to 1050 ppm	986.0 ppm

The expiration date is Oct 2013

The item 2253929 is traceable to NIST standards SRM 84J Potassium Hydrogen Phthalate LOT N/A.

A handwritten signature in cursive script that reads "Scott Als".

Certified by _____

Scott Als
Analytical Services Chemist



An ISO 9001 Certified Company

Certificate of Analysis

COMMODITY: **Chemical Oxygen Demand Standard Solution 300 mg/l COD**
COMMODITY NUMBER: **12186-29** MANUFACTURE DATE: DATE OF ANALYSIS:
LOT NUMBER: **A2299** **10/25/2012** **10/26/2012**

<i>TEST</i>	<i>SPECIFICATIONS</i>	<i>RESULTS</i>
COD Concentration	285 to 315 ppm	309.0 ppm

The expiration date is Oct 2013

The item 1218629 is traceable to NIST standards SRM 84J Potassium Hydrogen Phthalate LOT N/A.

A handwritten signature in cursive script that reads "Scott Als".

Certified by _____

Scott Als
Analytical Services Chemist



Certificate of Analysis

1.19899.0500 Nitrite standard solution traceable to SRM from NIST
NaNO₂ in H₂O 1000 mg/l NO₂⁻ CertiPUR®

Batch HC110332

Batch Values

Concentration	β (NO ₂ ⁻)	1001	mg/l
---------------	-----------------------------------	------	------

Determination method: Cerimetric titration.

(traceable to NIST - SRM 8040)

Accuracy of the method: +/- 5 mg/l

Date of release (DD.MM.YYYY): 03.03.2011

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.03.2014

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

Merck Volumetric Standard
1.02406 Sodium chloride
Batch No. 82406H

Secondary Reference Material for the argentometry
traceable to Standard Reference Material of NIST
(National Institute of Standards and Technology, USA).

Merc volumetric standards are used for the adjustment and control of volumetric solutions. They are manufactured under stringently controlled conditions in order to guarantee the highest quality standards. The general standard corresponds at least to the "GR" grade. It's suitability for use as a volumetric standard is based on a direct comparison with Standard Reference Material obtained from NIST.

The assay of this batch is
99.92%

- Measurement uncertainty: $\pm 0,05\%$ (coverage factor $k=2$; confidence level 95%).
- The content indicated is based on a molecular mass $M = 58.443$ g/mol dried substance.
- Directly traceable of NIST SRM potassium chloride batch 999b
- Volumetric standard for standardisation of volumetric solutions in accordance to the chapter reagents of the Pharmacopoeia (Ph Eur, USP, JP).
- Standardisation was carried out using silver nitrate solution as titration solution using a potentiometric procedure.
- Drying: When used as a volumetric standard, the sodium chloride must be dried at 150°C for 2 hours.
- Storage: The volumetric standard should be stored at room temperature ($+15$ to $+25^{\circ}\text{C}$) tightly closed (in the original container) and protected from light and moisture.
- The original unopened container may be used until: 31.08.2013

Date of release: 28.08.2008

A handwritten signature in black ink, appearing to read "W. Gernand".

Wolfgang Gernand
(responsible laboratory manager quality control)



Certificate of Analysis

1.19897.0500 Chloride standard solution
traceable to SRM from NIST NaCl in H₂O 1000 mg/l
Cl⁻ CertiPUR®

Batch HC125343

Batch Values

Concentration β (Cl⁻)

999 mg/l

Determination method: Argentometric titration.

(traceable to NIST - SRM 999b)

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

Date of release (DD.MM.YYYY): 07.07.2011

Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.07.2014

Dr. Stefan Frey

responsible laboratory manager quality control

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

RTC Certificate of Analysis

Hardness/TSS - WP

Number QC3074-500ML
 Lot 019758
 Solvent (Matrix) Water
 Hazard Irritant
 Storage & Handling Store at room temperature.
 Expiration Date See Sample Label
 Certification Date: 8/18/2011
 Certified By:  Christopher Rucinski - QA Director

Analyte	Units	Assigned ⁴ (Gravimetric) Value	Certified ^{1,4} Value	k ⁵	Standard ² Deviation	Acceptance Limits ³
Calcium, Ca 1035 Traceable to NIST SRM 3109a Lot 050825	mg/L	43.1 ± 0.219	43.7 ± 0.660	2.23	1.76	38.4 to 49.0
Magnesium, Mg 1085 Traceable to NIST SRM 3131a Lot 050302	mg/L	20.7 ± 0.106	20.7 ± 0.318	2.23	1.01	17.7 to 23.8
Calcium hardness as CaCO ₃ 1550 Traceable to NIST SRM 3109a	mg/L	108 ± 0.549	109 ± 1.65	2.23	4.40	96.3 to 123
Hardness, total as CaCO ₃ 1755 Traceable to NIST SRM 3109a/3131a	mg/L	193 ± 0.984	193 ± 2.97	2.23	6.43	174 to 212
Residue-nonfilterable (TSS) 1990	mg/L	49.4 ± 0.252	47.4 ± 0.756	2.23	3.06	38.2 to 56.6

Additional Information

Description

This standard is packaged in a 500 mL polyethylene bottle containing approximately 500 mL of standard.

This standard is not preserved.

The standard can be stored at room temperature.

Preparation Instructions

This standard has been prepared as a whole volume standard and is ready to analyze as received.

The hardness in this standard can be determined using either titration or calculation methods.

Be sure to shake this sample very well prior to taking an aliquot for the TSS determination.

It is strongly recommended that you analyze for TSS prior to removing aliquots for other analyses from the Hardness bottle.

If other analytes are to be measured prior to TSS, be sure to shake the sample very well prior to removing aliquots for any of the other parameters.

As this standard contains suspended solids, it is best to filter a portion of the standard prior to adding preservation or aspirating the sample into any instrument.

Shake the Hardness bottle very well prior to opening.

Remove aliquots for the tests that you are performing and analyze by your normal procedures.



REFERENCE MATERIAL PRODUCER



TESTING



Certificate of Analysis

Hardness/TSS - WP

Number QC3074-500ML

Lot 019758

Solvent (Matrix) Water

Hazard Irritant

Storage & Handling Store at room temperature.

Expiration Date See Sample Label

Certification Date: 8/18/2011

Certified By:



Christopher Rucinski - QA Director

1 Certified value - based on a prepared to value and analytically verified by RTC with associated uncertainties from the preparation and analytical procedures.

2 The standard deviation is the robust statistical standard deviation from the round robin interlaboratory study.

3 Acceptance limits are based on US EPA RCRA, WS, and WP Interlaboratory Study Results. These ranges are recommendations only.

4 Ucrm - Uncertainty values in this document are expressed as Expanded Uncertainty (Ucrm) corresponding to the 95% confidence interval. Ucrm is derived from the combined standard uncertainty multiplied by the coverage factor k, which is obtained from a t-distribution and degrees of freedom. The components of combined standard uncertainty include the uncertainties due to characterization, homogeneity, long term stability, and short term stability (transport). The components due to stability are generally considered to be negligible unless otherwise indicated by stability studies.

5 k: Coverage factor derived from a t-distribution table, based on the degrees of freedom of the data set. Confidence Interval = 95%

Traceability: The standard was manufactured under an ISO/IEC 17025:2005 certified quality system. The balance used to weigh raw materials is accurate to +/- 0.0001g and calibrated regularly using mass standards traceable to NIST. All dilutions were performed gravimetrically. Additionally, individual analytes are traceable to NIST SRMs where available and specified above.

Homogeneity: Homogeneity was assessed in accordance with ISO Guide 35. Completed units were sampled using a random stratified sampling protocol. The results of chemical analysis were then compared using a one-way analysis of variance approach as described by TNI EL-V3-2009 Appendix A.2. See Instructions for minimum sub-sample size.

793.6

THIS PRODUCT WAS DESIGNED, PRODUCED AND VERIFIED FOR ACCURACY AND STABILITY IN ACCORDANCE WITH ISO/IEC 17025:2005 (A Class Cert AT-1467) and ISO GUIDE 34:2009 (A Class Cert AR-1470).

MSDS reports for components comprising greater than 1.0% of the solution or 0.1% for components known to be carcinogens are available upon request.

ANEXO
ARTÍCULO CIENTÍFICO

Validation of analytical methods for: BOD, COD, nitrite, total solids, chlorides and total hardness for analysis of natural water, drinking water and wastewater in the environmental engineering laboratory (UTPL Laboratories).

Diego Maza^{1*}, José Miguel Guamán²

¹ Titulación de Ingeniería Química, Universidad Técnica Particular de Loja

² Departamento de Química, Sección Departamental Ingeniería Ambiental, Universidad Técnica Particular de Loja

*) corresponding author; demaza@utpl.edu.ec

Abstract

The methodology of this research is based mainly in the use of standard methods published in the Standard Methods 2012, to the validation was used the Eurachen Guide, as reference.

It was used the colorimetric method to do the proofs of COD and nitrites, in which the spectrophotometer DR-800 of brand HACH was used, and for hardness total and chlorides were used volumetric methods in which the changed color show the end of the titration, for total solids was used a gravimetric method in which it was evaporated the present water in the sample and by difference of weight gets the quantity of solids in the sample, and to BOD was used respirometric method, using an equipment OxiTop of brand VELP.

The process of validation as the development of analytic process, they were developed with the objective to fulfill with the technical requirements designed in the Norma ISO/IEC: 17025 to the accreditation of the UTPL laboratories.

Key words: Validation, BOD, COD, nitrite, total solids, chlorides, hardness total, colorimetric method, volumetric method, gravimetric method, respirometric method.

Introduction

The validation of analytic methods is a process through it confirms that an analytic method fulfill with the characteristics of performing that are adequate in the requirements of analytic applications.

According with the necessities of the Laboratory the methods which will be valid are: BOD (Biochemistry Oxygen Demand), COD (Chemistry Oxygen Demand), nitrites, total solids, total hard and chlorides, to the validation standard methods will be used published in the Standard Methods edition 2012.

The main objective of the research is valid the method before, so it's necessary to fix the parameter of the validation: detection limit, quantification limit, linearity Rank of work, veracity, accuracy, sensitivity, control graphics, uncertainty; for these the laboratory has calibrated equipment's, calibrated material and substances of certificated references that guarantee the results.

The result of the validation is proof the aptitude of methods and document it's valid, through the determination of statistical parameter of quality.

The validation of analytic methods it[s into the good practices off Laboratory that look for guarantee the results through an exhaustive control of the process, equipments, methods, registers, control and installations.

Materials and Methods

Each one of the methods which will be named afterwards, they will be published in the Standard Methods the validation of the methods was realized according the conditions of operation (environment conditions, equipments and personal) in the laboratory UTPL belongs to the departmental section of Environmental Engineering.

BOD determination

This method consists in the determination of requests of oxygen of residual water, effluents and polluted water, for its degradation. The respirometric method is a process in which it's closed hermetically a container, which contains water to analyze, with bacterium flora and air which contains a 21% of oxygen. In one determined time, the bacterium flora degrades. The organic matter leaving free CO₂. With the help of KOH, which reacts with the CO₂ produced, it is registers a depression which is consequence exclusively of the consume of oxygen by the biologic oxidation of the organic matter, this is interpreted by the sensors BOD which provide a direct measure of the consumed oxygen by the microorganisms.¹⁻³

It was use equipment OxiTop (VELP SCIENTIFIC System BOD), an incubator LAB-LINE (Ambi-Hi-Low). Standards were prepared of 42, 84, 105 y 210 mg/l, with the validation was realized.

Dilution water was prepared; with the objective the samples possess the enough nutrients to the degradation of the organic

matter. As standard was used the patron BOD de 210 ± 20 de la marca MERK.

According to the scale that presents the sensor of the equipment OxiTop it was chosen the volume of the simple, in the table 1 is showed the selection of the volume according to the scale of the sensor.

Table 40 Manometer scale for volume selection BOD

Scale	Volume de Sample
1000 mg/L	100 ml
600 mg/L	150 ml
250 mg/L	250 ml
90 mg/L	400 ml

Source: The Author

After to choose the volume scale, the flask is fulfilled with the simple, it is placed a magnet and a deposit of alkalis in which 4 lentils are placed of KOH, it is closed the glass with the sensor BOD and it is incubated by 5 days, it is placed the flask over the equipment of agitation and this is located in the incubator to 20 ± 1°C as it is shown in the figure 1. The sensor has a system to store the data each 24 hours by 5 days.



Figure 42 Incubation BOD
Source: The Author

To avoid interferences with the temperature as with the temperature calibers the incubator a 20 ± 1°C.

A target for every time ago was carried out the method of BOD. To the 5th day the value is read and it is subtracted the value obtained by the target.

BOD determination

The measure corresponds to an estimate of the voidable matters present in the water, either its organic or inorganic origin.¹

Under defined conditions certain matters contained in the water are oxidized with excess of dichromate of potassium, between acid and in presence of silver sulfate and sulfate of mercury.¹

A method colorimetric is used that consists in: to place 2 ml of the sample in vials for COD of high range (20 - 1500 mg/l), the flasks are covered and shake vigorously, they placed them in the thermoreactor r Hach DRB 200 for 2 hours to 150 °C, during this time leaves them to cool, later into ambient temperature you proceeds to make the reading in the spectrophotometer Hach Dr-2800, every time that the rehearsal is made it is needed to make a target with distilled water. A standard of 1000 mg/l was used (Chemical Oxygen Standard Demand Solution 1000 mg/l COD)

The spectrophotometer provides the reading of the COD directly in mg/l.^{2,4} In Figure 2 are shown the equipment's used for COD.



Figure 43 Equipment's for COD
Source: The Author

Nitrite determination

It is determined by the formation of a reddish color, produced to pH 2 at 2,5, for joining of sulfanilamine diazotized with dichlorhidrate N - (1-naftil)-ethylendiamine

(dichloridrate of NED) that Nitriver3.2,4 takes place for the reagent addition.

It is a method colorimetric in which 25 samples ml that it is placed in a cell, to this is added the reagent Nitride 3 it covers and shakes, it is allowed to react for 20 minutes, then it is read in the spectrophotometer Hach DR-2800. A solution mother of 10mg/l was used starting from the standard of 1000 mg/l (Nitrite standard CertiPUR). A target is used with sample water without placing the reagent. The spectrophotometer reports the values of nitrites in mg/l.^{2,4} In the Figure 3 the nitrite reaction is shown.



Figure 44 Reaction of nitrite
Source: The Author

Total solids determination

A very blended sample evaporates, in a previously heavy capsule and dried off to constant weight in a stove at 103 - 105°C, the increase of weight on the capsules is represented as total solids.^{2,5}

In this method a method gravimetric is used, in which the capsules are dried for one hour in a stove Memmert EFE 600, then the capsules are placed by 40 minutes in a drier and they are weighed in the analytic scale Sartorius model TE 214S, registered the capsule weight until with 4 decimals, the volume of the sample is placed (100 ml), and the capsule plus sample are located in the stove, it is expected until they evaporate completely and it is placed into the drier for 40 minutes more and it weighs the capsule again. The difference of weight between the weight1 (weigh empty capsule) and the weight 2 (capsule + evaporated sample) it provides

the value of solids in g/100ml, to this value converts into mg/l units and this way we obtain the concentration of having been total solids in the sample 2. In the Figure 4 the drying of the samples is presented and in the Figure 5 is shown to the analytic scale to weight the samples.



Figure 45 Dries samples
Source: The Author



Figure 46 Analytic scale
Source: El Author

Chlorides Determination

It is base on the valuation with the silver nitrite using as indicative chromate of potassium. The silver reacts with the chlorides, forming a precipitate of white color, when the ion chloride is over, the silver reacts with the chromate forming the solution of orange-reddish color finishing with the value.2, 6

For the determination of chlorides is used a volumetric method, a volume of sample of 100 ml is used to this is added 5 drops of chromate of potassium to 5% and it is titled as silver nitrate (AgNO_3) 0,0141 N, when the sample changes of yellow to red the titillation concludes and with the volume spent in the burette it is proceeded to make the calculations for chlorides.⁶

$$mg/l Cl^- = \frac{V_1 * N_{AgNO_3} * meq Cl^- * 10x10^6}{V_2}$$

Where:

V_1 = spent in the burette volume

N = AgNO_3 normality

meq Cl Mili-chemical equivalent Cl-ion

V_2 = volume of sample analyzed

In the Figure 6 the titration of chloride is presented in water.

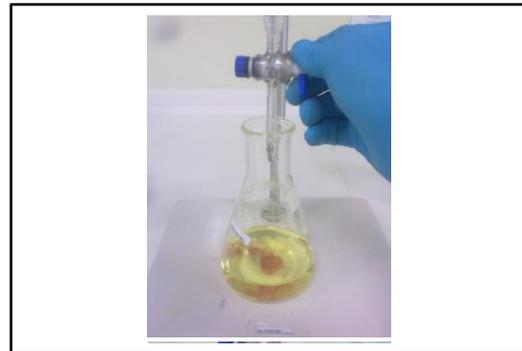


Figure 47 titrationof chloride
Source: The Author

Total Hardness determination

The hardness is understood as the capacity of water to precipitate to the soap and this is based on the presence of salts of the ions calcium and magnesium. It is the responsible for the formation of inlays in recipients and pipes what generates flaws and losses of efficiency in different industrial processes as the units of transfer of heat. 2,6

For the analysis of hardness a volumetric method is used, in which a sample of 50 ml is valued to pH 10 ± 1 with a solution of EDTA (sour etilendiaminotetracetic), Manver2 is used like to indicate and a solution buffer pH 10, the color change of reddish to blue the titration concludes, the spent volume is read in the burette and the calculations are made for the determination of total hardness.

$$Durezza Total: mg/l = \frac{V_1 * N_{EDTA} * meq CaCO_3 * 10E6}{V_2}$$

Where:

V_1 = spent in the burette volume

M = EDTA molarity

Mmol CaCO₃= CaCO₃ millimole
 V2= volume of sample analyzed

In the Figure 7 the titration is shown the total hardness.

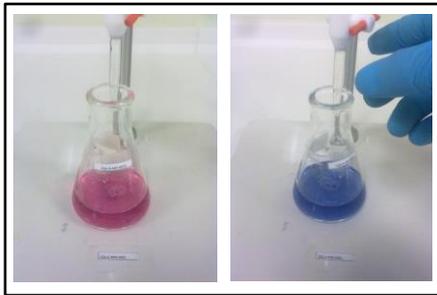


Figure 48 Titration of total hardness.
 Source: The Author

To supplement the validation starting from the data obtained by each method it was evaluated: detection limit, quantification limit, lineal, work range, truthfulness, precision, control graphics, and uncertainty.

Results

In each one of the following charts the results will be presented obtained by the validation. For each method were read different concentration levels. (lower, half and high).

Linearity

This parameter was evaluated alone for COD and Saltpeter because the method reported absorbencies since which are directly proportional to the concentration.

In the chart 8 the data are presented for curve of saltpeter calibration.

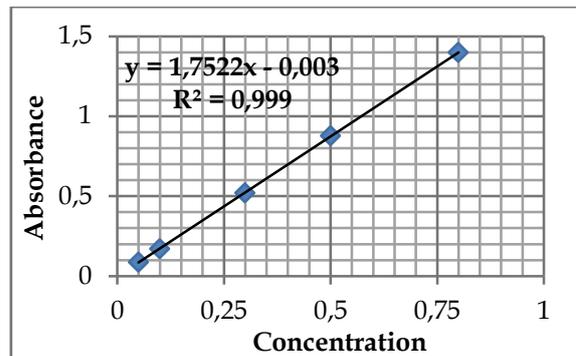
Table 2 Data for nitrite calibration curve

x concentration	Y Absorbance
0,05	0,0864
0,1	0,1703
0,3	0,5205
0,5	0,8769
0,8	1,3974

Source: The Author

In the Graph 1 the calibration curve is presented for saltpeter, being obtained a coefficient of more correlation at 0,995 what indicates that the method has linearity.

Also it is presented the value of the slope (1,7522) and the value of the intercept (-0,003).



Graphic 1 Linearity nitrite
 Source: El Author

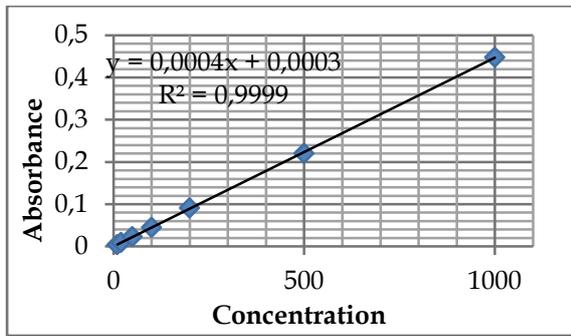
In the Chart 9 the data are presented obtained for the curve of calibration of COD

Table 41 Data for COD calibration curve

X concentration	Y Absorbance
10	0,0046
20	0,0095
50	0,0230
100	0,0450
200	0,0910
500	0,2207
1000	0,4483

Source: The Author

The Graph 2 shows the calibration curve for COD obtained a coefficient of more correlation at 0,995 what indicates that the method possesses linearity. The values of the slope are also presented (0,0004) and of the intercept to (-0,0003).



Graphic 2 Linearity COD
Source: The Author

Detection Limit and quantification

In the Chart 4 are presented the detection limit and quantification of each validated method.

Table 42 Detection limit and quantification

Method	LDD	LDQ	%CV	Uni.
BOD	11,85	13,46	8,55	mg/l
COD	13,35	15,81	12,72	mg/l
Nitrite	0,017	0,020	12,92	mg/l
Totals solids	8,51	10,63	19,86	mg/l
Chorines	2,04	2,43	13,57	mg/l
Total hardness	1,13	1,19	3,01	mg/l

Source: The Author

LDD: Detection limit, concentration that a recovery is obtained between the 84 and 116%.

LDQ: Lower limit that can be detectable and quantifiable, therefore it is considered as the lowest concentration in the analito.

CV: The variation coefficient for the evaluation of LDD and LDQ must be smaller to 20% according to "Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation" completed in each parameter that was validated.

Repetibilidad

In the Chart 5 the repetibilidad analysis is presented, which was carried out it by means of the variance analysis ANOVA, in which the square means are

evaluated and the significance level respect to the test F.

Table 43 Repetibilidad of methods

Method	Level	$F_{Experimental}$	C_{critic}
BOD	1	1,397	2,87
	2	1,342	2,87
	3	1,018	2,87
COD	1	0,889	2,87
	2	0,291	2,87
	3	2,117	2,87
Nitrite	1	2,322	2,87
	2	0,479	2,87
	3	2,172	2,87
Total solids	1	2,436	2,87
	2	2,285	2,87
	3	1,317	2,87
Chorines	1	0,325	2,87
	2	0,995	2,87
	3	0,602	2,87
Total hardness	1	0,231	2,87
	2	0,586	2,87
	3	0,325	2,87

Source: The Author

Making the analysis of the obtained data we can noticed that the Critical F is bigger than the Experimental F, therefore there is not significant difference and it fulfills the approach that the Experimental F is smaller to the Critical F.

In the Chart 6 the results are presented for the variation coefficient.

Table 44 Coefficient of variation of the methods

Method	Level	% CV
BOD	1	3,54
	2	1,97
	3	3,23
COD	1	4,19
	2	3,59
	3	1,49
Nitrite	1	2,82
	2	1,31
	3	0,38
Totals solids	1	3,93
	2	1,33
	3	0,65
Chlorides	1	4,11
	2	1,02
	3	1,25
Total hardness	1	3,49
	2	3,14
	3	2,25

Source: The Author

The approach of acceptance for the variation coefficient indicates that it should be smaller to 15%, as it is settled down in "Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation" like in "Approaches for the validation of physiochemical methods", this way it is demonstrated that the methods possess the ability to repeat many times.

Reproducibility

For this method we have worked with the same analyst, same team and reagents but the data were obtained in different weeks.

In the Charts 7 and 8 are shown the reproduction the level 2 as for a test F of variances of two samples and a test T for 2 correlated variables or paired.

Table 45 Reproducibility test F

Method	$F_{Experimental}$	$F_{Critica}$
BOD	2,814	3,18
COD	0,941	3,18
Nitrite	0,120	3,18
Total solids	0,301	3,18
Chorines	1,135	3,18
Total hardness	0,889	3,18

Source: The Author

Analyzing the obtained data is proved that the Critical F is smaller to the Experimental F, being demonstrated that there is not significant difference completing the approach of Experimental F < Critical F.

Table 46 Reproducibility test T, for 2 correlated variables or paired

Método	$T_{Experimental}$	$T_{Crítico}$
BOD	0,435	2,262
COD	0,136	2,262
Nitrite	0,095	2,262
Total solids	1,203	2,262
Chorines	0,744	2,262
Total hardness	0,129	2,262

Source: The Author

It is verified that there is not significant difference since the T Experimental < T Critical completing the approach of acceptance since the Experimental T is smaller to the Critical T.

Recovery

It must be between 94 and 106% in each method this indicates us the approach of acceptance of the method.

In the following Charts the recovery is represented in each method. It was enriched with certified standard solutions, each method was validated in different concentration levels.

Table 47 Recovery BOD

Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	102%	96%	104%
2	95%	103%	98%
3	105%	102%	100%
4	102%	97%	104%
5	95%	104%	100%
6	102%	96%	105%
7	100%	101%	101%
8	102%	98%	95%
9	102%	103%	103%
10	98%	102%	100%

Source: The Author

Table 48 Recovery COD

Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	98%	98%	104%
2	99%	101%	98%
3	103%	100%	100%
4	101%	99%	104%
5	103%	96%	100%
6	97%	104%	105%
7	103%	102%	101%
8	101%	96%	95%
9	100%	100%	103%
10	97%	101%	100%

Source: The Author

Table 49 Recovery Nitrite

Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	101%	103%	102%
2	99%	103%	102%
3	105%	103%	99%
4	103%	103%	101%
5	99%	99%	101%
6	105%	98%	98%
7	100%	101%	102%
8	105%	99%	100%
9	103%	99%	100%
10	98%	100%	99%

Source: The Author

Table 50 Recovery total solids

Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	100%	103%	98%
2	95%	98%	102%
3	100%	102%	101%
4	98%	98%	97%
5	100%	104%	99%
6	102%	99%	98%
7	98%	96%	100%
8	100%	102%	101%
9	98%	103%	99%
10	102%	97%	98%

Source: The Author

Table 51 Recovery Chorines

Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	103%	99%	98%
2	98%	100%	101%
3	102%	101%	102%
4	97%	103%	100%
5	98%	99%	101%
6	101%	101%	102%
7	102%	97%	100%
8	97%	102%	101%
9	105%	101%	100%
10	103%	99%	99%

Source: The Author

Table 52 Recovery total hardness

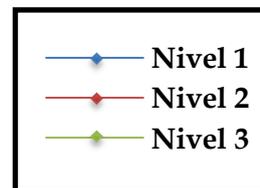
Nº	Level 1	Level 2	Level 3
1	104%	101%	99%
2	97%	103%	99%
3	97%	98%	101%
4	104%	102%	98%
5	97%	99%	101%
6	104%	102%	101%
7	104%	101%	97%
8	104%	98%	98%
9	99%	102%	100%
10	104%	103%	102%

Source: The Author

Control graphics

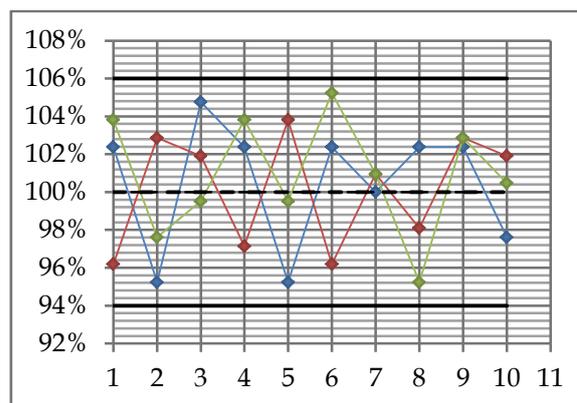
The control graphics are the graphic representations of the recovery in each method that is used to supervise processes and to identify uncertainty and abnormal circumstances.

In the graph 3 the legend is presented for the letters control.



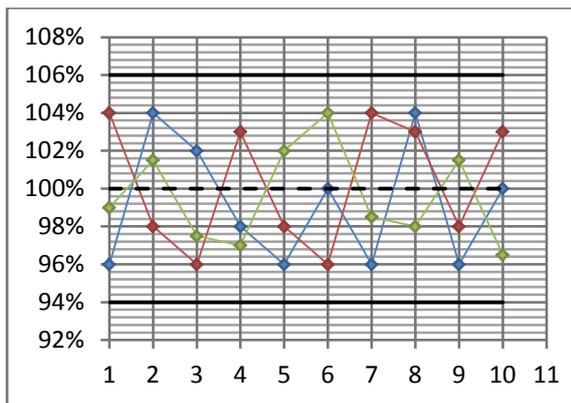
Graphic 3 Legend for control charts

Source: The Author

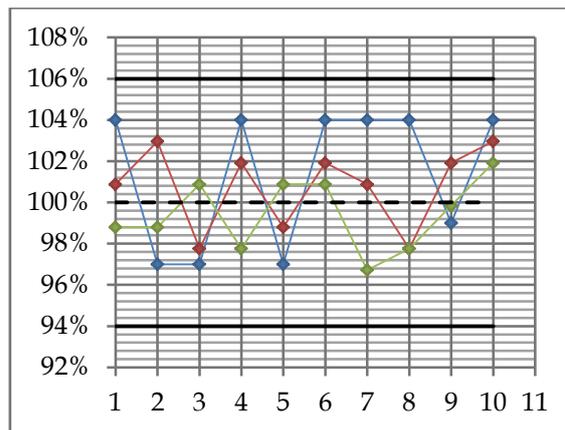


Graphic 4 Control graphic for BOD

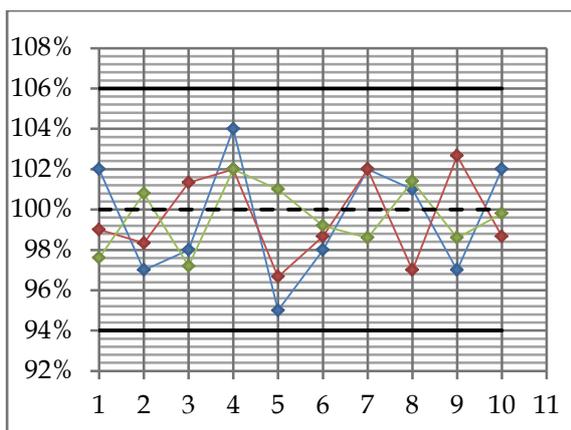
Source: The Author



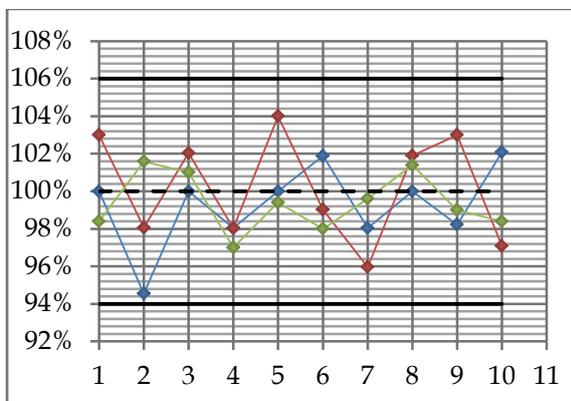
Graphic 5 Control graphic for COD
Source: The Author



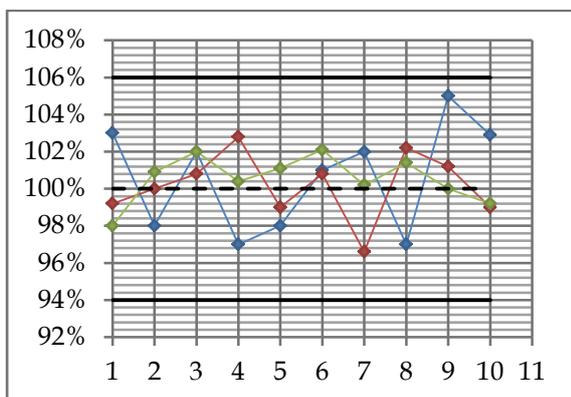
Graphic 9 Graphic of control for total hardness
Source: The Author



Graphic 6 Graphic nitrite control
Source: The Author



Graphic 7 Graphic of control for total solids
Source: The Author



Graphic 8 Graphic of control for chloruros
Fuente: El Autor

Uncertainty

Estima el rango de caracterización de valores, entre el valor convencional verdadero de la cantidad medida.

En la Tabla 15, se presentan los resultados de la determinación de incertidumbre en cada método

Method	Level	C(mg/l)*	Uncertainty
BOD	1	42	2,86
	2	84	18,045
	3	210	45,982
COD	1	20	1,689
	2	100	7,244
	3	1000	38,693
Nitrite	1	0,05	0,0035
	2	0,3	0,0083
	3	0,8	0,0179
Total solids	1	50	3,942
	2	500	13,566
	3	5000	50,838
Chloride	1	5	0,436
	2	100	2,6340
	3	1000	10,205
Total hardness	1	5	0,483
	2	50	1,394
	3	193	7,518

* concentration at each level

Conclusion

- It was possible to validate chemical physical methods for the quantification of BOD, COD, nitrites, total solids, chlorides and total hardness in residual waters, natural water and drinkable water, analyzing parameters like lineal ,

detection limit, quantification limit, repetition, reproduction, accuracy, control graphics and uncertainty, fulfilling each one of these the required approaches of acceptance.

- It was possible to validate chemical physical methods for the quantification of BOD, COD, nitrites, total solids, chlorides and total hardness in residual waters, natural water and drinkable water, analyzing parameters like lineal, detection limit, quantification limit, repetition, reproduction, accuracy, control graphics and uncertainty, fulfilling each one of these the required approaches of acceptance.
- The variation coefficient of each one of the methods in the different concentration levels, provided smaller values to 15%, fulfilling the approaches of acceptance that are shown as in "Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation" as in "Approaches for the validation of physiochemical methods" what indicates that the methods have been repeated.
- To determine the repetition was used a variance analysis ANOVA with a level of trust of 95%, checking that there is not significant difference in none of the levels in the different methods, fulfilling the approach of acceptance that indicates the F-critical one must be bigger than the F-experimental one.
- The repetition was used in a variance analysis ANOVA with a

level of trust of 95%, checking that there is not significant difference in none of the levels in the different methods, fulfilling the approach of acceptance that indicates the F-critical one must be bigger than the F-experimental one.

- The same sample, the same analyst but the rehearsal was carried out them in different weeks, as result of this it was obtained that the methods in the different levels fulfill the approach of acceptance which indicates that T-critical must be bigger than the T-experimental one.

References

1. FERNÁNDEZ, J. & DOLORES, M. Manual de fitodepuración. Filtros de macrofitas en flotación. 117–128
2. RICE, E., BAIRD, R., EATON, A. & CLESCERI, L. *Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater. 22 Edition*, (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation: Washington, DC 20001-3710, 2012).
3. VELP SCIENTIFICA Sistema D.B.O. Demanda Bioquímica de Oxígeno.
4. HACH Manual de análisis de aguas. (2000).
5. Validación secundaria de sólidos totales de aguas empleando horno microondas. *Disponibleen la web: <http://www.validacionesquimicasymicrobiologicas.com/> 10000,*
6. PAUTA, G. *Manual de teoría y prácticas de análisis de aguas.* (Cuenca, 1998).

