

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA.  
RECINTO UNIVERSITARIO "RUBÉN DARÍO"  
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



**TEMA:**

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE REFLUJO CERRADO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR  
TITULOMETRÍA.**

**Trabajo de Monografía para optar al título de Licenciado en Química**

**Autor: Br. Dimas Alberto García Guzmán**

**Tutor: MSc. Róger Amaya Picado**

**Asesor Técnico: Dr. Jorge Pitty Tercero**

**Asesora Metodológica: MSc. Guadalupe Rodríguez Osejo**

**Managua, Nicaragua Septiembre del 2003**

# INDICE

	Páginas
<b>Dedicatoria</b>	i
<b>Agradecimientos</b>	ii
<b>Resumen</b>	1
<b>I Introducción</b>	3
<b>II Objetivos</b>	4
2.1 General	
2.2 Especifico	
<b>III Marco Teórico</b>	5
3.1 Aspectos Generales	
3.1.1 Definición	
3.1.2 Objetivo de validar un método analítico	
3.1.3 Cuando se debe validar un método analítico	
3.1.4 Aspectos que se deben tomar en cuenta para validar un método analítico	6
3.1.5 Grado de validación que requiere un método analítico	
3.1.6 Razones para validar un método analítico	7
3.1.7 Encargados de validar un método analítico	
3.2 Clasificación de la validación	8
3.2.1 Validación interna	
3.2.2 Validación externa	
3.3 Reglas de validación	9
3.3.1 Validación del método completo	
3.3.2 Validación en un intervalo de concentraciones	
3.3.3 Validación sobre una amplia gama de matrices	
3.4 Importancia que tiene la validación de los ensayos dentro del sistema de aseguramiento de la calidad	
3.5 Calibración y estándares	10
3.5.1 Calibración	
3.5.2 Estándares	
3.6 Criterios que definen la eficiencia del método	11
3.6.1 Criterios primarios	
3.6.1.1 Exactitud	
3.6.1.2 Precisión	12
3.6.1.3 Límite de detección	
3.6.2 Criterios secundarios	13
3.6.2.1 Rango de trabajo y linealidad	
3.6.2.2 Límite de cuantificación	
3.7 Herramientas de validación	14
3.7.1 Réplicas	
3.7.2 Muestras y material para ensayar	
3.7.2.1 Muestras	15
3.7.2.2 Obtención de las muestras	
3.7.2.3 Tipos de muestras	
3.7.2.4 Material para ensayar	
3.7.3 Blancos	16
3.7.4 Pruebas de recobro	

3.7.5	Métodos alternativos	17
3.7.6	Materiales de referencia	
3.7.7	Estudios colaborativos	
3.7.8	Pruebas de competencia	18
3.7.9	Los analistas	
3.8	Errores	19
3.8.1	Error de medición	
3.8.2	Error de la muestra	
3.8.3	Errores analíticos	
3.8.3.1	Errores indeterminados o aleatorios	
3.8.3.2	Errores determinados o sistemáticos	20
3.9	Incertidumbre	
3.9.1	Definición	
3.9.2	Tipos de incertidumbres	
3.9.2.1	Incertidumbre estándar	
3.9.2.2	Incertidumbre estándar combinada	21
3.9.2.3	Incertidumbre estándar expandida	
3.9.3	Clasificación y evaluación de las incertidumbres	
3.9.3.1	Evaluación de la incertidumbre tipo A	
3.9.3.2	Evaluación de la incertidumbre tipo B	22
<b>IV</b>	<b>Hipótesis</b>	23
<b>V</b>	<b>Diseño metodológico</b>	24
5.1	Tipo de estudio	
5.2	Población	
5.3	Muestras	
5.4	Variables	
5.4.1	Variable dependiente	
5.4.2	Variables independientes	
5.5	Operacionalización de variables	25
5.6	Equipos, materiales y reactivos.	26
5.6.1	Equipos	
5.6.2	Materiales	
5.6.3	Reactivos	27
5.7	Procedimientos	
5.7.1	Limpieza de cristalería	
5.7.2	Calibración del material de vidrio	
5.7.3	Control de la temperatura del reactor	28
5.7.4	Preparación de los reactivos en el intervalo de [ 50,00-250,00] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
5.7.5	Reactivos para la curva de [5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
5.7.6	Preparación de los estándares	29
5.7.6.1	Estándares de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
5.7.6.2	Estándares de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
5.7.7	Preparación de las muestras para ser digeridas	30
5.8	El método de reflujo cerrado	31
5.8.1	Introducción y selección	
5.8.2	Limitaciones e interferencias	
5.8.3	Muestreo y almacenamiento	

5.8.4	Tratamiento de la muestra	32
5.9	Determinación de la exactitud	
5.10	Determinación de la precisión	
5.11	La repetibilidad y reproducibilidad	
5.12	Determinación del límite de detección y del límite de cuantificación	33
5.13	Determinación del rango de trabajo y la linealidad	
5.14	Prueba de recobro	
5.15	Prueba de competencia	
5.16	Determinación de incertidumbre	34
5.17	Calculo de la Demanda Química de Oxígeno	
5.18	Tratamiento estadístico.	35
<b>VI</b>	<b>Análisis y discusión de los resultados</b>	<b>36</b>
6.1	Calibración del material de vidrio	
6.2	Control de la temperatura del reactor	
6.3	Determinación de la exactitud	
6.3.1	Para el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
6.3.2	Para el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	39
6.4	Cálculo de la precisión	40
6.4.1	Intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
6.4.2	Intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	43
6.4.3	La repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio	44
6.4.3.1	Para el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
6.4.3.2	Para el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	46
6.5	Límite de detección y límite de cuantificación	48
6.6	Rango de trabajo y linealidad	50
6.6.1	Rango de trabajo en el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
6.6.2	Rango de trabajo en el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	53
6.6.3	Evaluación de la linealidad	56
6.6.3.1	Linealidad en el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	
6.6.3.2	Linealidad en el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	57
6.7	Prueba de recobro	59
6.8	Prueba de competencia	60
6.9	Incertidumbre	61
6.9.1	Incertidumbre estándar de la medición	
6.9.2	Incertidumbre estándar expandida de la medición	
<b>VII</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>62</b>
<b>VIII</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>64</b>
<b>IX</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>65</b>
<b>X</b>	<b>Anexos</b>	<b>66</b>
10.1	Tabla de densidad	67
10.2	Límites de tolerancia para el material clase A	68
10.3	Límites de tolerancia para el tiempo de vertido para pipetas clase A	69
10.4	Límites de tolerancia para el tiempo de vertido para buretas clase A	70
10.5	La distribución de "t" de Student	71

10.6	La distribución de "F" de Fisher	72
10.7	Tablas de calibración de materiales volumétricos	73
10.8	Tabla de control de temperatura del reactor de DQO	76
10.9	Manual de reactor de DQO modelo 45600 HACH	77
10.10	Foto del reactor en la última etapa, después de 2 horas de digestión a 150 °C	81
10.11	Forma de preparar la muestra certificada.	82
10.12	Certificado de la muestra certificada	83
	<b>Glosario</b>	84
	<b>Simbología</b>	86

## INDICE DE TABLAS

	Páginas	
Tabla # 1	Variables Operacionalizadas	25
Tabla # 2	Reactivos químicos utilizados para los análisis de validación	27
Tabla # 3	Preparación de 3 estándares para el intervalo de [50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	29
Tabla # 4	Preparación de 3 estándares para el intervalo de [5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	29
Tabla # 5	Volúmenes de reactivos y muestras utilizados en el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	30
Tabla # 6	Volúmenes de reactivos y muestras utilizados en el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	30
Tabla # 7	Cálculos individuales de la exactitud para el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	37
Tabla # 8	Cálculos individuales de la exactitud para el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	39
Tabla # 9	Variación dentro de las muestras el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	44
Tabla # 10	Variación dentro de las muestras el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	46
Tabla # 11	Valores obtenidos por duplicados para la determinación del límite de detección	48
Tabla # 12	Valores de los estándares obtenidos a partir de la curva de calibración el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	50
Tabla # 13	Valores de los estándares obtenidos a partir de la curva de calibración el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	53
Tabla # 14	Cálculos de los residuales $\varepsilon$ comprendidos entre [50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	56
Tabla # 15	Cálculos de los residuales $\varepsilon$ comprendidos entre [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	58
Tabla # 16	Cálculo de los porcentajes de R %	59
Tabla # 17	Cálculo de los porcentajes de r %	59
Tabla # 18	Resultados de la prueba de competencia	60

## INDICE DE GRÁFICOS

		Páginas
Gráfico # 1	Tarjeta de control para el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	41
Gráfico # 2	Tarjeta de control para el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	42
Gráfico # 3	Para el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	52
Gráfico # 4	Para el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	55
Gráfico # 5	Residuales en el intervalo de [ 50,00-250,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	57
Gráfico # 6	Residuales en el intervalo de [ 5,00-50,00 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	58

## **DEDICATORIA**

Dedico ese pequeño y humilde trabajo a mis padre Mirtha Marleene Guzmán y Alberto José García Flores, a mis hermanos Wayra, María de Jesús, Elvis, Nehemías, Cristhian y Ruddy, por el esfuerzo que hemos hecho como familia siempre unida para que de uno en uno irnos superando para tener un futuro mejor.

Dimas Alberto García Guzmán

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer en primer lugar a Dios por haberme brindado la oportunidad de vivir, a mis Padres Mirtha y Alberto por el esfuerzo continuo para que me superara, al MSc. Róger Amaya Picado por haberme brindado parte de su tiempo en ser mi tutor, a la MSc. María Guadalupe Rodríguez Osejo por su apoyo en metodología, al MSc. Ramón Cáceres por sus oportunos comentarios, al Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos CIRA-UNAN, a su Director-Fundador MSc. Salvador Montenegro por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación en tan prestigioso centro, al Dr. Jorge Pitty por asesorarme.

De forma muy fraterna quiero hacer extensivo mi más sincero agradecimiento a Lic. Sylvia Fuentes, Lic. Ivette López, Ing. Selvia Flores, Lic. Carmen Chacón, Lic. Yader Caballero, Ing. Felipe Mendoza, Andrés López y Víctor Campos, todos ellos son parte de mi entorno.

También quiero agradecer a todas las personas que me han dado ánimo a lo largo del desarrollo de este trabajo.

## RESUMEN

En la actualidad, la validación de un método analítico se ha convertido en una necesidad fundamental dentro del sistema de aseguramiento de la calidad de un laboratorio y adquiere mayor relevancia si se valida para ser acreditado.

En este trabajo se realizó la validación de un método analítico que consiste en una serie de verificaciones necesarias para asegurar las características de eficiencia del método y demostrar que el mismo está científicamente regido bajo las condiciones para las cuales debe ser aplicado y debe cumplir con las especificaciones relacionadas con los objetivos de los resultados analíticos, trabajándose con muestras naturales para la realización de las pruebas de recobro, con muestras sintéticas para la elaboración de las tarjetas de control y se utilizó Material de Referencia Certificado para la prueba de Competencia en la calibración de dicho método.

La validación incluye también la calibración del material volumétrico, el control de la temperatura del reactor y la utilización de diferentes técnicas o herramientas de control de calidad de las que se pueden hacer uso entre ellas se utilizan blancos, duplicados, muestra de control y pruebas de recobros para el control y aseguramiento de la calidad de los resultados obtenidos.

Por todo lo anterior, se seleccionó el método de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química Oxígeno por Titulometría que se utiliza en el CIRA-UNAN como objeto de validación en el presente trabajo. Éste es un método Titrimétrico de fácil aplicación y para ello se trabajó a dos intervalos de concentración: de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>; dicho método presenta buena exactitud en ambos intervalos, sin embargo, en el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> es repetible pero no reproducible, mientras que en el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> el método es repetible y reproducible.

Se determinó que por este método es posible detectar como mínimo 6,58 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y como límite de cuantificación 32,92 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> cantidad que se puede reportar con una confianza de 95%. También se presentan valores de recobro entre 80% y 120% para el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y valores entre 90% y 110% para el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

Para el rango de trabajo en el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> la curva de calibración es inestable y debe prepararse diariamente, en tanto en el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> la curva de calibración es muy estable y de acuerdo a las gráficas se confirma que el método es lineal en ambos intervalos. También se comprobó la exactitud del método con una muestra de referencia certificada dando un valor 2.09 % y una incertidumbre estándar expandida de 0,96 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> para el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y de 4.42 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> para el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

Este método, es económico ya que requiere poca cantidad de reactivos, así como de muestras, la rapidez al realizar el análisis en relación con otros métodos y se pueden trabajar una cantidad de muestras a la vez, obteniéndose resultados precisos y confiables.

La desventaja fundamental es que este método no puede ser aplicado a muestra con alta salinidad.

Por tanto, este método puede ser utilizado con mucha confianza por este laboratorio ya que de acuerdo a los resultados obtenidos, presenta conformidad con las normas establecidas y el mismo muy pocas veces se ve afectado por factores ajenos a él, los cuales son fáciles de corregir con anticipación si se aplican correctamente los procedimientos analíticos de trabajos establecidos, en sus diferentes etapas.

## I. INTRODUCCIÓN

En el análisis químico existen diversos métodos analíticos y en la actualidad, validar un método analítico se ha convertido en un paso fundamental dentro del sistema de aseguramiento de la calidad de un laboratorio y mucho más importante aún si se valida para su debida acreditación.

Es por esa razón que en el presente trabajo se seleccionó como objeto de estudio el método de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría, que se utiliza en el Centro para la Investigación de los Recursos Acuáticos de Nicaragua, de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, (CIRA-UNAN), para su debida validación en dos intervalos de concentraciones:

[50,00 – 250,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> aguas residuales.

[5,00 – 50,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> para aguas naturales y aguas poco contaminadas.

Las muestras que estaban fuera del rango [50,00 – 250,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se tuvieron que diluir y mientras que las del rango [5,00 – 50,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se trabajaron directamente.

La validación completa de un método analítico requiere la obtención de datos altamente confiables de todas y cada una de las etapas del análisis que inicia con el muestreo, si así fuera el caso y concluye con el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos en los análisis de las muestras de origen real y muestras sintéticas que contengan el analito de estudio.

Además, se pretende que este trabajo sirva de referencia bibliográfica que guíe y oriente a otros laboratorios interesados en realizar este tipo de estudio, y que marque el inicio de una nueva etapa en los análisis químicos y en el aseguramiento y control de la calidad.

El presente trabajo tuvo que resolver la siguiente pregunta fundamental:

¿Es posible validar el método de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría que se utiliza en el CIRA-UNAN ?

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 GENERAL**

Validar el método de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría, que se utiliza en el Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua, CIRA-UNAN.

### **2.2 ESPECÍFICOS**

- 1.- Determinar la calidad del proceso de medición y de funcionamiento de los materiales y equipos que demuestren la eficiencia del método mediante la calibración.
- 2.- Determinar los parámetros de eficiencia del método como, la exactitud, la precisión, el límite de detección, el límite de cuantificación, la capacidad de recobro, el rango de trabajo, la linealidad y la incertidumbre, mediante la aplicación de los métodos estadísticos.
- 3.- Identificar cada uno de los factores que influyen en el desempeño correcto del método para la corrección oportuna que permita su conformidad con las especificaciones establecidas, al ser aplicado a muestras reales.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 ASPECTOS GENERALES

En el análisis químico muchas veces se deben reunir estándares de calidad definidos y para ello es necesario que el analista defina los parámetros de eficiencia del método en el proceso de validación.

##### 3.1.1 DEFINICIÓN

La validación de un método analítico consiste en una serie de verificaciones necesarias para asegurar las características de eficiencia del método y demostrar que el método está científicamente regido bajo las condiciones para las cuales debe ser aplicado.<sup>1</sup>

La validación de un método establece que las características de eficiencia del método deben cumplir con las especificaciones relacionadas con los objetivos de los resultados analíticos.

##### 3.1.2 OBJETIVO DE VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO

Se valida un método analítico con el objetivo de establecer las diferencias del desempeño de un método en particular e identificar los aspectos que pueden influir en las características del mismo, y hasta que puntos pueden ser cambiadas o afectadas.

Por lo tanto, la validación de un método es un proceso basado en el desempeño y las limitaciones de éste y que sea consistente con los requerimientos de su aplicación.

##### 3.1.3 CUANDO SE DEBE VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO

Se debe validar un método analítico cuando sea necesario verificar que sus características de desempeño son las adecuadas para su uso en la resolución de un problema analítico en particular<sup>2</sup>; por ejemplo, en los siguientes casos:

- Cuando se desarrolla un nuevo método para resolver un problema nuevo.

---

<sup>1</sup>Delgado, Gustavo.(1996). VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. Nicaragua:UNAN-LEÓN. Página 2.

<sup>2</sup>Chacón, Jorge. (Agosto,1999). CURSO TEORICO PRÁCTICO EN ASPECTOS TÉCNICOS DE CONTROL DE CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS. Sala de Lectura del Centro para la investigación en Recursos Acuáticos. Nicaragua: CIRA-UNAN. Página 27.

- Cuando se revisa un método establecido para incorporar mejoras o ampliar su aplicación a nuevos problemas.
- Cuando el control de calidad indica que un método establecido está cambiando a través del tiempo.
- Cuando un método establecido es usado por primera vez en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o instrumentos.
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos analíticos.

#### 3.1.4 ASPECTOS QUE SE DEBEN TOMAR EN CUENTA PARA VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO

Los aspectos son muchos, pero entre los más relevantes e importantes en el ámbito industrial y comercial se tiene:

**VELOCIDAD:** Esta es indispensable cuando se requiere analizar un número grande de muestras, de modo que los resultados del análisis puedan ser obtenidos en corto tiempo con el mínimo de esfuerzo y costo.

**EQUIPO:** Éste debe cumplir con los requisitos requeridos por el método, debe ser revisado periódicamente para asegurar su buen funcionamiento durante la medición que se va a realizar.

**SEGURIDAD:** En general, se debe evitar el uso de métodos en los cuales se trabaje con reactivos tóxicos, dado el caso debe usarse el equipo de protección adecuado.

**COSTO:** Tanto la administración del laboratorio como el cliente deben estar conscientes del costo del análisis siendo el personal humano el de mayor valor, le sigue el costo de operación del laboratorio y finalmente el costo de la aplicación del método.<sup>3</sup>

#### 3.1.5 GRADO DE VALIDACIÓN QUE REQUIERE UN MÉTODO ANALÍTICO

En el laboratorio se decidirá que parámetros de desempeño del método requieren ser validados.

Los requisitos de una validación pueden estar especificados en lineamientos dentro de un sector en particular, y se recomienda seguirlos cuando estén disponibles.

---

<sup>3</sup>Chacón, Jorge. op. cit. Página 25.

### 3.1.6 RAZONES PARA VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO

- 1.- Por la importancia de las mediciones analíticas: Pues la sociedad demanda que los resultados de esas mediciones sean útiles, seguros, confiables y con mucha más razón si se trata de mediciones químicas.
- 2.- Por el deber profesional del químico analítico: El personal del laboratorio debe estar claro de su responsabilidad y justificar la confianza del cliente, garantizando la respuesta correcta al problema analítico de interés. Es decir, debe demostrar que los resultados son adecuados y confiables.

De esta manera el desempeño del método debe ser validado y de igual manera, debe estimarse la incertidumbre de los resultados analíticos obtenidos a través de todo el proceso.

El hecho de que un método sea bueno y se use regular y adecuadamente para obtener resultados confiables, implica que las muestras a analizarse deben ser las apropiadas para resolver el problema.

### 3.1.7 ENCARGADOS DE VALIDAR UN MÉTODO ANALÍTICO

Los métodos analíticos deben ser validados:

- a. Por un laboratorio único
- b. Por un grupo de laboratorios
- c. Por organizaciones de consenso estándar.

Cuando un método es validado por un laboratorio único, el que sea aceptable dependerá de los lineamientos que cubren el área de interés de la medición en cuestión.

Si un método es desarrollado para tener un amplio uso, por ejemplo como un procedimiento normal publicado, entonces el estudio colaborativo que involucra a una gran cantidad de laboratorios es probablemente la manera preferida de llevar a cabo la validación.

Sin embargo, muchos métodos son validados por organizaciones de consenso estándar<sup>4</sup>.

En el caso de este estudio, se validó el método de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno como un paso fundamental dentro del sistema de aseguramiento de la calidad.

---

<sup>4</sup>Garfield M, Federick.(1993). PRINCIPIOS DE GARANTIA DE CALIDAD PARA LABORATORIOS CLINICOS. Estados Unidos :AOAC.2ª ed. Página 72.

## **3.2 CLASIFICACIÓN DE LA VALIDACIÓN**

### **3.2.1 VALIDACIÓN INTERNA**

La validación interna consiste en realizar las diferentes etapas de la validación dentro del laboratorio, las cuales van desde la preparación de la muestra hasta los análisis de los resultados, admitiendo que las muestras a utilizar sean homogéneas y representativas.

Hay cuatro tipos de validación interna:

**Validación Prospectiva:** Se lleva a cabo cuando un método se va a utilizar en un análisis.

**Verificación de Adaptabilidad:** Cuando se transfiere un método de un laboratorio donde ha sido validado a otro laboratorio que piensa utilizarlo.

**Validación Retrospectiva:** Consiste en coleccionar los resultados durante un período de tiempo de un cierto número de determinaciones y hacer un estudio de la reproducibilidad en un amplio período de tiempo.

**Control de Calidad:** Este se realiza con el análisis de una o pocas muestras de composición conocida (material de referencia certificado o muestras preparadas en el laboratorio a partir de reactivos de gran pureza) con el fin de elaborar cartas de control donde se refleje el sesgo y la reproducibilidad

### **3.2.2 VALIDACIÓN EXTERNA**

La validación externa se lleva a cabo comparando los resultados de un laboratorio con los de otro laboratorio de reputación nacional e internacional, utilizando la misma muestra (ring-test). Pero, deben ser al menos ocho laboratorios con capacidad de realizar un análisis especificado en el procedimiento analítico.

Una buena práctica en todo laboratorio de química es validar sistemáticamente sus métodos analíticos a través de la validación interna y en la medida de que sea posible por la validación interlaboratorial.

### **3.3 PRINCIPALES REGLAS DE VALIDACIÓN**

#### **3.3.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO COMPLETO**

Muy frecuentemente se validan solamente las determinaciones propiamente dichas (la medición analítica). Sin embargo, se deben validar también las etapas preparatorias, tales como la disolución, la preparación de la muestra, etc.

#### **3.3.2 VALIDACIÓN EN UN INTERVALO DE CONCENTRACIONES**

Un método se puede trabajar muy bien a altas concentraciones, pero puede ser inadecuado a bajas concentraciones. Se sabe muy bien que la precisión del método depende de la concentración del analito presente en la muestra.

#### **3.3.3 VALIDACIÓN SOBRE UNA AMPLIA GAMA DE MATRICES**

Esto se refiere a la aplicación del método en la determinación de un analito que puede estar presente en muestras de diferente tipo, por ejemplo, en agua, suelos, alimentos, muestras biológicas, etc.

### **3.4 IMPORTANCIA QUE TIENE LA VALIDACIÓN DE LOS ENSAYOS DENTRO DEL SISTEMA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD.**

La validación de un método no es simplemente la descripción del procedimiento, sino también la confianza que se debe tener en los resultados.

El tipo de control depende de la naturaleza, la importancia y la frecuencia del análisis, el tamaño del lote, el grado de automatización y las dificultades de las pruebas, también de la experiencia del analista desarrollada durante la etapa de validación<sup>5</sup>.

Por lo tanto, el aseguramiento de la calidad define todas las actividades globales que se llevan a cabo en el laboratorio que aseguran y regulan la calidad de los análisis y de los resultados analíticos.

---

<sup>5</sup> Chacón, Jorge. op. cit. Página 36.

### 3.5 CALIBRACIÓN Y ESTÁNDARES

#### 3.5.1 CALIBRACIÓN

La calibración se define como el conjunto de operaciones que se establecen bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores de magnitudes indicadas por un instrumento o sistema de medición, o valores reportados por una medida materializada o un material de referencia y los correspondientes valores reportados en los patrones<sup>6</sup>.

En el laboratorio el material de uso más frecuente es el vidrio, por tanto este material debe calibrarse antes de las determinaciones volumétricas, con el objetivo de eliminar errores sistemáticos ocasionados por la vidriería utilizada como instrumento de medición.

**El método general de calibración** de la vidriería volumétrica consiste en medir la masa del volumen de agua destilada que el aparato contiene o entrega. A partir de la densidad del agua y la temperatura de medición se calcula el volumen real que el instrumento mide. La diferencia entre el volumen real y el marcado en el instrumento define el error introducido por la medición. La tolerancia de los recipientes volumétricos y de los tiempos de vertido se encuentra en los Anexos 10.2, 10.3 y 10.4

El Instituto Nacional de Normas y Tecnología de los Estados Unidos [NIST, por sus siglas en inglés], recomienda utilizar 20 °C como la temperatura estándar<sup>7</sup>.

Los cambios de temperatura afectan mayormente el volumen de la disolución. La densidad a las diferentes temperaturas se encuentra en el Anexo 10.1 y el volumen se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$Volumen = \frac{masa\ del\ agua}{densidad} \qquad \text{Ecuación \# 1}$$

La densidad estará en función de la temperatura del agua que se utiliza en el proceso de calibración.

#### 3.5.2 ESTÁNDARES

Los estándares son reactivos de gran pureza y de alto peso molecular, de la más alta calidad disponible, deben ser certificados y trazables, los cuales se utilizan para preparar una solución patrón.

---

<sup>6</sup> Chacón, Jorge. op. cit. Página 42.

<sup>7</sup> Chacón, Jorge. op. cit. Página 143.

**Patrón Primario:** Son sustancias cuya composición y pureza son conocidas con exactitud y son las sustancias más puras de que se dispone dentro de la misma clase con la cual todas la demás sustancias se normalizan.

**Patrón Secundario:** Son las sustancias cuya composición o pureza se determina por comparación con un patrón primario o una disolución patrón primario.

La utilidad de estos estándares radica, en que se utilizan para construir la curva de calibración, determinando así la capacidad de medición del instrumento, o sea que calibran el equipo y controlan la calibración.

### **3.6 CRITERIOS QUE DEFINEN LA EFICIENCIA DEL MÉTODO**

La calidad de los resultados en el análisis químico dependerá muchas veces de los criterios que se tomen en cuenta a la hora de realizarlos.

Los criterios que definen la eficiencia del método se clasifican en:

**PRIMARIOS:** Exactitud, Precisión y Límite de Detección.

**SECUNDARIOS:** Límite de Cuantificación, Rango de trabajo y Linealidad. (Estos parámetros tienen influencias sobre los criterios primarios).

#### **3.6.1 CRITERIOS PRIMARIOS**

##### **3.6.1.1 EXACTITUD**

La exactitud expresa que tan cerca de la media de los grupos de resultados está el valor verdadero y normalmente se indica con el sesgo o sea que mide el tamaño del error sistemático<sup>8</sup>. La exactitud se representa con el símbolo  $\beta$ .

Para su determinación se utilizan dos técnicas:

- 1.- Se compara el valor obtenido de la media contra el valor de referencia proveniente del material de referencia.
- 2.- Se compara el valor obtenido contra el valor proveniente de otros métodos de análisis.

Los valores que proveen los materiales certificados de referencia tienen trazabilidad. Para usarlos, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas del material de referencia certificado y se comparan estadísticamente con el valor de referencia del material de referencia certificado, para ello se utilizan las ecuaciones siguientes:

---

<sup>8</sup> Delgado, Gustavo. op. cit. Página 4.

$$\beta = \bar{X} - \mu \quad \text{Ecuación \# 2}$$

$\mu$  = valor verdadero

$\bar{X}$  = valor promedio obtenido

$$\beta\% = \frac{\bar{X} - \mu}{\mu} \times 100 \quad \text{Ecuación \# 3}$$

La validación necesita llenar el propósito para el que se utiliza el método, de tal manera que el material de referencia debe ser el adecuado para su uso<sup>9</sup>.

### 3.6.1.2 PRECISIÓN

La precisión es una medida de que tan cerca están los resultados entre sí y usualmente se expresa por medio de la desviación estándar que describe la dispersión de los resultados obtenidos.

Las medidas más comunes para la precisión son:

Repetibilidad ( $S_r$ ): Es la precisión esperada bajo las mejores condiciones; por ejemplo, en intervalos cortos de tiempo en un mismo laboratorio efectuado por el analista designado con el mismo instrumento. También se conoce como la precisión dentro de la muestra.

Reproducibilidad ( $S_R$ ): Es la precisión esperada para la medición de un analito en una muestra, efectuada por diferentes operadores, con el mismo o con diferentes instrumentos en el mismo o diferente laboratorio. También se conoce como la precisión entre las muestras.

### 3.6.1.3 LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección (LD) en el análisis químico es la cantidad mínima de analito que puede ser detectado con confianza por el método utilizado.

Para propósitos de validación basta con indicar el nivel al cual la detección del analito se vuelve problemática

Puede definirse al límite de detección como la cantidad de concentración del analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco  $Y_b$ , más tres veces la desviación estándar del blanco<sup>10</sup>.

---

<sup>9</sup> Chacón, Jorge. op. cit. Página 20.

<sup>10</sup> Hernández, Lidia y Gioconda Matus. (1999). VALIDACIÓN DEL MÉTODO ÁCIDO VANADOMOLIBDOFOSFÓRICO PARA LA DETERMINACION DE FOSFORO TOTAL EN AGUAS RESIDUALES. Tesis para optar la titulo de Licenciatura en Química. Nicaragua: UNAN-LEON. Página 23.

La ecuación siguiente presenta una de la forma de calcular el límite de detección:

$$LD = Y_b + 3 S_b \quad \text{Ecuación \# 4}$$

Otra forma de calcular el límite de detección según ISO – Guía del Reporte Técnico para el control de calidad analítico en el análisis de agua, es mediante la ecuación:

$$LD = 2 \sqrt{2} \times t_{0.05} S_b \quad \text{Ecuación \# 5}$$

2 = Factor que se utiliza dependiendo del grado de confianza que se requiera para la detección.

$t_{0,05 (n-1)}$  = nivel de 95% de probabilidad de una cola con n-1 grados de libertad.

$S_b$  = Desviación estándar dentro de los pares de resultados.

### 3.6.2 CRITERIOS SECUNDARIOS

#### 3.6.2.1 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de exactitud y de precisión.

También se define como la concentración de un componente que produce una señal igual a la señal del blanco  $Y_b$ , más diez veces la desviación estándar del blanco.

$$LC = Y_b + 10 S_b \quad \text{Ecuación \# 6}$$

Según la ISO el Límite de Cuantificación puede expresarse<sup>11</sup>, también como:

$$LC = 10\sqrt{2} \times t_{0.05} S_b \quad \text{Ecuación \# 7}$$

10 = Factor que se utiliza dependiendo del grado de confianza que se requiera para la detección.

$t_{0,05 (n-1)}$  = nivel de 95% de probabilidad de una cola con n-1 grados de libertad.

$S_b$  = Desviación estándar dentro de los pares de resultados.

---

<sup>11</sup>Makinen, Irma. (Noviembre, 2000). TALLER SOBRE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. Sala de conferencia del Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos. Nicaragua: CIRA-UNAN.

### 3.6.2.2 RANGO DE TRABAJO Y LINEALIDAD

El rango de trabajo representa el intervalo (nivel inferior y nivel superior) al cual se puede medir con confianza el analito, en el cual la relación lineal y otro modelo de calibración utilizados sean correctos.<sup>12</sup>

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el rango de concentraciones del analito dentro del cual se aplica el método.

La parte inferior del rango puede estar determinada por el límite de cuantificación o el límite de detección y la parte superior va estar determinada, entre otros aspectos hasta que punto la curva de calibración usada por el método es lineal.

El rango de trabajo está determinado por las disoluciones que se miden y no por concentraciones de las muestras originales.

## 3.7 HERRAMIENTAS DE VALIDACIÓN

Para validar un método analítico el analista además de determinar los criterios de eficiencia del método, se vale de herramientas básicas de validación útiles que le permiten obtener mejores resultados, y con esto el error se logra reducir hasta el mínimo aceptable.

Entre las herramientas disponibles para la validación están:

### 3.7.1 RÉPLICAS

Las pruebas analíticas deben realizarse al menos con duplicados para asegurar una buena reproducibilidad de los resultados, se deben tomar varias porciones de la muestra para que ésta sea completa y homogénea. Haciendo los análisis con réplicas se aseguran dos cosas:

- 1.- Que el método usado es el correcto y que el analista está realizando correctamente las operaciones.
- 2.- Se logra disminuir el error, esto debido a que las réplicas analizadas son hechas en porciones separadas de las muestras.

---

<sup>12</sup> Delgado, Gustavo. op. cit. Pagina 4.

## 3.7.2 MUESTRAS Y MATERIAL PARA ENSAYAR

### 3.7.2.1 MUESTRAS

Las muestras reales usadas en la validación son útiles debido a la información que pueden proveer y que podrían encontrarse en el trabajo cotidiano con este tipo de muestra.<sup>13</sup>

Si se conoce el contenido del analito en la muestra real, el mismo puede usarse para evaluar la exactitud del método mediante las pruebas de recobro.

### 3.7.2.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para ello es necesario realizar un plan de muestreo, pero puede darse el caso que se tome una parte de las muestras que hay en el laboratorio.

### 3.7.2.3 TIPOS DE MUESTRAS

Se pueden describir de varias formas de acuerdo con los aspectos siguientes:

Estado Físico: Sólido, Líquido y Gaseosa.

Composición: Homogénea o Heterogénea.

Plan de Muestreo: Representativa, Selectiva, Compuestas y Aleatorias.

### 3.7.2.4 MATERIAL PARA ENSAYAR

Hay una gran variedad y entre ellos tenemos:

**Materiales Fortificados:** Se preparan adicionando una cantidad de analito de pureza conocida al material a analizar.

**Materiales Dopados:** Se preparan de forma similar a la fortificación, se adicionan cantidades variables de una interferencia en particular para juzgar cómo afecta al analito a un nivel específico de concentración de dicha interferencia.

**Material Contraído:** Este material se prepara en caso de muestras que no contienen el analito de estudio, el cual es introducido antes del muestreo al material, el analito está entonces mejor relacionado con la matriz de la muestra que si se hubiese realizado una fortificación.

---

<sup>13</sup> Chacón Jorge. op. cit. Página 32.

**Materiales Caracterizados Independientemente:** Son materiales caracterizados por un método conocido y que aporta un sesgo insignificante, y que puede ser utilizado para evaluar el método de estudio.

**Patrón de Medición:** Es cualquier material en el que un parámetro o propiedad ha sido caracterizado al punto que se pueda usar como referencia o con propósitos de calibración.

### 3.7.3 BLANCOS

Son de gran utilidad en el análisis químico, ya que predicen generalmente el grado de contaminación ya sea de los reactivos, los materiales y el ambiente. Permiten evaluar cuanto de la cantidad medida se debe a la presencia del analito y cuánto a otras causas.

Se clasifican en:

**Blancos de Reactivos:** Estos se preparan usando los reactivos que sugiere el método para el análisis que se está realizando.

**Blancos de Muestras:** En este tipo de blanco se emplean matrices en las cuales el analito de interés no está presente, se usan para controlar la presencia de sustancias interferentes.

### 3.7.4 PRUEBAS DE RECOBRO

El enfoque ideal para la evaluación de métodos es hacer pruebas en una muestra de composición conocida que duplique exactamente el tipo de muestra en la que el método será usado. Lamentablemente no siempre es posible esta solución ideal<sup>14</sup>.

Debido a que los métodos analíticos no siempre miden el analito de interés presente en la muestra y se necesita evaluar el grado con que esto se realiza, una vez establecida la naturaleza y composición de la muestra, una prueba de recobro debe ser ejecutada; esto consiste en agregar una cantidad conocida del analito de estudio a la muestra y el análisis debe ser ejecutado antes y después de la adición.

$$\text{Recobro } \% = \frac{\text{muestra con agregado} - \text{muestra natural}}{\text{cantidad agregada}} \times 100 \quad \text{Ecuación \# 8}$$

Los valores de recobro deben oscilar entre **80%** y **120%**.

---

<sup>14</sup> Garfield M, Federick, op cit. Página 73.

### 3.7.5 MÉTODOS ALTERNATIVOS

Cuando un análisis químico ha sido totalmente realizado y se han obtenido los resultados, se debe considerar hacer uso de otro método para determinar el analito presente en la muestra.

Preferiblemente el método debe estar basado en un principio físico-químico diferente al usado en el método.

Los métodos de validación se explican por sí mismo<sup>15</sup>, y es común comparar con un método oficial o con un método que se ha encontrado aceptable, si las muestra en la comparación y las muestras recién validadas no difieren sustancialmente en composición o en el orden de la magnitud de la concentración del analito.

### 3.7.6 MATERIALES DE REFERENCIAS

Un material de referencia es una sustancia, en la cual una o más de sus propiedades están suficientemente bien establecidas para que sean usadas en la calibración de un aparato durante la estimación de un método de medición o para asignarles valores a los materiales.

Entre los materiales de referencia tenemos: Los reactivos de pureza conocida.

Los **materiales de referencia certificados**, tienen una o más propiedades certificadas por un procedimiento técnico válido, acompañado de un certificado emitido por un ente certificador.

La caracterización de un parámetro de interés en este tipo de material está controlada al máximo, reduciendo así el error al mínimo mediante el análisis por diferentes métodos.

Un **material estándar de referencia**: Es aquel que tiene propiedades químicas o físicas específicas certificadas, y son emitidas con certificados que registran los resultados de la caracterización e indican el uso del material.

### 3.7.7 ESTUDIOS COLABORATIVOS

Este se realiza con el objetivo brindar una respuesta a la siguiente pregunta. ¿Si la muestra se analiza por el mismo método en diferentes laboratorios los resultados obtenidos serán los mismos dentro de los límites de error aleatorio?

---

<sup>15</sup> Garfield M, Federick. op cit. Página 74.

Cabe suponer, que usando instrumentos idénticos, pero en diferentes laboratorios los resultados van a ser similares cuando se aplica un determinado método a muestras idénticas por científicos expertos.

Un estudio de colaboración busca evaluar la variación en los resultados de un método analítico cuando se efectúa en una serie de laboratorios.

Estos estudios tienen dos propósitos:

- 1.- Definir si el método que se está utilizando es de uso general.
- 2.- Identificar al laboratorio que se le puede confiar un trabajo analítico de mucha importancia.

Los estudios colaborativos son una forma especial de pruebas para evaluar el desempeño del método en condiciones reales de trabajo.

### 3.7.8 PRUEBAS DE COMPETENCIAS

Las pruebas de competencias tratan de dar respuesta a preguntas tales ¿Cómo sabe usted que sus resultados son correctos? La respuesta a la pregunta sería, estableciendo un programa confiable que garantice la calidad del tratamiento analítico.

Las pruebas de competencia son un programa sistemático de prueba en el cual se analizan muestras de composición conocida para evaluar la capacidad que el laboratorio tiene de desempeñarse en un nivel aceptable<sup>16</sup>.

Por lo tanto cabe señalar que la validación de los resultados, es un paso importante de control en el programa de garantía de calidad que proporciona una verificación de los resultados analíticos de laboratorio.

La validación de los resultados muchas veces se conoce como prueba de competencia, el propósito es determinar si el laboratorio está en la capacidad de realizar correctamente los análisis que se le solicitan en muestras de composición conocida.

Las pruebas de competencias se han convertido en un requisito para la acreditación.

### 3.7.9 LOS ANALISTAS

Es razonable que un analista bien entrenado y con mucha experiencia, obtenga mejores resultados en el análisis de las muestras y opere con un mínimo de supervisión, que un analista nuevo y con poca experiencia.

---

<sup>16</sup> Garfield M, Federick. op cit. Página 87.

El analista debe entender que sus resultados pueden verse distorsionados por interferencias provenientes tanto de las mismas muestras como del procedimiento usado para analizarla.

### 3.8 ERRORES

En todos los análisis que se realizan dentro de un laboratorio hay un grado de incertidumbre. No es posible obtener el valor exacto o verdadero en todas las determinaciones analíticas que se efectúan, sin embargo puede reducirse considerablemente el grado de incertidumbre con un buen programa de control de calidad.

Desde el momento que se solicita un análisis hasta la entrega de los resultados éstos están propensos a los errores. Por tanto, nuestro principio guía será, que no existen resultados cuantitativos válidos si no van acompañados de alguna estimación de los errores inherentes en ellos<sup>17</sup>.

Los errores se pueden clasificar como:

#### 3.8.1 ERROR DE MEDICIÓN

Es el resultado de una medición menos el valor verdadero de la magnitud a medir.

#### 3.8.2 ERROR DE LA MUESTRA

Esto sucede cuando se usan métodos no apropiados de recolección y conservación de las muestras para las pruebas analíticas y puede introducir errores en los resultados analíticos.

#### 3.8.3 ERRORES ANALÍTICOS

##### 3.8.3.1 ERROR INDETERMINADO O ALEATORIO

Es el resultado de una medición menos la media que pudiera resultar de un infinito número de mediciones de la misma magnitud a medir, llevadas bajo condiciones de repetibilidad, estos errores pueden ser positivos o negativos<sup>18</sup>.

Los errores aleatorios nos son fáciles de encontrar o detectar, afectan la precisión de un experimento<sup>19</sup>. Afectan la repetibilidad y la reproducibilidad.

---

<sup>17</sup> Millier J.C y J.N. Miller. (1993). ESTADÍSTICA PARA QUÍMICA ANALÍTICA. Estados Unidos:ADDISON-WESLEY IBEROAMERICANA.2ª ed. .Página 2.

<sup>18</sup> Muralli, Dharan.(1982). CONTROL DE CALIDAD EN LOS LABORATORIOS CLINICOS. España: EDITORIAL REVERTE S.A. Página 14.

<sup>19</sup> Miller, J.C. y J.N. Miller op. cit. Página 2..

### 3.8.3.2 ERRORES DETERMINADOS O SISTEMÁTICOS

Es la media que puede resultar de un infinito número de mediciones de la misma magnitud a medir, llevada bajo condiciones de repetibilidad, menos el valor verdadero de dicha magnitud.

Entre las causas de estos errores se tienen:

Las operaciones incorrectas en el uso de los instrumentos y equipos.

Los errores causados por los analistas, éstos muchas veces son difíciles de detectar y rectificar.

Las condiciones de trabajo deben ser adecuadas y agradables, para mejorar la productividad y la calidad, un agobio influirá negativamente en la habilidad del técnico en desarrollar un buen análisis y producir resultados confiables.

Los errores sistemáticos afectan la exactitud o sea la proximidad al valor verdadero

## 3.9 INCERTIDUMBRE

El propósito de una medición, ya sea experimental o de prueba, es caracterizar numéricamente el estado o desempeño de un proceso físico.

Se hace necesario tener un método normalizado para describir y reportar la calidad de los resultados procedentes de las mediciones<sup>20</sup>.

### 3.9.1 DEFINICIÓN

La Incertidumbre es el parámetro asociado a los resultados de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser razonablemente atribuidos a la magnitud a medir.

**Objeto mensurable o magnitud a medir:** Magnitud particular sujeta a ser medida.

### 3.9.2 TIPOS DE INCERTIDUMBRES

#### 3.9.2.1 INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR

Es la incertidumbre del resultado de una medición expresado como una desviación estándar y se representa mediante la ecuación:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Ecuación # 9

---

<sup>20</sup> Chacón, Jorge. Op. cit. Página 37.

### 3.9.2.2 INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA ( $U_c$ )

Es la incertidumbre estándar del resultado de un análisis cuando éste es obtenido de una combinación de valores de otras cantidades y es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, estos términos pueden ser la varianza o la covarianza y su expresión matemática es la siguiente:

$$U_c = \sqrt{U_1 + U_2 + \dots} \quad \text{Ecuación \# 10}$$

### 3.9.2.3 INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR EXPANDIDA ( $U_e$ )

Es la cantidad que define un intervalo para el resultado de una medición, en el cual puede esperarse que se encuentre en una fracción grande de la distribución normal de los valores que podrían ser razonablemente atribuidas al objeto mensurable. Esta incertidumbre se determina como:

$$U_e = 2 U_c \quad \text{Ecuación \# 11}$$

donde:

2 = Dos desviaciones estándar (95%)

## 3.9.3 CLASIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS INCERTIDUMBRES.

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre se recomienda clasificarlas como tipo **A** y tipo **B**, dependiendo del método usado para evaluarla.

### 3.9.3.1 EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE TIPO **A**

Estas evaluaciones son las que están basadas en el análisis estadístico de las observaciones y para obtenerlas, se pueden ejecutar las técnicas siguientes:

Se llevan a cabo un número de mediciones independientes, se calcula la media y la desviación estándar.

$$U(\bar{x}) = S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}} = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación \# 12}$$

S = Desviación estándar de la media

n = números de experimentos

### 3.9.3.2 EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE TIPO **B**

Puesto que no es práctico evaluar todas las incertidumbres por métodos estadísticos, muchas componentes pueden ser evaluadas por cualquier otro método que esté disponible. Una incertidumbre estándar tipo **B** puede ser asociada con efectos sistemáticos o efectos aleatorios.

El uso adecuado de la información disponible para una evaluación de la incertidumbre estándar tipo **B**, es una habilidad que está basada en la experiencia y el conocimiento general.

Una evaluación tipo **B** puede ser tan confiable como una evaluación tipo **A**, especialmente en aquellos casos en los que, para evaluar esta última se usa un pequeño número de observaciones.

La información de utilidad puede ser:

- Datos de mediciones anteriores.
- Conocimiento general de las características, comportamiento y las propiedades de los materiales e instrumentos relevantes.
- Especificaciones de los fabricantes.
- Datos obtenidos de los certificados de calibración y otro tipo de certificados.
- Incertidumbre asignada a datos de referencia tomados de manuales.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Utilizando los criterios de eficiencia del método analítico y las herramientas básicas de validación necesarias para obtener buenos resultados, es posible validar el Método de Reflujo Cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) por Titulometría en agua.

## V. DISEÑO METODOLÓGICO

### 5.1 TIPO DE ESTUDIO

En esta investigación se realizó un estudio analítico experimental, el cual consistió en la caracterización estadística de los resultados obtenidos en el análisis de muestras de referencias y muestras reales, para tener un control estadístico del método. Para la realización de esta validación se trabajó con Material de Referencia Certificado para realizar la prueba de competencia.

### 5.2 POBLACIÓN

La población de estudio estuvo constituida por muestras de aguas de origen natural, muestras de aguas residuales y muestras sintéticas preparadas en el laboratorio y material de referencia certificado.

### 5.3 MUESTRAS

Las muestras de estudio fueron las que se encontraban presente en el Laboratorio. El método se aplicó a cinco (5) muestras para el primer intervalo de concentración [50,00 – 250,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y a tres (3) muestras para el segundo intervalo de concentración [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

### 5.4 VARIABLES

#### 5.4.1 VARIABLE DEPENDIENTE

Validación del método analítico de reflujo cerrado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría.

#### 5.4.2 VARIABLES INDEPENDIENTES

Criterios de eficiencia del método analítico.

Herramientas básicas de validación de un método analítico.

## 5.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**TABLA # 1:** Variables Operacionalizadas

VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADORES	VALORES
Dependiente			
Validación del método de reflujo cerrado para la determinación de la demanda química de oxígeno por Titulometría	Son los pasos fundamentales del análisis para la obtención de resultados confiables y demostrar que el método está científicamente regido	Calibración	Según lo establecido para estos análisis a partir de una serie de verificaciones y determinaciones.
		Estandarización	
		Tratamiento de la muestra.	
		Tratamiento Estadístico de los resultados.	
Independientes			
Criterios de eficiencia del método analítico.	Reglas para emitir un juicio sobre una determinada calidad en el análisis químico.	Exactitud	Media de los resultados.
		Precisión	Desviación estándar de los resultados
		Límite de Detección	$LD = 2\sqrt{2} t_{0,05} S_w$
		Límite de Cuantificación	$LC = 10\sqrt{2} t_{0,05} S_w$
		Rango de trabajo y Linealidad.	[ 5 – 50 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> [ 50 – 250 ] mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>
Herramientas básicas de validación de un método analítico.	Instrumentos que sirven para controlar y ejecutar una determinada acción en el análisis químico.	Número de Blancos.	Dos (2)
		Número de Réplicas.	Dos (2)
		Porcentaje de Recobro	[ 80% -120% ]

## 5.6 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Los equipos, materiales y reactivos utilizados en esta investigación fueron los siguientes:

### 5.6.1 EQUIPOS

Balanza analítica: Mettler AE 160 de 0,1 mg de precisión.

Reactor de DQO marca (HACH): Es un calentador de bloque de aluminio fundido con agujeros (25 en total) de 50 mm de profundidad que se ajustan al diámetro de los tubos de digestión. (Ver anexos 10.9 y 10.10).

### 5.6.2 MATERIALES

Agitador magnético y magnetos

Bureta de 10 ml

Beaker's de 100 ml

Matraz erlenmeyer de 100 ml

Espátula

Matraces volumétricos de 10, 100 y 1000 ml

Pipetas graduadas de 2, 5 y 10 ml

Pipetas volumétricas de 10, 20, 30, 40, 50 y 100 ml

Pizeta con agua desionizada.

Probeta de 500 ml

Tubos de vidrio para digestión de 160 x 10 mm

### 5.6.3 REACTIVOS

Los reactivos químicos utilizados en este estudio se muestran en la tabla siguiente:

**TABLA # 2:** Reactivos químicos utilizados para los análisis de validación.

NOMBRE	FÓRMULA	MARCA	NÚMERO DE CAS
Ácido sulfúrico concentrado.	$H_2SO_4$	MERCK	7664-93-9
Dicromato de potasio	$K_2Cr_2O_7$	MERCK	7778-50-9
Ftalato Hidrógeno de potasio	$KHC_8H_4O_4$	MERCK	877-24-7
Sulfato de hierro (II) Heptahidratado.	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	MERCK	7782-63-0
Sulfato de hierro (II) y Amonio hexahidratado.	$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	MERCK	77783-85-9
Sulfato de mercurio (II)	$HgSO_4$	MERCK	7783-35-9
Sulfato de plata	$Ag_2SO_4$	MERCK	10294-26-5
1-10 Orto-Fenantrolina monohidratada.	$C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$	MERCK	5144-89-8

CAS: Chemical Abstract Service.

## 5.7 PROCEDIMIENTOS

### 5.7.1 LIMPIEZA DE LA CRISTALERÍA

Para la limpieza de los tubos de cultivos y tapones, se introdujeron en una solución de ácido sulfúrico al 20%, por 24 horas y se enjuagaron con abundante agua destilada y desionizada.

Las buretas, erlenmeyer, matraces, pipetas y otros, se lavaron con detergente y se enjuagaron con abundante agua desionizada.

### 5.7.2 CALIBRACIÓN DE MATERIAL DE VIDRIO

La calibración del material de vidrio se realizó midiendo la masa del volumen de agua desionizada que el material volumétrico contiene o entrega, obteniéndose ésta por diferencia mediante la ecuación # 1, tomando en cuenta la temperatura y la densidad del agua.(ver tabla de Anexos 10.1 hasta la 10.4)

### 5.7.3 CONTROL DE TEMPERATURA DEL REACTOR DE DQO

La temperatura del equipo se controló (midiendo aleatoriamente) con un termómetro previamente calibrado, obteniéndose una variación entre (148 °C - 152 °C).

### 5.7.4 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS EN EL INTERVALO DE [ 50,00 – 250,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

a) **Solución estándar de Ftalato Hidrógeno de Potasio (KHP):** Se pesó 425 mg de KHP previamente secado por 2 horas a 120 °C y se disolvió con agua desionizada en un matraz volumétrico de 1000 ml hasta la marca de aforo. Esta solución tiene un DQO teórico de 500,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

b) **Solución estándar de Dicromato de Potasio (0.0167 M):** Se pesó 4,913 g de Dicromato de Potasio de grado estándar primario, secado previamente por 2 horas a 103 °C y se disolvió en 500 ml de agua desionizada, se agregó 167 ml de ácido sulfúrico concentrado y 33,30 g de Sulfato de mercurio (II). Se agitó con un agitador magnético, se enfrió a temperatura ambiente y luego se aforó hasta 1000 ml en un matraz volumétrico.

c) **Solución de Ácido sulfúrico reactivo:** En 1000 ml de ácido sulfúrico concentrado se disolvió 10,12 g de Sulfato de plata grado reactivo, con la ayuda de un agitador magnético.

d) **Solución indicadora de Ferroína:** Se pesó 1,485 g de 1,10-Fenantrolina y 0,695 g de Sulfato de Hierro (II) Heptahidratado, y se disolvió con agua desionizada en un matraz volumétrico de 100 ml.

e) **Solución estándar de Sulfato de Hierro (II) y Amonio ( 0.10 M ):** Se disolvió 39,2 g de Sulfato de Hierro (II) y Amonio hexahidratado en agua desionizada, se agregó 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se aforó en un matraz volumétrico de 1000 ml.

Esta solución se estandarizó diariamente contra un blanco frío preparado de la misma forma que las muestras para ser digestadas, usando para ello, agua desionizada, solución de Dicromato de Potasio y solución de Ácido sulfúrico reactivo.

### 5.7.5 REACTIVOS PARA LA CURVA DE [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Estos reactivos se prepararon a partir de una alícuota de las soluciones (b) y (e) del acápite 5.7.4 con las concentraciones siguientes:

a) **Dicromato de Potasio:** 0,004175 M

b) **Sulfato de Hierro (II) y Amonio:** 0,025M

Los demás reactivos se usaron a las mismas concentraciones que en 5.7.4

## 5.7.6 PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES

### 5.7.6.1 ESTÁNDARES DE [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

A partir de la solución estándar madre de Ftalato Hidrógeno de Potasio de 500,0 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se preparó 100,00 ml de cada estándar, de acuerdo con la tabla siguiente:

**TABLA # 3:** Preparación de 3 estándares para el intervalo de [50,00 – 250,00] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Estándar	Volumen de solución Madre ( ml )	Volumen total ( ml )	Concentración de cada estándar (mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )
1	10,00	100,00	50,00
2	30,00	100,00	150,00
3	50,00	100,00	250,00

### 5.7.6.2 ESTÁNDARES DE [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Se preparó 200 ml de una solución intermedia de 100,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> ( se utilizó 40 ml de solución madre) y a partir de ésta se procedió a preparar los estándares según la tabla siguiente:

**TABLA # 4:** Preparación de 3 estándares para el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Estándar	Volumen de solución intermedia (ml)	Volumen total (ml)	Concentración de cada estándar (mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )
1	5,00	5,00	5,00
2	25,00	25,00	25,00
3	50,00	50,00	50,00

### 5.7.7 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SER DIGESTADAS

Las muestras se prepararon en el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> según se refleja en la tabla siguiente:

**TABLA # 5:** Volúmenes de reactivos y muestras utilizados en la preparación de las muestras para el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

CONTENIDO DE CADA TUBO DE DIGESTION	VOLUMEN PARA CADA TUBO DE DIGESTIÓN		
	VOLUMEN DE ANALITO ( ml )	VOLUMEN DE K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 0,0167 M ( ml )	VOLUMEN DE ÁCIDO SULFÚRICO REACTIVO ( ml ).
Blanco	2,50 (agua desionizada)	1,50	3,50
Estándares	2,50	1,50	3,50
Muestras	2,50	1,50	3,50

Las muestras en este rango se pueden trabajar directas o diluidas.

También se prepararon muestras para el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> de acuerdo a la tabla siguiente:

**TABLA # 6:** Volúmenes de reactivos y muestras utilizados en la preparación de las muestras para el intervalo [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

CONTENIDO DE CADA TUBO DE DIGESTION	VOLUMEN PARA CADA TUBO DE DIGESTIÓN		
	VOLUMEN DE ANALITO ( ml )	VOLUMEN DE K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 0,004175 M ( ml )	VOLUMEN DE ÁCIDO SULFÚRICO REACTIVO. ( ml )
Blanco	2,50 (agua desionizada)	1,50	3,50
Estándares	2,50	1,50	3,50
Muestra	2,50	1,50	3,50

Las muestras en este rango no necesitaron diluirse, se trabajaron directamente.

## 5.8 EL MÉTODO DE REFLUJO CERRADO

### 5.8.1 INTRODUCCIÓN Y SELECCIÓN

El método de reflujo cerrado se utilizó para determinar la cantidad de oxígeno equivalente al contenido de materia orgánica susceptible a la oxidación en una muestra, la cual es digerida en una solución ácida fuerte con un exceso de un oxidante químico fuerte como el Dicromato de potasio. La reacción que ocurre se refleja en la ecuación siguiente:



Para muestras de una fuente específica la Demanda Química de Oxígeno se relaciona empíricamente con la Demanda Bioquímica de Oxígeno.

Este método es preferido sobre otros procedimientos que usan otros oxidantes debido a la capacidad superior del oxidante y su aplicabilidad a una amplia variedad de muestras y la facilidad de manipulación que permite una oxidación de la materia orgánica entre un 95% y 100%.

Este método de reflujo cerrado se recomienda por que se requiere de poca cantidad de muestra, es más económico por el uso de las sales metálicas que contiene, pero requiere, la homogenización de las muestras que contengan sólidos suspendidos para obtener resultados reproducibles y confiables.

### 5.8.2 LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Las interferencias que son causadas por los compuestos alifáticos volátiles de cadena lineal se controlan adicionando Sulfato de plata ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) como catalizador. Sin embargo, el  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  reacciona con los cloruros, yoduros y bromuros, formando precipitados que se oxidan parcialmente. Las dificultades causadas por la presencia de los haluros son superadas ampliamente (pero no completamente) por complejometría, usando Sulfato de Mercurio (II) ( $\text{HgSO}_4$ ) en la solución crómica, antes del proceso de digestión.

La interferencia causada por el Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), se consideró insignificante ya que la concentración en el agua de éste oscila entre 1,00 mg  $\text{NO}_2\text{-N.l}^{-1}$  y 2,00 mg  $\text{NO}_2\text{-N.l}^{-1}$  y usualmente se ignora ya que ejerce una DQO teórica de 1.10 mg  $\text{O}_2\text{.l}^{-1}$  y fácilmente se oxida a Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )

### 5.8.3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras fueron recolectadas en botellas de vidrio de boca ancha esmerilada de 100 ml de capacidad y se preservaron con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado por 100 ml de muestra, para obtener un  $\text{pH} \leq 2$ , éstas fueron etiquetadas y posteriormente fueron refrigeradas, en estas condiciones la muestra es estable hasta 28 días después de tomada.

#### 5.8.4 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron preparadas según las tablas # 4 y tabla # 5, las cuales fueron digeridas durante dos horas en el reactor de DQO a una temperatura constante de  $150\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Una vez transcurrido este tiempo, las muestras fueron retiradas del digestor y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, luego se vertieron en beakeres pequeños y se les agregó a cada uno, dos gotas del indicador de Ferroína y luego fueron tituladas con Sulfato de hierro (II) y amonio hexahidratado ( **FAS** ) de concentración  $0.10\text{ M}$  para el intervalo de  $[ 50,00 - 250,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y un (**FAS**) con concentración de  $0.025\text{ M}$  para el intervalo de  $[ 5,00 - 50,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$ .

Se tituló con **F.A.S** la parte del oxidante que no se redujo durante las dos horas de digestión.

#### 5.9 DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD

La exactitud se determinó con Material de Referencia preparado en el Laboratorio a partir de una solución estándar de Ftalato Hidrógeno de Potasio de  $500,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y para ello se prepararon dos estándares con concentraciones diferentes, para ello se realizaron 26 análisis por duplicado de un estándar de  $200,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[50,00 - 250,00]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y 20 análisis por duplicado para un estándar de  $25,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[ 5,00 - 50,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$ .

La exactitud se calculó con la ecuación # 2 y la ecuación #3, y se evaluó estadísticamente haciendo uso de la tabla de student "t" ( Ver Anexo 10.5).

#### 5.10 DETERMINACIÓN DE LA PRECISIÓN

La precisión se determinó utilizando una muestra de referencia de  $200,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$ , la cual se preparó en el Laboratorio a partir de una solución madre de Ftalato hidrógeno de potasio, de  $500,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[ 50,00 - 250,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y otra solución de  $25,00\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[ 5,00 - 50,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y su tendencia se evaluó haciendo uso de una Tarjeta de control (ver como se elabora en la bibliografía # 7). Para el cálculo de esta fueron utilizados los resultados del procedimiento 5.9

#### 5.11 LA REPETIBILIDAD Y LA REPRODUCIBILIDAD

La repetibilidad y la reproducibilidad se determinaron por medio del análisis de una muestra de referencia  $200\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[50,00 - 250,00]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  y de  $50\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$  para el intervalo de  $[ 5,0-50,00 ]\text{ mg O}_2\cdot\text{l}^{-1}$ , preparadas a partir de la solución estándar madre, ejecutándose 20 análisis por duplicados en un intervalo de tiempo de 6 meses consecutivos y se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA). Para este ejercicio fue utilizada la tabla de distribución de Fisher (Ver Anexo 10.6).

### **5.12 DETERMINACIÓN DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.**

Para la determinación del límite de detección se preparó una solución estándar con una concentración de  $30,00 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ . Fueron realizados 11 análisis por duplicado, y fue utilizada la ecuación # 5.

El límite de cuantificación fue determinado a partir de los resultados obtenidos del límite de detección y fue calculado con la ecuación # 7.

### **5.13 DETERMINACIÓN DEL RANGO DE TRABAJO Y LA LINEALIDAD.**

Este se hizo mediante el análisis del comportamiento de la curva de calibración que se utilizó en la medición de los estándares para la determinación de exactitud y precisión, la cual se preparó diariamente en el intervalo de trabajo determinado para cada caso y se determinó haciendo uso de la regresión lineal, ubicando en el eje **X** los valores teóricos y en el eje **Y** los valores medios obtenidos, y fueron comparados los valores obtenidos con los valores teóricos de la curva, los cuales fueron sometidos al tratamiento gráfico para observar el comportamiento lineal de éstos.

La linealidad fue determinada mediante el cálculo de los residuales, utilizando el método [ ISO 8466-1 ] y su gráfica para evaluar el comportamiento de éstos.

### **5.14 PRUEBA DE RECOBRO**

Para esta prueba se eligieron 5 (cinco) muestras reales para el intervalo de trabajo [  $50,00 - 250,00$  ]  $\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  y se eligieron 3 (tres) muestras reales para el intervalo [  $5,00 - 50,00$  ]  $\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  las cuales fueron analizadas por duplicados previamente. A estas muestras se les adicionó una cantidad conocida de analito y se midió nuevamente por duplicado (esta prueba también sirve para evaluar la exactitud) y fue calculada con la ecuación # 8.

### **5.15 PRUEBA DE COMPETENCIA**

Para esta prueba se utilizó una muestra de referencia certificada del tipo Catalog Number: QCSPEX – DEM y Lot Number 6 -14 DEM-QC con un valor verdadero desconocido antes del análisis, se tomaron 10,0 ml de la muestra y se aforó hasta 500,00 ml . Teniendo esta muestra antes de la dilución un rango de  $1\ 000 - 10\ 000 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  y después de la dilución un rango entre  $20 - 200 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ , se realizaron 5 (cinco) análisis por duplicado para obtener un valor medio y después compararlo con el valor verdadero el cual se desconocía. Ver anexo 10.11 y 10.12

## 5.16 DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

La incertidumbre de la medición de la muestra de referencia usada fue determinada de la manera siguiente:

1.- La incertidumbre estándar de la medición fue calculada con la ecuación # 12 y se obtuvo del resultado de la desviación estándar de la precisión según el Resultados del acápite 5.10

2.- La incertidumbre expandida: es la incertidumbre a un intervalo de confianza determinado y fue determinada con la ecuación # 11 y fue calculada con el resultado anterior.

## 5.17 CÁLCULO DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO

Los valores de DQO fueron obtenidos mediante la aplicación de la fórmula siguiente:

$$DQO \text{ mg } O_2.l^{-1} = (A - B) \times \frac{M \times 8000}{\text{volumen de muestra}(2.5ml)} \quad \text{Ecuación \# 18}$$

**A** = ml de FAS gastado en el blanco caliente

**B** = ml de FAS gastado en la muestra.

**FAS** = Sulfato de hierro (II) y Amonio hexahidratado

**M** = molaridad del FAS

La molaridad **M** fue determinada mediante la preparación de 3 blancos fríos igual como se prepararon las muestras según las tablas # 4 y # 5 antes de ser digestadas y se determinó la media del volumen de FAS gastado en la titulación, obteniéndose la concentración del FAS mediante la ecuación siguiente:

$$M = \frac{\text{volumen de } K_2Cr_2O_7}{\text{volumen de FAS gastado en la titulación}} \times M_t \quad \text{ecuación \# 19}$$

**M<sub>t</sub>** = La concentración teórica del FAS para cada caso.

## 5.18 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante la aplicación de las siguientes herramientas estadísticas:

Promedio o Media

Desviación Estándar

Pruebas de Significación: Distribución "t" ( ver tabla en Anexo 10.5 )

La Prueba **F** ( ver tabla en Anexo 10.6 )

Análisis de Varianza ( **ANOVA** )

Tarjetas de Control ( **X Chart** ).

## VI. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

De acuerdo con los diferentes tipos de análisis realizados en cada caso de estudio se obtuvieron los resultados siguientes:

### 6.1 CALIBRACIÓN DE MATERIAL DE VIDRIO

Los resultados de la calibración del material de vidrio se encuentran en el anexo 10.7. Con este ejercicio se comprobó que el material de vidrio utilizado en esta validación cumple con las disposiciones establecidas por el Instituto Nacional de Normas y Tecnología [N.I.S.T]

### 6.2 CONTROL DE TEMPERATURA DEL REACTOR DE DQO

Los datos obtenidos de la calibración se encuentran en el Anexo 10.8, se comprobó que hay conformidad entre la temperatura teórica del equipo y la temperatura leída durante el experimento. En el Anexo 10.9 (manual de operación del equipo) se encuentra todo lo concerniente a las características del equipo y el Anexo 10.10 muestra el equipo en la etapa de digestión de las muestras

### 6.3 DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD

#### 6.3.1 Para el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Se realizaron 26 determinaciones por duplicado, a una muestra control de 200,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, obteniéndose un valor medio de  $\bar{X} = 198.19$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y una desviación estándar  $S = 11.15$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, los resultados están reflejados en la tabla # 7.

**TABLA # 7:** Cálculos individuales de la exactitud los cuales fueron obtenidos con la ecuación # 3.

<b>MUESTRA</b>	<b>FECHA</b>	<b>CONCENTRACIÓN mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup></b>	<b>EXACTITUD PORCENTAJE</b>
1	2000-09-21	189,78	-5,11
2	2000-09-22	197,42	-1,29
3	2000-09-26	187,66	-6,17
4	2000-09-29	185,00	-7,50
5	2000-10-02	216,00	8,00
6	2000-10-03	201,30	0,65
7	2000-10-04	200,00	0,00
8	2000-10-05	189,65	-5,18
9	2000-10-06	189,65	-5,18
10	2000-10-10	201,30	0,65
11	2000-10-11	187,82	-6,09
12	2000-10-13	193,85	-3,08
13	2000-10-16	199,56	-0,22
14	2000-10-17	201,30	0,65
15	2000-10-19	193,55	-3,23
16	2000-10-20	204,68	2,34
17	2000-10-23	208,00	4,00
18	2000-10-25	183,00	-8,50
19	2000-10-26	216,00	8,00
20	2000-10-27	229,00	14,50
21	2000-10-30	208,00	4,00
22	2000-10-31	200,00	0,00
23	2000-11-03	195,60	-2,20
24	2000-11-06	189,90	-5,05
25	2000-11-08	181,90	-9,05
26	2000-11-10	203,00	1,50
	Media	198,19	
	Desv. estándar	11,15	

Para el cálculo de la exactitud en el intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>: Se determinó la media de los valores obtenidos en las 26 determinaciones realizadas a la muestra control de 200,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, para ello fue utilizada la ecuación # 2

$$\beta = X - \mu$$

$$\beta = 198,19 - 200,00$$

$$\beta = -1,81$$

Para el cálculo del porcentaje de la exactitud se utilizó la ecuación # 3:

$$\beta \% = \frac{X - \mu}{\mu} \times 100$$

$$\beta \% = \frac{198,19 - 200,00}{200,00} \times 100$$

$$\beta \% = -0,905$$

Por lo tanto, en este intervalo se obtuvo un error sistemático negativo, el cual, no afecta significativamente los resultados obtenidos, y se considera una exactitud óptima al estar dentro del rango aceptable de  $\pm 5\%$  de error.

Al evaluarse la exactitud mediante la aplicación de la prueba "t" de student, de dos colas y con 95% de probabilidad para la muestra con un valor medio obtenido de 198,19 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en el intervalo de concentración dado, se plantea como hipótesis nula, que no existen diferencias significativas entre el valor teórico y el valor experimental obtenido. Al realizarse la prueba de significación se obtiene un valor de  $t_{cal} = 0,83 < t_{tab} = 2,04$  para un  $n = 26$  y con 25 grados de libertad, por lo tanto, se puede afirmar que no existe diferencia significativa entre el valor obtenido y el valor teórico dado. Debido a esto la hipótesis nula es aceptada.

**6.3.2 Para el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>**

Fueron realizadas 20 determinaciones por duplicado a partir de una muestra control de 25,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, obteniéndose una media  $\bar{X} = 25,68$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y una desviación estándar  $S = 2,17$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

**TABLA # 8:** Cálculos individuales de la exactitud obtenidos con la ecuación # 3 expresados en porcentajes

MUESTRA	FECHA	CONCENTRACIÓN mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	EXACTITUD PORCENTAJE
1	2000-09-26	26,00	4,00
2	2000-10-03	28,00	12,00
3	2000-10-04	26,00	4,00
4	2000-10-05	22,00	-12,00
5	2000-10-06	24,00	-4,00
6	2000-10-09	30,00	20,00
7	2000-10-10	28,00	12,00
8	2000-10-11	22,00	-12,00
9	2000-10-13	26,35	5,40
10	2000-10-16	24,00	-4,00
11	2000-10-17	25,00	0,00
12	2000-10-18	26,00	4,00
13	2000-10-19	24,00	-4,00
14	2000-10-20	28,00	12,00
15	2000-10-23	24,00	-4,00
16	2000-10-25	26,00	4,00
17	2000-10-26	28,00	12,00
18	2000-10-27	28,00	12,00
19	2000-10-30	24,00	-4,00
20	2000-10-31	24,34	-2,64
	Media	25,68	
	Desv. Estándar	2,17	

En el caso de el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>: Fue tomado el valor medio de los valores obtenidos en las 20 determinaciones realizadas en la muestra control de 25,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y utilizando para ello la ecuación # 2

$$\beta = 25,68 - 25,00$$

$$\beta = 0,68$$

$$\beta \% = \frac{25,68 - 25,00}{25,00} \times 100$$

$$\beta \% = 2,72$$

En este caso se puede observar que el error sistemático total obtenido es positivo, ya que la mayoría de los resultados son mayores que el valor teórico dado, y se considera una exactitud óptima al estar dentro del rango de  $\pm 5\%$  de porcentaje de error permitido.

Para este intervalo, la exactitud también fue evaluada mediante la aplicación de la prueba "t" de student, de dos colas y con 95 % de probabilidad a la muestra obteniéndose un valor medio de 25,68 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>. Se planteó como hipótesis nula, que no existen diferencias significativas entre el valor teórico y el valor experimental obtenido. Obteniéndose como resultado un valor de t calculado  $t_{cal} = 1,40 < t_{tab} = 2,09$  para un  $n = 20$  y con 19 grados de libertad, por lo tanto, se puede afirmar que no existe diferencia significativa entre el valor obtenido y el valor teórico dado y la hipótesis nula es aceptada.

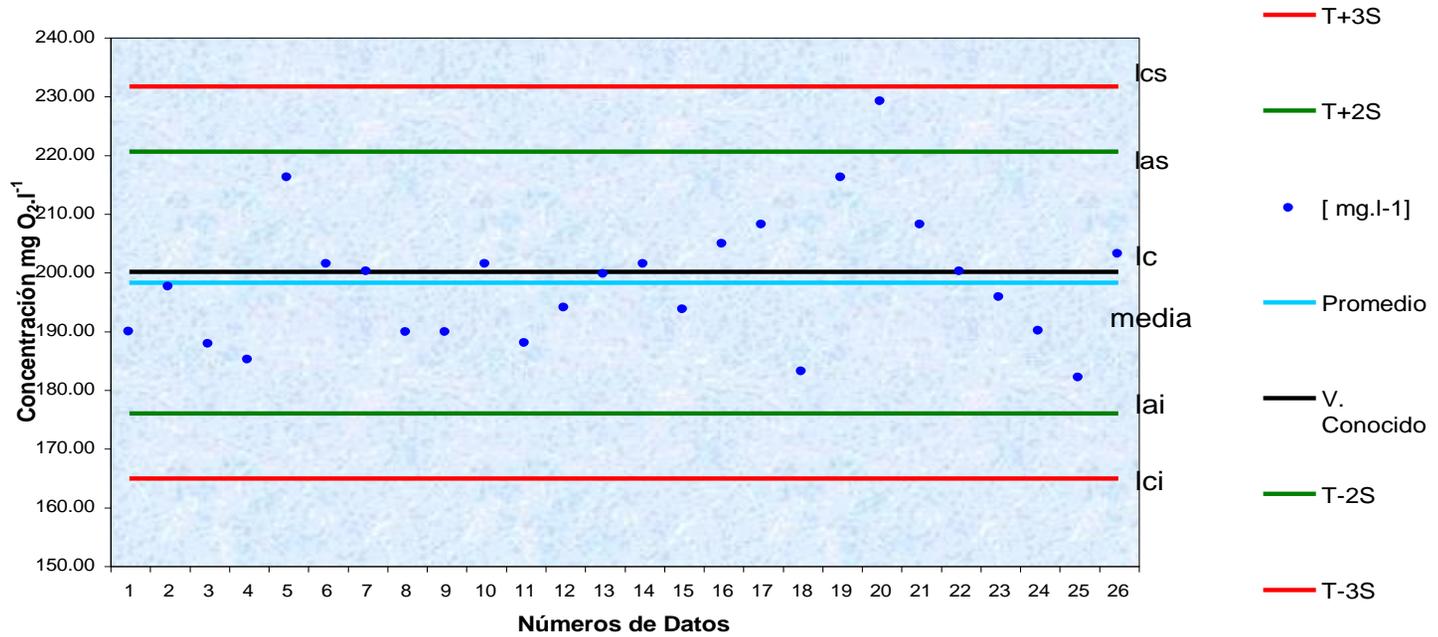
## 6.4 CÁLCULO DE LA PRECISIÓN

### 6.4.1 Intervalo [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

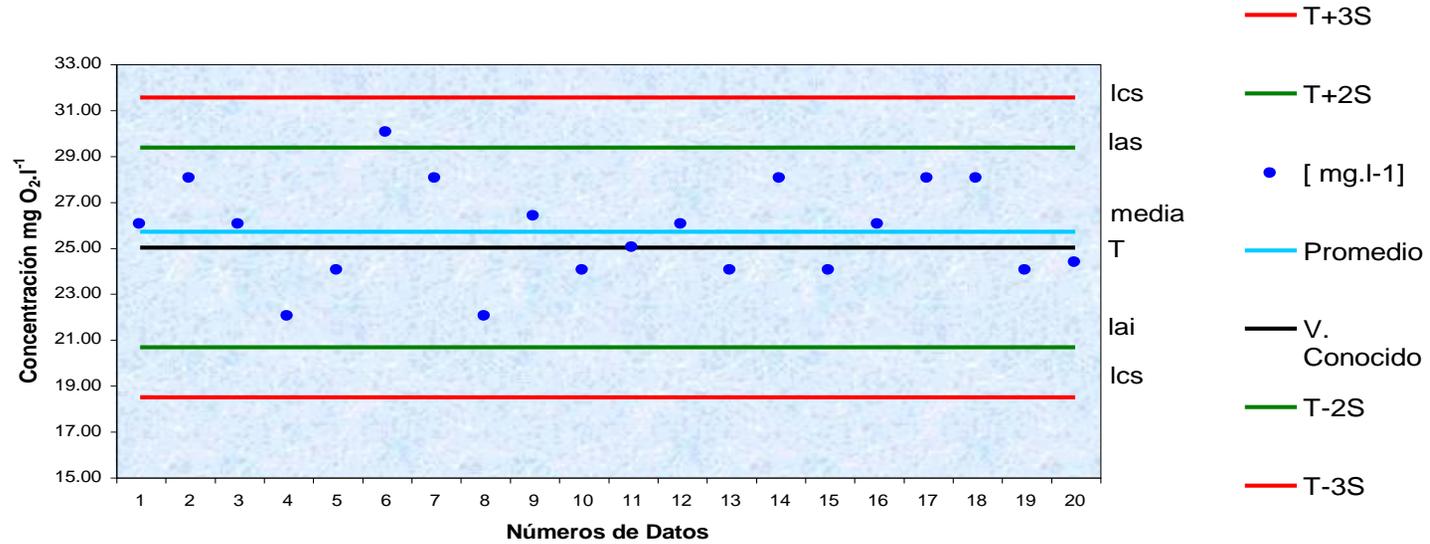
Si se observan los valores de concentración obtenidos en la TABLA # 7.

Se puede notar una desviación estándar  $S = 11,15$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y un coeficiente de variación, o error relativo DER = 5,62 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>. En el gráfico #1 se observa que 25 de los 26 resultados caen dentro del límite de advertencia, y el resultado # 20 queda fuera del límite de advertencia superior, pero el resultado # 21 queda dentro. También se observa que solo un resultado está entre los dos límites, por lo tanto, aquí se nota la presencia de un error sistemático. El gráfico #1 correspondiente a la Tarjeta de Control de 200,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> muestra visualmente estos resultados, por lo que se puede afirmar que estos resultados tienen un 95 % de probabilidad de quedar dentro de los límites establecidos y teniéndose como aceptable que uno de cada 20 resultados quede entre  $\pm 2S$  y  $\pm 3S$ .

**GRÁFICO # 1: Tarjeta de control estadístico para la dispersión de los resultados obtenidos en el Intervalo [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>**



**GRAFICO # 2: Tarjeta de control estadístico para la dispersión de los resultados obtenidos en el Intervalo [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>**



#### 6.4.2 Intervalo [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Si se observan los valores obtenidos en la TABLA # 8. Se puede notar una desviación estándar  $S = 2.17$  mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> y un DER = 8,45 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>. En el Gráfico # 2 se observa que de las 20 determinaciones, el valor # 6 queda fuera del límite de advertencia superior, pero el siguiente valor queda dentro, por lo tanto, se deduce la presencia de un error sistemático. El gráfico # 2 correspondiente a la Tarjeta de Control de 25,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, muestra visualmente estos resultados, por lo que se puede afirmar que estos resultados tienen un 95 % de probabilidad de quedar dentro de los límites establecidos y teniéndose como aceptable que uno de cada 20 resultados quede entre  $\pm 2S$  y  $\pm 3S$ .

**6.4.1 LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD INTRALABORATORIO.****6.4.1.1 PARA EL INTERVALO DE [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>**

Para la determinación de estos parámetros fueron realizados 20 análisis por duplicado a la muestra control durante seis meses, en el intervalo de concentración de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

**TABLA # 9:** Variación dentro de las muestras.

<b>Análisis 1</b>	<b>Análisis 2</b>	<b>Media</b>	<b><math>S_w^2</math></b>
210.91	210.91	210.91	0.00
186.08	201.50	193.75	120.13
221.23	207.61	214.77	102.53
202.50	202.50	202.50	0.00
197.65	197.65	197.65	0.00
198.86	198.86	198.86	0.00
201.60	187.20	194.40	103.68
192.00	192.00	192.00	0.00
208.00	192.00	200.00	128.00
205.70	205.70	205.70	0.00
201.80	185.81	193.80	127.84
202.50	202.50	202.50	0.00
207.67	192.79	200.23	110.70
216.78	201.29	209.04	119.97
205.71	189.89	197.80	125.14
201.28	216.77	209.03	119.97
195.00	195.00	195.00	0.00
210.00	195.00	202.50	112.50
208.00	192.00	200.00	128.00
211.30	211.30	211.30	0.00
		$\bar{X} = 201.59$	$S_w^2 = 1298.46$

La variación en los valores obtenidos dentro las muestras fue determinada usando la técnica ANOVA mediante la ecuación siguiente:

$$\sum Sw^2 = \frac{\sum Swi^2}{m(n-1)} = \frac{1298,46}{20} = 64,92$$

$$Sw = 8,05$$

La variación entre las muestras se calculó mediante la ecuación:

$$Sbm^2 = \frac{n \sum (\bar{Xi} - \bar{X})^2}{n-1} = \frac{782,95}{19} = 41,21$$

El valor de F fue calculado con la fórmula siguiente:

$$F_{(19,20)} = \frac{Sw^2}{Sbm^2} = \frac{64,92}{41,21} = 1,57 < F_{tab(19,20)} = 2,124$$

Pero como  $Sbm^2 < Sw^2$  entonces se tiene

$$Sb^2 = 0 \Rightarrow Sb = 0$$

La desviación estándar total (St) se determinó con la fórmula siguiente:

$$St = \sqrt{Sw^2}$$

Por lo tanto:

$$St = Sw = 8,05$$

Se puede afirmar que en el caso del intervalo de [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> al aplicar la prueba F de dos colas con un 95 % de probabilidad el valor calculado de F es menor que el valor tabulado de F y se plantea como hipótesis nula, que no existe diferencia significativa entre cada una de las desviaciones estándares dentro y entre las muestras, lo cual nos lleva a confirmar que para este intervalo el método es repetible y reproducible. Por tanto, la hipótesis nula es verdadera.

6.4.1.2 PARA EL INTERVALO DE [ 5,00 - 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Fueron realizados 20 análisis por duplicado a la muestra control de 50 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> durante seis meses.

**TABLA # 10:** Variación dentro de las muestras.

Análisis 1	Análisis 2	Media	S <sub>w</sub> <sup>2</sup>
45.49	45.49	45.49	0.00
47.47	47.47	47.47	0.00
52.50	48.75	50.63	1.65
48.00	48.00	48.00	0.00
48.00	48.00	48.00	0.00
54.55	47.27	50.91	5.15
52.00	48.00	50.00	2.83
52.00	48.00	50.00	2.83
45.00	45.00	45.00	0.00
52.00	56.00	54.00	2.83
44.00	48.00	46.00	2.83
50.56	50.56	50.56	0.00
50.00	50.00	50.00	0.00
50.00	50.00	50.00	0.00
54.00	54.00	54.00	0.00
54.00	50.00	52.00	2.83
52.83	52.83	52.83	0.00
53.41	49.45	51.43	2.80
48.00	52.00	50.00	2.83
50.00	54.00	52.00	2.83
	<b>X = 49.92</b>		<b>∑ S<sub>wi</sub><sup>2</sup> = 29.41</b>

La variación dentro las muestras se determinó usando ANOVA obteniéndose los resultados siguientes:

$$S_w^2 = \sum \frac{S_{w_i}^2}{m(n-1)} = \frac{29,41}{20} = 1,47$$

$$S_w = 1,21$$

La variación entre las muestras se calculó mediante la ecuación:

$$S_{bm}^2 = \frac{n \sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n-1} = \frac{127,18}{19} = 6,69$$

El valor de F fue calculado con la fórmula siguiente:

$$F_{(19,20)} = \frac{S_{bm}^2}{S_w^2} = \frac{6,69}{1,47} = 4,55$$

$$F_{tab(19,20)} = 2.569 < F_{cal(19,20)} = 4,55$$

Pero como  $S_{bm}^2 > S_w^2$  entonces:

$$S_b^2 = \frac{S_{bm}^2 - S_w^2}{n} = \frac{6,69 - 1,47}{2} = 2,61$$

$$S_b = 1,61$$

La desviación estándar total se determinó con la fórmula siguiente:

$$S_t = \sqrt{\frac{S_b^2 + S_w^2}{2}} = \sqrt{\frac{2,61 + 1,47}{2}} = 1,43$$

Sin embargo, en el caso del intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> al aplicarse la prueba F de dos colas y con 95 % de probabilidad, el valor calculado de F es mayor que el valor tabulado de F y se plantea como hipótesis nula, que no existe diferencia significativa entre las desviaciones estándares dentro y entre las muestras, pero del resultado de F obtenido confirma que para este intervalo el método es repetible y pero no reproducible, por lo tanto, la hipótesis nula es falsa ya que existe diferencia significativa entre las desviaciones estándares.

## 6.5 LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

Para evaluar estos parámetros se realizaron 11 análisis por duplicado a una solución estándar de 30 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> de DQO, ecuación # 5 y la ecuación # 7. Obteniéndose en un período de quince días los resultados siguientes:

**TABLA # 11:** Valores obtenidos por duplicados para la determinación del Límite de Detección

FECHA	REPLICA # 1	REPLICA # 2	D	D <sup>2</sup>
2001-08-15	36,00	38,00	2,00	4,00
2001-08-17	35,17	33,10	2,07	4,29
2001-08-20	30,00	30,00	0,00	0,00
2001-08-21	26,00	26,00	0,00	0,00
2001-08-22	30,33	28,31	2,02	4,08
2001-08-23	30,00	32,00	2,00	4,00
2001-08-24	30,00	32,00	2,00	4,00
2000-08-27	28,00	26,00	2,00	4,00
2001-08-28	30,00	28,00	2,00	4,00
2001-08-30	34,00	32,00	2,00	4,00
2001-08-31	30,00	32,00	2,00	4,00
m =11				Σ =36,37

La siguiente fórmula indica el modo de calcular la desviación estándar dentro de los pares de resultados, **Sb** es la desviación estándar para los pares de resultados de los análisis.

$$Sb = \sqrt{\frac{\sum D^2}{2 m}} = \sqrt{\frac{36.37}{2 (11)}} = 1.286 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

Teniéndose:

*D<sup>2</sup> = es la diferencia entre cada par de resultados.*

*m = es el número de pares.*

Se tomó el valor de la tabla de distribución "t" (Anexo 10.5) para 10 grados de libertad para pruebas de una cola con 95 % de probabilidad y se sustituyó en las ecuaciones seleccionadas.

Obteniéndose los resultados siguientes:

$$LD = 2 \sqrt{2} \cdot 1,81 \cdot 1,286 = 6,58 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

$$LC = 10 \sqrt{2} \cdot 1,81 \cdot 1,286 = 32,92 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

Por tanto se puede afirmar que el método es capaz de detectar como señal mínima 6.58 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> bajo las condiciones del laboratorio, además se puede reportar con una confianza de seguridad del 95 % valores mayores de 32.92 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

## 6.6 RANGO DE TRABAJO Y LINEALIDAD.

### 6.6.1 RANGO DE TRABAJO EN EL INTERVALO DE [ 50,0 – 250,0 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Para evaluar este aspecto, primeramente se evaluó Curva de Calibración y para ello, se hizo uso de la recta de regresión para comparar el valor teórico de los estándares con los valores medios obtenidos durante el análisis, utilizándose el eje X para los valores teóricos y el eje Y para los valores obtenidos.

**TABLA # 12:** Valores de los estándares obtenidos a partir de la curva de calibración.

FECHA	ESTANDAR # 1 50 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	ESTANDAR # 2 150 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	ESTANDAR # 3 250 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>
2000-09-21	50,87	148,69	258,26
2000-09-22	54,19	140,90	247,74
2000-09-26	45,95	145,53	245,10
2000-09-29	39,00	154,00	242,00
2000-10-02	61,00	158,00	255,00
2000-10-03	59,67	154,80	255,40
2000-10-04	48,00	152,00	272,00
2000-10-05	54,19	162,50	255,48
2000-10-06	61,90	139,30	242,50
2000-10-10	46,00	154,80	232,25
2000-10-11	46,96	140,86	256,95
2000-10-13	47,47	156,60	229,45
2000-10-16	46,96	155,00	242,61
2000-10-17	46,96	156,52	237,36
2000-10-19	61,94	154,84	240,00
2000-10-20	53,05	159,16	257,68
2000-10-23	48,00	158,00	256,00
2000-10-25	61,00	153,00	237,40
2000-10-26	48,00	160,00	256,00
2000-10-27	55,38	158,00	253,18
2000-10-30	56,00	160,00	256,00
2000-10-31	48,00	160,00	256,00
2000-11-03	46,96	140,87	251,00
2000-11-06	55,00	142,20	253,20
2000-11-08	53,00	156,00	242,50
2000-11-10	54,00	153,00	246,86
Media	51,90	152,35	248,88
S	5,99	7,03	9,72

Aplicando la prueba " t " de student, de dos colas para los valores obtenidos para cada estándar de la curva de [ 50,0 – 250,0 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, se tiene que:

Para el estándar de 50,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> :

$$t_{cal} = \frac{|51,90 - 50,00|}{\frac{5,99}{\sqrt{26}}} = 1,62 < t_{tab} = 2,04$$

Para el estándar de 150,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> :

$$t_{cal} = \frac{|152,35 - 150,00|}{\frac{7,03}{\sqrt{26}}} = 1,70 < t_{tab} = 2,04$$

Para el estándar de 250,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> :

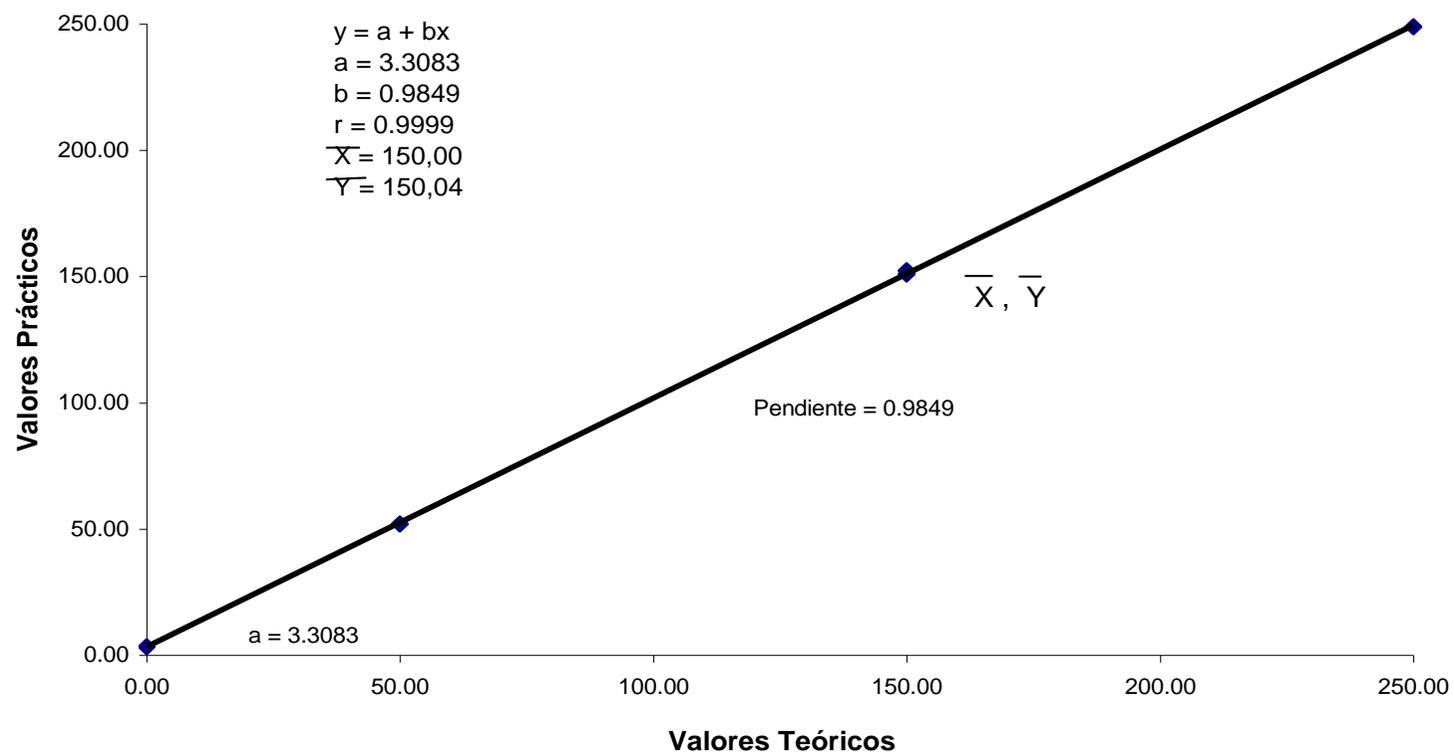
$$t_{cal} = \frac{|248,80 - 250,00|}{\frac{9,72}{\sqrt{26}}} = 0,59 < t_{tab} = 2,04$$

Como puede verse en los tres estándares de la curva de calibración el valor de  $t_{cal}$  es menor que su  $t_{tab}$ , por tanto, no existe diferencia significativa entre los valores de la curva de calibración obtenidos y los valores teóricos asignados a los estándares. Aquí se está ante la presencia de una curva muy estable.

La representación de la Curva de Calibración se puede observar en el gráfico # 3:

### GRAFICO # 3

Gráfico para evaluar el Rango de trabajo en el intervalo de [ 50.00 - 250.00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>



6.6.2 RANGO DE TRABAJO EN EL INTERVALO DE [ 5,0 – 20,0 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

Para este intervalo también se realizaron 20 análisis de una muestra control de 50 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

**TABLA # 13:** Valores de los estándares obtenidos a partir de la curva de calibración.

FECHA	ESTANDAR # 1 5 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	ESTANDAR # 2 25 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	ESTANDAR # 3 50 mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>
2000-09-26	4,00	26,00	46,00
2000-10-03	6,00	27,00	46,00
2000-10-04	4,00	25,00	48,00
2000-10-05	4,00	29,00	46,00
2000-10-06	6,00	30,00	42,00
2000-10-09	10,00	30,00	46,00
2000-10-10	6,00	29,00	46,00
2000-10-11	8,00	27,00	44,00
2000-10-13	9,38	25,32	45,60
2000-10-16	4,00	24,00	46,00
2000-10-17	8,00	25,00	44,00
2000-10-18	4,00	26,00	44,00
2000-10-19	6,00	24,00	48,00
2000-10-20	8,00	28,00	46,00
2000-10-23	4,00	24,00	44,00
2000-10-25	6,00	25,00	48,00
2000-10-26	6,00	26,00	54,00
2000-10-27	8,00	28,00	46,00
2000-10-30	6,00	27,00	48,00
2000-10-31	4,00	26,00	50,65
Media	6,07	26,57	46,42
S	1,94	1,92	2,62

Si se analizan ahora los valores obtenidos de la curva de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>. Haciendo uso de la prueba “t” se obtienen los resultados siguientes:

Para el estándar de 5,00 : mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

$$t_{cal} = \frac{|6,07 - 5,00|}{1,94 / \sqrt{20}} = 2,46 > t_{tab} = 2,09$$

Para el estándar de 25,00 : mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

$$t_{cal} = \frac{|26,57 - 25,00|}{1,92 / \sqrt{20}} = 3,67 > t_{tab} = 2,09$$

Para el estándar de 50,00 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> :

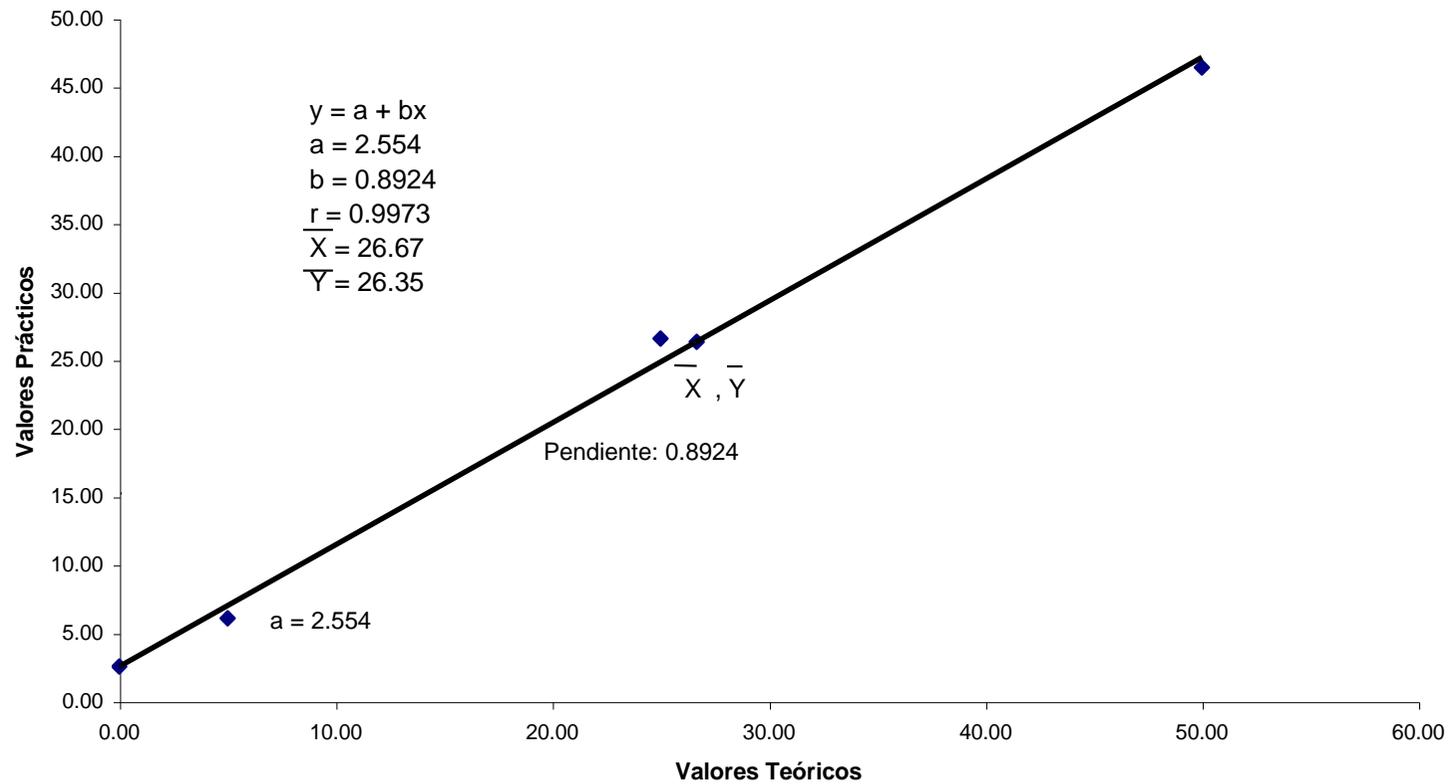
$$t_{cal} = \frac{|46,42 - 50,00|}{2,62 / \sqrt{20}} = 6,12 > t_{tab} = 2,09$$

En este intervalo se nota que los valores experimentales obtenidos a través de la curva de calibración difieren significativamente de los valores teóricos, pues los valores de  $t_{cal}$  son mayores que los de  $t_{tab}$ , lo cual indica que se está trabajando con una curva de calibración inestable, por tanto, cada día que se haga un análisis se deben preparar los estándares para obtener resultados confiables dentro de cada lote de muestras.

La representación gráfica de la Curva de Calibración se puede observar en el gráfico # 4 siguiente:

## GRAFICO # 4

Gráfico para evaluar el rango de trabajo en el intervalo de [5,0 - 50,0] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>



## 6.6.2. EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD

La linealidad se evaluó mediante la representación gráfica de los residuales  $\varepsilon = y - \hat{y}$ , relacionando los valores teóricos ( $X$ ) contra los valores prácticos obtenidos durante los análisis ( $Y$ ) y sustituyendo los valores originales ( $X$ ) en la curva de regresión lineal obtenida.

### 6.6.2.1 LINEALIDAD EN EL INTERVALO DE [ 50,0 – 250,0 ]. mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

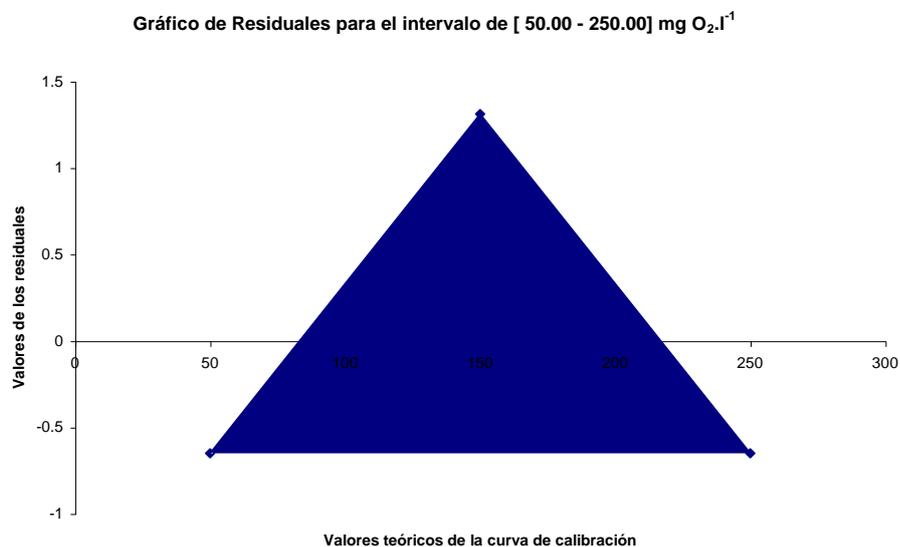
Los valores  $\hat{y}$  se obtienen introduciendo los valores teóricos de  $X$  en la siguiente ecuación:  $\hat{y} = a + bX$  con  $a = 3.3083$  y  $b = 0.9849$

Los resultados de los valores de los residuales  $\varepsilon$  se presentan en la tabla siguiente:

**TABLA # 14:** Cálculo de los residuales  $\xi$  comprendido entre [ 50,00 – 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

$X$	50,00	150,00	250,00
$y$	51,90	152,35	248,88
$\hat{y}$	52,55	151,04	249,53
$\varepsilon = y - \hat{y}$	-0,65	1,31	-0,65

Los gráficos # 5 y el grafico # 6 representan la forma típica del comportamiento de los residuales  $\varepsilon$  cuando se está en presencia de un método de comportamiento lineal, que es la tendencia aleatoria.

**GRAFICO # 5****6.6.2.2 LINEALIDAD EN EL INTERVALO DE [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>**

Para el cálculo des  $\mathcal{E}$  en el intervalo de [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

se procedió de igual manera que para el intervalo de [ 50,0 – 250,0 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>,  
teniendo como ecuación:

$$\hat{y} = a + bX \quad \text{de donde} \quad a = 2,554 \quad \text{y} \quad b = 0.8924$$

La forma de obtener los valores de los residuales  $\mathcal{E}$  se presenta en la tabla siguiente:

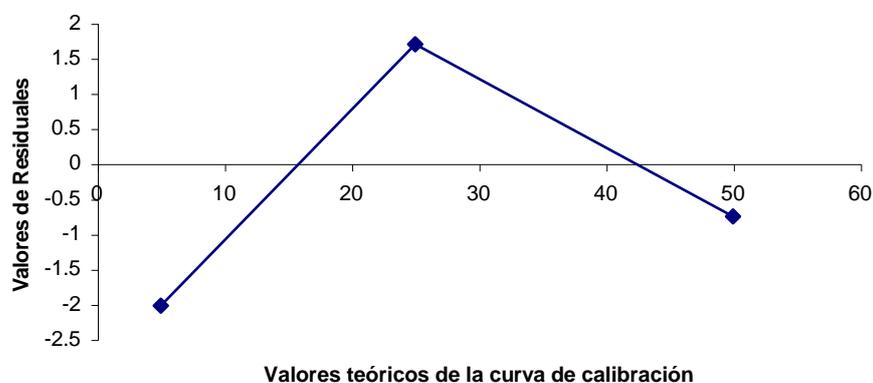
**TABLA # 15:** Cálculo de los residuales  $\xi$  comprendido para el intervalo [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>

$X$	5,00	25,00	50,00
$y$	6,07	26,57	46,42
$\hat{y}$	7,02	24,87	47,17
$\varepsilon = y - \hat{y}$	-2,02	1,70	-0,75

Los valores de  $\varepsilon$  se reflejan en el gráfico siguiente:

**GRAFICO # 6**

Gráficos de Residuales en el intervalo de [ 5.00 - 50.00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>



## 6.7 PRUEBA DE RECOBRO

Para la determinación de este parámetro se seleccionaron **5** muestras reales, las cuales fueron dopadas agregándoles **A** cantidad del analito de estudio para muestras con valores entre [ 50,00 - 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> . El procedimiento aplicado se refleja en la tabla siguiente:

**TABLA # 16:** Cálculo de los valores de porcentajes de recobro **R%**.

MUESTRA	X ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	A ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	X+A teóricos	X+A ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	R%
<b>R1</b>	168,00	30,00	198,00	196,00	93,30
<b>R2</b>	184,00	20,00	204,00	202,65	93,25
<b>R3</b>	176,00	20,00	196,00	197,40	107,00
<b>R4</b>	172,50	60,00	232,50	228,75	93,75
<b>R5</b>	92,90	60,00	152,90	154,84	103,23

Los valores de **R%** se determinaron utilizando la ecuación # 8

De acuerdo a los resultados obtenidos de esta prueba en muestra reales, se puede afirmar que la capacidad de recobro para este intervalo está dentro del rango del 90% al 110%. En este caso las muestras no fueron diluidas ya que se encontraban dentro del rango de trabajo.

Al aplicarse esta prueba a muestras con valores entre [ 5,00 – 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se hace difícil obtener resultados confiables debido a las condiciones propias del analito y a que es más sensible a la contaminación.

El procedimiento se aplicó a 3 muestras obteniéndose los resultados que se muestran en la tabla siguiente:

**TABLA # 17:** Cálculo de los valores de **R%**

MUESTRA	X ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	A ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	X+A teóricos	X+A ( mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	R%
<b>r1</b>	35,60	5,00	40,60	39,25	73,00
<b>r2</b>	31,64	5,00	36,64	35,90	85,20
<b>r3</b>	34,00	5,00	39,00	39,80	116,00

En este intervalo los valores de recobro (**R%**) tienen una variación entre 70% y 120%, esto se debe al analito mismo y a las condiciones de trabajo.

Como se puede observar del análisis de los resultados en el intervalo de trabajo [ 50,00 - 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se obtienen porcentajes de recobros mas precisos que en el intervalo de [ 5,00 - 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, por lo tanto se deduce que el método brinda mejores resultados en el intervalo de [ 50,00 - 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

## 6.8 PRUEBA DE COMPETENCIA

Para esta prueba se utilizó la muestra de referencia certificada QCSPEX-DEM Lot. # 6-14 DEM obteniéndose los resultados siguientes:

**TABLA # 18: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE COMPETENCIA**

<b>Réplicas</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>Resultados <math>\bar{X}</math></b>
<b>1</b>	116,13	116,13	116,13
<b>2</b>	112,50	112,50	112,50
<b>3</b>	112,50	112,50	112,50
<b>4</b>	96,00	112,00	104,00
<b>Media General</b>			<b>111.28</b>

Los valores del rendimiento práctico del análisis se obtienen aplicando la ecuación # 3:

$$\beta\% = \frac{X - \mu}{\mu} \times 100 = \frac{111,28 - 109}{109} \times 100 = 2,09 \%$$

Al comparar la media de los valores obtenidos con el valor verdadero certificado se nota una exactitud positiva de 2,09 % distante del valor real, o sea que es un resultado excelente el cual comprueba que el método en el intervalo de [ 50,00 - 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>, produce resultados altamente confiables, donde los valores obtenidos están dentro de los límites aceptables y rango establecidos para  $X \pm 3S$  [ 81,5 – 127,5 ] mg O<sub>2</sub>.l que reporta el certificado de análisis para esta muestra certificada. Ver en anexos 10.12 copia de certificado de análisis.

## 6.9 INCERTIDUMBRE

### 6.9.1 INCERTIDUMBRE ESTANDAR DE LA MEDICION

La incertidumbre se calculó a partir del resultado del valor obtenido de la desviación estándar en la prueba de la precisión, para ello se utilizó la ecuación # 12. Para muestras con una concentración comprendida entre [ 50,00 - 250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se obtuvo una desviación estándar de 11,15 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> lo cual indica que:

$$U(x) = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{11,25}{\sqrt{26}} = 2,21 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

Para el intervalo de [ 5,00 -50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> se obtiene una incertidumbre de estándar de la medición donde se obtuvo una desviación estándar de 2.17 mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>.

$$U(x) = \frac{S}{\sqrt{n}} = \frac{2.17}{\sqrt{20}} = 0,48 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

### 6.9.2 INCERTIDUMBRE ESTANDAR EXPANDIDA DE LA MEDICIÓN

Para el intervalo de [ 50,00 -250,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> según la ecuación # 11

$$U_e = 2 U \text{ Se tiene que } U_e = 2 (2,21) = 4,42 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

Para el intervalo de [ 5,00 - 50,00 ] mg O<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> según la ecuación # 11

$$U_e = 2 (0,48) = 0,96 \text{ mg O}_2.\text{l}^{-1}$$

Los valores de incertidumbre aquí reportados son los provenientes de las mediciones para cada intervalo de trabajo o sea el error total entre todas las análisis realizados.

## VII. CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos se puede afirmar lo siguiente:

- 1.- Que el método para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría cumple con los parámetros de eficiencia: exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, rango de trabajo y linealidad.
- 2.- Existe conformidad entre los resultados obtenidos en la calibración de los materiales de vidrio utilizados y los parámetros establecidos por la N.I.S.T (ver anexo 10.3), y en el caso del reactor de DQO el cual cumple las condiciones de operación al mantener una temperatura estable de  $150\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.\text{ }^{\circ}\text{C}$
- 3.- La exactitud del método es óptima ( $\pm 5\%$ ) pues esto se refleja en los valores  $\beta$  obtenidos y comprobados mediante la aplicación de la prueba "t". Ya que los valores obtenidos están comprendidos dentro del rango del 95% de probabilidad para pruebas de dos colas. También se comprobó la exactitud del método mediante el análisis de una muestra de referencia certificada produciendo un resultado óptimo de 2,09 % de exactitud que esta en el rango de  $\pm 5\%$ .
- 4.- La precisión puede considerarse óptima ( $\pm 5\%$ ) para el intervalo de trabajo [ 50,0 - 250,0 ]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  ya que se obtuvo una DER = 5,62  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$ , mientras que para el intervalo de [ 5,00 - 50,0]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  la precisión es aceptable ( $\pm 10\%$ ) al obtenerse una DER = 8,45  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$ . Esta afirmación está fundamentada gráficamente en las tarjetas de control.
- 5.- La reproducibilidad y la repetibilidad en el intervalo de [ 50,0 - 250,0]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  es Optima esta dentro de  $\pm 5\%$ , porque la desviación estándar entre y dentro de las muestras tiene un valor de 8,05  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  obtenido mediante ANOVA y un DER = 3,99 %y según el análisis de la prueba F, no existe diferencia significativa entre ambas varianzas. Sin embargo, para el intervalo de [5,0-50,0]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  hay buena repetibilidad así lo indica el valor de 1.21  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  pero falta de reproducibilidad ya que el valor de 1,61  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  señala que en este caso existe diferencia significativa entre ambas varianzas, según el análisis de la prueba F.
- 6.- El Límite de Detección comprobado para este método es de 6,58  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  mientras que el límite de cuantificación es de 32,92  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$ .
- 7.- La linealidad del método se cumple muy bien para el rango de trabajo de [ 50,00 - 250,00]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  y además la curva de calibración es estable, pero, para el rango de trabajo [5,0-50,0]  $\text{mg O}_2.\text{l}^{-1}$  la curva es lineal pero inestable. ( ver gráficos de las curvas de calibración ).

- 8.- La incertidumbre que se puede atribuir a la medición en ambos intervalos es pequeña, siendo de  $4,42 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  para el intervalo de trabajo  $[50,0-250,0] \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  y de  $0,96 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  para el intervalo de trabajo  $[5,0-50,0] \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$
- 9.- Se puede afirmar que la hipótesis planteada en este trabajo es positiva, por tanto, se confirma que el método de refluo cerrado para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno por Titulometría ha sido validado.

## VIII. RECOMENDACIONES

De acuerdo a las conclusiones obtenidas en este trabajo se proponen las recomendaciones siguientes:

- 1.- Para la aplicación de este método es conveniente trabajar con materiales calibrados para obtener resultados confiables.
- 2.- Los resultados serán mejores si se trabaja con material de referencia certificados.
- 3.- Debe controlarse la calidad del agua destilada, las buenas condiciones de los materiales y equipos a utilizar dada las características del analito.
- 3.- Se debe utilizar preferiblemente soluciones recién preparadas o con poco tiempo de uso.
- 4.- Se deben seguir todas las medidas de seguridad dado la peligrosidad del método.
- 5.- Los valores de muestras duplicadas con porcentaje mayores del  $\pm 10\%$  deben rechazarse.
- 6.- Se consideran de precisión aceptable las que poseen  $DER < 10\%$

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- APHA,AWWA,WEF. (1999). STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. Washington:Joint Editorial Board. 20<sup>th</sup> ed.
- 2.- Chacón, Jorge. (Agosto, 1999). CURSO TEÓRICO PRÁCTICO EN ASPECTOS TÉCNICOS DEL CONTROL DE CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS. Sala de Conferencia del Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos. Nicaragua: CIRA-UNAN.
- 3.- Delgado, Gustavo. (1996). VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALITICOS. Nicaragua: UNAN-LEÓN.
- 4.- Draft. EURACHEM/CITAC. Guide.(June,1999). QUANTIFYING IN ANALITICAL MEASUREMENT. 2<sup>nd</sup> ed.
- 5.- Garfield M, Federick. (1993).PRINCIPIOS DE GARANTÍA DE CALIDAD PARA LABORATORIOS ANALÍTICOS. Estados Unidos: AOAC. 2<sup>a</sup> ed.
- 6.- Guía de CONTROL DE CALIDAD DEL MÉTODO QUÍMICO ANALÍTICO.(1992). Nicaragua: CIRA- UNAN.
- 7.- Hernández, Lidia y Gioconda Matus.(1999).VALIDACIÓN DEL MÉTODO ÁCIDO VANADOMOLIBDOFOSFÓRICO PARA LA DETERRMINACIÓN DE FOSFORO TOTAL EN AGUAS RESIDUALES. Tesis para optar al título de Licenciatura en Química. Nicaragua: UNAN-LEÓN.
- 8- Makkinen, Irma. ( Noviembre, 2000). TALLER SOBRE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. Sala de conferencia del Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos.
- 9.- Miller J.C y J.N Miller. (1993). ESTADÍSTICA PARA QUÍMICA ANALÍTICA. Estados Unidos: ADDISON-WESLEY IBEROAMERICANA.2<sup>a</sup> ed.
- 10.- Muralli, Dharan. (1982). CONTROL DE CALIDAD EN LOS LABORATORIOS CLÍNICOS. España: EDITORIAL REVERTÉ S.A.
- 11.- Norma Técnica Nicaragüense.( Julio, 1998). ACREDITAMIENTO DE LABORATORIOS DE ENSAYO Y ANÁLISIS.
12. Piura López, Julio. (1994). INTRODUCCIÓN A LA METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA. Managua: CIES-UNAN.

## **X. ANEXOS**

**ANEXO 10.1: TABLA DE DENSIDAD**Densidad del agua libre de aire en gramos por cm<sup>3</sup> a varias temperaturas

<b>T</b>	<b>0.0 °C</b>	<b>0.1 °C</b>	<b>0.2 °C</b>	<b>0.3 °C</b>	<b>0.4 °C</b>	<b>0.5 °C</b>	<b>0.6 °C</b>	<b>0.7 °C</b>	<b>0.8 °C</b>	<b>0.9 °C</b>
<b>0.0</b>	0.999840	0.999846	0.999853	0.999859	0.999865	0.999871	0.999877	0.999883	0.999888	0.999893
<b>1.0</b>	0.999899	0.999903	0.999908	0.999913	0.999917	0.999921	0.999925	0.999929	0.999933	0.999937
<b>2.0</b>	0.999940	0.999943	0.999946	0.999949	0.999952	0.999954	0.999956	0.999959	0.999961	0.999963
<b>3.0</b>	0.999964	0.999966	0.999967	0.999968	0.999969	0.999970	0.999971	0.999971	0.999972	0.999972
<b>4.0</b>	0.999972	0.999972	0.999972	0.999971	0.999971	0.999970	0.999969	0.999968	0.999967	0.999965
<b>5.0</b>	0.999964	0.999962	0.999960	0.999958	0.999956	0.999954	0.999951	0.999949	0.999946	0.999943
<b>6.0</b>	0.999940	0.999937	0.999933	0.999930	0.999926	0.999922	0.999918	0.999914	0.999910	0.999906
<b>7.0</b>	0.999901	0.999896	0.999892	0.999887	0.999881	0.999876	0.999871	0.999865	0.999860	0.999854
<b>8.0</b>	0.999848	0.999842	0.999835	0.999829	0.999822	0.999816	0.999809	0.999802	0.999795	0.999787
<b>9.0</b>	0.999780	0.999773	0.999765	0.999757	0.999749	0.999741	0.999733	0.999725	0.999716	0.999707
<b>10.0</b>	0.999699	0.999690	0.999681	0.999672	0.999662	0.999653	0.999643	0.999634	0.999624	0.999614
<b>11.0</b>	0.999604	0.999594	0.999583	0.999573	0.999562	0.999552	0.999541	0.999530	0.999519	0.999507
<b>12.0</b>	0.999496	0.999485	0.999473	0.999461	0.999449	0.999437	0.999425	0.999413	0.999401	0.999388
<b>13.0</b>	0.999376	0.999363	0.999350	0.999337	0.999324	0.999311	0.999297	0.999284	0.999270	0.999256
<b>14.0</b>	0.999243	0.999229	0.999215	0.999200	0.999186	0.999172	0.999157	0.999142	0.999128	0.999113
<b>15.0</b>	0.999098	0.999083	0.999067	0.999052	0.999036	0.999021	0.999005	0.998989	0.998973	0.998957
<b>16.0</b>	0.998941	0.998925	0.998908	0.998892	0.998875	0.998858	0.998841	0.998824	0.998807	0.998790
<b>17.0</b>	0.998773	0.998755	0.998738	0.998720	0.998702	0.998684	0.998666	0.998648	0.998630	0.998612
<b>18.0</b>	0.998593	0.998575	0.998558	0.998537	0.998519	0.998500	0.998480	0.998461	0.998442	0.998422
<b>19.0</b>	0.998403	0.998383	0.998364	0.998344	0.998324	0.998304	0.998284	0.998263	0.998243	0.998222
<b>20.0</b>	0.998202	0.998181	0.998160	0.998139	0.998118	0.998097	0.998076	0.998055	0.998033	0.998012
<b>21.0</b>	0.997990	0.997968	0.997947	0.997925	0.997903	0.997881	0.997858	0.997836	0.997814	0.997791
<b>22.0</b>	0.997768	0.997746	0.997723	0.997700	0.997677	0.997654	0.997630	0.997607	0.997584	0.997560
<b>23.0</b>	0.997536	0.997513	0.997489	0.997465	0.997441	0.997417	0.997392	0.997368	0.997344	0.997319
<b>24.0</b>	0.997294	0.997270	0.997245	0.997220	0.997195	0.997170	0.997145	0.997119	0.997094	0.997068
<b>25.0</b>	0.997043	0.997017	0.996991	0.996966	0.996940	0.996913	0.996887	0.996861	0.996835	0.996808
<b>26.0</b>	0.996782	0.996755	0.996728	0.996702	0.996675	0.996648	0.996621	0.996593	0.996566	0.996539
<b>27.0</b>	0.996511	0.996484	0.996456	0.996428	0.996401	0.996373	0.996345	0.996316	0.996288	0.996260
<b>28.0</b>	0.996232	0.996203	0.996175	0.996148	0.996117	0.996088	0.996060	0.996031	0.996001	0.995972
<b>29.0</b>	0.995943	0.995914	0.995884	0.995855	0.995825	0.995795	0.995765	0.995736	0.995706	0.995676
<b>30.0</b>	0.995645	0.995615	0.995585	0.995554	0.995524	0.995493	0.995463	0.995432	0.995401	0.995370
<b>31.0</b>	0.995339	0.995308	0.995277	0.995246	0.995214	0.995183	0.995151	0.995120	0.995088	0.995056
<b>32.0</b>	0.995024	0.994992	0.994960	0.994928	0.994896	0.994864	0.994831	0.994799	0.994766	0.994734
<b>33.0</b>	0.994701	0.994668	0.994635	0.994602	0.994559	0.994536	0.994503	0.994470	0.994436	0.994403
<b>34.0</b>	0.994369	0.994336	0.994302	0.994268	0.994234	0.994201	0.994167	0.994132	0.994098	0.994064
<b>35.0</b>	0.994030	0.993995	0.993961	0.993926	0.993891	0.993857	0.993822	0.993787	0.993752	0.993717
<b>36.0</b>	0.993682	0.993647	0.993611	0.993576	0.993541	0.993505	0.993469	0.993434	0.993398	0.993362
<b>37.0</b>	0.993326	0.993290	0.993254	0.993218	0.993182	0.993146	0.993109	0.993073	0.993036	0.993000
<b>38.0</b>	0.992963	0.992926	0.992889	0.992852	0.992815	0.992778	0.992741	0.992704	0.992667	0.992629
<b>39.0</b>	0.992592	0.992554	0.992517	0.992479	0.992442	0.992404	0.992366	0.992328	0.992290	0.992252

Tomada de Muralli, Dharan. (1982). Control de calidad de los Laboratorios clínicos. España: Editorial Reverté, pág. # 50.

**ANEXO 10.2 : Límites de tolerancia para el material Clase A**

Límites de tolerancia (expresados en ml) para el material de vidrio clase **A** como especifica el Instituto Nacional de Normas y Tecnología.

<b>Capacidad ml</b>	<b>Pipetas volumétrica</b>	<b>Pipetas de medidas</b>	<b>Buretas</b>	<b>Matraces volumétricos</b>	<b>Probetas</b>
½	0.006	-	-	-	-
<b>1</b>	0.006	0.01	-	0.01	-
<b>2</b>	0.006	0.01	-	0.015	-
<b>3</b>	0.01	-	-	0.015	-
<b>4</b>	0.01	-	-	0.02	-
<b>5</b>	0.01	0.02	0.01	0.02	0.05
<b>10</b>	0.02	0.03	0.02	0.02	0.08
<b>15</b>	0.03	-	-	-	-
<b>20</b>	0.03	-	-	-	-
<b>25</b>	0.03	0.05	0.03	0.03	0.14
<b>50</b>	0.05	-	0.05	0.05	0.20
<b>100</b>	0.08	-	0.10	0.08	0.35
<b>200</b>	0.10	-	-	0.10	-
<b>250</b>	-	-	-	0.12	0.65
<b>500</b>	-	-	-	0.20	1.10
<b>1000</b>	-	-	-	0.30	2.0
<b>2500</b>	-	-	-	0.50	3.5

**ANEXO 10.3:** Límite de tolerancia en el tiempo de vertido para Pipetas

Límites de tolerancia en un tiempo de vertido mínimo para pipetas de la clase tipo **A** como especifica la N.I.S.T.

Capacidad ml	Pipetas volumétricas	Pipetas volumétricas	Pipetas de medidas
	Tiempo de vertido (seg.)	Límites de error en el tiempo de vertido (seg.)	Tiempo de vertido (seg.)
<b>0.5</b>	10	3	-
<b>1</b>	10	3	35
<b>2</b>	10	3	35
<b>5</b>	15	3	40
<b>10</b>	15	4	40
<b>20</b>	25	4	-
<b>25</b>	25	6	50
<b>50</b>	30	8	-
<b>100</b>	40	15	-
<b>200</b>	50	20	-

**ANEXO 10.4:** Límites de tolerancia para el tiempo de vertido para Buretas

Límites de tolerancia para el tiempo de vertido mínimo para las Buretas clase **A** como especifica la N.I.S.T.

<b>Longitud de la graduación (cm)</b>	<b>Tiempo de vertido (seg.)</b>	<b>Límite de error en el tiempo de vertido (seg.)</b>
15	30	6
20	35	8
25	40	8
30	50	8
35	60	15
40	70	15
45	80	15
50	90	15
55	105	20
60	120	20
65	140	20
70	160	20

**ANEXO 10.5 : La Distribución de " t " Student**

<b>Grados de libertad</b>	<b>90 % (0.10)</b>	<b>95 % (0.05)</b>	<b>98 % (0.02)</b>	<b>99 % (0.01)</b>
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
25	1.71	2.06	2.49	2.79
30	1.70	2.04	2.46	2.75
40	1.68	2.01	2.42	2.70
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de  $|t|$  son adecuados para una prueba de *dos colas*. Para una prueba de una *cola* el valor se toma de la columna para dos veces el valor de P deseado, por ejemplo, para una prueba de una cola,  $P=0.05$ , 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna  $P= 0.10$  y es igual a 2.02.

Tomado de Miller J.C y J.N Miller. (1993). ESTADÍSTICA PARA QUÍMICA ANALÍTICA. Wilmington, Delaware: ADDISON-WESLEY IBEROAMERICANA. 2<sup>a</sup> ed.

**ANEXO 10.6 : Distribución de Fisher " F "**

Valores críticos de F para prueba de una cola ( P = 0.05 )

$v_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
$v_2$													
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

 $v_1$  = número de grados de libertad del numerador. $v_2$  = número de grados de libertad del denominador.

**ANEXO 10.7** Tablas de calibración de materiales volumétricos

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 5 ml medida      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
Ex 20 °C GDR ±0.02 ml	1	28.5	78.4120	83.4092	4.9972	5.02
	2	28.5	83.4092	88.4124	5.0032	5.02
	3	28.5	88.4124	93.4144	5.0020	5.02
	4	28.4	98.43266	103.4386	5.0020	5.02
	5	28.3	103.4386	108.4301	4.9915	5.01
MEDIA					4.9992	5.02
por tanto se puede afirmar que esta pipeta cumple con los requisitos.						

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 10 ml      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
KIMAX TD Ex 20 °C ± 0.03 ml	1	28.1	89.5817	99.5321	9.9504	9.99
	2	28.1	99.5321	109.5198	9.9877	10.03
	3	28.1	109.5198	119.5088	9.9890	10.03
	4	28.0	119.5088	129.5130	10.0042	10.04
	5	28.0	129.5130	139.5121	9.9991	10.04
MEDIA					9.9861	10.02
Esta pipeta se puede utilizar tambien con confianza.						

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 5 ml      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
±0.022 ml B Ex 20 °C SILBER BRAND ETERNA	1	20.0	20.5495	25.5497	5.0002	5.01
	2	20.1	25.5497	30.5493	4.9996	5.01
	3	20.3	30.5493	35.5496	5.0003	5.01
	4	21.0	35.5496	40.5495	4.9999	5.01
	5	21.1	40.5495	45.5494	4.9999	5.01
MEDIA					5.0000	5.01
Esta pipeta cumple con los requisitos de la National Bureau Standards.						

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 5.00 ml      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
GDR 20°C S ± 0.02	1	28.9	36.9054	41.9057	5.0003	5.02
	2	28.9	41.9057	46.9052	4.9995	5.02
	3	28.9	46.9052	51.8986	4.9934	5.01
	4	28.9	51.8986	56.9086	5.0100	5.03
	5.0	28.9	56.9086	61.8992	61.8992	5.01
MEDIA					16.3805	5.02
También cumple con los requisitos mínimos establecidos						

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 2.00 ml      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
20 °C Ex + 15 s ± 0.01 BLAU BRAND	1	29.0	37.9053	39.9043	1.9990	2.01
	2	29.0	39.9043	41.9039	1.9996	2.01
	3	29.0	41.9039	43.9119	2.0080	2.02
	4	29.0	43.9119	45.9184	2.0065	2.02
	5	29.0	45.9184	47.9130	1.9946	2.00
	6	29.0	47.9130	49.9197	2.0067	2.02
	7	29.0	49.9197	51.9067	1.9870	2.00
MEDIA					2.0002	2.01
Cumple con el límite de tolerancia establecido para este material						

FECHA: 2001-07-12      PIPETA: 10,0 ml      Temp. Ambiente: 28 °C						
Característica de la Pipeta	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
KIMAX AX-51 TD (Ex) 20°C	1	28.1	78.5420	88.5272	9.9852	10.0232
	2	28.1	88.5272	98.5140	9.9868	10.0248
	3	28.1	98.5140	108.4965	9.9825	10.0205
	4	28.0	108.4965	118.4750	9.9785	10.0165
	5	28.0	118.4750	128.4678	9.9928	10.0308
MEDIA					9.98516	10.02
También se acepta este material volumetrico						

FECHA: 2001-07-20      BALONES: 100 ml      Temp. Ambiente: 26.7 °C						
Característica del balon	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
BLAU-BRAND ± 0.1 ml In 20 °C	1	27.5	60.4191	159.7604	99.3413	99.7029
	2	27.8	60.4191	159.8256	99.4065	99.7769
	3	27.8	60.4191	159.7308	99.3117	99.6817
	4	27.9	60.4191	159.7883	99.3692	99.7640
	5	27.9	60.4191	159.8800	99.4609	99.8631
	6	27.9	60.4190	159.7921	99.3731	99.7750
	MEDIA				99.3771	99.7606
Para este tipo de matraces el NBS acepta 0.8 ml como limite de tolerancia, no se acepta.						

FECHA: 2001-07-20      BALONES: 1000 ml      Temp. Ambiente: 26.7 °C						
Característica del Balon.	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
BLAU-BRAND ± 0.4 ml 20 °C Scoth Duran	1	27.0	266.6800	1261.94	995.2600	998.7446
	2	27.6	266.6800	1261.55	994.8700	998.8023
	3	27.6	266.6800	1261.84	995.1600	998.8106
	4	27.6	266.6800	1261.84	995.1600	998.8106
	5	27.6	266.6800	1261.75	995.0700	998.7203
	6	27.7	266.6800	1261.82	995.1400	998.8196
	7	27.7	266.6800	1261.96	995.2800	998.9602
					995.1040	998.8097
Para este tipo de matraces el NBS acepta como limite de tolerancia 0.3 ml, no se acepta.						

FECHA: 2001-07-20      BALONES: 1000 ml      Temp. Ambiente: 27 °C						
Característica del Balon	Número de mediciones	Temperatura °C	masa inicial (g)	masa final (g)	masa vertida aparente (g)	volumen vertido (ml)
	1	28.1	249.7900	1245.30	995.5100	999.3043
	2	28.1	249.7900	1245.11	995.3200	999.1136
	3	28.2	249.7900	1245.33	995.5400	999.3626
	4	28.3	249.7900	1245.19	995.4000	999.2491
	5	28.3	249.7900	1245.56	995.7700	999.6206
	6	28.5	249.7900	1244.97	995.1800	999.0884
	7	28.6	249.7900	1245.08	995.2900	999.2269
					995.508	999.2808
No cumple con lo establecido tampoco se acepta.						

## **ANEXO 10.8:** Tabla de control de temperatura del reactor de DQO

FECHA	TEMPERATURA °C	FECHA	TEMPERATURA °C	FECHA	TEMPERATURA °C
2000-10-11	150	2001-03-14	150	2001-07-30	150
2000-10-17	150	2001-03-15	150	2001-08-07	150
2000-10-20	150	2001-03-26	150	2001-08-14	150
2000-10-23	150	2001-04-02	150	2001-08-20	150
2000-10-30	150	2001-04-19	150	2001-08-27	150
2000-11-03	150	2001-04-23	150	2001-09-04	150
2000-11-14	150	2001-05-03	150	2001-09-10	150
2000-11-18	150	2001-05-09	150	2001-09-20	150
2000-12-05	150	2001-05-16	150	2001-10-02	150
2000-12-12	150	2001-05-24	150	2001-10-11	150
2000-12-15	150	2001-05-26	150	2001-10-29	150
2001-01-15	150	2001-06-07	150	2001-11-07	150
2001-01-26	150	2001-06-15	150	2001-11-12	150
2001-02-15	150	2001-07-02	150	2001-11-26	150
2001-02-27	150	2001-07-09	150	2001-12-10	150
2001-03-06	150	2001-07-17	150	2001-12-15	150
2001-03-08	150				

Control aleatorio de la temperatura, para obtener una mejor medición de esta y por ende del equipo.

## **ANEXO 10.9: MANUAL REACTOR DQO Modelo 45600 HACH**

### **1.1 DESCRIPCIÓN GENERAL**

El modelo Reactor DQO 45600 es un incubador con 25 orificios, baño en seco que provee los 150 °C de temperatura requerida en los sistemas de pruebas HACH para las determinaciones de la demanda de oxígeno (DQO). De acuerdo a los requerimientos de la DQO este modelo provee propiedades para operaciones de tiempo así como también ajuste de temperatura. En la digestión de DQO el interruptor de la temperatura esta puesto en 150 °C y la temperatura se mantiene constantemente en  $\pm 2$  °C.. La temperatura del bloque de calentamiento puede ser verificable poniendo un termómetro en un orificio destinado para ello.

En el modo de ajustar la temperatura (100 °C a 155 °C), el instrumento puede ser usado para la digestión de otras muestras que requieran diferentes temperaturas de digestión. Un medidor de tiempo de 2 horas esta incorporado para aplicaciones donde se desee el tiempo cronometrado de digestión. Cuando esta característica es usada, la campana sonará y la unidad se apagará al finalizar el periodo de tiempo seleccionado. El reloj también puede ser usado sin la característica de apagado cuando opera en el modo de infinito.

El instrumento puede ser cambiado para operar a 115 volt o 230 volt. Los accesorios suministrados con el reactor de DQO incluye un termómetro, un cordón de eléctrico, fusiles y un manual de instrucción con una carta de referencia rápida.

### **1.2 ADVERTENCIA**

*Este instrumento se utiliza para incubar muestras de prueba que contienen materiales peligrosos (ácido sulfúrico y sales de mercurio) en frascos de vidrio a 150 °C (302°F). Por lo tanto, es necesario usar ropa de protección incluso guantes y anteojos de seguridad o máscara facial. Los derrames deben limpiarse de inmediato y, en caso de contacto con la piel, lave la zona afectada con abundante agua.*

### 1.3 INDICADORES Y CONTROL DE OPERACIÓN

**Indicador de encendido**- Se ilumina cuando la línea de corriente se enciende.

**Interruptor de temperatura** – Selecciona la operación constante 150° C, o ajustar el modo de la operación de temperatura ajustable por la que una temperatura alternativa puede ser seleccionada con los 100 a 155 °C ajustando el control en el panel trasero (mode adjust).

**Cronómetro (timer)** – Se usa para seleccionar el tiempo de digestión en minutos. El botón indicador muestra el tiempo de digestión restante.

**Interruptor del cronómetro**- Usado en conjunto con el *Cronómetro* para operar el reactor en una digestión cronometrada cuando se pone en posición de *Cronómetro*. El reactor se apagará al final del tiempo transcurrido. Cuando el interruptor de *Cronómetro* está en posición infinita, el cronómetro se podrá apagar, o usado como una alarma audible para no perder el tiempo de digestión. El bloque calentador permanecerá con la temperatura seleccionada mientras el instrumento este encendido.

**Indicador de calentamiento** - Enciende solamente cuando el calentador esta operando. Los ciclos de calentamiento encienden y apagan mientras se mantiene una temperatura estable.

**Modulo de encendido** - Incluye un interruptor de *Energía Eléctrica*, recipiente de energía y línea de fusibles.

**Interruptor selector de voltaje** – Adapta el instrumento para operaciones a 115 volt o 230 volt.

**Control de temperatura** – Usado para seleccionar la temperatura de incubación alternativa cuando el interruptor de Temperatura esta en la posición ADJ. La rotación en el sentido de las manecillas del reloj del control incrementa la temperatura. La temperatura es ajustable entre 100 °C y 155 °C.

**Modo de control de temperatura de 150 °C** – Usado en el modo de Temperatura para ajustarla poniendo a una constante de 150 °C.

### 1.4 SELECCIÓN DE LINEA DE VOLTAGE

**PELIGRO:** *La conexión incorrecta de este instrumento a la línea de suministro de corriente alterna puede provocar serios daños al mismo y producir riesgos de incendio. Antes de conectarlo, compruebe que el Interruptor Selector de Voltaje esté colocado en la posición correcta, de acuerdo con las características de la línea de suministro.*

Este producto esta puesto por la fábrica y apropiadamente fusionado para líneas de requerimiento de 115 volt. Para convertir el instrumento para líneas de requerimiento de 230 volt, proceder como sigue:

1. Desconectar el cordón de energía desde el receptáculo del modulo de *Entrada de Energía* antes de quitar el sostenedor del fusible.
2. Rotar la ranura del indicador en el Interruptor de *Selección de Voltaje* a la posición de 230.
3. Quitar los dos fusibles de 3 amperios y remplazarlos con 2 fusibles de 1.6 amperios.
4. Restaurar la conexión del cordón de energía eléctrica.

### 1.5 PREPARACION DEL REACTOR, MODO DE 150 °C

Poner el interruptor de *Energía Eléctrica* a \*(encendido) y el interruptor de *Temperatura* a 150 °C. Verificar que el interruptor *Cronómetro* este puesto en Infinito. Dejar un periodo de calentamiento de aproximadamente 30 minutos para alcanzar 150 °C. Cuando el indicador de *Calentamiento* comience a pasar por el ciclo encender y apagar, la temperatura del bloque esta estable. La temperatura apropiada puede ser verificada poniendo el termómetro dentro del pequeño orificio provisto en el bloque calentador. Si se usa como termómetro opcional uno de vidrio llenado con mercurio, quitar el termómetro del bloque.

**PELIGRO:** Si el termómetro opcional de vidrio con mercurio se rompe, evite respirar los vapores y limpie el derrame de inmediato.

El instrumento esta ahora listo para digerar las muestras. Sí el *Cronómetro* será usado para encender el reactor se apagará al final de la digestión, poner el interruptor del cronómetro a la posición Cronómetro y rotar el botón en el sentido de las manecillas del reloj al tiempo de digestión deseada.

### 1.6 PREPARACION DEL REACTOR MODO DE AJUSTE DE TEMPERATURA

1.- Poner el interruptor de *Energía Eléctrica* a \* (encendido) y poner el interruptor de Temperatura a **ADJ.** Verificar que el interruptor del Cronómetro este puesto en *Infinito*.

**PELIGRO:** Si se usa un termómetro de vidrio con mercurio y se rompe, evite respirar los vapores y limpie el derrame de inmediato.

2.- Poner el termómetro en el bloque calentador dentro del orificio de este, y dejar que la temperatura se estabilice.

**Nota:** Usar con cuidado cuando se ajuste el control de temperatura. Este control es un potenciómetro de giro sencillo y puede ser definitivamente

dañado, si se le aplica demasiado movimiento de torsión al final del recorrido del ajuste de la temperatura.

3.- Usando un destornillador no conductor, girar ligeramente el control de ajuste de temperatura en sentido opuesto a las manecillas del reloj si la temperatura debe ser reducida, o en sentido de las manecillas del reloj si la temperatura debe ser aumentada. Dejar que la lectura del termómetro se establezca para determinar si otro ajuste es necesario. Repetir este paso hasta que la lectura del termómetro se establezca a la temperatura deseada. Si se usa el termómetro opcional (vidrio), quitarlo después de leída la temperatura.

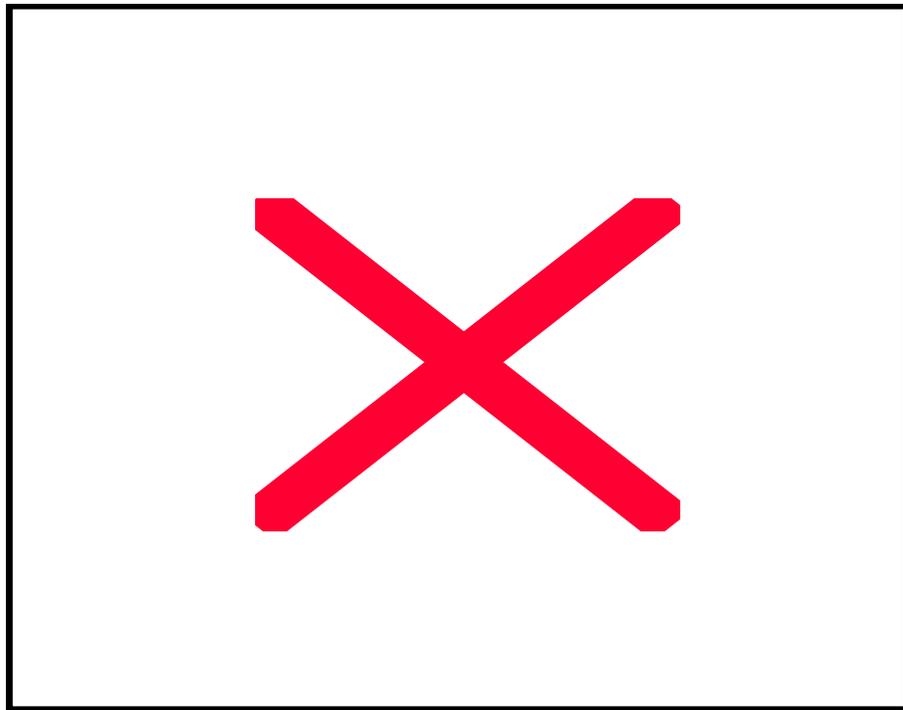
## 1.6 NOTAS OPERACIONALES

- ✓ No poner el reactor de DQO en una corriente de aire, a la luz solar directa o cerca de equipos que emiten calor o frío. La estabilidad de la temperatura puede ser afectada.
- ✓ Se recomienda usar la careta de seguridad (opcional).
- ✓ El uso del termómetro opcional es recomendado solamente para verificar la temperatura del bloque calentador durante la preparación del instrumento. Se debe retirar el termómetro durante la operación normal del reactor, ya que el termómetro contiene mercurio y puede quebrarse.
- ✓ Usar el tamaño de los tubos que encajen en los orificios del bloque calentador, para mejores resultados.
- ✓ Durante la operación, la temperatura del bloque diferirá ligeramente cuando el bloque digestor este lleno de tubos. Además, cargar el bloque con tubos fríos bajará la temperatura del bloque varios grados y requerirá pocos minutos para recuperar el calentamiento de los tubos. Si la temperatura no se recupera completamente, el control de temperatura apropiada puede ser ajustado para compensarla.
- ✓ El termómetro de esfera proporcionado con el reactor de DQO puede ser recalibrado poniendo el tubo dentro de un baño de agua-hielo, dejándolo llegar al equilibrio y ajustar la tuerca debajo de la esfera para obtener una lectura de 0°C.

**Nota:** Si el evento de un accidente derrama dentro del bloque digestor, desconectar la energía eléctrica al instrumento y dejarlo enfriar. Después que el instrumento ha enfriado, quitar todos los tubos con reactivo y trasladar el bloque digestor para limpiarlo. Si el derrame fue severo y el contenido esta fuera o dentro del bloque digestor los componentes eléctricos del instrumento pueden dañarse

Traducido del Inglés al Español, por la Lic. Ivette López Zambrana.

**ANEXO 10.10:** Foto del reactor en la última etapa cuando se proceden a retirar las muestras después de 2 horas de digestión a 150 °C



La foto ilustra cuando se retiran las muestras después de 2 horas de digestión.

## **ANEXO 10.11: Forma de preparar la muestra certificada**

## **ANEXO 10.12: Certificado de la Muestra de Referencia Certificada**

## GLOSARIO

1. **ACREDITAR:** Testimoniar con documentos fehacientes que el laboratorio posee facultades para desempeñar todos los análisis que ofrece.
2. **ERROR ALEATORIO:** Relativo a un suceso, aquel en cuya realización interviene el azar, no pudiéndose determinar de antemano el resultado del experimento realizado.
3. **ANALITICO:** Relativo al análisis químico.
4. **BLANCO:** Muestra que se prepara usando como matriz agua destilada (que no contenga el analito) y los reactivos del análisis el cual debe ser realizado en las mismas condiciones de la muestra.
5. **CALIBRACION:** m. Tecnología. Conjunto de operaciones realizadas para determinar el valor de los errores de un patrón, instrumento o equipos de medición.
6. **CALIDAD:** Propiedad o conjunto de propiedades inherentes a una cosa en particular.
7. **CATACION:** Probar algo para examinar su sabor o sazón.
8. **CAS:** Chemical Abstract Service.
9. **CONFIABILIDAD:** Brindar confianza y seguridad en los resultados.
10. **MATERIAL CONTRAIDO:** Cuando el analito esta ausente y agregado a la fuente antes de realizarse el muestreo.
11. **COVARIANZA:** mat. Medida de la tendencia de dos variables aleatorias para variar conjuntamente.
12. **CREDIBILIDAD:** Calidad de ser confiable.
13. **DISPERSION:** Diferencia entre cada valor obtenido en una distribución estadística y la media aritmética.
14. **DOPAR:** Agregar a la muestra el analito de estudio para conseguir un rendimiento superior al esperado.
15. **EFICIENCIA:** Calidad y Facultad para lograr un efecto.
16. **ENTE:** Empresa pública, institución u organismo.
17. **ESTANDARES:** Tipo, modelo o patrón.

18. FORTIFICAR: Dar vigor y fuerza a la muestra agregándole el analito de interés
19. INDICADOR: En química sirven para observar, el momento final de una titulación ya que estos cambian de un color a otro en el punto estequiométrico de la reacción.
20. INHERENTE: Que por su naturaleza está de tal manera unido a una cosa que no se puede separar.
21. MAGNITUD A MEDIR: Esta puede ser, absorbancia, metros, mililitros, miligramos, etc.
22. MATRIZ: Sustancia o material en el que se encuentra el analito de estudio.
23. NIVEL: Grado que alcanzan ciertos aspectos.
24. NORMALIZADO: Que está normado o reglamentado o sea que esta ajustado a un tipo o modelo.
25. PARAMETRO: Mat. Variable que en una familia de elementos, sirve para identificar cada uno de ellos mediante un valor numérico.
26. PATRONES: ídem. ESTANDARES.
27. RECOBRO: Consiste en agregar cierta cantidad de analito de estudio a una muestra de composición conocida
28. MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO: Una muestra que viene acompañada de un certificado de calidad, en el cual se reporta el valor verdadero y los límites de aceptación de esta.
29. REPLICA: Consiste en realizar los análisis por duplicados para minimizar los errores durante el análisis y brindar resultados más confiables.
30. SESGO: Desviación del valor posible, válido o previsto.
31. ERROR SISTEMATICO: Suceden sin tener en cuenta las circunstancias.
32. VALIDAR: Determinar los parámetros de eficiencia del método de estudio, haciendo uso de las herramientas de validación.

## SIMBOLOGÍA

a	ordenada en el origen de la regresión
b	pendiente de la recta de regresión
$\beta$	exactitud
DER	desviación estándar relativa
DQO	Demanda Química de Oxígeno
$\varepsilon$	linealidad
F	razón de dos varianzas, prueba de Fisher
FAS	Sulfato de Hierro y Amonio Hexahidratado
$\mu$	valor verdadero
LD	limite de detección
LQ	limite de cuantificación
mg O <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup>	miligramos de oxígeno por litro
M	molaridad
n	tamaño de la muestra
NIST	Instituto Nacional de Normas y Tecnologías, de los Estados Unidos.
r	coeficiente de regresión lineal
R	Recobro
R%	porcentaje de recobro
S	desviación estándar de la muestra
S <sub>b</sub>	desviación estándar para pares de resultados.
t	cantidad utilizada en los cálculos de los limites de confianza y en pruebas de significación de la media, prueba de Students.
U	incertidumbre
U <sub>s</sub>	incertidumbre estándar
U <sub>e</sub>	incertidumbre expandida
$\bar{X}$	media aritmética de una muestra
y	predicción del valor de y por la recta de regresión
$\hat{y}$	predicción del valor de y corregido en la recta de regresión para los cálculos de los residuales
Y <sub>B</sub>	señal del blanco.