



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

**RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CARRERA QUÍMICA AMBIENTAL**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA
AMBIENTAL.**

**Título: Validación del método volumétrico de Walkley y Black para la
determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, en el
LABSA-UNA Septiembre - Diciembre 2021**

Autores:

Br. Yorlenis Lilibeth García Soto

Br. Donald Ariel Urbina Flores

Tutor:

Lic. Irvin Miguel Alemán Vásquez

Asesor metodológico:

Eps. José Luis Prado Arróliga

Managua, 12 de julio 2022

Aspectos Generales

TÍTULO

Validación del método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, en el LABSA-UNA Septiembre - Diciembre 2021.

DEDICATORIA

Al culminar este trabajo monográfico de grado quiero dedicarlo:

Principalmente a Dios quien en su infinito amor y misericordia me ha permitido el privilegio de dar por concluida mi segunda carrera profesional, por darme la fortaleza, la sabiduría y la salud día a día.

A mi hijo Mike Owen Flores García, quien se convirtió en mi ángel en el cielo y en mi mayor motivación para ser mejor cada día, te amo hijo, siempre vivirás en mi corazón.

A mi esposo, William Oswaldo Flores López, por ser mi apoyo incondicional, por fortalecerme con sus palabras de motivación, por enseñarme que puedo lograr todo lo que me preponga.

A mis padres, Mauricio García y Erlinda Soto, son mi ejemplo a seguir y la versión de amor y perseverancia, a mis hermanos, Edgar, Edeywin y Wuilkin, por apoyarme y animarme, a mis sobrinos Gabriela y Jeycow por llenar mi vida de su amor y ternura.

Yorlenis Lilibeth García Soto

Dedico este trabajo monográfico:

A Dios, ser supremo omnipotente, omnipresente, omnisciente, por darme sabiduría, fuerzas para perseverar y poder culminar mi carrera.

A mis padres: Yolanda Flores Pérez y Donald Urbina Paz, pilares fundamentales de mi vida, de todo corazón les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento al sacrificio que han realizado para que yo pueda estudiar, este logro también es de ustedes.

A mis hermanos: Norvin Alexis Urbina Flores y en especial a Jessica María Urbina Flores quien ha sido mi compañía en mi camino académico.

A mis abuelitas María Fátima Paz, Dionisia Pérez y a mi tía Esmilda Flores Pérez, familiares que siempre estuvieron pendiente de mí durante el trayecto de mí carrera.

A Lic. Ubenza Lilian Pérez quien con mucho entrega, paciencia y cariño me enseñó mis primeras letras.

Donald Ariel Urbina Flores

AGRADECIMIENTO

Al dar por finalizada esta monografía, esta carrera, mi corazón se llena de gozo y agradecimiento y las palabras de gratitud quedan cortas para expresar mis sentimientos, agradecer primeramente a Dios, por la vida, por esta bonita experiencia de crecer profesional y personalmente, por poner en mi vida cada persona que aportó a mi aprendizaje a lo largo de estos 5 años.

Agradezco a mi esposo, a mi hijo y a mi familia que son mi mayor tesoro y mi motivación, representan mi fuerza y mis ganas de avanzar y lograr cada una de mis metas.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN-Managua por la oportunidad de formarme en esta universidad de tan alto prestigio y calidad, agradezco a cada docente que a lo largo de la carrera me brindaron sus conocimientos, sus consejos y sus palabras de ánimo, al Centro de Investigación en Biotecnología (CIB /UNAN – Mangua), y al Centro de Investigación de los Recursos Acuáticos de Nicaragua (CIRA/UNAN – Managua), donde realicé las diferentes prácticas en estos 5 años de formación.

Agradezco de manera especial al director del Laboratorio de Suelo y Agua de la Universidad Nacional Agraria (LABSA/UNA-Managua), Ing. MSc. Leonardo García Centeno por confiar en nosotros y permitirnos realizar este trabajo monográfico en este laboratorio.

Al Lic. Irvin Miguel Alemán Vásquez, tutor de este trabajo monográfico, gracias maestro por sus conocimientos, por su paciencia, por cada aporte a este trabajo y a nuestros conocimientos profesionales. Al Esp. José Luis Prado Arroliga, asesor metodológico de esta monografía, gracias maestro por aportar a culminar con éxito este trabajo.

Gracias Donald Urbina Flores, mi amigo y compañero no solo de este trabajo monográfico, sino también, de todas las aventuras y retos que se nos presentaron en estos 5 años de formación académica, no fue fácil mi estimado, pero lo logramos.

Gracias a cada compañero, cada amigo, cada persona que de manera directa o indirecta formó parte de este difícil y hermoso camino de aprendizaje.

Yorlenis Lilibeth García Soto.

Me he graduado de la universidad, lograr concluir una carrera universitaria es lo que siempre anhelé, no fue fácil, por momentos pensé que no podría hacerlo, por los diversos obstáculos que se me presentaron, por eso en esta oportunidad quiero agradecer infinitamente a Dios por darme las fuerzas necesarias para continuar y alcanzar el triunfo, además, agradezco por darme sabiduría y haberme guiado a lo largo de mi carrera.

Agradezco enormemente a mis padres Yolanda Flores Pérez y Donald Urbina Paz, por el apoyo incondicional que me proporcionaron para estudiar la carrera que preferí.

A mis hermanos Norvin Alexis Urbina Flores y Jessica Urbina Flores les agradezco por estar siempre en mi vida, pero en especial quiero agradecer a Jessica, quien ha sido el mejor regalo que me han dado mis padres como hermana y amiga, gracias por tu apoyo moral en esta etapa de mi vida, por acompañarme en los estudios desde el preescolar hasta la universidad.

Agradezco el apoyo incondicional de mi abuelita María Fátima Paz, quien estuvo muy de cerca en mi formación académica, gracias por sus consejos, este logro también es suyo, de igual manera agradezco a mi abuelita Dionisia Pérez por su apoyo moral y sus buenos deseos que siempre me brindó, también agradezco el grato apoyo de mi tía Esmilda Flores Pérez.

Agradezco a la universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN – Mangua), a la cual le consideré mi segundo hogar, por formarme de una manera integral con una concepción científica y humanista. Agradezco cada uno de los maestros que contribuyeron a mi formación profesional, en especial a los del departamento de Química, Centro de Investigación en Biotecnología (CIB /UNAN – Mangua) y del Centro de Investigación de los Recursos Acuáticos de Nicaragua (CIRA/UNAN – Managua) quienes, con mucho cariño, amabilidad y dedicación me transmitieron sus conocimientos.

A cada uno de mis compañeros y amigos de la universidad que fueron parte del proceso de aprendizaje, en especial a mi compañera de tesis Yorlenis Lilibeth García Soto, más que una compañera se convirtió en una hermana en los 5 años de la carrera.

Agradezco a las personas que estuvieron directamente vinculada con este trabajo monográfico:

Al director del Laboratorio de Suelo y Agua de la Universidad Nacional Agraria (LABSA/UNA-Managua), Ing. MSc. Leonardo García Centeno por brindarnos la oportunidad para desarrollar este trabajo monográfico en LABSA.

A nuestro tutor: Lic. Irvin Miguel Alemán Vásquez, por brindarnos su incondicional apoyo, siempre estuvo pendiente de nosotros, mostrando su entera disponibilidad de tiempo en cada una de las tutorías. Muchas gracias por ser paciente, transmitirnos sus conocimientos y consejos los cuales fueron muy valioso para llevar a cabo este trabajo monográfico.

A nuestro asesor metodológico Esp. José Luis Prado Arroliga, por mostrar su disponibilidad para brindarnos sus asesorías en el aspecto metodológico del trabajo monográfico, muchas gracias por su ayuda y dedicarnos su tiempo.

Y finalmente y no menos importante, expreso mi agradecimiento al departamento de Becas de la UNAN – Managua, por abrirme las puertas para estudiar una carrera universitaria en esta prestigiosa Universidad, por los múltiples beneficios que me brindó durante mis cinco años de carrera, en especial agradezco al director del Departamento de Becas de la UNAN – Managua MSc. Edgar Franco Granera, por estar siempre anuente a cada una de mis solicitudes y brindarme su ayuda incondicional, gracias por la amabilidad que me brindó el personal del departamento de Becas, para mí fueron mis segundos padres.

Donald Ariel Urbina Flores

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yorlenis Lilibeth García Soto y Donald Ariel Urbina Flores, estudiantes de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua (UNAN-Managua) con números de carnet 17-04756-4 y 17-04684-9 respectivamente al haber cursado y aprobado el pensum de la carrera de Química Ambiental, ofertada por la Facultad de Ciencias e Ingenierías por medio del Departamento de Química, damos fe y veracidad de la autoría y originalidad de la presente monografía bajo el Título:” **Validación del método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, en el LABSA-UNA Septiembre-Diciembre 2021**”.

Br. Yorlenis García Soto

Br. Donald Urbina Flores.

Aspirantes al Título de Licenciado (a) en Química Ambiental
UNAN-Managua

CARTA AVAL DEL TUTOR Y ASESOR



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN - MANAGUA

RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍAS

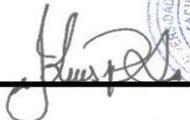
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



La presente Monografía bajo el Título: **“Validación del método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, en el LABSA-UNA Septiembre - Diciembre 2021”** ha sido realizada por los bachilleres: Yorlenis Lilibeth García Soto y Donald Ariel Urbina Flores con números de carné 17-0475-64 y 17-0468-49 respectivamente bajo la tutoría del **Lic. Irvin Miguel Alemán Vásquez** y la asesoría metodológica del **Esp. José Luis Prado Arroliga**.

Ambos damos fe que los bachilleres han cumplido con todas las disposiciones y requisitos académicos según la **Normativa de Modalidad de Graduación**, emitida por el Vicerrectorado de Docencia-Dirección de Docencia de Grado en mayo de 2017 y el **Instrumento de Evaluación para Modalidades de Graduación del Departamento de Química** en cuanto a la elaboración de la presente Monografía para optar al título de **Licenciado(a) en Química Ambiental**.

Docente Universitario
LABSA
Universidad Nacional Agraria



Esp. José Prado
Docente Universitario
Departamento de Química
UNAN-Managua

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objeto de estudio validar el método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, utilizando como método de referencia para determinar el carbono orgánico, el procedimiento operativo estándar GLOSOLAN-SOP-02. En cumplimiento de la Norma ISO/IEC 17025: 2017, la validación se llevó a cabo con base a las recomendaciones de la Política para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración de la Oficina Nacional de Acreditación (DOC-ONA-12-011), para estimar la incertidumbre asociada al resultado de medida se utilizó La Guía para la Expresión de la Incertidumbre de Medida (GUM). En la validación se utilizó material de referencia de suelo provenientes de WEPAL con tres niveles de concentraciones diferentes (nivel bajo, medio y alto). Los parámetros de desempeño del método analítico a evaluar son: exactitud, precisión, linealidad, límite de detección y cuantificación e incertidumbre, los resultados obtenidos de cada uno de los parámetros cumplen los criterios de aceptación de la Oficina nacional de Acreditación (ONA), por lo tanto, queda demostrado que el método se ajusta adecuadamente a los criterios aceptación de la ONA, por ende, se puede obtener resultados confiables y precisos, dicho lo anterior, el método se declara validado.

Palabras claves: *Validación, Carbono orgánico, Método Walkley y Black, GLOSOLAN-SOP-02, GUM.*

Índice

ASPECTOS GENERALES	I
TÍTULO	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	IV
DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD	VIII
CARTA AVAL DEL TUTOR Y ASESOR	IX
RESUMEN	X
CAPÍTULO I	IX
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.4. OBJETIVOS	4
1.4.1. Objetivos General	4
1.4.2. Objetivos Específicos	4
CAPÍTULO II	5
2.1. MARCO TEÓRICO	6
2.1.1. Generalidades del Suelo	6
2.1.2. Generalidades del Carbón Orgánico	6
2.1.2.1. Materia Orgánica.....	7
2.1.3. Generalidades acerca de la Norma ISO/IEC 17025:2017	7
2.1.3.1. Aseguramiento de la calidad.	8
2.1.4. Validación de Métodos Analíticos	9
2.1.4.1. Razones por la que se valida un método.....	10
2.1.4.2. Políticas de Validación de Métodos de Analíticos según la ONA.	10
2.1.5. Parámetros a determinar en la validación del método analítico	15
2.1.5.1. Exactitud.	15
2.1.5.2. Precisión	15
2.1.5.3. Linealidad.....	17
2.1.5.3.1. Límite de Detección y Cuantificación.....	20
2.1.5.4. Incertidumbre.	23

1.	Incertidumbre estándar.....	26
2.	Incertidumbre Estándar Combinada	32
2.2.	ANTECEDENTES.....	36
2.3.	HIPÓTESIS.....	39
CAPÍTULO III.....		40
3.1.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	41
3.1.1.	<i>Descripción del ámbito de Estudio.....</i>	<i>41</i>
3.1.2.	<i>Tipo de estudio.....</i>	<i>42</i>
3.1.3.	<i>Población y Muestra</i>	<i>43</i>
3.1.3.1.	Población.	43
3.1.3.2.	Muestra	43
3.1.3.2.1.	Criterios de Inclusión.....	43
3.1.3.2.2.	Criterios de Exclusión.....	44
3.2.	VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN	44
3.2.1.	<i>Variables Independientes</i>	<i>44</i>
3.2.2.	<i>Variables Dependientes</i>	<i>44</i>
3.2.3.	<i>Operacionalización de las variables</i>	<i>44</i>
3.3.	MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.3.1.	<i>Materiales para Recolectar Información.....</i>	<i>45</i>
3.3.2.	<i>Materiales para Procesar la Información.....</i>	<i>46</i>
3.3.3.	<i>Materiales, Equipos y reactivos respectivamente del laboratorio.....</i>	<i>46</i>
3.3.4.	<i>Métodos</i>	<i>48</i>
3.3.4.1.	Método de investigación.....	48
3.3.4.2.	Descripción del método volumétrico de Walkley y Black.	48
3.3.4.3.	Interferencias del Método.	49
3.3.4.4.	Preparación de las soluciones.....	49
3.3.4.4.1.	Solución de Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1N.....	49
3.3.4.4.2.	Complejo de o-fenantrolina – ferrosa, 0,025M (Indicador).	50
3.3.4.4.3.	Solución de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7 H_2O$), 0,5N.	50
3.3.4.5.	Procedimiento del método analítico experimental para determinar carbón orgánico en las muestras de suelo WEPAL.	51
3.3.4.6.	Evaluación de los parámetros de validación.....	55
3.3.4.6.1.	Exactitud.....	55

3.3.4.6.2. Precisión.....	57
3.3.4.6.3. Linealidad.....	59
3.3.4.6.4. Límite de Detección y de Cuantificación.....	61
3.3.4.6.5. Incertidumbre.....	61
3.3.4.7. Modelo matemático para la determinación de C.org en Suelo.....	62
3.3.4.8. Ley de propagación de incertidumbre.....	64
3.3.4.9. Estimación de la incertidumbre de la concentración del Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 1N.....	65
3.3.4.9.1. Componentes de la masa del $K_2Cr_2O_7$	65
3.3.4.9.2. Componentes de la pureza del $K_2Cr_2O_7$	67
3.3.4.9.3. Componentes del volumen de aforo del $K_2Cr_2O_7$	67
3.3.4.9.4. Componente de la fórmula molecular del $K_2Cr_2O_7$	68
3.3.4.9.5. Coeficiente de sensibilidad de la incertidumbre de la concentración del Dicromato de potasio.....	69
3.3.4.10. Estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada del sulfato de hierro 0,5 N.....	70
3.3.4.10.1..... Coeficiente de sensibilidad de la incertidumbre de la concentración de Sulfato de hierro.....	70
3.3.4.10.2. Coeficientes de sensibilidad.....	71
3.3.4.10.2.1..... Coeficientes de sensibilidad a partir de la Ecuación 55 ($C.O$).....	71

71

CAPÍTULO IV.....	73
4.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	74
CAPÍTULO V.....	98
5.1 CONCLUSIONES.....	99
5.2. RECOMENDACIONES.....	103
5.3. BIBLIOGRAFÍA.....	104
5.4. ANEXO.....	109

Índice de tabla

TABLA 1.	OBJETIVOS DE VALIDACIÓN SEGÚN EL TIPO DE PROCEDIMIENTO DE ENSAYOS	12
TABLA 2.	ALCANCE DE LA VALIDACIÓN SEGÚN EL TIPO DE PROCEDIMIENTO DE ENSAYO	13
TABLA 3.	ALCANCE DE LA VALIDACIÓN SEGÚN EL TIPO DE PROCEDIMIENTO DE ENSAYO	14
TABLA 4.	MUESTRAS DEL MATERIAL DE REFERENCIA UTILIZADO EN LA VALIDACIÓN	43
TABLA 5.	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	44
TABLA 6.	FUENTES DE INCERTIDUMBRE EN LA DETERMINACIÓN DE C. ORG EN SUELO.	63
TABLA 7.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS PARA LOS NIVELES DE CONCENTRACIONES BAJA: CÓD.-WEPAL 866 Y MEDIO: CÓD-WEPAL 860.	74
TABLA 8.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA MUESTRA DE NIVEL DE CONCENTRACIÓN: ALTO=CÓD.-WEPAL 854. 75	
TABLA 9.	VALIDACIÓN DE LA EXACTITUD EN DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO, POR COMPARACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE UN ESTÁNDAR CON EL VALOR ESPERADO DE ANALITO EN LA MATRIZ DE MUESTRA, NIVEL BAJO, MEDIO Y ALTO	76
TABLA 10.	VALIDACIÓN DE LA PRECISIÓN DE C.ORG. REPETIBILIDAD (INTERDÍA).....	78
TABLA 11.	VALIDACIÓN DE LA PRECISIÓN DE CARBONO ORGÁNICO REPETIBILIDAD (INTRADÍA).....	79
TABLA 12.	REPETIBILIDAD INTRALABORATORIO EN LA DETERMINACIÓN DE C.ORG. (REPRODUCIBILIDAD)...	79
TABLA 13.	PRECISIÓN INTERMEDIA EN LA DETERMINACIÓN DE C.ORG. (REPETIBILIDAD INTERDÍA).	81
TABLA 14.	DATOS PARA LINEALIDAD.....	82
TABLA 15.	EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD DEL SISTEMA EN LA DETERMINACIÓN DE C.ORG.	83
TABLA 16.	OPERACIÓN PARA EL ESTUDIO DE LA LINEALIDAD.....	83
TABLA 17.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL.	84
TABLA 18.	RESULTADOS DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.	85
TABLA 19.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DEL BLANCO.....	86
TABLA 20.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DE LA MUESTRA.	87
TABLA 21.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LA CONCENTRACIÓN ESTANDARIZADA DEL SULFATO DE HIERRO 0.5 N.....	87
TABLA 22.	RESULTADOS DEL CÁLCULO DE LA MASA DE LA MASA DE LA MUESTRA.	88
TABLA 23.	RESULTADO FINAL LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA, EXPANDIDA Y EL RESULTADO DE CONCENTRACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO CON SU RESPECTIVA INCERTIDUMBRE PARA EL NIVEL BAJO DE CONCENTRACIÓN.	88
TABLA 24.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DEL BLANCO.....	89
TABLA 25.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DE LA MASA.	90
TABLA 26.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LA CONCENTRACIÓN ESTANDARIZADA DEL SULFATO DE HIERRO 0,5 N.....	90
TABLA 27.	RESULTADOS DEL CÁLCULO DE LA MASA DE LA MASA DE LA MUESTRA.	91

TABLA 28.	RESULTADO FINAL LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA, EXPANDIDA Y EL RESULTADO DE CONCENTRACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO CON SU RESPECTIVA INCERTIDUMBRE PARA EL NIVEL MEDIO DE CONCENTRACIÓN.....	91
TABLA 29.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DEL BLANCO.....	92
TABLA 30.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DE LA MASA.	92
TABLA 31.	RESULTADO DEL CÁLCULO DE LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LA CONCENTRACIÓN ESTANDARIZADA DEL SULFATO DE HIERRO 0.5 N.....	93
TABLA 32.	RESULTADOS DEL CÁLCULO DE LA MASA DE LA MASA DE LA MUESTRA.....	93
TABLA 33.	RESULTADO FINAL LA INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA, EXPANDIDA Y EL RESULTADO DE CONCENTRACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO CON SU RESPECTIVA INCERTIDUMBRE PARA EL NIVEL ALTO DE CONCENTRACIÓN.....	94
TABLA 34.	RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DEL MÉTODO VOLUMÉTRICO DE WALKLEY & BLACK PARA DETERMINAR CARBONO ORGÁNICO.	95

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

El carbono orgánico es considerado un indicador de calidad de suelo, que regula debido a sus efectos benéficos las funciones tanto físicas, químicas y biológicas. Para la determinar este parámetro existen diversas técnicas analíticas que permiten cuantificar el contenido de carbono orgánico en suelo, una de las metodologías es la de Walkley-Black, de titulación, basada en la oxidación del carbono orgánico por medio de una disolución de dicromato de potasio en un medio ácido.

La presente investigación tiene como finalidad validar el desempeño del método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo y estimar la incertidumbre asociada al resultado de la medición, dicho método es ejecutado en el Laboratorio de Suelos y Agua (UNA-LABSA) de la Universidad Nacional Agraria sede central Juan Francisco Paguaga.

En primera instancia el ejercicio de validación se da con fines de solicitud de acreditación ante la oficina nacional de Acreditación (ONA) y en segunda instancia tiene como propósito confirmar que el laboratorio aplica correctamente el método analítico, obteniendo datos lo suficientemente confiable y de calidad, para que cualquier decisión basada en los resultados de este método pueda tomarse con confianza.

Para la determinación de Carbón orgánico por el método Walkley-Black se utilizó el procedimiento operativo estándar para el análisis de carbono orgánico del suelo (GLOSOLAN), este procedimiento pertenece a La Red Global de Laboratorios de Suelo, el proceso de validación se llevará a cabo bajo la Política para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración (DOC-ONA-12-011), la cual es una guía que ayuda con el cumplimiento de la Norma ISO/IEC 17025: 2017, en términos de acreditación de métodos analíticos esta guía es ampliamente reconocidas a nivel nacional y para evaluar y estimar la incertidumbre se utilizará La Guía para la Expresión de la Incertidumbre de Medida (GUM).

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la caracterización de perfiles de suelos se requiere determinar el contenido de carbono orgánico, para definir el uso que se daría al suelo; ya que, Nicaragua al ser un país agrícola y pecuario, donde el suelo y su concentración de materia orgánica influye en el desarrollo de estas actividades, las determinaciones analíticas son de interés social y económico, sin embargo, no se tiene un método validado en laboratorios de suelo que permitan obtener resultados seguros y de calidad que potencialicen las decisiones de desarrollo de estas importantes actividades agropecuarias.

La acreditación de un laboratorio de ensayo o calibración es una actividad que, junto a la metrología y la normalización, desempeña un rol fundamental, para proteger estos intereses de los consumidores en términos de seguridad y calidad, es por ello que el Laboratorio de Suelos y Agua de la Universidad Nacional Agraria (UNA- LABSA), siendo un laboratorio especializado en análisis de suelos, con una gran trayectoria en la prestación de servicios, pretende solicitar ante la ONA la acreditación de este, incluyendo en su alcance la determinación de carbono orgánico en el suelo.

Debido a lo anterior y, en cumplimiento del DOC-12-011 de la ONA, el LABSA requiere Validar el método de Determinación de Carbono orgánico en muestras de suelos utilizando el método normalizado de GLOSOLAN- SOP-02. Cabe mencionar que, este trabajo investigativo se basa en la Validación del método volumétrico de Walkley & Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo en el Laboratorio de Suelos y Agua de la UNA, cumpliendo de esta manera con uno de los requisitos que la ONA solicita para la acreditación de un laboratorio y a su vez, dar salida a la necesidad de las caracterizaciones de suelos con fines de uso pecuarios a nivel nacional.

Partiendo de esto se formula la siguiente pregunta: ¿Cumple el Laboratorio de Agua y Suelo (LABSA) con las condiciones para validar el método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico, según los requerimientos establecidos por la ONA?

1.3. JUSTIFICACIÓN

En el actual desarrollo agropecuario de Nicaragua, la necesidad de contar con fuentes de verificación ante los parámetros de calidad de los suelos, es decir, conocer las características de los mismo, lo cual es fundamental para definir el uso y explotación de la matriz en mención, impulsa a los inversionistas a realizar análisis químico y físico para determinar la fertilidad de los suelos y corroborar si se podrá emplear o no con el fin deseado por los interesados, por lo tanto, se requiere suplir esta necesidad social, categorizándose como clientes potenciales de los laboratorios de análisis químico.

Ante la necesidad nacional, la importancia de validar métodos analíticos se basa principalmente en los beneficios y ventajas que provee a los laboratorios de ensayo al aumentar la satisfacción de los clientes cuando solicitan un trabajo analítico y brindar confianza de los resultados emitidos, otra de las ventajas de validar un método es conocer la incertidumbre de las mediciones y que los resultados sean exactos y reproducibles, aumentando así la competitividad del laboratorio y ampliar sus espectro de ofertas de análisis al público en general.

Para dar salida a esta necesidad tanto de los agricultores o empresas que requieren servicio de análisis de suelo y acreditación ante la ONA del Laboratorio de Suelos y Agua de la Universidad Nacional Agraria (UNA-LABSA), se ha puesto como meta importante validar el método analítico para la Determinación de Carbono Orgánico en muestras de suelos según la guía GLOSOLAN-SOP-02.

Como parte del aseguramiento de calidad, este trabajo investigativo beneficiará directamente a aquellos laboratorios de ensayos que se dediquen al servicio de análisis de suelos ya que contarán con una referencia científica que les indique que este método es eficiente, exacto y reproducible. Además, de poder ofertar el servicio de análisis al público, con el propósito de verificar que los suelos que se desean trabajar agropecuariamente cumplen con las necesidades del uso que se desea dar, mitigando inversiones fallidas en el desarrollo de las cadenas productivas.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivos General

Validar los resultados obtenidos utilizando como guía base para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo (material de referencia WEPAL) el procedimiento de GLOSOLAN-SOP-02 con el fin que permitan la acreditación del ensayo.

1.4.2. Objetivos Específicos

1. Comprobar que las condiciones en que se desarrolla el instructivo de trabajo de la determinación de carbono orgánico en suelos según la guía GLOSOLAN-SOP-02 en el LABSA-UNA, son las adecuadas según los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025:2017.
2. Calcular los parámetros de validación exactitud, precisión, linealidad, límite de detección y cuantificación para el método volumétrico de Walkley y Black en la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo (material de referencia WEPAL) bajo las directrices del DOC-ONA-12-011.
3. Estimar en base a la Guía GUM la incertidumbre de la medición del método analítico para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo (material de referencia WEPAL).

CAPÍTULO II

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Generalidades del Suelo

El suelo es el producto final a partir de materiales parentales (rocas y materiales originarios), debido a la influencia del tiempo, combinado con el clima, topografía y organismos (flora, fauna y ser humano), como resultado los suelos pueden diferir de su material parental en textura, estructura, consistencia, color y propiedades químicas, biológicas y físicas. (FAO, 2014)

Según Spotito (1989, como se citó en Alemán y Guido, 2015) el suelo es un cuerpo natural, no consolidado, compuesto por sólidos (material mineral y orgánico), líquido y gases, que se caracteriza por tener horizontes o capas diferenciales, resultados de las adiciones, pérdidas, transferencias transformaciones de energía y materiales a través del tiempo, y cuyo espesor puede ir desde la superficie terrestre hasta varios metros de profundidad. (p. 6)

Según la definición de suelo que ofrece el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 1998), “el suelo es un cuerpo natural formado por una fase sólida (minerales y materia orgánica), una fase líquida y una fase gaseosa que ocupa la superficie de la tierra, organizada en horizontes o capas de materiales distintos a la roca madre, como resultado de adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de materia y energía, que tiene capacidad para servir de soporte a las plantas con raíces en un medio natural”.

2.1.2. Generalidades del Carbón Orgánico

Según Martínez (2008, como se citó en Guamán, 2018) “el carbono orgánico del suelo (COS) es el principal elemento que forma parte de la materia orgánica, por esto es común que ambos términos se confundan o se hable indistintamente de uno u otro” (p.23).

2.1.2.1. Materia Orgánica.

La materia orgánica del suelo se define en los términos siguientes: "Fracción orgánica del suelo que incluye residuos vegetales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismo que viven en el suelo y substancia producidas por los habitantes del suelo. La parte más estable de esta materia orgánica del suelo se llama humus (Fassbender y Bornemisza, 1994, p. 45), que comúnmente es de color oscuro.

Porcentualmente Brady y Weil (2002, como citó en Guamán, 2018) describe que la materia orgánica (MO) constituye aproximadamente el 5% del volumen de la fase sólida y está constituida por organismos (10%), raíces (10%) y humus (80%). A pesar de que la materia orgánica constituye sólo el 2-6% del peso de la fase sólida, tiene gran influencia en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. (p. 16)

Debido a la heterogeneidad de los suelos el contenido de materia difiere un suelo de otro, así lo menciona Fassbender y Bornemisza (1994), la literatura explica que el contenido de materia orgánica se encuentra desde trazas en suelos desérticos hasta un 90 – 95 % en suelos turbos, cuyo contenido decrece con la profundidad en el perfil del suelo.

Guamán (2018) explica que la cantidad de materia orgánica del suelo depende de la vegetación, el clima (temperatura, precipitación), la textura del suelo, el drenaje del mismo y de su laboreo. Los suelos minerales con mayor contenido de materia orgánica son normalmente los suelos de praderas vírgenes. Los suelos de climas cálidos tienen una menor cantidad de materia orgánica. (p. 20)

2.1.3. Generalidades acerca de la Norma ISO/IEC 17025:2017

La ISO/IEC 17025:2017 se ha desarrollado con el objetivo de promover la confianza en la operación de los laboratorios, conteniendo requisitos que permiten a los laboratorios demostrar que operan en forma competente y que tienen la capacidad de generar resultados válidos. La aplicación de esta normativa facilitará la cooperación entre los laboratorios y otras organizaciones, ayudando al intercambio de información y

experiencia, así como la armonización de normas y procedimientos, además facilita la aceptación de resultados entre países.

En la ISO/IEC 17025:2017 se muestra el documento que especifica los requisitos generales para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios, es aplicable a todas las organizaciones que desarrollan las actividades de laboratorio, independientemente de la cantidad de personal.

2.1.3.1. Aseguramiento de la calidad.

La guía a la cual se rigen los laboratorios para el aseguramiento de la calidad es la ISO/IEC 17025:2017, nombrada “requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, se establece como la guía práctica para la evaluación de la conformidad de los requisitos de calidad y competencias técnicas.

Cuando se refiere al aseguramiento de la calidad, hace hincapié en el establecimiento de protocolos demostrables por escrito, en los cuales se establecen procedimientos de la calidad de cada una de las actividades tanto internas como externas de los laboratorios, todo con la finalidad que los ensayos de los laboratorios cumplan determinados requisitos que garanticen la calidad al emitir resultados analíticos.

La norma ISO/IEC 17025:2017 en el ítem 7.7. menciona que “el laboratorio debe contar con un procedimiento para hacer el seguimiento de la validez de los resultados. Los datos resultantes se deben registrar de manera que las tendencias sean detectables y cuando sea posible, se deben aplicar técnicas estadísticas para la revisión de los resultados”. (p. 16)

Seguidamente en el ítem 7.7.3 de la norma, decreta que “si se detecta que los resultados de los análisis de datos de las actividades de seguimiento están fuera de los criterios predefinidos, se deben tomar acciones apropiadas para evitar que se informen resultados incorrectos” (p. 17).

En cuanto a la elaboración del informe de resultados, en el ítem 7.8.1.2 indica que “los resultados se deben suministrar de manera exacta, clara, inequívoca y objetiva y

deben incluir toda la información acordada con el cliente y la necesaria para la interpretación de los resultados y toda la información exigida en el método utilizado” (p.17).

Es importante mencionar que, en el mismo plan de aseguramiento de la calidad, los laboratorios de química, principalmente los que brindan servicio analítico se esfuerzan por validar sus métodos analíticos para luego ser acreditados con el propósito de brindar un resultado veraz y confiable.

2.1.4. Validación de Métodos Analíticos

Según las políticas para la validación de métodos de analíticos (DOC – ONA – 12 – 001, Versión N°: 01, 2012) “la validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficiente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos o parámetros definidos y para el propósito requerido. La validación de un procedimiento consiste en tres pasos fundamentales: 1) Establecimiento del protocolo de validación; 2) Realización de la validación; y 3) Elaboración del informe de validación”. (p.7)

Zumbado (2002) afirma que “el término validación está directamente relacionado con la palabra calidad. La validación del método analítico es el proceso que permite establecer qué características del funcionamiento del método analítico son adecuadas para la aplicación que se pretende. En este sentido es importante señalar que para obtener los mejores resultados deben considerarse todas las variables del método, que incluyen la etapa de muestreo, la preparación de la muestra, la detección y evaluación de los datos, es decir se deben considerar todas las etapas del esquema”. (p.33)

Por lo general en las validaciones de los métodos analíticos se evalúan los siguientes parámetros de desempeño; exactitud (Precisión y Veracidad o Justeza), selectividad, linealidad, sensibilidad de calibrado, límite de detección y límite de cuantificación, tolerancia o fortaleza, robustez, entre otros (Zumbado, 2002. p 33).

2.1.4.1. Razones por la que se valida un método.

De manera general las validaciones de los métodos analíticos se realizan por aseguramiento de la calidad del laboratorio, por exigencia de las normativas de buenas prácticas de laboratorio y por brindar al cliente resultados confiables, los cuales adicionalmente se deben reportar con su incertidumbre adjunta, para una buena toma de decisiones.

2.1.4.2. Políticas de Validación de Métodos de Analíticos según la ONA.

La Oficina Nacional de Acreditación (ONA, 2012), expresa en su política para la validación de métodos, que todo laboratorio interesado en validar cualquier método debe cumplir con los requerimientos establecidos en el DOC-ONA-12-011 para la aceptación de dicho método.

Dentro de los requerimientos la ONA menciona que la validación de un procedimiento analítico debe seguir tres pasos fundamentales: establecimiento del protocolo de validación, realización de la validación, elaboración del informe de validación.

El protocolo de validación deberá contener al menos la siguiente información:

- Debe incluir una identificación única o código
- El objetivo y alcance
- Responsables de las actividades de validación
- La definición del sistema a validar
- Procedimiento para la identificación de los parámetros a validar
- El diseño del plan experimental (incluyendo el muestreo si aplica)
- Equipos y su calificación adecuada al uso (incluye trazabilidad)
- Descripción del método
- Los criterios de aceptación.
- Debe ser específico para cada tipo de muestra y método.

- Debe ser firmado y fechado por las personas responsables de la validación y aprobación.

Una vez que se ha aprobado el protocolo se procede a hacer la validación de acuerdo al mismo, aquí se incluye el proceso de cálculo estadístico de los distintos parámetros evaluados, posteriormente de cumplir con los parámetros de aceptación se deberá de realizar el informe de validación que explicará el paso a paso del proceso de validación.

El informe de validación contendrá la información suficiente para poder concluir acerca de la validación que se ha desarrollado y este debe incluir:

- Protocolo de validación (o hacer referencia al mismo a través de un código).
- Resultados analíticos.
- Resultados Estadísticos.
- Interpretación de resultados.
- Conclusiones.
- Declaración de aptitud del método al uso previsto.
- Cuando aplique el certificado de validación el cual podrá incluir:
 - Analito evaluado.
 - Matriz o matrices ensayadas.
 - Técnica utilizada.
 - Documentos relacionados (protocolos, procedimientos, instrucciones de trabajo).
 - Rango validado.
 - Cuadro resumen con los resultados de los parámetros de desempeño evaluados. Analistas autorizados para la realización del ensayo.

Para la validación del método analítico el laboratorio debe tener en cuenta el establecimiento de los alcances, lo cuales se difieren en tres casos y cada caso tiene objetivos distintos como la ONA específica, ver en la tabla 1.

Tabla 1. *Objetivos de validación según el tipo de procedimiento de ensayos*

Método de ensayo	Objetivos de la Validación
Caso 1: Método Normalizado.	Comprobación de que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente (Verificación)
Caso 2: Método normalizado modificado o uno no normalizado.	Comprobación de que la modificación introducida en el método original no afecta la capacidad del laboratorio para proporcionar resultados confiables. Ejemplos: Cambio del método de extracción, otra matriz, cambios en el pH. Demostrar que el método proporcionado por el fabricante es capaz de dar resultados confiables para el fin propuesto.
Caso 3: Método desarrollado/interno.	Comprobación de que el método cumple con las características necesarias para dar resultados confiables para el fin propuesto.

Nota: Fuente: Tomada de las políticas de validación de métodos de laboratorios de ensayo y calibración, ONA. DOC-ONA-12-011.

Caso 1: Método Normalizado: Se trata de un método de ensayo estandarizado y normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en la norma/procedimiento.

Caso 2: Método normalizado modificado o no normalizado: Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado o cuando se use un método proporcionado por el proveedor de un equipo o sistema analítico. Ejemplos: un método de extracción diferente u otra matriz, rangos distintos de trabajo.

Caso 3: Método desarrollado / interno: Se trata de un método de ensayo desarrollado en el laboratorio y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos.

En las tablas 2 y 3 se muestran cada uno de los parámetros a evaluar según sea el caso o el método de ensayo.

Tabla 2. Alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo

Métodos Normalizados				
Parámetros	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas trazas	Evaluación de características establecidas *
Selectividad / Especificidad	Sí	+	+	+
Estabilidad analítica de la muestra	+	+	+	+
Linealidad del sistema	No	Sí	Sí	+
Linealidad del método	No	+	+	+
Rango	No	+	+	+
Exactitud	No	Sí	Sí	+
Repetibilidad	Sí	Sí	Sí	Sí
Precisión intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de detección	+	No	No	No
Límite de cuantificación	No	+	+	+
Robustez	+	+	+	+

Notas: Parámetros para la determinación del alcance del método. Fuente: Tomada de las políticas de validación de métodos de laboratorios de ensayo y calibración, ONA. DOC-ONA-12-011

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la normativa de referencia o la naturaleza del análisis

++: Dependerá de la disponibilidad de laboratorios.

*: En esta categoría se hace alusión a procesos previos a la cuantificación (ej: disolución, liberación de analitos, etc) el método usado para la cuantificación (cuando aplique) se validará de acuerdo a columnas

2 ó 3.

Tabla 3. Alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo

Parámetros	Métodos Normalizados Modificados o No Normalizados			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas trazas	Evaluación de características establecidas *
Selectividad / Especificidad	Sí	+	+	+
Estabilidad analítica de la muestra	+	+	+	+
Linealidad del sistema	No	Sí	Sí	+
Linealidad del método	No	+	+	+
Rango	No	Sí	Sí	+
Exactitud	No	Sí	Sí	+
Repetibilidad	No	Sí	Sí	Sí
Precisión intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de detección	+	No	Sí	No
Límite de cuantificación	No	+	Sí	+
Robustez	+	+	+	+

Nota: Parámetros para la determinación del alcance del método. Fuente: Tomada de las políticas de validación de métodos de laboratorios de ensayo y calibración, ONA. DOC-ONA-12-011

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la normativa de referencia o la naturaleza del análisis

++: Dependerá de la disponibilidad de laboratorios.

*: En esta categoría se hace alusión a procesos previos a la cuantificación (ej: disolución, liberación de analitos, etc) el método usado para la cuantificación (cuando aplique) se validará de acuerdo a columnas 2 ó 3.

2.1.5. Parámetros a determinar en la validación del método analítico

2.1.5.1. Exactitud.

“La exactitud representa la proximidad de los resultados de una medición al valor de referencia o valor aceptado” (Guerrero y Herrera, 2016. p. 24). “Evalúa tanto los errores sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados (CENAM, 2005. p. 22).

Por lo general la exactitud se estudia en dos componentes: la veracidad y el porcentaje de recobro, donde la evaluación práctica de la veracidad se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia y el porcentaje de recobro debe evaluarse al menos con tres réplicas de tres niveles de concentración, incluidos en el rango de trabajo del método (ONA, 2012. p. 27 y 29).

Según ONA (2012), para evaluar y decidir si la diferencia entre la media de los resultados (\bar{X}) y el valor de referencia (μ) es significativa, se calcula el estadístico “t”:

$$t_{cal} = \frac{(\bar{x} - \mu)}{s/\sqrt{n}} \quad Ec. 1$$

Donde:

t_{cal} = t calculado

\bar{x} = Valor medio de los datos

μ = Valor de referencia

n = números de replicas

s = Desviación estándar de datos

2.1.5.2. Precisión

“Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea” (NMX-AA-115-SCFI-2001). Se determina mediante el cálculo de las desviación estándar y estándar relativa.

La precisión es medida mediante la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia, donde la repetibilidad estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (un mismo analista, mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un tiempo corto (ONA, 2012).

Si la muestra se analiza por varios laboratorios para fines comparativos, entonces una medida de precisión más significativa a usarse es la reproducibilidad (ésta es la medida de precisión más grande normalmente encontrada, a pesar de que formalmente se excluye la variación con respecto del tiempo). (CENAM, 2005. p 25).

Y la precisión intermedia, estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio (ONA,2012).

Estadísticos para la evaluación de precisión:

Desviación estándar, este estadístico está basado en Miller y Miller (2002).

$$s = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \text{Ec. 2}$$

Desviación estándar relativa porcentual

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad \text{Ec. 3}$$

Para el caso de los cálculos estadísticos en la evaluación de la precisión intermedia se toma en cuenta lo siguiente: Se lleva a cabo la comparación de las varianzas mediante la prueba de Fisher, para determinar si existe o no diferencia significativa entre las varianzas.

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad \text{Ec. 4}$$

Los cálculos estadísticos involucrados en la evaluación de la precisión intermedia (reproducibilidad) a parte que preliminarmente se lleva a cabo la comparación de las varianzas mediante la prueba de Fisher, posteriormente se implementa t de Student para descartar si la diferencia entre dos medias (\bar{x}_1, \bar{x}_2) es significativa.

Miller y Miller (2002) estipula que, si las varianzas no se diferencian significativamente, se usa la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 1) s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \times \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{Ec. 5}$$

por otro lado, si las varianzas se difieren significativamente se utiliza la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad \text{Ec. 6}$$

$$\text{Con grados de libertad: } \frac{(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2})^2}{\frac{s_1^4}{n_1^2 (n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2 (n_2 - 1)}} \quad \text{Ec. 7}$$

2.1.5.3. Linealidad.

Es la capacidad del método para producir resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad de analito en un rango definido. Se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados del análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. (Chica, Galvis y Madrid, 2007.p. 9), es decir, la señal obtenida en el análisis de cada muestra es igual a la concentración, por tanto, al aumentar la concentración aumenta la señal.

Para el cálculo de linealidad se usa la metodología de los mínimos cuadrados, donde el criterio de los mínimos cuadrados está diseñado para brindar una recta ajustada que resulte en la cercanía entre la recta y los puntos graficados (Walpole, 2012. p. 397). La linealidad obedece a la forma de la ecuación de la recta, la cual es de primer orden y se expresa de la siguiente manera:

$$y = a + bx \quad \text{Ec. 8}$$

Donde a es el intercepto y b es la pendiente de la recta.

Para el cálculo del intercepto (a) y la pendiente de la recta (b) se usan las siguientes ecuaciones:

$$a = \frac{\sum y \sum x^2 - \sum x \sum xy}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \text{Ec. 9}$$

$$b = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \text{Ec. 10}$$

En una gráfica se encuentra en la variable x las concentraciones y en la variable y la respuesta o señal del analito, y para calcular el grado de relación entre las variables x y y se calcula mediante la siguiente ecuación estadística, llamada coeficiente de correlación (r):

$$r = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)}} \quad \text{Ec. 11}$$

El cuadrado del coeficiente de correlación se denomina coeficiente de determinación e indica la proporción de la varianza total de y , que es explicada por el modelo lineal de regresión y se calcula de la siguiente manera.

$$r^2 = (r)^2 \quad \text{Ec. 12}$$

Para la evaluación de la linealidad, se somete a prueba t – student el coeficiente de correlación (r), pendiente (b), y el intercepto (a), donde se compara el t - calculado con el valor tabulado al nivel de significancia del 95%, utilizando un contrastes t de *dos colas* y $n-2$ grados de libertad (ver tabla de grados de libertad en anexo 7), con el fin de demostrar estadísticamente si el método es lineal o no. A continuación, se muestran las ecuaciones involucradas en los contrastes estadísticos “ t ” para cada variable:

- Según Miller y Miller (2002), para descartar que si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración sí o no es significativa se aplica el siguiente estadístico de prueba al coeficiente de correlación:

$$t = \frac{|r| \sqrt{(n - 2)}}{\sqrt{(1 - r^2)}} \quad \text{Ec. 13}$$

- Para determinar si la pendiente (b) sí o no se diferencia significativamente de cero se emplea el siguiente estadístico (ONA, 2012):

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|b|}{S_b} \quad \text{Ec. 14}$$

- De igual manera el intercepto (a), para determinar que si el intercepto sí o no se diferencia significativamente de cero se utiliza un estadístico de pruebas, el cual es siguiente (ONA, 2012):

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|a|}{S_a} \quad \text{Ec. 15}$$

Para la operación de la ecuación 14 necesita el valor de la desviación de la pendiente, de igual manera la ecuación 15 pide el valor de la desviación del intercepto, donde ambos deben ser calculados, en estos valores se encuentran los llamados errores aleatorios. Según Miller y Miller (2002) “los errores aleatorios en los valores de la

pendiente y ordenada al origen (intercepto) son importantes, considerándose ahora las ecuaciones utilizadas para calcularlos. En primer lugar, se debe calcular es estadístico $s_{y/x}$, que estima los errores aleatorios en la dirección y con la siguiente ecuación:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad \text{Ec. 16}$$

La ecuación 16 es claramente similar a la forma de la ecuación de la desviación estándar de una aserie de medidas repetidas, pero difiere en que las desviaciones, $(y_i - \bar{y}_i)$, se sustituyen por los residuos, $(y_i - \hat{y}_i)$, conteniendo en el denominador el termino $(n - 2)$ en vez de $(n - 1)$, para reflejar el hecho que de dos puntos solo puede obtenerse una línea recta (Miller y Miller, 2002).

Una vez obtenido un valor de $s_{y/x}$, usando las siguientes ecuaciones se puede calcular las desviaciones estándar de la pendiente (s_b)

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum(X_i - \bar{X}_i)^2}} \quad \text{Ec. 17}$$

y la desviación estándar de la ordena en el origen o intercepto (s_a)

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum(X_i - \bar{X}_i)^2}} \quad \text{Ec. 18}$$

2.1.5.3.1. Límite de Detección y Cuantificación.

La ONA (2012) menciona 5 formas de determinar ambos límites:

- a) Relación señal-ruido. (aplica a métodos instrumentales)
- b) Estudio de la menor cantidad detectable.
- c) Estimación del límite de detección mediante el valor de la ordenada en el origen expresada en unidades de concentración.

- d) Análisis repetido del blanco de la muestra.
- e) Determinación por extrapolación a concentraciones cero de muestras conteniendo
- f) bajas concentraciones de analito.

➤ Límite de Detección

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada define al Límite de Detección como un “número expresado en unidades de concentración (o cantidad) que describe el más bajo nivel de concentración (o cantidad) de un sustancia que puede determinarse como estadísticamente diferente del blanco analítico”, y según The American Chemical Society “se refiere al límite de detección como la más baja concentración de un analito (no necesariamente es cuantificable) que un procedimiento analítico puede detectar fidedignamente”.

Según la metodología (Miller y Miller, 2002), el LOD se calcula con la siguiente ecuación:

$$LOD = y_B + 3 s_B \quad Ec. 19$$

Donde:

y_B : Señal del blanco.

s_B : Desviación estándar del blanco.

El INS (2014) menciona que si se quiere realizar el cálculo del límite de detección desde un ensayo de linealidad, se aplica la misma fórmula definida anteriormente, solo se reemplazan los siguientes términos: y_B (señal media de los blancos de reactivo) por la ordenada al origen (a) y s_B (desviación estándar de las lecturas de los blancos de reactivo) por el error típico ($S_{y/x}$) (p.47), quedando expresas la ecuación 19 de la siguiente manera:

$$LOD = a + 3 S_{y/x} \quad \text{Ec. 20}$$

Donde:

a: Intercepto u ordenada al origen.

3: IUPAC indica que el valor 3 corresponde a un nivel de la confianza de cerca del 90 %.

$S_{y/x}$: errores aleatorios en la dirección “y”.

➤ Límite de Cuantificación

Es el límite de cuantificación estrictamente es la concentración más baja de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y de veracidad, dicho de otra manera, son características del desempeño que marcan la habilidad de un proceso de medición analítica para cuantificar adecuadamente un analito. (Guía EURACHEM, 1998.p. 25-61).

Según la metodología (Miller y Miller, 2002), para el cálculo del LOQ se utiliza la siguiente ecuación:

$$LOQ = y_B + 10 s_B \quad \text{Ec. 21}$$

Donde:

y_B : Señal del blanco.

s_B : Desviación estándar del blanco.

La ONA (2012) sugiere que para la evaluación del LOQ se analicen una serie de blancos de la muestra ($n \geq 10$), cabe destacar que las determinaciones múltiples del blanco consumen mucho tiempo.

Por ende, cuando se utiliza una recta de regresión, es adecuado para la estimación del límite de detección utilizar $s_{y/x}$ en lugar de s_B y de igual manera el valor de a , la ordenada al origen calculada, se puede utilizar como estimación de y_B (Miller y Miller, 2002. p. 127), la ecuación para el cálculo de LOQ se representa de la siguiente manera:

$$LOQ = a + 10 s_{y/x} \quad Ec.22$$

Donde:

a: Intercepto u ordenada al origen.

10: valor propuesto por La IUPAC.

$S_{y/x}$ errores aleatorios en la dirección "y".

2.1.5.4. Incertidumbre.

La incertidumbre describe un intervalo dentro del cual se espera que se encuentre la cantidad medida, teniendo en cuenta todas las fuentes de error, la GUM (2008), conceptualiza incertidumbre como un "Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando".

Notas de la guía:

- El parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación típica (o un múltiplo de ella), o la semi amplitud de un intervalo con un nivel de confianza determinado.
- La incertidumbre de medida comprende, en general, varias componentes. Algunas pueden ser evaluadas a partir de la distribución estadística de los resultados de series de mediciones, y pueden caracterizarse por sus desviaciones típicas experimentales. Las otras componentes, que también pueden ser caracterizadas por desviaciones típicas, se evalúan asumiendo distribuciones de probabilidad, basadas en la experiencia adquirida o en otras informaciones.

- Se entiende que el resultado de la medición es la mejor estimación del valor del mensurando, y que todas las componentes de la incertidumbre, comprendidos los que provienen de efectos sistemáticos, tales como las componentes asociadas a las correcciones y a los patrones de referencia, contribuyen a la dispersión. (p. 4)

2.1.5.4.1. Evaluación de la Incertidumbre.

La norma ISO/IEC 17025 (2017), en el ítem 7.6.1, dicta que los laboratorios deben identificar las contribuciones a la incertidumbre de medición. Cuando se evalúa la incertidumbre de medición, se deben tener en cuenta todas las contribuciones que son significativas, incluidas aquellas que surgen del muestreo, utilizando los métodos apropiados de análisis. (p. 15)

Nota: Para la evaluación o estimación de la incertidumbre asociada a los resultados obtenidos se utiliza la guía GUM.

2.1.5.4.2. Fuentes de incertidumbre.

En la práctica existen numerosas fuentes posibles de incertidumbre en una medición, GUM (2008) mencionan las siguientes:

- a) Definición incompleta del mensurando;
- b) Realización imperfecta de la definición del mensurando;
- c) Muestra no representativa del mensurando, la muestra analizada puede no representar al mensurando definido;
- d) Conocimiento incompleto de los efectos de las condiciones ambientales sobre la medición, o medición imperfecta de dichas condiciones ambientales;
- e) Lectura sesgada de instrumentos analógicos, por parte del técnico;
- f) Resolución finita del instrumento de medida o umbral de discriminación;
- g) Valores inexactos de los patrones de medida o de los materiales de referencia;

- h) Valores inexactos de constantes y otros parámetros tomados de fuentes externas y utilizados en el algoritmo de tratamiento de los datos;
- i) Aproximaciones e hipótesis establecidas en el método y en el procedimiento de medida;
- j) Variaciones en las observaciones repetidas del mensurando, en condiciones aparentemente idénticas. (p.8)

2.1.5.4.3. Procedimiento de Evaluación y Expresión de la Incertidumbre.

Según la GUM (2008) para evaluar y expresar la incertidumbre del resultado de una medición se siguen los siguientes pasos, las cuales se enumeran a continuación:

- 1) Expresar matemáticamente la relación existente entre el mensurando Y y las magnitudes de entrada X_i de las que depende Y según ecuación $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$. La función f debe contener todas las magnitudes, incluyendo todas las correcciones y factores de corrección que pueden contribuir significativamente a la incertidumbre del resultado de medición.
- 2) Determinar x_i , el valor estimado de la magnitud de entrada X_i , bien a partir del análisis estadístico de una serie de observaciones, bien por otros métodos.
- 3) Evaluar la incertidumbre típica $u(x_i)$ de cada estimación de entrada x_i .
- 4) Evaluar las covarianzas asociadas a todas las estimaciones de entrada que estén correlacionadas.
- 5) Calcular el resultado de medición; esto es, la estimación y del mensurando Y , a partir de la relación funcional f utilizando para las magnitudes de entrada X_i las estimaciones x_i obtenidas en el paso 2.
- 6) Determinar la *incertidumbre* típica o estándar combinada $u_c(y)$ del resultado de medida y , a partir de las incertidumbres estándar y covarianzas asociadas a las estimaciones de entrada. Si la medición determina simultáneamente más de una magnitud de salida, calcular sus covarianzas.

- 7) Si es necesario dar una incertidumbre expandida U .
- 8) Documentar el resultado de medición y , junto con su incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$, o su incertidumbre expandida U .

2.1.5.4.4. Tipos de Incertidumbre.

En diferentes bibliografías consultadas se menciona que hay tres tipos de incertidumbre: incertidumbre estándar, incertidumbre estándar combinada e incertidumbre expandida, la GUM (2008) agrupa los componentes de incertidumbre estándar en dos categorías según el método de evaluación A y B y a su vez la incertidumbre estándar tipo B, se encuentra en tres tipos de distribuciones; rectangular, triangular y normal.

La GUM (2008) aclara que el propósito de la clasificación en Tipo **A** y Tipo **B**, es indicar las dos formas diferentes de evaluar las componentes de incertidumbre, a efectos únicamente de su análisis; la clasificación no trata de indicar que exista alguna diferencia de naturaleza entre las componentes resultantes de ambos tipos de evaluación. Los dos tipos de evaluación se basan en distribuciones de probabilidad, y las componentes resultantes tanto de uno como del otro tipo de evaluación se cuantifican mediante varianzas o desviaciones típicas. (p. 8)

1. Incertidumbre estándar

Según la GUM (2008) la incertidumbre estándar es “la incertidumbre del resultado de una medición expresada como una desviación estándar y se denota como $u(x_i)$ ”.

a) Incertidumbre tipo A

La incertidumbre tipo **A** es “la evaluación de un componente de incertidumbre de mediciones por análisis estadísticos de valores de cantidades bajo condiciones de medición definidas” (EURACHEM / CITAC, 2012 como se citó en Alemán Y Guido 2015, p. 26).

Según Chacón (2004. p 18), para obtener el análisis de la incertidumbre estándar de tipo A se pueden ejecutar llevando a cabo un número de mediciones independientes con el fin de calcular la media aritmética y el desvío estándar de la media, esta incertidumbre se evalúa directamente a partir del desvío estándar de la media:

$$u(\bar{x}) = s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} \quad \text{Ec. 23}$$

$$u(\bar{x}) = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 24}$$

b) Incertidumbre tipo B

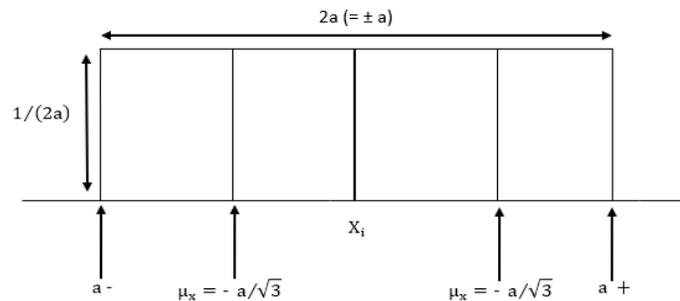
Según Chacón (2004), la Incertidumbre tipo **B** puede ser asociada con efectos sistemáticos o con efectos aleatorios. En el caso de obtener un dato de entrada que no ha sido derivado durante el proceso de medición, de observaciones repetidas se evalúa a partir del juicio y criterio científico basado en toda la información disponible sobre la posible variabilidad de ese dato.

El uso adecuado de la información disponible, es una habilidad que está basada en la experiencia y el conocimiento general, la información comprende:

- Datos de mediciones anteriores.
- Experiencia sobre el conocimiento general de las características, el comportamiento y las propiedades de los materiales e instrumentos relevantes.
- Especificaciones de los fabricantes.
- Datos obtenidos de los certificados de calibración y otros tipos de certificados.
- Incertidumbres asignadas a datos de referencia tomados de manuales. (p. 19 y 20)

➤ **Distribución Rectangular**

Figura 1. Forma geométrica de la distribución rectangular.



Fuente: Modificada de la guía GUM, 2008, p.20.

Esta incertidumbre está dividida en distribución tanto rectangular simétrica y rectangular asimétrica respectivamente.

➤ **Distribución rectangular simétrica**

Según Chacon (2004.p. 23-23), en algunos casos puede que sea posible estimar solo los límites tanto superiores como inferiores para X_i , en particular para establecer la probabilidad de que el valor de X_i este dentro del intervalo a_+ hasta a_- para todos los propósitos prácticos es igual a uno y la probabilidad de X_i caiga fuera de ese intervalo es esencialmente cero.

Si no existe un conocimiento específico acerca de los posibles valores de X_i podríamos suponer que es igualmente probable para X_i tomar cualquier valor dentro del intervalo. Entonces X_i es el punto medio del intervalo o sea $X_i = a_+ + a_- / 2$ y con varianza asociada, $s^2 = (a_+ - a_-)^2 / 12$, la incertidumbre será:

$$u(X_i) = \sqrt{\frac{(a_+ - a_-)^2}{12}} \quad \text{Ec. 25}$$

si la diferencia entre los límites $a_+ - a_-$, se denota por $2a$ entonces la Ec.25 se convierte en: $u(X_i) = \sqrt{\frac{(2a)^2}{12}} = \sqrt{\frac{(4a)^2}{12}} = \sqrt{\frac{(a)^2}{3}}$, quedando denotada finalmente esta distribución con la siguiente ecuación:

$$u(X_i) = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 26}$$

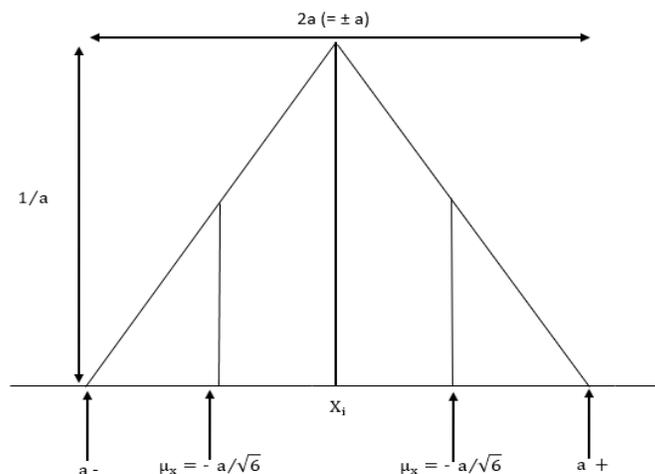
➤ Distribución rectangular asimétrica

EURACHEM (1998) se usa cuando los límites superior e inferior, $+a$ y $-a$ respectivamente, del argumento X_i podrían no ser simétricos con respecto a la mejor estimación de X_i , por tanto, la distribución de la probabilidad de X_i no puede ser uniforme en todo el intervalo (ej. La resolución de una balanza analítica es 0.1 mg), la ecuación para esta distribución se denota de la siguiente manera:

$$u(X_i) = \frac{a}{2\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 27}$$

➤ Distribución Triangular

Figura 2. Forma geométrica de la distribución triangular



Fuente: Modificada de la guía GUM, 2008, p.20.

En esta distribución se usa cuando la información disponible referida a X_i está más delimitada que en una distribución rectangular, por ende, en muchos casos es razonable reemplazar la distribución rectangular simétrica con una distribución triangular, de tal manera que X_i o el valor esperado tiene una varianza asociada:

$$u^2(X_i) = \frac{(a)^2}{6} \quad \text{Ec. 28}$$

representando la Ec.28 en forma de $u(X_i)$ se denota de la siguiente manera:

$$u(X_i) = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad \text{Ec. 29}$$

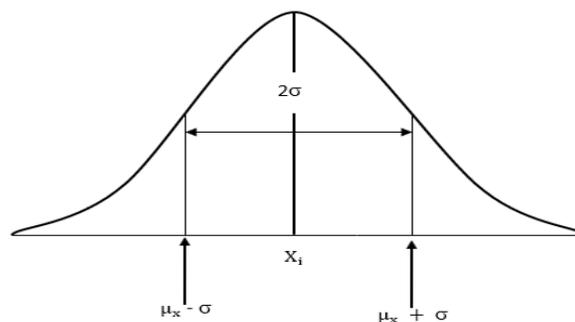
Esta distribución debe usarse cuando el analista tenga un conocimiento previo que justifique su utilización, por ejemplo, en el uso de los materiales volumétricos clase A la experiencia dice que el volumen vertido o contenido por él mismo está más cerca del valor nominal que fuera de él. Chacon (2004.p.25)

➤ **Distribución Normal**

La forma de esta distribución está directamente vinculada con la forma de la campana de Laplace – Gauss. La distribución normal en la mayor parte de los procesos de medición describe mejor lo observado, su función de densidad de probabilidad es la siguiente:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma} \exp \left[-\frac{1}{2} \left(\frac{x - \mu}{\sigma} \right)^2 \right] \quad \text{Ec. 30}$$

Figura 3. Forma de la gráfica de los valores que se distribuyen de manera normal.



Fuente: Modificada de la guía GUM (2008, p.19)

Dónde: μ es la esperanza matemática y σ es la desviación típica o estándar de la distribución normal.

Si la estimación de X_i se toma de la especificación del fabricante, de un certificado de calibración, manual u otra fuente y su incertidumbre asignada se establece como un múltiplo particular de una desviación estándar, la incertidumbre estándar $u(X_i)$ es simplemente el valor asignado dividido por el multiplicador y la varianza estimada $u^2(X_i)$ es el cuadrado de dicho cociente (Chacon, 2004. p. 20)

Alemán y Guido (2015. p. 26) mencionan los casos que debe usarse esta distribución:

Esta distribución se debe usar cuando se haga un estimado a partir de observaciones repetidas de un proceso que varía aleatoriamente.

$$u(x) = s \quad \text{Ec. 31}$$

Además, se debe usar cuando se dé una incertidumbre en forma de una desviación estándar s

$$u(x) = s \quad \text{Ec. 32}$$

o, una desviación estándar relativa, s/\bar{X} ,

$$u(x) = X \left(\frac{s}{\bar{X}} \right) \quad \text{Ec. 33}$$

o un porcentaje de coeficiente de variación %CV sin especificar la distribución.

$$u(x) = X \left(\frac{\% CV}{100} \right) \quad \text{Ec. 34}$$

Y por último se debe usar cuando se dé una incertidumbre en forma de intervalos de confianza de un 95% (u otro) sin especificar la distribución.

$$u(x) = \frac{C}{2} \quad (\text{Para } C \text{ 95\%}) \quad \text{Ec. 35}$$

$$u(x) = \frac{C}{3} \quad (\text{Para } C \text{ al 99,7\%}) \quad \text{Ec. 36}$$

2. Incertidumbre Estándar Combinada

Según García (2003), 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. La expresión matemática es la siguiente:

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 \dots} \quad \text{Ec. 37}$$

En la página 22 de la misma guía GUM (2008), explica que la incertidumbre típica o estándar combinada $u_c(y)$ es una desviación típica estimada y caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando Y. La incertidumbre estándar combinada $U_c(y)$ es la raíz cuadrada positiva de la varianza combinada $U_c^2(y)$ dada por:

$$u_c^2(y) = \sum_{i:1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial X_i} \right]^2 u^2(x_i) \quad \text{Ec. 38}$$

Donde:

$\left[\frac{\partial f}{\partial X_i} \right]$ = es un coeficiente de sensibilidad evaluado como, $\frac{\partial f}{\partial X_i}$, la diferencia parcial de f con respecto de X_i . f : = Es la función dada en la siguiente ecuación $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$. Cada $u(X_i)$ = es una incertidumbre típica evaluada ya sea de Tipo A o Tipo B.

La Ec.38 es válida solamente si las magnitudes de entrada X_i son independientes o no correlacionadas.

Si algunas de las X_i están correlacionadas significativamente, es imprescindible tener en cuenta las correlaciones. Cuando las magnitudes de entrada están correlacionadas, la expresión adecuada para la varianza combinada $u_c^2(y)$ asociada al resultado de medida es:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u(x_i, x_j) = \sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial x_i} \right]^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u(x_i, x_j) \quad \text{Ec. 39}$$

Donde: x_i y x_j son las estimaciones de X_i y X_j , y $u(x_i, x_j) = u(x_j, x_i)$ es la covarianza estimada asociada a x_i y x_j . El grado de correlación entre x_i y x_j viene dado por el coeficiente de correlación estimado $r(x_i, x_j) = \frac{u(x_i, x_j)}{u(x_i) u(x_j)}$, donde $r(x_i, x_j) = r(x_j, x_i)$ y $-1 \leq r(x_i, x_j) \leq +1$. Si las estimaciones x_i y x_j son independientes, $r(x_i, x_j) = 0$ y una variación en una de las dos no implica una variación en la otra.

En término de covarianza la Ec.39 puede escribirse en función de los coeficientes de correlación, más fácilmente interpretables que las covarianzas, como:

$$2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u(x_i) u(x_j) r(x_i, x_j) \quad \text{Ec. 40}$$

Reemplazando términos la Ec.39 queda expresada se la siguiente manera:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial x_i} \right]^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u(x_i) u(x_j) \frac{u(x_i, x_j)}{u(x_i) u(x_j)} \quad \text{Ec. 41}$$

Pero en caso muy particular en el que todas las estimaciones de entrada estén correlacionadas con coeficiente de correlación $r(x_i, x_j) = +1$, la Ec. 41 se reduce a:

$$u_c^2(y) = \left[\sum_{i=1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} (x_i) \right]^2 \quad \text{Ec. 42}$$

Tanto la Ec.38 como la Ec.39 son empleadas para calcular la incertidumbre estándar combinada, la Ec.38 para magnitudes de entrada no correlacionadas y la Ec.39 para magnitudes correlacionadas, ambas están basadas en un desarrollo en serie de Taylor de primer orden de $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$, en torno al valor esperado expresan a lo que se le denomina ley de propagación de incertidumbres. (GUM, 2008, pp. 11 – 24 - 57)

Según la GUM (2008), la adopción de una interpretación de la probabilidad fundamentada en el grado de credibilidad, la desviación estándar (incertidumbre estándar) y la ley de propagación de la incertidumbre como bases para evaluar y expresar la incertidumbre de medida, posee tres ventajas distintas (p.59):

La ley de propagación de la incertidumbre permite la fácil incorporación de la incertidumbre típica combinada de un resultado único, a la evaluación de la incertidumbre típica combinada de otro resultado para cuya obtención se requiere el primero.

No es necesario clasificar las componentes en “aleatorias” o “sistemáticas” (o de cualquier otra manera) a la hora de evaluar la incertidumbre, puesto que todas las componentes de la incertidumbre son tratadas de la misma forma.

3. Incertidumbre expandida

Según la GUM (2008), la incertidumbre expandida se denomina incertidumbre global y se representa como U, magnitud que define un intervalo alrededor del resultado de una medición que puede esperarse para abarcar una fracción grande de la distribución de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando. (p. 5)

Esta incertidumbre se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$ por un factor de cobertura k:

$$U = k * u_c(y) \quad \text{Ec. 43}$$

Donde el valor de cobertura k es un factor numérico utilizado como multiplicador de la incertidumbre estándar combinada, para obtener la incertidumbre expandida, se representa como k_p . El valor del factor de cobertura k se elige en función del nivel de confianza requerido para el intervalo $y - U \leq Y \leq y + U$. En general, k toma un valor entre 2 para un nivel de confianza (p) de 95% y 3 para un nivel de confianza de 99%. (GUM, 2008, p. 5 - 27 - 28).

Según la GUM (2008), el propósito de la incertidumbre expandida U es proporcionar un intervalo en torno al resultado de medida, que pueda contener una gran parte de la distribución de valores que razonablemente podrían ser atribuidos al mensurando. (p. 9)

2.2. ANTECEDENTES

Los siguientes antecedentes están vinculados con la temática de la investigación, la es la validación del método volumétrico de Walkey y Black para determinar carbono orgánico en suelo.

Internacionales

En Quito - Ecuador en el año 2016, en el laboratorio de Suelos, Foliare y Aguas de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), Méndez realizó la investigación que se titula: "Validación del método analítico Walkley y Black de materia orgánica en suelos arcillosos, francos y arenosos del Ecuador-Tumbaco, donde se planteó como objetivo validar el método analítico de Walkley y Black de materia orgánica fácilmente oxidable en suelos arcillosos, francos y arenosos del Ecuador, los parámetros que de desempeño que cuantificó el investigador son los siguientes: límite de detección y cuantificación, Exactitud, Precisión e incertidumbre asociada al método.

El investigador Méndez obtuvo los siguientes resultados: el límite de detección (LD) fue de 0,40 %, donde explica que se encuentra dentro del rango 0,1 a 0,5 %, propuesto por Agrocalidad. El porcentaje de recuperación del material de referencia certificado fue de 85,92 % el cual se encuentra dentro del rango 80 a 120 %. El porcentaje de error de repetibilidad fue menor al 7 % en todas las repeticiones, el cual cumple con la precisión del método empleado, propuestos en Agrocalidad, el porcentaje de error en la reproducibilidad fue menor al 10 % en todas las repeticiones, lo cual cumple con la precisión del método empleado, propuestos en Agrocalidad. El porcentaje de incertidumbre de medición mediante el método analítico de Walkley y Black para el contenido de materia orgánica fue ≤ 15 %,

En 2016, Méndez validó el método analítico de walkley y black en materia orgánica en suelos arcillosos, francos y arenosos del ecuador, encontrando los resultados siguientes: el límite de detección (LD) calculado mediante el método analítico fue de 0,40

%, que se encuentra dentro del rango 0,1 a 0,5 %, propuesto en la validación, el porcentaje de recuperación del material de referencia certificado fue de 85,92 % el cual se encuentra dentro del rango 80 a 120 % propuesto en la validación, el porcentaje de error de repetibilidad fue menor al 7 % en todas las repeticiones, el cual cumple con la precisión del método empleado, propuestos en Agrocalidad, el porcentaje de error en la reproducibilidad fue menor al 10 % en todas las repeticiones, lo cual cumple con la precisión del método empleado, el porcentaje de incertidumbre de medición mediante el método analítico para el contenido de materia orgánica fue ≤ 15 %, el cual se encuentra en el rango propuestos por Agrocalidad.

Finalmente, el investigador con base a los resultados obtenidos, el método de ensayo PEE/SFA/09, para la determinación de Materia Orgánica en muestras de suelos mediante el método de Walkley y Black realizado en el laboratorio de Suelos, Foliare y Aguas de Agrocalidad, lo declara validado con éxito (Méndez, 2016).

En Ecuador, en el año 2018, en el laboratorio de suelo de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, Guamán realizó una investigación titulada “validación del método para determinar materia orgánica en el suelo por medio de la técnica de Walkley And Black”. En cumplimiento de la norma NTE INEN-ISO/IEC 17025:2005, el objetivo de la investigación fue validar el método de análisis de materia orgánica en suelo por la técnica de Walkley y Black, donde los parámetros de eficiencia que evaluó el investigador fueron; repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, precisión, límite de detección y de cuantificación.

Como resultados el investigador obtuvo los siguiente: un porcentaje de recuperación 87,57 %, donde expresa que está dentro del rango de aceptación el cual está entre 85% y 105%, además menciona que el valor del límite de detección es 0,0567% y el de cuantificación de 0,189 %, el cálculo del porcentaje del coeficiente de variación para la repetibilidad es de 2.172% y de reproducibilidad de 2.054 %, afirmando que los parámetros de eficiencia cumplen con el objetivo del criterio de aceptación

planteado para la validación del método. Guamán indica que en la metodología no aplica el cálculo de linealidad, debido a que el método no tiene la capacidad de obtener resultados analíticos proporcionales a la concentración del analito, además menciona que debido a las limitaciones de tiempo de trabajo se excluye el cálculo de la incertidumbre.

Con los resultados de análisis obtenidos, el investigador declara, que el método de ensayo para la determinación de Materia Orgánica en una muestra de suelo por la técnica de Walkley Black fue validado con éxito (Guamán, 2018).

Nacionales

A nivel nacional no se encontraron registros de investigaciones académicas y publicaciones de laboratorios en las cuales se haya validado el método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo; solamente determinaciones de materia orgánica por tesis que publicaron sus resultados de investigación.

2.3. HIPÓTESIS

En las condiciones en que se desarrolla el instructivo de trabajo para la determinación de carbono orgánico empleando el método volumétrico de Walkley y Black, permitirá el cumplimiento de los requisitos requeridos por la ONA en cada uno los parámetros de validación e incertidumbre.

CAPÍTULO III

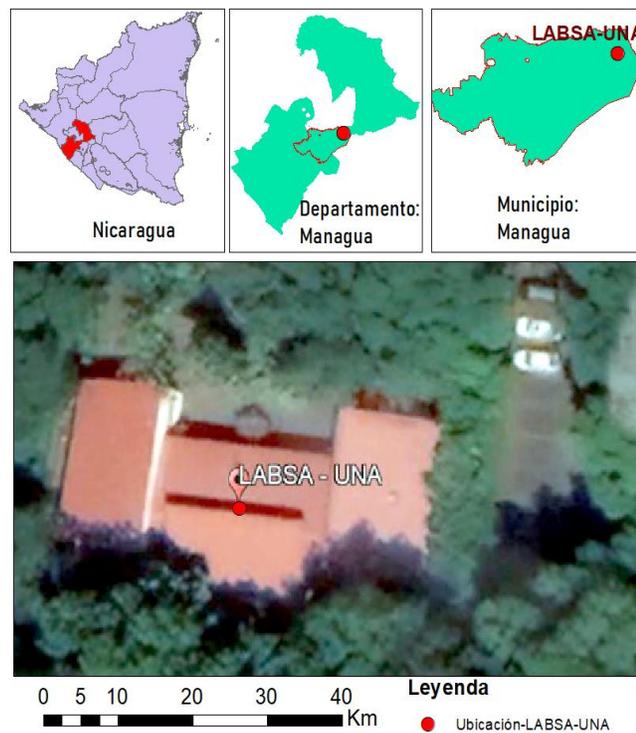
3.1. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1.1. Descripción del ámbito de Estudio

➤ Área geográfica

La validación del método analítico de Walkley y Black para la determinación de Carbón Orgánico, se realizó en el Laboratorio de Suelo y Agua de la Universidad Nacional Agraria (LABSA/UNA sede central Managua), ubicado con coordenadas UTM 1342948.08 N 590989.04 E, en el kilómetro 12 ½ carretera Norte. El laboratorio es una unidad que se fundó con el objetivo de apoyar y fortalecer la docencia, la investigación y la extensión, contribuyendo de esta manera con la formación de los futuros profesionales de la rama agropecuaria.

Figura 4. Macro y microlocalización del Laboratorio LABSA – UNA, Managua



➤ Área académica

Con base a la temática, metodología empleada y los objetivos planteados, la investigación se encuentra vinculada a la *línea de investigación de la carrera de Química Ambiental*, específicamente con el área académica de **Química**, a través de la línea de **Métodos de Análisis Químico Ambiental**, con la temática de interés establecida en **validar, verificar métodos analíticos para determinar parámetros físicos – químicos en el suelo**.

3.1.2. Tipo de estudio

Para la identificación del tipo de estudio y clasificación de la investigación se recurre a la clasificación y niveles plasmados por (Hernández, Fernández, & Baptista, 2010 y 2014), (Tamayo y Tamayo, 2004) y (Piura López, 2008).

Según Hernández Sampieri (2014), se considera que la investigación posee un **enfoque cuantitativo**, debido a que los datos generados en la validación son producto de mediciones, se representan mediante números (cantidades) y se deben analizar con herramientas estadísticas, con la finalidad que permitan la resolución de resultados verídicos y confiables.

➤ Alcance de la investigación

Hernández, Fernández, & Baptista (2014) definen los niveles de investigación a partir de las bases del tema de interés según localización y el alcance de la misma por la interpretación de los resultados. Por lo antes mencionado, el presente estudio es de carácter inicialmente exploratorio, puesto que a nivel nacional no se encontraron registros de investigaciones que cuenten con la validación del método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo.

A su vez, tiene un alcance descriptivo, por el hecho de desagregar las variables con el objetivo de estudiarlas de forma independiente para interpretar y describir el comportamiento de las mismas en la ejecución del método a validar, es decir, que pueda cumplir con los requerimientos de la ONA, para futura acreditación de LABSA.

➤ Según la recolección de datos y orientación en el tiempo

Tamayo y Tamayo (2004) explican la categoría de estudio según el momento en que se recolectan los datos y se lleva a cabo la investigación. En función de la recolección de datos, la investigación es de carácter prospectivo, ya que, los datos se obtuvieron

durante la fase de campo, además, corroborando con Piura López (2008), según la orientación en el tiempo la investigación es de corte trasversal; dado que para realizar el ensayo de validación se comprendió en un solo periodo de tiempo.

3.1.3. Población y Muestra

3.1.3.1. Población.

La población se define como la parte del universo que se desea estudiar de forma general (Piura López, 2008). Por lo tanto, se ha definido como población de investigación a todos los materiales de referencias de suelo que tiene WEPAL empleados en el área analítica e instrumental para determinar carbono orgánico en suelo.

3.1.3.2. Muestra

La muestra según Piura López (2008) está definida como la parte de la población que se aísla para ser estudiada. Por ende, se designa como muestra de estudio el material de referencia proveniente de WEPAL, lote de tres concentraciones diferentes (Nivel bajo, medio y alto) para validar el método volumétrico de Walkley y Black.

Tabla 4. *Muestras del material de referencia utilizado en la validación*

	Cód Wepal	Concentración del MR (C.org (g/kg))
Nivel bajo	866	8,77
Nivel medio	860	21,40
Nivel alto	854	35,40

3.1.3.2.1. Criterios de Inclusión.

Los criterios de inclusión de la muestra se definen en base a la variable que se someterá a manipulación, la cual es:

- Muestras de carbono orgánico provenientes de la WEPAL.

3.1.3.2.2. Criterios de Exclusión.

Los criterios de exclusión de la muestra se definen en base a las variables que no se someterán a manipulación, las cual son:

- Muestras pertenecientes a organismos diferentes a WEPAL.
- Muestras de suelo no certificadas.

3.2. Variables y Operacionalización

3.2.1. Variables Independientes

- Muestra de carbón orgánico.
- Exactitud.
- Precisión.
- Linealidad.
- Incertidumbre.

3.2.2. Variables Dependientes

- Validación del método volumétrico de Walkley y Black.

3.2.3. Operacionalización de las variables

Tabla 5. *Operacionalización de las variables*

Variables	Definición operacional	Indicadores	Valores	Unidad de medida
Carbono Orgánico	Concentración detectada empleando el método volumétrico de Walkley y Black.	Bajo (Cod. 866). Medio (Cod. 860). Alto (Cod. 854).	8,77 21,40 35,40	g/kg

Exactitud	Refleja el grado de identidad de los valores analíticos obtenidos con el método y el contenido real del analito en la muestra.	El $t_{\text{expe}} < t_{\text{tab}}$ para comprobar que el método es exacto.	90-110%	%
Precisión	Es una medida de cuán cerca están los resultados entre sí.	Repetibilidad Intradía. Repetibilidad interdía. Repetibilidad interlaboratorio. Reproducibilidad.	$CV \leq 5$	%
Linealidad	Habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito	$r \geq 0.99$ $r^2 \geq 0.98$ $t_{\text{intercepto}} < t_{\text{tabulado}}$ $t_{\text{pendiente}} > t_{\text{tabulado}}$	$R^2 = 0.9999$	Adimensional
Incertidumbre	Parámetro asociado al resultado de una medida.	Incertidumbre estándar. Estándar combinado. Incertidumbre expandida.		g/kg

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Materiales para Recolectar Información.

Dentro de los materiales para la recolección de la información se mencionan los siguientes: fichas de artículos científicos, fichas de resumen, fichas de cita textual, formatos de registro de datos.

Los materiales para acopiar la información bibliográfica se clasifican en fuentes de información primaria y secundaria, dentro de las fuentes de información primaria usadas

para la recolección de la información están; libros y documentos sobre normativas y dentro de las fuentes de información secundaria se destacan; artículos científicos, revistas científicas, páginas web, tesis de grado y postgrado, publicaciones de sitio web, revistas científicas e informes técnicos. Cabe destacar que toda la documentación utilizada y consultada está directamente vinculada con la temática.

3.3.2. Materiales para Procesar la Información.

Los materiales para procesar la información son los siguientes programas:

- Microsoft Office Word 2019: software utilizado para el procesamiento de textos y edición del documento.
- Microsoft Office Excel 2019: Para el tratamiento estadístico de los datos y obtener resultados.
- Minitab 20.3 última versión 2021 full versión: Para generar gráfico de linealidad.
- Google Earth Pro versión 7.3: Para representar la ubicación del laboratorio, según sus coordenadas geográficas UTM registradas.
- ArGis ArcMap 10.2: Para confeccionar los mapas de macro y micro localización.
- Computadoras (DESKTOP – 6AVUG5C DELL Intel cori5 y MacBook Air).

3.3.3. Materiales, Equipos y reactivos respectivamente del laboratorio

Materiales

- | | | |
|---------------------|------------------|------------------|
| • Termo hidrómetro | • Dispensador de | • Bandejas |
| • Soporte universal | 50 mL | plásticas |
| • Pinzas para | • Espátula | • Papel toalla |
| bureta | • Micropipeta | • papel aluminio |
| • Piseta de 800 mL | | |

Cristalería

- Bureta de 25 mL
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL
- Matraces volumétricos de 250 mL
- Beaker's de 100 mL

Equipos

- Balanza analítica
- Agitador magnético
- Campana extractora de gases

Reactivos utilizados

#	Nombre	Fórmula	concentración	Marca	Grado
1	Dicromato de potasio	$K_2Cr_2O_7$	1 N	Merck	ACS (pureza 0,999)
2	Ácido Sulfúrico	H_2SO_4	Concentrado (96%)	Fisher Chemical	ACS Plus
3	O-fenantrolina – ferrosa	$C_{12}H_8 N_2$	0,025M	-	-
4	Sulfato ferroso-heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,5 M	Fisher chemical	ACS
5	Agua destilada	$H_2O dd$	200 μ S/cm a 25 ° C y un pH superior a 5,6	-	-

3.3.4. Métodos

3.3.4.1. Método de investigación.

Según el enfoque cuantitativo de la investigación el método empleado corresponde al experimental, puesto que se realiza una manipulación de las variables independientes para conocer la respuesta de la variable independiente. Esto, fundamenta la necesidad de realizar la comprobación de hipótesis planteada en base a test estadísticos.

3.3.4.2. Descripción del método volumétrico de Walkley y Black.

Las pruebas de ensayo utilizadas para la validación del método analítico de Walkley – Black, se llevaron a cabo utilizando la metodología de la Red Mundial de laboratorios de suelos (GLOSOLAN-SOP-02), la cual es un protocolo que aplica el principio de Walkley – Black para determinar la concentración de carbón orgánico en suelo.

Según la guía GLOSOLAN (2019, p.4), el principio del método consiste en que la determinación de carbono orgánico del suelo basada en el método de Walkley & Black de oxidación húmeda con ácido crómico. El carbono orgánico oxidable en el suelo es oxidado con una solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1N en ácido sulfúrico concentrado. El calor de la reacción aumenta la temperatura la cual es suficiente para inducir la oxidación.

La reacción química que ocurre durante el proceso es la siguiente:



El $Cr_2O_7^{2-}$ reducido durante la reacción con el suelo es proporcional al carbono orgánico oxidable presente en la muestra. El carbono orgánico puede luego ser estimado midiendo el dicromato remanente no reducido por retro-titulación con sulfato ferroso heptahidratado usando difenilamina o el complejo o-fenantrolina-ferroso como indicador.



El contenido de carbono orgánico es calculado a partir de la cantidad de ion cromo (Cr^{3+}) formado, utilizando un método de titulación.

3.3.4.3. Interferencias del Método.

La GLOSOLAN (2019), menciona que este método está sujeto a interferencias de ciertos constituyentes del suelo que conducen a falsos resultados con algunos suelos. Cloruros, hierro ferroso y elevados contenidos de óxidos de Mn experimentan reacciones de oxidación y reducción en la mezcla de ácido crómico, conduciendo a valores incorrectos de carbón orgánico. La presencia de cantidades significativas de Fe^{2+} o Cl^- en suelos conduce a un error positivo, mientras que la presencia de MnO_2 reactivos en las muestras de suelo resultarán en errores negativos y valores más bajos de carbón orgánico. (p.5)

3.3.4.4. Preparación de las soluciones.

3.3.4.4.1. Solución de Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 1N.

Pesar 12,2575 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ grado reactivo y se disuelve, aforar con agua destilada en un matraz volumétrico de 250mL. El matraz debe ser calibrado (certificado de calibración en anexo 12).

Cálculo de la masa a pesar de dicromato de potasio:

$$N = \frac{\frac{\text{gramos del soluto}}{\text{peso molecular}}}{\text{Litros de la solución}} \times N^\circ \text{ de cargas}$$

$$N = \frac{\text{gramos del soluto}}{\frac{\text{peso molecular}}{N^\circ \text{ de cargas}} \times \text{Litros de la solución}}$$

Despejando los gramos del soluto se obtiene lo siguiente:

$$\text{gramos } K_2Cr_2O_7 = \frac{\text{peso molecular}}{N^\circ \text{ de cargas } K_2Cr_2O_7} \times \text{volumen de la solución} \times N$$

$$\text{gramos } K_2Cr_2O_7 = \frac{294,1820 \text{ g}}{6 \text{ eq}} \times 0,25L \times 1eq/L = 12,2575 \text{ g } K_2Cr_2O_7$$

3.3.4.4.2. Complejo de o-fenantrolina – ferrosa, 0,025M (Indicador).

Para un volumen de 100 mL, disolver 1,485 g de o-fenantrolina monohidratada (grado analítico) y 0,695 g de $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ en agua destilada. Se guarda en un recipiente de vidrio color ámbar bajo refrigeración.

3.3.4.4.3. Solución de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7 H_2O$), 0,5N.

Pesar y disolver en agua destilada 35 g de $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$, agregar 3,75 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4), dejar enfriar la solución y diluirla a un volumen de 250 mL de agua destilada. Estandarizar este reactivo cada vez que se use por titulación con los blancos. La solución fue preparada en matraz calibrado, ver certificado de calibración en anexo 13.

La guía GLOSOLAM menciona que la solución se prepara disolviendo 140 g $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ en 1 000mL y adicionando 15 mL de ácido sulfúrico, por limitantes del laboratorio de calibración, las cuales ya fueron abordadas en la preparación de la solución de dicromato de potasio, se preparó la solución en un balón de 250 mL sin alterar la concentración, ya que se pesó 35 g del reactivo y se adicionaron 3,75 mL de H_2SO_4 .

Los reactivos y muestras se pesaron en una balanza calibrada, ver especificaciones en el certificado de calibración anexo 10. Cálculo de la masa a pesar de sulfato ferroso heptahidratado:

$$M = \frac{n \text{ moles}}{\text{Litros de la solución}}$$

$$M = \frac{\frac{\text{masa}}{\text{peso molecular}}}{\text{Litros de la solución}}$$

Despejando los gramos del soluto se obtiene lo siguiente:

$$\text{gramos } FeSO_4 \cdot 7 H_2O = \text{Peso molecular} \times \text{volumen de la solución} \times M$$

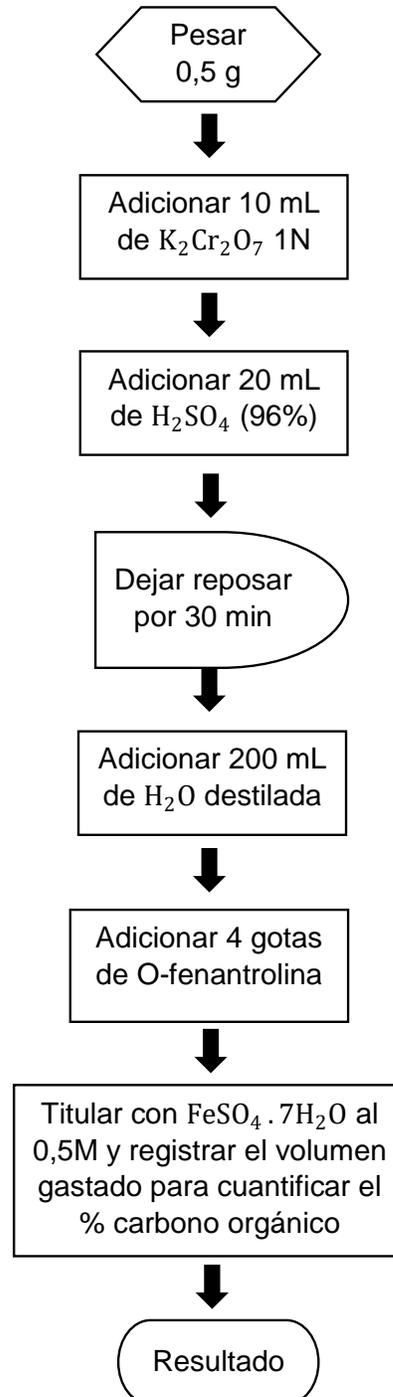
$$\text{gramos } FeSO_4 \cdot 7 H_2O = 278,01g/mol \times 0,25L \times 0,5mol/L = 34,7521g FeSO_4 \cdot 7 H_2O$$

3.3.4.5. Procedimiento del método analítico experimental para determinar carbón orgánico en las muestras de suelo WEPAL.

1. Pesar 0,5 gramos de la muestra (MR). (certificado de calibración de la balanza en anexo 10)
2. Se trasfiere la masa de la muestra pesada a un matraz Erlenmeyer de 500mL.
3. Se toma una alícuota de 10 mL de la solución $K_2Cr_2O_7$ 1 N usando una pipeta automática (Calibrada, certificado de calibración, anexo 15), se dispensa al Erlenmeyer de 500 mL el cual contiene la muestra previamente pesada y se homogeniza.
4. Seguidamente se dispensan 20 mL de H_2SO_4 concentrado (96%), al Erlenmeyer que contiene la muestra más el dicromato mezclado, se homogeniza y se deja reposar por 30 minutos en una campana extractora de gases.

5. Transcurrido los 30 minutos, se adicionan 200 mL de agua destilada al Erlenmeyer para detener la reacción.
6. Se le agregar 4 gotas de o-fenantrolina (Indicador) al Erlenmeyer (homogenizar)
7. En una bureta calibrada de 25mL se vierte la solución de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7 H_2O$), 0,5M, el cual es el agente valorante. (ver certificado de calibración de la bureta en anexo 11)
8. Y finalmente se procede a titular gota a gota. Cabe destacar que en el proceso de valoración se presentaran varios colores, al inicio la mezcla tendrá un color violeta oscuro, el cual virará inicialmente a verde posteriormente a verde oscuro y el punto final de la titulación es marrón.
9. Paralelamente a las muestras se preparan dos blancos, los cuales tienen las mismas condiciones de las muestras, con 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ 1 N y 20 mL de H_2SO_4 concentrado, la diferencia es que no contiene la muestra. Los blancos se titulan primero que las muestras para determinar la normalidad del $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$.
10. Registrar el volumen de $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ gastados tanto en la valoración de las muestras y los blancos para proceder a realizar los cálculos.

Imagen 1. Flujoograma del procedimiento analítico para determinar carbono orgánico en muestras de suelo por el método de Walkley y Black.



La ecuación para el cálculo de la concentración de carbón orgánico en suelo es la siguiente:

$$C.org \text{ g/kg} = \frac{[V_{blanco} - V_{muestra}] \times 0,003 \times N_{FeSO_4 \cdot 7 H_2O} \times f}{m_{muestra}} \times 1000 \quad Ec. 44$$

Donde: $C.org \text{ g/kg}$: Carbón orgánico encontrado en las muestras de suelo del Material de referencia (WEPAL). V_{blanco} : Volumen de sulfato ferroso heptahidratado gastado en el blanco. $V_{muestra}$: Volumen de sulfato ferroso heptahidratado gastado en la muestra. $N_{FeSO_4 \cdot 7 H_2O}$: Normalidad de sulfato ferroso heptahidratado. $m_{muestra}$: Masa de la muestra. f : Factor de corrección de oxidación 1,3.

El factor de corrección de oxidación 1,3 fue propuesto por Walkley y Black, debido a que, en promedio determinaron que del 100% del carbón orgánico el 77% es recuperado por este método, $100/77\%=1,3$ ó $0,1 / 0,77=1,3$

El factor estequiométrico 0,003 se obtiene del siguiente cálculo

$$\frac{12 \text{ g C}}{\text{mol}} \times \frac{1 \text{ mol } K_2Cr_2O_7}{6 \text{ moles } FeSO_4 \cdot 7 H_2O} \times \frac{3 \text{ moles C}}{2 \text{ moles } K_2Cr_2O_7} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 0,003$$

El 0,003 también se puede calcular tomando en cuenta los miliequivalentes del carbono dividiendo $\frac{12}{4000} = 0,003$.

La ecuación para el cálculo de la normalidad del $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ es la siguiente:

$$N_{FeSO_4 \cdot 7 H_2O} = \frac{C_{K_2Cr_2O_7} \times V_{K_2Cr_2O_7}}{V_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O}} \quad Ec. 45$$

Donde:

$N_{FeSO_4 \cdot 7 H_2O}$: Normalidad del sulfato ferroso heptahidratado Eq/L.

$C_{K_2Cr_2O_7}$: Concentración del dicromato de potasio Eq/L.

$V_{K_2Cr_2O_7}$: Volumen de dicromato de potasio adicionado (10 mL).

$V_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O}$: Volumen de sulfato ferroso heptahidratado gastado en los blancos.

Nota: En el Anexo 1 se presenta un ejemplo de cálculo de la concentración de carbón orgánico para evitar repeticiones en los cálculos, el ejemplo que se presenta únicamente pertenece a la muestra que corresponde al código 866 de concentración baja (8,77 g/kg), la cual fue analizada por el técnico 1, para las otras dos concentraciones únicamente se mostraran los resultados en las tablas 6 y 7, ya que el procedimiento del cálculo es el mismo para todas las concentraciones.

3.3.4.6. Evaluación de los parámetros de validación.

Los parámetros de validación se evaluaron de acuerdo a la política que establece la Oficina Nacional de Acreditación (ONA, 2012), y para esta evaluación se ensayaron tres muestras en concentraciones diferentes.

Identificación de los parámetros para validar

Exactitud	SI
Precisión	SI
Especificidad	NO
Límite de Detección	SI
Límite de Cuantificación	SI
Linealidad	SI
Robustez	NO
Incertidumbre	SI

Cabe mencionar que de los tres casos mencionados en la tabla 1, el ensayo a validar se trata de un método normalizado, debido a que comprueba que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente determinando criterios de aceptación y de decisión establecidos, con el fin de demostrar que el método analítico es adecuado para determinar carbón orgánico en muestras de suelos.

3.3.4.6.1. Exactitud.

Para la evaluación de la exactitud se sometieron a análisis las tres muestras de concentraciones baja, media y alta respectivamente, en la tabla 4, se mencionan los

códigos y concentraciones de cada una de las muestras. Cada muestra se analizó por réplicas de 12, para la evaluación de este parámetro participaron dos técnicos, 1 y 2 respectivamente.

La exactitud se evaluó mediante la veracidad, la cual a la vez se calculó por medio del sesgo, para evaluar el sesgo se utilizó la siguiente ecuación:

$$S = \bar{x} - \mu \quad \text{Ec. 46}$$

Donde:

S= Sesgo

\bar{x} = Valor promedio de las lecturas obtenidas.

μ = Valor de referencia, valor del material de referencia o valor esperado.

Para evaluar si la diferencia entre la media de los resultados (\bar{X}) y el valor de referencia (μ) es significativa, se calcula el estadístico “t” por medio de la Ec. 1 a un 95% de confianza. El valor de referencia de “t-crítico” se obtuvo de las tablas estadísticas de t -student, con un grado de confianza del 95% (Anexo 7),

Además, la exactitud del método se evaluará en términos de la recuperación, por ende, para el cálculo de porcentaje de recobro se dividió la concentración experimental entre la concentración esperada. La ONA (2012), recomienda que se debe evaluar en al menos tres réplicas de tres niveles de concentración. Para este caso la evaluación del porcentaje de recobro se aplicó en las tres muestras, tanto nivel bajo, medio y alto respectivamente como lo establece ONA, con la diferencia que se tomó de cada muestra 12 réplicas, para posteriormente calcular el valor medio, la ecuación que se usó es la siguiente:

$$\%R = \frac{C. \text{org } g/kg \text{ experimental}}{C. \text{org } g/kg \text{ esperado}} \times 100 \quad \text{Ec. 47}$$

La recuperación se considerará adecuada si se obtienen valores entre 90 y 110% y el coeficiente de variación del porcentaje de recobro se determinó por medio de la siguiente ecuación:

$$CV_{x/y} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad Ec. 48$$

Dónde:

$CV_{x/y}$ = Coeficiente de variación.

s = Desviación estándar.

\bar{x} = Promedio de los datos.

Los criterios de decisión para la exactitud son los siguientes: Si $t_{exp} < t_{tab}$, el método analítico desarrollado tiene la exactitud requerida, y ambos valores no son estadísticamente diferentes. Mientras que, si $t_{exp} > t_{tab}$ significa que el método analítico no es exacto y que existe un error sistemático por defecto o por exceso (ONA, 2012. p. 28).

En el capítulo IV de análisis y discusión de los resultados, se presentan los resultados en la tabla 9 y en el anexo 2 se muestra el cálculo del sesgo y del contraste de t - student, para cada uno de los niveles de concentración.

3.3.4.6.2. *Precisión.*

La precisión del método analítico se evaluó en términos de repetibilidad reproducibilidad y la precisión intermedia. Para evaluar la repetibilidad (Interdía) las muestras en los niveles de concentración bajo, medio y alto respectivamente fueron analizadas por sextuplicadas en diferentes condiciones operativas, diferentes días, diferentes soluciones (datos en la tabla 10).

Para evaluar la repetibilidad (intradía), se analizaron las tres muestras del material de referencia (WEPAL) a diferentes concentraciones; nivel bajo, medio y alto

respectivamente por sextuplicado, las cuales fueron medidas en las mismas condiciones operativas, es decir un mismo analista, las mismas soluciones reactivas, en un mismo laboratorio y el mismo día (resultados en la tabla 11).

Ahora para evaluar la reproducibilidad, los técnicos tanto 1 como 2 analizan a la vez el mismo nivel de concentración, con el fin de determinar la diferencia entre los datos de ambos técnicos, a dichos datos se les aplica el contraste t-student para comprobar si estadísticamente difieren los datos del técnico 1 con respecto al técnico 2 (resultados tablas 12). Según Harris (2007) la ecuación para calcular el contraste t – student de datos apareados es la siguiente:

$$t_{calculado} = \frac{\bar{d}}{s_d} \times \sqrt{n} \quad Ec. 49$$

Donde:

$$s_d = \sqrt{\frac{(d_i - \bar{d})^2}{n - 1}}$$

\bar{d} = Diferencia media entre los técnicos 1 y 2.

n = es el número de pares de datos.

Y para evaluar la precisión intermedia los técnicos realizaron las mediciones en días diferentes, el técnico 1 en un día midió 6 réplica de cada una de los niveles y en otro día el técnico 2 midió de igual manera 6 réplicas de cada uno de los niveles (total neto de dos días $n = 12$, resultados en la tabla 13). El criterio de decisión para la precisión según ONA (2012), el coeficiente de variación de los resultados, tanto para los datos correspondientes a la repetibilidad como para la precisión intermedia no debe ser mayor de 5%.

Para el análisis de varianza en la evaluación de la repetibilidad Intralaboratorio en la determinación de carbono orgánico (Reproducibilidad) se aplica el criterio de Fisher de dos vías , en cuyo caso el valor experimental de F debe ser menor que el valor crítico, demostrando que las varianzas no se diferencian significativamente y seguidamente se

implementa un ensayo de t-student, para evaluar si existe un sesgo significativo entre los analistas, en donde el valor experimental de t debe ser menor que el valor t-tabulado.

Ambos contrastes se evaluaron con un grado de confianza del 95%, el valor de referencia de “F-crítico” se obtuvo de la tabla estadística de Fisher (contraste de dos colas), (ver tabla en anexo 8) y el valor “t-tabulado” se obtuvo de la tabla estadística de t-student (tabla en anexo 7). Según los criterios de decisión de la Oficina Nacional de Acreditación para el caso del contraste Fisher:

Si $F_{\text{calculado}} < F_{\text{Crítico}}$: Varianzas no se diferencian significativamente.

Si $F_{\text{calculado}} > F_{\text{Crítico}}$: Varianzas se diferencian significativamente.

Según los criterios de decisión de la Oficina Nacional de Acreditación el criterio de decisión es el siguiente para el caso del contraste t-student:

Si $t_{\text{calculado}} < t_{\text{Crítico}}$: Las medias de los dos conjuntos de resultados no se diferencian significativamente.

Si $t_{\text{calculado}} > t_{\text{Crítico}}$: Las medias de los dos conjuntos de resultados se diferencian significativamente.

Ver los cálculos de la precisión en el anexo 3.

3.3.4.6.3. *Linealidad.*

La evaluación práctica de este parámetro consistió en tomar por quintuplicado las muestras del material de referencia (WEPAL de la matriz suelo) a los tres niveles de concentraciones diferentes: bajo, medio y alto (ver los resultados en tabla 14 y en el anexo 4 los cálculos).

Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados, para este parámetro de validación se calcula el valor de la ordenada en el origen (a) con la Ec. 9, el valor de la pendiente (b) con la Ec. 10 y el coeficiente de determinación (r^2) con la Ec.12.

Luego de realizar los análisis de los tres niveles de concentración del material de referencia se aplicó el contraste estadístico de t-student a un grado de confianza del 95% para la correlación (r), pendiente (b) y el intercepto (a), con la finalidad de demostrar si el método es lineal o no o verificar su validez estadística.

Criterios de aceptación para la linealidad:

El $r^2 \geq 0,995$ (El criterio de aceptación definido por el laboratorio dependerá del tipo de análisis y del nivel de concentración del analito en la matriz.), b debe incluir la unidad y a debe incluir el cero.

Criterios de decisión sobre la linealidad:

$t_{reg} >> t_{tab}$. Correlación significativa.

$t_{int} < t_{tab}$. Intercepto significativamente diferente de cero.

$t_{pend} > t_{tab}$. Pendiente significativamente diferente de cero.

Cálculos estadísticos en la evaluación de la linealidad:

Para determinar el estadístico de prueba para el coeficiente de correlación (r) se usa la Ec. 13, donde tiene como criterios de decisión lo siguiente:

Si $t_{calculado} > t_{Crítico}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.

Si $t_{Calculado} < t_{Crítico}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa.

Para el cálculo del estadístico de prueba de la pendiente (b) se usa la Ec. 14, donde se tienen en cuenta los siguientes criterios de decisión:

Si $t_{calculado} > t_{Crítico}$: La pendiente se diferencia significativamente de cero.

Si $t_{calculado} < t_{Crítico}$: La pendiente no se diferencia significativamente de cero.

Y para el cálculo del estadístico de prueba del intercepto (a) se utiliza la Ec. 15, teniendo como criterios de decisión el siguiente enunciado:

Si $t_{\text{calculado}} < t_{\text{Crítico}}$: El intercepto no se diferencia significativamente de cero.

Si $t_{\text{calculado}} > t_{\text{Crítico}}$: El intercepto se diferencia significativamente de cero.

Nota: Todos los criterios de decisión y de aceptación se tomaron según la política de validación de la Oficina Nacional de Acreditación, ONA (2012). Ver resultados de la linealidad en la tabla 16 y los cálculos en el anexo 4.

3.3.4.6.4. *Límite de Detección y de Cuantificación.*

Ambos límites se estimaron para el método analítico, mediante el valor de la ordenada en el origen (a), donde a es obtenido por medio del método de los mínimos cuadrados. El límite de detección (LOD) es calculado con la Ec. 20 y el límite de cuantificación (LOQ) con la Ec. 22. Los resultados se presentan en la tabla 17 y los cálculos en el anexo 5.

3.3.4.6.5. *Incertidumbre.*

Para calcular la incertidumbre expandida asociada al resultado final de la concentración de carbono orgánico, se debe tener en cuenta todas aquellas variables o magnitudes de entrada que son fuente de incertidumbre, cabe destacar que la estimación de la incertidumbre de medición se realizó siguiendo los pasos que establece la *Guía para la expresión de la incertidumbre de medida (GUM)*.

La estimación de la incertidumbre de las muestras analizadas, se evaluó en los tres niveles (bajo, medio y alto) de concentración analizadas por cada técnico de laboratorio, técnico 1 y 2 respectivamente, el procedimiento que se aplicó para el cálculo de la incertidumbre es el mismo para los tres niveles analizadas por cada técnico, por ende es importante aclarar que el procedimiento del cálculo de la incertidumbre que se

muestra a detalle en el anexo 6 únicamente pertenece al nivel bajo analizado por el técnico 1 y los niveles de concentración de las muestras WEPAL (MR) en tabla 4.

3.3.4.7. Modelo matemático para la determinación de C.org en Suelo.

Para la estimación de la incertidumbre se parte de un modelo matemático, el cual corresponde a la ecuación que se utiliza para determinar la concentración de carbono orgánico (Ec.44).

En el cálculo de la normalidad del sulfato de hierro se tomó en cuenta y se calculó la incertidumbre de las magnitudes de entradas por las cuales es dependiente la normalidad de dicho reactivo. Las magnitudes son: concentración de dicromato de potasio ($C_{K_2Cr_2O_7}$), volumen del dicromato de potasio ($V_{K_2Cr_2O_7}$) y el volumen del sulfato ferroso heptahidratado ($V_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O}$).

$$N_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O} = \frac{C_{K_2Cr_2O_7} \times V_{K_2Cr_2O_7}}{V_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O}} \quad \text{Ec. 50}$$

Dentro del cálculo de la normalidad del sulfato de hierro existe otra variable que se considera midiendo y es la concentración del dicromato de potasio ($C_{K_2Cr_2O_7}$), la cual es dependiente de las siguientes magnitudes de entradas: masa (m), pureza (P), volumen (V) y fórmula molecular del dicromato de potasio (FM) respectivamente.

$$C_{K_2Cr_2O_7} = \frac{m \times P}{V \times FM/6} \quad \text{Ec. 51}$$

Sustituyendo símbolos en las ecuaciones 44, 50 y 51 respectivamente, quedan expresadas de la siguiente manera:

$$C.orgg/kg = \frac{[V_b - V_m] \times C_2 \times 0,003 \times 1,3}{m_m} \times 1000 \quad \text{Ec. 52}$$

$$C_1 = \frac{m \times P}{V_3 \times FM/6} \quad \text{Ec. 53}$$

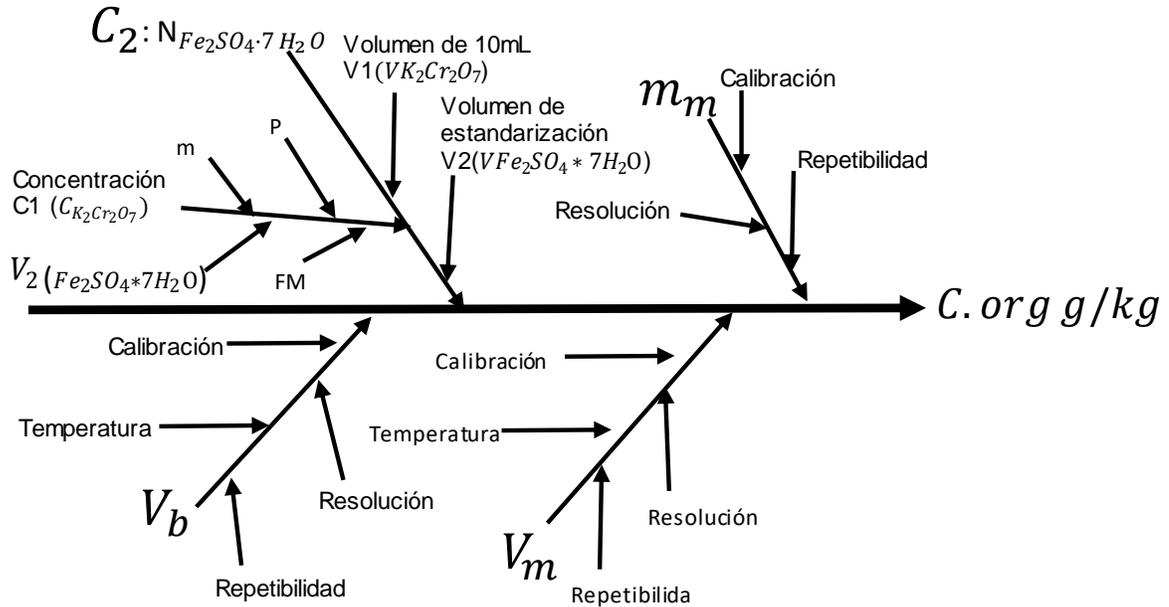
$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2} \quad \text{Ec. 54}$$

Tabla 6. Fuentes de incertidumbre en la determinación de C. Org en suelo.

Magnitudes de entradas	Descripción	Símbolo	Unidades de medidas
C. Orgánico	De carbón orgánico en la muestra	C. Org	g/Kg
V_{blanco}	Volumen del sulfato ferroso gastado en el blanco	V_b	mL
V_{muestra}	Volumen del sulfato ferroso gastado en la muestra	V_m	mL
$N_{Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O}$	[estandarizada de sulfato ferroso]	C_2	Eq/L
$C_{K_2Cr_2O_7}$	[Dicromato de potasio]	C_1	Eq/L
$V_{K_2Cr_2O_7}$	Volumen de dicromato de potasio adicionado a la muestra	V_1	mL
$V_{FeSO_4 \cdot 7 H_2O}$	Volumen de sulfato ferroso gastado en la titulación del blanco	V_2	mL
M	masa del reactivo dicromato de potasio	m	g
P	Pureza del reactivo dicromato de potasio	p	%
V	Volumen de preparación de la solución de dicromato de potasio	V_3	mL
F	Formula molecular del dicromato de potasio	FM	u.m.a
M muestra	Masa de la muestra	m_m	g
F	Factor de corrección de oxidación	f	1,3
0,003	Carbono oxidado según w&b	-	-

En el siguiente diagrama se muestran las variables mesurables.

Diagrama 1. Causa y efecto de las variables (diagrama de Ishikawa)



En este diagrama de Ishikawa se muestran cada una de las magnitudes de entradas; V_b : volumen del blanco, V_m : volumen de la muestra, m_m : masa de la muestra y C_2 que corresponde a la concentración del sulfato de hierro heptahidratado, cada una de estas magnitudes fueron tomadas directamente del modelo matemático Ec 52. Es importante aclarar, para diferencia una concentración de la otra, la concentración del $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ se simbolizó como C_2 .

3.3.4.8. Ley de propagación de incertidumbre.

La combinación de las magnitudes de entradas de las siguientes ecuaciones tanto la 55, 56 y 57 respectivamente, se conoce como Ley de propagación de incertidumbre, la cual consiste en un procedimiento para estimar la incertidumbre del mesurando a partir de las incertidumbres de las variables de entradas.

Ley de propagación de incertidumbre a partir de la ecuación 52

$$u^2(C.O) = \left[\frac{\partial C.O}{\partial V_b} \times u(V_b) \right]^2 + \left[\frac{\partial C.O}{\partial V_m} \times u(V_m) \right]^2 + \left[\frac{\partial C.O}{\partial C_2} \times u(C_2) \right]^2 + \left[\frac{\partial C.O}{\partial m_m} \times u(m_m) \right]^2 \quad \text{Ec.55}$$

Ley de propagación de incertidumbre a partir de la ecuación 53

$$u^2(C_1) = \left[\frac{\partial C_1}{\partial m} \times u(m) \right]^2 + \left[\frac{\partial C_1}{\partial P} \times u(P) \right]^2 + \left[\frac{\partial C_1}{\partial V_3} \times u(V_3) \right]^2 + \left[\frac{\partial C_1}{\partial FM} \times u(FM) \right]^2 \quad \text{Ec. 56}$$

Ley de propagación de incertidumbre a partir de la ecuación 54

$$u^2(C_2) = \left[\frac{\partial C_2}{\partial C_1} \times u(C_1) \right]^2 + \left[\frac{\partial C_2}{\partial V_1} \times u(V_1) \right]^2 + \left[\frac{\partial C_2}{\partial V_2} \times u(V_2) \right]^2 \quad \text{Ec. 57}$$

Para llevar a una sola unidad de medida tanto las variables de la ecuación 55, 56 y 57 respectivamente se deben utilizar coeficientes de sensibilidad, cabe mencionar que los coeficientes de sensibilidad son un elemento importante, utilizado para convertir las unidades de las incertidumbres estándar de las fuentes de incertidumbre a las unidades de la magnitud de salida. (Rodríguez, 2019).

3.3.4.9. Estimación de la incertidumbre de la concentración del Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 1N.

3.3.4.9.1. Componentes de la masa del $K_2Cr_2O_7$.

Para el pesaje del reactivo se utiliza la balanza analítica marca KERN, serie WB15AR0244, modelo ABS-220-4N, con rango de medida de 0 a 220 g y con resolución de 0,0001g. (Certificado de calibración en anexo10)

Para la componente masa del reactivo se toman en cuenta los siguientes subcomponentes: calibración, repetibilidad y resolución

➤ Calibración

El certificado de calibración de la balanza analítica declara una incertidumbre de calibración expandida media de 0,0003 g, esta debe ser dividida entre 2 para convertirla a una incertidumbre estándar. Según Alemán y Guido (2015), “esta contribución tiene que ser tomada en cuenta dos veces, una vez por la tara y la otra por la masa bruta, porque cada una es una observación independiente” (p.49). La ecuación para el cálculo es la siguiente:

$$u(\text{Cal}) = \sqrt{2 \times (u(E))^2} \quad \text{Ec. 58}$$

➤ Repetibilidad

El certificado de calibración de la balanza analítica declara una repetibilidad de 0,0000g, este valor debe ser dividido entre 2 para convertirla a una incertidumbre estándar. Al igual que la contribución por calibración, la contribución por repetibilidad tiene que ser estimada dos veces, por lo tanto, para el cálculo se utiliza la siguiente ecuación:

$$u(\text{Rep}) = \sqrt{2 \times (u(E))^2} \quad \text{Ec. 59}$$

➤ Resolución

El certificado de calibración de la balanza analítica declara una resolución de 0,0001 g. Para convertir el valor a incertidumbre estándar primeramente se utiliza la Ec. 27, considerando una incertidumbre estándar tipo b, de distribución rectangular asimétrica. Igualmente, que la calibración y la repetibilidad, la resolución se estima dos veces usando la siguiente ecuación.

$$u(\text{Res}) = \sqrt{2 \times (u(E))^2} \quad \text{Ec. 60}$$

Con la finalidad de calcular la incertidumbre estándar combinada correspondiente a la masa del dicromato de potasio se aplica la Ec. 37 reescrita de la siguiente manera:

$$u_c(m) = \sqrt{(u(\text{Cal}))^2 + (u(\text{Rep}))^2 + (u(\text{Res}))^2} \quad \text{Ec. 60}$$

3.3.4.9.2. Componentes de la pureza del $K_2Cr_2O_7$.

Para calcular la incertidumbre expandida de la pureza del dicromato de potasio, se utiliza la pureza del reactivo la cual es declarada por el fabricante, esta es de 99,9%.

3.3.4.9.3. Componentes del volumen de aforo del $K_2Cr_2O_7$.

Para aforar la solución de $K_2Cr_2O_7$ se utiliza un matraz volumétrico de 250 mL, marca: Pyrex, con cód. Ident: M-001 (Certificado de calibración en anexo 12). La componente volumen toma en cuenta los subcomponentes: calibración, tolerancia y temperatura.

➤ Calibración

El certificado de calibración declara una incertidumbre calibración expandida de 0,023 mL, este valor únicamente es dividido entre 2 para conocer la incertidumbre estándar.

➤ Tolerancia

El fabricante declara una incertidumbre de tolerancia para el matraz volumétrico de 0,12 la cual es convertida a incertidumbre estándar con la Ec. 26, asumiendo una incertidumbre tipo B de distribución rectangular simétrica.

➤ Temperatura

De acuerdo con el certificado de calibración, el matraz volumétrico de fondo plano, marca Pyrex, con capacidad nominal de 250 mL, con cód. Indent: M-001 fue calibrado a una temperatura de 19,9°C, mientras que la temperatura del laboratorio varía en el margen de $\pm 2^\circ\text{C}$. Para estimar la incertidumbre por este efecto de variación de temperatura, se debe conocer el intervalo de temperatura en el que varía la medición y el coeficiente de expansión del volumen.

Como se mencionó anteriormente, la temperatura reportada en las especificaciones brindadas por el certificado del matraz volumétrico es de 19,9°C y la temperatura en la cual se trabaja en el laboratorio es de 21,8°C. El coeficiente de la expansión del volumen del agua es de $2,11 \times 10^{-04} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$. La incertidumbre debido a la diferencia de temperatura entre la temperatura de especificación del certificado de calibración y la de trabajo, se calcula con la siguiente ecuación:

$$u(T_{em}) = \frac{V(T_{Trabajo} - T_{Balón}) \times 2,11 \times 10^{-04} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 61}$$

Con el fin de calcular la incertidumbre combinada correspondiente al volumen de aforo de 250 mL, se utiliza la Ec. 37, reescrita de la siguiente manera:

$$u_c(V \text{ aforo}) = \sqrt{(u(Cal))^2 + (u(tol))^2 + (u(T^\circ))^2} \quad \text{Ec. 62}$$

3.3.4.9.4. *Componente de la formula molecular del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.*

Para determinar la incertidumbre estándar combinada de la masa molecular del dicromato de potasio se usa la Ec. 37, donde se toma la masa de los elementos que forman la molécula con sus respectivas incertidumbres, tanto la masa como la incertidumbre se multiplican por el número de átomos de cada elemento (la masa de los

elementos que forman la molécula del $K_2Cr_2O_7$ con sus respectivos valores de incertidumbre en el anexo 9) La incertidumbre estándar se estima como una incertidumbre tipo B de distribución rectangular simétrica y es calcula con la Ec. 26.

Con el fin de calcular la incertidumbre combinada correspondiente a la fórmula molecular del dicromato de potasio, se utiliza la Ec. 37, reescrita de la siguiente manera:

$$u_c(FM) = \sqrt{(u K)^2 + (u Cr)^2 + (u O)^2} \quad Ec. 63$$

3.3.4.9.5. Coeficiente de sensibilidad de la incertidumbre de la concentración del Dicromato de potasio.

Las ecuaciones de los coeficientes de sensibilidad se obtuvieron de la derivada parcial de Ecuación 56 ($C_1 = [K_2Cr_2O_7]$).

- Coeficiente de sensibilidad para la masa de $K_2Cr_2O_7$ ($m_{K_2Cr_2O_7}$)

$$\frac{\partial C_1}{\partial m} = \frac{P}{V_3 \times FM} \quad Ec. 64$$

- Coeficiente de sensibilidad para la pureza de $K_2Cr_2O_7$ ($P_{K_2Cr_2O_7}$)

$$\frac{\partial C_1}{\partial P} = \frac{m}{V_3 \times FM} \quad Ec. 65$$

- Coeficiente de sensibilidad para el Volumen de preparación de la solución de $K_2Cr_2O_7$ (V_3)

$$\frac{\partial C_1}{\partial V_3} = -\frac{m \times P}{(V_3)^2 \times FM} \quad Ec. 66$$

- Coeficiente de sensibilidad para el $K_2Cr_2O_7$ (FM)

$$\frac{\partial C_1}{\partial FM} = -\frac{m \times P}{V_3 \times (FM)^2} \quad Ec. 67$$

3.3.4.10. Estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada del sulfato de hierro 0,5 N.

- **Componente de dicromato de potasio (C_1).**
- **Componente del volumen de dicromato de potasio (V_1).**
- **Volumen de titulación del blanco (V_2).**

En el anexo 6.2 se muestran todo el cálculo correspondiente a cada uno de los componentes a la concentración estandarizada de Sulfato de hierro.

3.3.4.10.1. Coeficiente de sensibilidad de la incertidumbre de la concentración de Sulfato de hierro.

Las ecuaciones de los coeficientes de sensibilidad se obtuvieron de la derivada parcial de Ecuación 57 ($C_2 = []$ estandarizada de $FeSO_4$)

- Coeficiente de sensibilidad para la $[K_2Cr_2O_7]$ (C_1)

$$\frac{\partial C_2}{\partial C_1} = \frac{V_1}{V_2} \quad Ec. 68$$

- Coeficiente de sensibilidad para el volumen de $K_2Cr_2O_7$ (V_1)

$$\frac{\partial C_2}{\partial V_1} = \frac{C_1}{V_2} \quad Ec. 69$$

- Coeficiente de sensibilidad para el volumen de $FeSO_4$ (V_2)

$$\frac{\partial C_2}{\partial V_2} = - \frac{V_1 \times C_1}{(V_2)^2} \quad Ec. 70$$

Una vez que se ha calculado la incertidumbre tanto del dicromato como de sulfato, se procede a calcular la contribución de incertidumbre del:

- **Volumen del blanco (V_b).**
- **Volumen de la muestra (V_m).**
- **Concentración estandarizada de sulfato de hierro (C_2).**
- **Masa de la muestra (m_m).**
- **Factores de multiplicación.**

Todos estos cálculos se encuentran plasmados en anexos.

3.3.4.10.2. Coeficientes de sensibilidad.

3.3.4.10.2.1. Coeficientes de sensibilidad a partir de la Ecuación 55 ($C.O$).

- Coeficiente de sensibilidad para el volumen del blanco (V_b)

$$\frac{\partial C.O}{\partial V_b} = \frac{C_2}{m_m} \quad Ec. 71$$

- Coeficiente de sensibilidad para el volumen de la muestra (V_m)

$$\frac{\partial C.O}{\partial V_m} = - \frac{C_2}{m_m} \quad Ec. 72$$

- Coeficiente de sensibilidad para la normalidad del N_{FeSO_4} ($C_2 = N_{FeSO_4}$)

$$\frac{\partial C.O}{\partial C_2} = \frac{V_b - V_m}{m_m} \quad \text{Ec. 73}$$

- Coeficiente de sensibilidad para la masa de la muestra (m_m)

$$\frac{\partial C.O}{\partial m_m} = -\frac{V_b - V_m \times C_2}{(m_m)^2} \quad \text{Ec. 74}$$

CAPÍTULO IV

4.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1.1. Resultados del ensayo y cálculo de carbono orgánico.

En la tabla 7 se muestran los resultados de la determinación de carbono orgánico en tres muestras de material de referencia de la matriz suelo, originarias de WEPAL, cada muestra con niveles de concentraciones diferentes: bajo = Cód-WEPAL 866 (8,77g/kg), medio = Cód-WEPAL 860 (21,40g/kg) y alto = Cód-WEPAL 854 (35,40 g/kg), para el análisis cada muestra se analizó por sextuplicado y con ayuda de dos técnicos diferentes.

Tabla 7. Resultados del análisis de las muestras para los niveles de concentraciones baja: Cód.-WEPAL 866 y medio: Cód-WEPAL 860.

Técnico 1				Técnico 2			
Cód	mL gastado	Masa (g)	C.org (g/kg)	Cód	mL gastado	Masa (g)	C.org (g/kg)
866-1	17,7	0,5001	8,79	866-1	17,9	0,5009	8,68
866-2	17,8	0,5000	8,40	866-2	17,9	0,5005	8,69
866-3	17,7	0,5001	8,79	866-3	1,7	0,5003	9,47
866-4	17,7	0,5002	8,78	866-4	17,9	0,5004	8,69
866-5	17,7	0,5000	8,79	866-5	17,7	0,5004	9,47
866-6	17,6	0,5000	9,18	866-6	17,8	0,5003	9,08
860-1	14,4	0,5006	21,65	860-1	14,5	0,5005	21,83
860-2	14,5	0,5002	21,28	860-2	14,5	0,5002	21,84
860-3	14,4	0,5000	21,68	860-3	14,7	0,5000	21,07
860-4	14,5	0,5007	21,26	860-4	14,6	0,5005	21,44
860-5	14,5	0,5003	21,27	860-5	14,5	0,5003	21,84
860-6	14,5	0,5001	21,28	860-6	14,5	0,5001	21,84
Blanco-1	19,9			Blanco-1	20,3		
Blanco-2	20			Blanco-2	20,0		
Promedio blanco	19,95			Promedio blanco	20,15		
g $K_2Cr_2O_7$	12,2565			g $K_2Cr_2O_7$	12,2571		

$g Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	34,7513	$g Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	34,7512
mL $K_2Cr_2O_7$	10	mL $K_2Cr_2O_7$	10
FM $K_2Cr_2O_7$	294,1820	FM $K_2Cr_2O_7$	294,1820
N $K_2Cr_2O_7$	0,9989	N $K_2Cr_2O_7$	0,9990
P $K_2Cr_2O_7$	0,9990	P $K_2Cr_2O_7$	0,9990
N $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	0,5007	N $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	0,4958

Nota: Cada técnico preparó sus propias soluciones a utilizar, por otro lado, la solución preparada de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ en 250 mL únicamente se ajustó para el lote de muestra 866 y 860, por ende, para titular la muestra 854 se tuvo que preparar nuevamente otra solución de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, por el cambio de solución la muestra se trata como un nuevo lote, lo que implicó preparar otra solución de $K_2Cr_2O_7$, además se montaron dos nuevos blancos para estandarizar la nueva solución de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. A manera de ejemplo en el anexo 1 se muestra el cálculo de la concentración de carbono orgánico, cálculo que corresponde a la muestra de concentración nivel bajo del técnico 1.

En la tabla 8 se presentan los resultados del resto del ensayo de la muestra nivel alto:

Tabla 8. *Resultados del análisis de la muestra de Nivel de concentración: alto=Cód.- WEPAL 854.*

Cód	Técnico 1			Cód	Técnico 2		
	mL gastado	Masa (g)	C.org (g/kg)		mL gastado	Masa (g)	C.org (g/kg)
854-1	10,5	0,5001	36,17	854-1	11	0,5001	35,16
854-2	10,7	0,5000	35,38	854-2	11	0,5000	35,17
854-3	10,5	0,5001	36,17	854-3	10,8	0,5000	35,95
854-4	10,7	0,5002	35,37	854-4	10,8	0,5002	35,93
854-5	10,6	0,5000	35,78	854-5	10,9	0,5000	35,56

854-6	10,8	0,5000	34,98	854-6	10,8	0,5005	35,91
Blanco-1	19,9			Blanco-1	20,2		
Blanco-2	19,3			Blanco-2	19,9		
Promedio				Promedio			
Blanco	19,6			Blanco	20,05		
g $K_2Cr_2O_7$	12,2565			g $K_2Cr_2O_7$	12,2571		
g $Fe_2SO_4 \cdot$				g $Fe_2SO_4 \cdot$			
7 H_2O	34,7511			7 H_2O	34,7512		
mL $K_2Cr_2O_7$	10			mL $K_2Cr_2O_7$	10		
FM $K_2Cr_2O_7$	294,1820			FM $K_2Cr_2O_7$	294,1820		
N $K_2Cr_2O_7$	0,9989			N $K_2Cr_2O_7$	0,9990		
P $K_2Cr_2O_7$	0,9990			P $K_2Cr_2O_7$	0,9990		
N $Fe_2SO_4 \cdot$				N $Fe_2SO_4 \cdot$			
7 H_2O	0,5096			7 H_2O	0,4982		

4.1.2. Determinación de los parámetros de validación

4.1.2.1. Exactitud.

Tabla 9. Validación de la Exactitud en determinación de Carbono orgánico, por comparación de concentración de un estándar con el valor esperado de analito en la matriz de muestra, nivel bajo, medio y alto.

Técnico de laboratorio 1									
No. Ensayos	Nivel Bajo			Nivel Medio			Nivel Alto		
	C.org g/kg esperado	C.org g/kg experimental	Recuperación %	C.org g/kg esperado	C.org g/kg experimental	Recuperación, %	C.org g/kg esperado	C.org g/kg experimental	Recuperación%
1	8,77	8,79	100,18	21,40	21,65	101,17	35,40	36,17	102,17
2	8,77	8,40	95,75	21,40	21,28	99,42	35,40	35,38	99,94
3	8,77	8,79	100,18	21,40	21,68	101,29	35,40	36,17	102,17
4	8,77	8,78	100,16	21,40	21,26	99,32	35,40	35,37	99,90
5	8,77	8,79	100,20	21,40	21,27	99,40	35,40	35,78	101,07

6	8,77	9,18	104,65	21,40	21,28	99,44	35,40	34,98	98.82
Datos				Datos			Datos		
Prom	8,77	8,78	100,19	21,40	2,403	100,01	35,40	35,64	100,68
Desv et	0,00	0,25	2,82	0,00	0,20	0,95	0,00	0,48	1,36
t-Calc	0,09	-	-	0,03	-	-	1,22	-	-
t-tabu	2,57	-	-	2,57	-	-	2,57	-	-

Para calcular la desviación estándar en los tres niveles de concentración se utiliza la EC.2 y para el cálculo del contraste t-student para los tres niveles de concentración se utiliza la Ec.1.

Interpretando los resultados del cálculo de t - student en base en los criterios de decisión de la ONA (2012) para el caso de la exactitud, en los tres niveles de concentración los t calculados son menores que los t-tabulados, esto indica que el método analítico desarrollado es exacto, y ambos valores tanto el experimental como el esperado no son estadísticamente diferentes, por ende, no hay evidencia de errores. Vea cálculo del contraste t-student para la exactitud en el anexo 2.

La recuperación se considera adecuada ya que se obtuvo valores de recuperación entre 90 y 110%, en cuanto al coeficiente de variación del porcentaje de recobro se determinó que en los tres niveles el coeficiente de variación del porcentaje de recobro es < 5%, cumpliendo con el criterio de decisión establecido por la ONA. Vea cálculo del CV del porcentaje de recobro en el anexo 2.

4.1.2.2. Precisión

Tabla 10. Validación de la Precisión de C.org. Repetibilidad (Interdía).

No. Ensayos	Repetibilidad (Interdía) Técnico 1			Repetibilidad (Interdía) Técnico 1		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	8,79	21,65	36,17	8,74	22,71	34,36
2	8,40	21,28	35,38	8,35	22,32	34,75
3	8,79	21,68	36,17	8,73	22,70	34,75
4	8,78	21,26	35,37	8,74	22,71	34,34
5	8,79	21,27	35,78	8,35	22,71	33,96
6	9,18	21,28	34,98	8,74	22,71	35,13
Media	8,79	21,40	35,64	8,61	22,64	34,55
S	0,25	0,20	0,48	0,20	0,16	0,41
C.V., %	2,84	0,93	1,34	2,32	0,70	1,18

Los resultados de la tabla 10 que corresponde a la Precisión de Repetibilidad (Interdía), se analizan con base a los criterios de decisión de la Oficina Nacional de Acreditación (ONA), la cual establece que el coeficiente de variación de los resultados, debe ser mayor de 5%, si observamos los resultados de coeficiente de variación en todos los casos, los valores son menores al 5%, por ende se concluye que el método por repetibilidad intradía es preciso en las mismas condiciones operativas (mismos analista en el mismo laboratorio).

Tabla 11. Validación de la precisión de carbono orgánico Repetibilidad (Intradía).

No. Ensayos	Técnico 2		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	8,68	21,83	35,16
2	8,69	21,84	35,17
3	9,47	21,07	35,95
4	8,69	21,44	35,93
5	9,47	21,84	35,56
6	9,08	21,84	35,91
Media	9,01	21,64	35,61
S	0,38	0,32	0,38
C.V %	4,21	1,47	1,06

Para evaluar los datos de la tabla 11, precisión por repetibilidad (intradía), de igual manera se aplica el criterio de la ONA del coeficiente de variación (<5%), podemos observar que los coeficientes de variación son menores al 5%, por lo tanto, se concluye que el método por repetibilidad intradía es preciso.

Tabla 12. Repetibilidad Intralaboratorio en la determinación de C.org. (Reproducibilidad).

No. Ensayos	Muestra: Número 1, Nivel Bajo			Muestra: Número 2, Nivel Medio			Muestra: Número 3, Nivel Alto		
	Técnico	Técnico	Diferencia	Técnico	Técnico	Diferencia	Técnico	Técnico	Diferencia
	1	2		1	2		1	2	
1	8,79	8,68	0,10	21,65	21,83	0,18	36,17	35,16	1,00
2	8,40	8,69	0,30	21,28	21,84	0,56	35,38	35,17	0,21

3	8,79	9,47	0,68	21,68	21,07	0,60	36,17	35,95	0,22
4	8,78	8,69	0,09	21,26	21,44	0,18	35,37	35,93	0,57
5	8,79	9,47	0,68	21,27	21,84	0,56	35,78	35,56	0,22
6	9,18	9,08	0,10	21,28	21,84	0,56	34,98	35,91	0,93
Media	8,79	9,01	0,23	21,40	21,64	0,24	35,64	35,61	0,03
S	0,25	0,38	0,29	0,20	0,32	0,20	0,48	0,38	0,37
C.V., %	2,81	4,24	-	0,95	1,48	-	1,35	1,05	-
T(Calculada)	1,18	F _{calc}	2,31	1,55	F _{calc}	2,56	0,12	F _{calc}	1,59
T(Tabla)	2,23	F _{0,95}	5,05	2,23	F _{0,95}	5,05	2,23	F _{0,95}	5,05

En la tabla 12 podemos observar los cálculos para repetibilidad intralaboratorio en la determinación de carbono orgánico, o también llamada reproducibilidad, debido a que se contrastan los datos analizados en diferentes días tanto del analista 1 y 2, con el fin de determinar la reproducibilidad del método.

En la evaluación del parámetro de reproducibilidad, bajo lo establecido por la ONA como criterio de aceptación, se afirma que no existen diferencias significativas entre las varianzas de ambos analistas, ya que, los $F_{Cal} < F_{tabulado}$ en todos los casos.

Ahora, como se determinó que las varianzas no difieren estadísticamente en los tres niveles de concentración, se aplicó el contraste t - student, usando la Ec. 5, con el fin de descartar si hay diferencia significativa entre las medias de los analistas, en el resultado se obtuvo que los t-calculados son menores que los t-tabulados, indicando que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los analistas en cada nivel de concentración, por ende, no existe la probabilidad de presencia de errores sistemáticos, por lo que se concluye que el método es repetible. Vea el cálculo de dicho contraste en el anexo 3.

Tabla 13. *Precisión intermedia en la determinación de C.org. (Repetibilidad Interdía).*

Día	Ensayo Número	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	1	8,79	21,65	36,17
	2	8,40	21,28	35,38
	3	8,79	21,68	36,17
	4	8,78	21,26	35,37
	5	8,79	21,27	35,78
	6	9,18	21,28	34,98
2	7	8,74	22,71	34,36
	8	8,35	22,32	34,75
	9	8,73	22,70	34,75
	10	8,74	22,71	34,34
	11	8,35	22,71	33,96
	12	8,74	22,71	35,13
	Media	8,70	22,02	35,09
	S	0,23	0,67	0,71
	C.V. %	2,64	3,04	2,02

Para la evaluación de precisión intermedia en la determinación de carbono orgánico (Repetibilidad Interdía), se acataron los criterios de decisión de la política de validación de la ONA (2012), producto del cálculo se determinó que en los tres niveles de concentración tanto bajo, medio y alto respectivamente los coeficientes de variación son menores al 5%.

Los resultados de desviación estándar de las tablas 10, 11, 12 y 13 respectivamente se calcularon con la ecuación Ec.2 y los resultados de coeficiente de variación de las mismas tablas, se calcularon con la Ec.3, y para el caso del cálculo del contraste Fisher de la tabla 12 se efectuó con la Ec.4, dicho calculo véase en el anexo 3.

Con todo el tratamiento estadístico aplicado en la evaluación de la precisión y por criterios de decisión de la Oficina nacional de Acreditación se concluye que el método es preciso.

4.1.2.3. Linealidad

Tabla 14. *Datos para Linealidad.*

Cód	mL	Masa (g)	C.org (g/kg)
866-1	18	0,5000	7,79
866-2	18	0,5000	7,79
866-3	17.9	0,5000	8,18
866-4	17.9	0,5000	8,18
866-5	17.9	0,5000	8,18
860-1	14.5	0,5000	21,41
860-2	14.7	0,5000	20,63
860-3	14.7	0,5000	20,63
860-4	14.7	0,5000	20,63
860-5	14.5	0,5000	21,41
854-1	11	0,5000	35,04
854-2	11.2	0,5000	34,26
854-3	11.2	0,5000	34,26
854-4	11.2	0,5002	34,24
854-5	11	0,5000	35,04
Blanco-1	20		
Blanco-2	20		
Promedio	20		
	$g K_2Cr_2O_7$	12,2600	
	$g Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	34,7624	

mL $K_2Cr_2O_7$	10
FM $K_2Cr_2O_7$	294,1820
N $K_2Cr_2O_7$	0,9982
P $K_2Cr_2O_7$	0,9990
N $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$	0,4991

Tabla 15. Evaluación de la linealidad del sistema en la determinación de C.org.

C.org Conocido., g/kg	Set-1	Set-2	Set-3	Set-4	Set-5	C.org Resultante. g/kg
8,77	7,79	7,79	8,18	8,18	8,18	8,02
21,40	21,41	20,63	20,63	20,63	21,41	20,94
35,40	35,04	34,26	34,26	34,24	35,04	34,57

Tabla 16. Operación para el estudio de la linealidad.

<i>i</i>	<i>x_i</i>	<i>Y</i>	<i>xy</i>	<i>x²</i>	<i>y²</i>	<i>ŷ</i>	<i>(y-ŷ)²</i>
1	8.77	8.028	70.402	76.9129	64.44152852	8.144579383	1.37E-02
2	21.40	20.965	448.654	457.96	439.5375102	20.74253968	4.96E-02
3	35.40	34.601	1224.891	1253.16	1197.26004	34.70702457	1.11E-02
SUMA	65.570000	63.594144	1743.946980	1788.032900	1701.239079	63.594144	0.074399
<i>(x-xmed)²</i>	<i>(y-ŷ)</i>	<i>(xi-xpro)</i>	<i>(xi-xpro)²</i>	<i>(yi-ypro)</i>	<i>(yi-ypro)²</i>	<i>(xi-xpro)(yi-ypro)</i>	
171.26	-0.117	-13.09	171.2608	-13.17	173.4621	172.3579404	
0.21	0.223	-0.46	0.2085	-0.23	0.0542	0.106356745	
183.42	-0.106	13.54	183.4219	13.40	179.6511	181.5266836	
354.891267	0.000000	0.000000	354.891267	0.000000	353.167377	353.990981	

Gráfico 1. Linealidad.

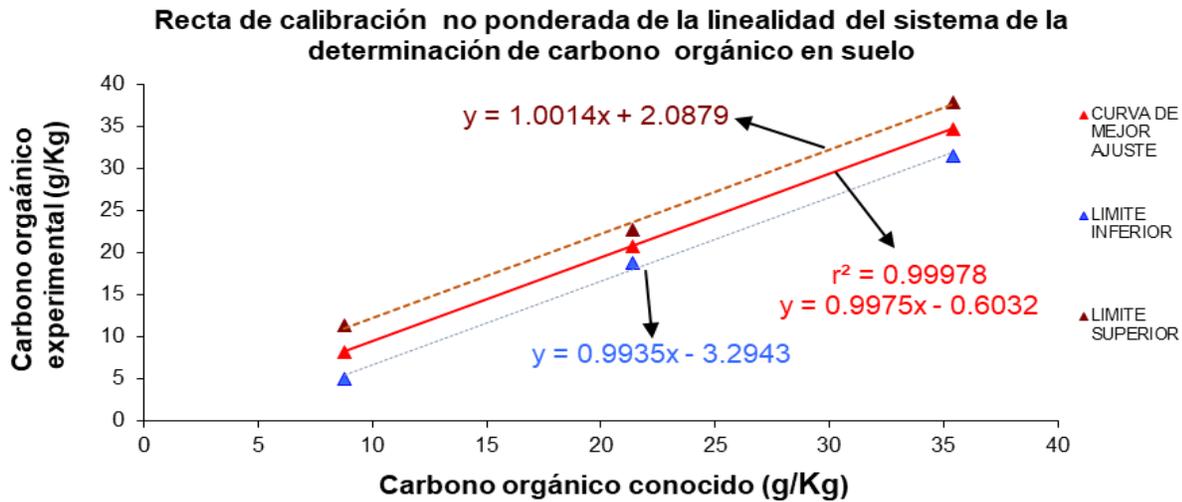


Tabla 17. Resultados del análisis de regresión lineal.

Número de Datos	3
Intercepto (a)	-0,603
Pendiente (b)	0,997
Coefficiente r	0,999894
Coefficiente r ²	0,99978
Var. Residual (Sx/y) ²	0,074
Desviación estándar s(a)	0,3534
Desviación estándar s(b)	0,0144

En base a los contrastes t- student calculados en el anexo 4, tanto del coeficiente de correlación (r), pendiente de la recta (b) e intercepto (a) se obtiene la siguiente interpretación.

Coefficiente de correlación (r):

$$t_{\text{Calculado}} = 67,41$$

$$t_{\text{Tabulado}} = 12,71$$

Debido a que t -calculado es mucho mayor que t -tabulado, la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa, por lo tanto, la linealidad es adecuada.

Pendiente de la recta (b) también llamada coeficiente de regresión:

$$t_{calaculado} = 69,23$$

$$t_{Tabulado} = 12,71$$

t -calculado es mayor que t - tabulado, por ende, la pendiente se diferencia significativamente de cero, esto indica que la pendiente y la linealidad son adecuadas.

Intercepto (a):

$$t_{calaculado} = 1,70$$

$$t_{Tabulado} = 12,71$$

Para este caso el intercepto no se diferencia significativamente de cero, debido a que t -calculado es menor que t -tabulado, y como no hay diferencia significativa de cero, el efecto de fondo de los reactivos sobre la señal analítica no es significativa y la linealidad es válida.

Sabiendo que los tres parámetros cumplen con lo establecido de la ONA se concluye que el método es lineal.

4.1.2.3.1. Límite de detección y cuantificación

Tabla 18. *Resultados del límite de detección y cuantificación.*

Límite de detección	0,22 g/kg
Límite de cuantificación	2,12 g/kg

Según ONA (2012), el límite de Cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable). Basado en los conceptos y en los resultados mostrados en la tabla 10, indica que el método permite detectar hasta 0,22 g/kg de carbono orgánico, pero puede cuantificar desde los 2,12g/Kg de carbono orgánico.

4.1.2.4. Incertidumbre

Para la estimación de la incertidumbre se realizaron los cálculos de manera manual, los cuales se encuentran en el anexo 6. Para sintetizar, optimizar y evitar errores de redondeo en el cálculo se utilizó una hoja de Excel. A continuación, en las siguientes tablas se muestran de manera resumida los resultados de los cálculos de incertidumbre.

Es importante aclarar que el cálculo de incertidumbre se realizó para los datos del técnico 1 en los tres niveles de concentración: baja, media y alta respectivamente.

Cálculo de incertidumbre del técnico 1 para la muestra de concentración nivel bajo (cód 866 = 8,77g/kg).

Tabla 19. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen del blanco.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
Vb										
1.	U Cal	certificado de calibración	N.A	mL	0,023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0115			
	U Res	Declarado por el fabricante	0,1	mL	0,1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0,0408	1,001	4,319E-03	62
	U T°	experimental	N.A	-	3,0311E-03	Evaluación Tipo B	3,0311E-03			
	U Rep	experimental	19,95	mL	0,0707	Evaluación Tipo A	0,05			
						U(vol. blanco) =	0,066			

Nota: N.A.: No aplica.

Tabla 20. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen de la muestra.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
Vm										
2.	U Cal	certificado de calibración	N.A.	mL	0.023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0.0115			
	U Res	declarado por el fabricante	0,1	mL	0.1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0.0408	-1,0013	2.4 8E-03	36
	U T°	experimental	N.A.	-	3.0311E-03	Evaluación Tipo B	3.0311E-03			
	U Rep	experimental	17,7	mL	0.063	Evaluación Tipo A	0.026			
U(Vol. muestra)										
							=	0.0497		

Nota: N.A.: No aplica

Tabla 21. Resultado del cálculo de la estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada del Sulfato de hierro 0.5 N.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
C2										
3	C1	Experimental	0,9989	Eq/L	2,178E-07	Evaluación Tipo A,	1,089E-07	5,013E-01	2,98E-15	9,3E-08
	V1	Experimental	10,0	mL	0,028	Evaluación Tipo B	0,01416	0,05007	5,02E-07	15,6
	V2	Experimental	19,95	ML	0.13	Evaluación Tipo A	0,0656	-0,02510	2,71E-06	84,4
Suma Cuadrática									3,216E-06	
									=	
									uc(C2)	1,793E-03
N										
$Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$										
							0,5007	Uexp(C2)	3,587E-03	
No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
3	C2									
	C2	Experimental	0,5007	Eq/L	0,0036	Evaluación Tipo A	1,793E-03	4,499	6,51E-05	0,94

Tabla 22. Resultados del cálculo de la masa de la masa de la muestra.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
M_m										
4.	U Cal	Certificado de calibración	N.A.	g	0,0002	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0001			
	U Res	Fabricante	0,0001	g	N.A.	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	2,887E-05	-4,505	2,42E-07	3,5E-03
	U Rep	Experimental	0,5001	g	8,1650E-05	Evaluación Tipo A	3,33E-05			
						U(masa muestra)	1,093E-04			
=										

Nota: N.A.: No aplica

Tabla 23. Resultado final la incertidumbre estándar combinada, expandida y el resultado de concentración de carbono orgánico con su respectiva incertidumbre para el nivel de concentración bajo.

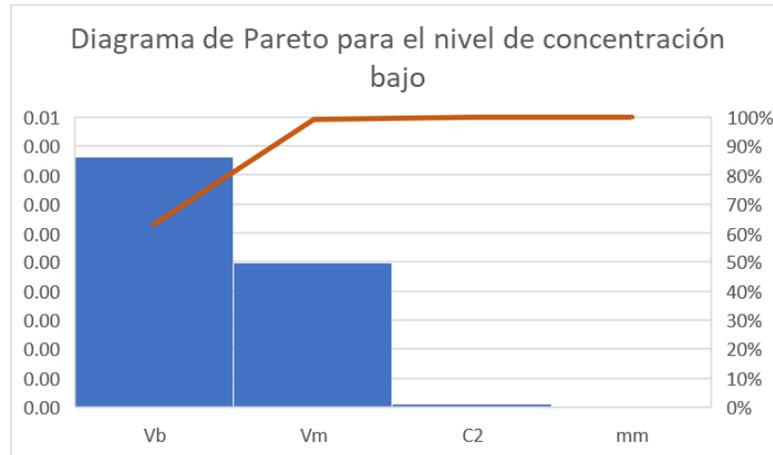
Suma cuadrática de las contribuciones	6,9 E-03
Uc (%C.org)	0,08
Uexp	0,16
C.org (g/kg) = 8,79 ± 0,16	

En el anexo 6 se muestra el cálculo detallado de la incertidumbre.

La magnitud que más contribuye a la entrada de incertidumbre en el análisis de la concentración de carbono orgánico en el suelo es volumen de sulfato de hierro gastado en el blanco (V_b) con una contribución de 62%, seguido del volumen del $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la muestra (V_m) con 36%, posteriormente la concentración estandarizada de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,5N (C_2) con 0,94% de contribución y la magnitud que menos contribuye a incertidumbre en el análisis es la masa de la muestra con $3,5 \times 10^{-03}\%$ de contribución.

Esta información se puede representar de manera gráfica en el siguiente diagrama de Pareto, también llamado curva cerrada o distribución A-B-C, el cual es una gráfica para organizar datos de forma que estos queden en orden descendente, de izquierda a derecha y separados por barras. El diagrama permite mostrar gráficamente el principio de Pareto (pocos vitales, muchos triviales), es decir, que hay muchos problemas sin importancia frente a unos pocos muy importantes. Mediante la gráfica colocamos los "pocos que son vitales" a la izquierda y los "muchos triviales" a la derecha.

Gráfica 2. Diagrama de Pareto.



Cálculo de incertidumbre del técnico 1 para la muestra de concentración nivel medio (cód 860 = 21,40 g/kg).

Tabla 24. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen del blanco.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
Vb										
1.	U Cal	certificado de calibración	N.A	mL	0,023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0115	1,0008	4,31E-03	61,99
	U Res	Declarado por el fabricante	0.100	mL	0,1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0,0408			
	U T°	experimental	N.A	-	3,0311E-03	Evaluación Tipo B	3,0311E-03			
	U Rep	experimental	19,95	mL	0,0707	Evaluación Tipo A	0,0500			
							u(Vol. blanco) =	0,0656		

Tabla 25. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen de la masa.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)	
Vm											
2.	U Cal	certificado de calibración declarado por el fabricante	N.A.	mL	0,023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0115				
	U Res	experimental	0,1	mL	0,1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0,0408				
	U T°	experimental	N.A.	-	3,031E-03	Evaluación Tipo B	3,031E-03	-1,0008	2,26E-03	32,41	
	U Rep	experimental	14,5	mL	0,05	Evaluación Tipo A	0,021				
U(Vol. muestra)							0,047				
=											

Tabla 26. Resultado del cálculo de la estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada del Sulfato de hierro 0,5 N.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
C2										
3	C1	Experimental	0,999	Eq/L	2,178E-07	Evaluación Tipo A,	1,089E-07	0,5013	2.98E-15	9.3E-08
	V1	Experimental	10	mL	0,0283	Evaluación Tipo B	0,01416	0,0501	5.02E-07	15.62
	V2	Experimental	19,95	ML	0,1313	Evaluación Tipo A	0,0656	-0,02510	2.71E-06	84.38
Suma Cuadrática									3.216E-06	
uc(C2)									1.793E-03	
N $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$							0.5007	U_{exp}(C2)	3.587E-03	

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
3	C2									
	C2	Experimental	0,5007	Eq/L	3,587E-03	Evaluación Tipo A	1,793E-03	10,9597	3,86E-04	5,550

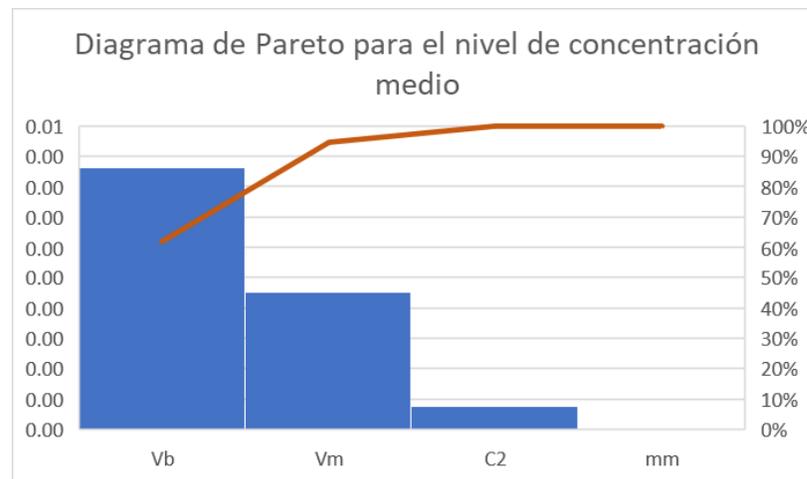
Tabla 27. Resultados del cálculo de la masa de la masa de la muestra.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
M_m										
4.	U Cal	Certificado de calibración	N.A.	g	0,0002	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0.0001			
	U Res	Fabricante	0,0001	g	N.A.	Evaluación Tipo B, Distribución rectangular	2,887E-05	-10.9683	2.86E-06	4.1E-02
	U Rep	Experimental	0,5003	g	2,787E-04	Evaluación Tipo A	1,14E-04			
	u(masa muestra) =						1,542E-04			

Tabla 28. Resultado final la incertidumbre estándar combinada, expandida y el resultado de concentración de carbono orgánico con su respectiva incertidumbre para el nivel de concentración medio.

Suma cuadrática de las contribuciones	7,0E-03
uc(%C.org)	0,08
Uexp	0,16
C.org (g/kg) = 21,40 ± 0,16	

Gráfica 2. Diagrama de Pareto.



Cálculo de incertidumbre del técnico 1 para la muestra de concentración nivel alto (cód 854 = 35.40 g/kg).

Tabla 29. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen del blanco.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
Vb										
1.	U Cal	certificado de calibración	N.A.	mL	0,023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0115	1,0192	9,54E-02	79,53
	U Res	Declarado por el fabricante	0.100	mL	0,1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0,0408			
	U T°	experimental	N.A.	-	3,0311E-03	Evaluación Tipo B	3,0311E-03			
	U Rep	experimental	19,60	mL	0,4243	Evaluación Tipo A	0,3000			
u(Vol. blanco) =							0,303			

Tabla 30. Resultado del cálculo de la incertidumbre del volumen de la masa.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
Vm										
2.	U Cal	certificado de calibración	N.A.	mL	0,023	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0115	-1,0192	4,42E-03	3,68
	U Res	declarado por el fabricante	0,1	mL	0,1	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	0,0408			
	U T°	experimental	N.A.	-	3,031E-03	Evaluación Tipo B	3,031E-03			
	U Rep	experimental	10,6	mL	0,12	Evaluación Tipo A	0,049			
u(Vol. muestra) =							0,065			

Tabla 31. Resultado del cálculo de la estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada del Sulfato de hierro 0.5 N.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)	
C2											
3	C1	Experimental	0,999	Eq/L	2,178E-07	Evaluación Tipo A,	1,089E-07	0,5102	3,09E-15	4.9E-09	
	V1	Experimental	10	mL	0,0283	Evaluación Tipo B	0,01416	0,0501	5,20E-07	0.83	
	V2	Experimental	19,60	ML	0,6060	Evaluación Tipo A	0,3030	-0.02600	6,21E-05	99.17	
								Suma Cuadrática	6,259E-05		
								=			
								uc(C2)	7,912E-03		
						N					
						$Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$	0.5096	$U_{exp}(C2)$	1,582E-02		

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
3	C2									
	C2	Experimental	0,5096	Eq/L	1,582E-02	Evaluación Tipo A	7,912E-03	17,9309	2,01E-02	16,78

Tabla 32. Resultados del cálculo de la masa de la muestra.

No.	Fuente de incertidumbre	Origen de la información	Valor	Unidades	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar	Coefficiente de sensibilidad	Contribución	Contribución (%)
M_m										
4.	U Cal	Certificado de calibración	N.A.	g	0,0002	Evaluación Tipo B, Distribución normal, K=2	0,0001			
	U Res	Fabricante	0,0001	g	N.A.	Evaluación Tipo B Distribución rectangular	2,887E-05	-18.2745	3.99E-06	3.3E-03
	U Rep	Experimental	0,5001	g	8,165E-05	Evaluación Tipo A	3,33E-05			
						U(masa muestra) =	1,093E-04			

Tabla 33. Resultado final la incertidumbre estándar combinada, expandida y el resultado de concentración de carbono orgánico con su respectiva incertidumbre para el nivel de concentración alto.

Suma cuadrática de las contribuciones	1,2E-01
Uc (%C.org)	0,35
Uexp	0,70
C.org (g/kg) = 35,64 ± 0,70	

Gráfica 3. Diagrama de Pareto.

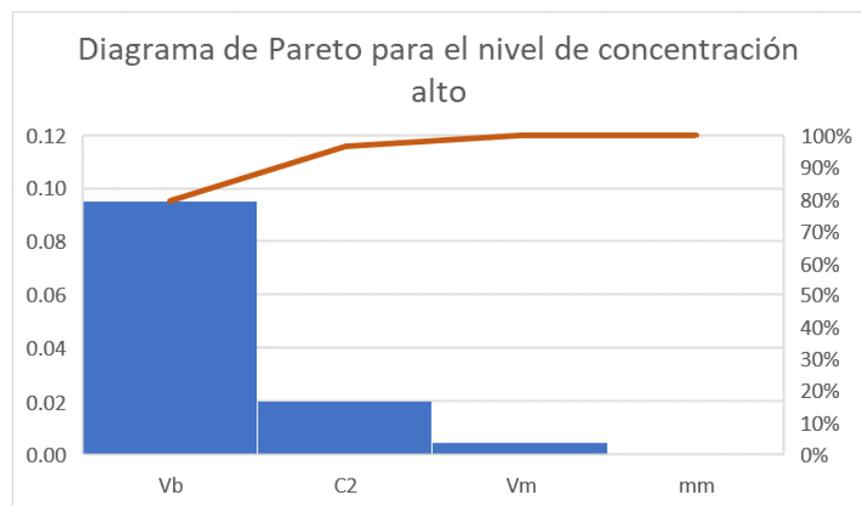


Tabla 34. Resumen de los resultados de la evaluación de los parámetros de desempeño del método volumétrico de Walkley & Black para determinar carbono Orgánico.

Parámetros	Criterios de aceptación	Resultados	Conclusión
Exactitud		100,19% Nivel bajo	
<ul style="list-style-type: none"> Recuperación 	90 – 110%	100,01% Nivel medio	Cumple
		100,68% Nivel alto	Cumple
Precisión Interdia (Repetibilidad)		Técnico 1	
		2,84% muestra 1	
		0,93% muestra 2	
<ul style="list-style-type: none"> Coeficiente de Variación 	No mayor de 5%	1,34% muestra 3	Cumple
		Técnico 1	
		2,32% muestra 1	
		0,70% muestra 2	
		1,18% muestra 3	
Precisión Intradía (Repetibilidad)		Técnico 2	
		4,21% muestra 1	
<ul style="list-style-type: none"> Coeficiente de Variación 	No mayor de 5%	1,47% muestra 2	Cumple
		1,06% muestra 3	

Precisión Interdía		Día 1 y 2	
(Precisión Intermedia)		2,64% Muestra 1	
• Coeficiente de Variación	No mayor de 5%	3,04% Muestra 2	Cumple
		2,02% Muestra 3	
Muestra 1			
$t_{exp} 1,18 < t_{tabla} 2,23$			
$F_{exp} 2,31 < F_{tabla} 5,05$			
Muestra 2			
	$t_{exp} < t_{tabla}$	$t_{exp} 1,55 < t_{tabla} 2,23$	Cumple
Reproducibilidad	$F_{exp} < F_{tabla}$	$F_{exp} 2,56 < F_{tabla} 5,05$	
Muestra 3			
$t_{exp} 0,12 < t_{tabla} 2,23$			
$F_{exp} 1,59 < F_{tabla} 5,05$			
Linealidad del método			
• Coeficiente de Determinación (R^2)	Mínimo 0.995	0,99978	Cumple
• Test Estadístico para la correlación (P = 0,05).	$t_{exp} >> t_{tabla}$	67,41 >> 12,71	Cumple
• Prueba t-student para el coeficiente de regresión	$t_{exp} > t_{tabla}$	69,23 > 12,71	Cumple

- Prueba de t-student

del Intercepto (P =

0,05)

$t_{exp} < t_{tabla}$

$1,70 < 12,71$

Cumple

		Nivel bajo	-
Incertidumbre expandida	De acuerdo a las	$U_{exp} = \pm 0,16$	
	características de la	Nivel medio	
	técnica Analítica	$U_{exp} = \pm 0,16$	
		Nivel alto	
		$U_{exp} = \pm 0,70$	

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES

Esta investigación ha validado el método volumétrico de Walkley y Black para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo mediante la Política para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración de la Oficina Nacional de Acreditación en el LABSA-UNA durante el periodo de septiembre-diciembre 2021, basado en el cumplimiento de los objetivos planteados, se presentan las siguientes conclusiones:

- Los resultados obtenidos utilizando como guía base para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo, el procedimiento de GLOSOLAN-SOP-02, son satisfactorio lo que permitirá la validación del ensayo.
- De acuerdo con los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025:2017, las condiciones en que se desarrolla el instructivo de trabajo para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelos en el LABSA-UNA son las adecuadas, por lo que se obtuvieron datos trazables.
- Los parámetros de validación, exactitud, precisión, linealidad, límite de detección y cuantificación para el método volumétrico de Walkley y Black en la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo bajo las directrices del DOC-ONA-12-011 cumplen con lo establecido por la ONA para cada variable cuantificada en el ensayo.
- El porcentaje de recuperación promedio, el cual es el que determina la exactitud del método es de 100,29% y el valor aceptable según ONA es 90-110%, por lo tanto, cumple con el criterio de aceptación del rango establecido, por otro lado, se calculó el t-student para cada nivel de muestra, donde en la muestra nivel bajo se obtuvo un t-calculado de 0,09, muestra nivel medio 0,03 y muestra nivel alto 1,22, cabe destacar que en las tres muestras el t-tabulado es de 2,57, por ende el t-calculado en los tres niveles de concentración respectivamente es menor que t-

tabulado, según ONA la exactitud requerida y los valores experimentales de carbono orgánico no son estadísticamente diferentes de los valores del material de referencia y por ende se descarta evidencia de error.

- En cuanto a la precisión fue evaluada por medio de repetibilidad (interdía e intradía), reproducibilidad y precisión intermedia. Para evaluar la repetibilidad se calculó el coeficiente de variación, la ONA establece como valor aceptable de C.V menor al 5%, en los tres niveles de contracción respectivamente, tanto en repetibilidad intradía e interdía se obtuvieron coeficientes de variación menor al 5%, por lo tanto, el método es repetible.

Para la reproducibilidad, se calcularon para cada muestra el t-student y la prueba F(Fisher), donde se obtuvo para la muestra nivel bajo un t-calculado de 1,18, muestra de nivel medio 1,55 y muestra nivel alto 0,12, el valor t-tabulado es de 2,23 para un contraste de dos cola en todos los casos, como podemos observar los t- calculados son menores que el t- tabulado, según criterios de la ONA indica que no hay diferencia significativa entre las medias, por ende no hay probabilidad de presencia de errores sistemáticos.

Para determinar si hay diferencia significativa entre las varianzas se calculó la prueba Fisher , donde se obtuvo para el nivel bajo un F – calculado de 2,31, nivel medio F – calculada de 2,56 y nivel alto F- calculada de 1,59, para los tres caso el F-tabulado es de 5,05 para un contraste de una cola, puesto que F-tabulada es menor que F-Calculada se establece según ONA que no hay diferencia significativa entre las varianzas, por ende los conjuntos de resultados presentan repetibilidades similares.

La precisión intermedia fue evaluada con el coeficiente de variación obteniendo como resultados para el nivel bajo un C.V de 2,64, nivel medio C.V 3,04 y nivel alto C.V 2,02 donde el coeficiente global es inferior al 5% en todos los casos, por ende, se garantiza precisión intermedia.

- Para la evaluación de la linealidad se sometió a prueba de t- student el coeficiente de correlación, pendiente e intercepto. En la evaluación de la correlación se obtuvo un t-tabulado de 67,41, mientras que el t-tabulado es de 12,71, ya que t- calculada es mucho mayor que t – tabulada, según los criterios de aceptación de la ONA, hay correlación significativa, es decir la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.

En la prueba de la pendiente el t- calculado obtenido es de 69,23 y el t-tabulado es de 12,71, por tanto, se concluye por criterios de la ONA que la pendiente se diferencia significativamente, es decir que la pendiente y la linealidad es adecuada.

En el intercepto se obtuvo un t- calculado de 1,70 y el t-tabulado es de 12,71, ya que el t- tabulado es menor que el t-calculado, por criterios de la ONA el intercepto no se diferencia significativamente de cero, esto indica que el efecto de fondo de los reactivos sobre la señal analítica no es significativo y la linealidad es válida.

- La incertidumbre asociada al resultado de medida fue estimado en base a la Guía GUM, donde se tomó en cuenta el mesurando del método analítico para la determinación de carbono orgánico en muestras de suelo y de esta manera conocer las magnitudes de entrada con sus contribuciones de incertidumbre, para esto se calculó la incertidumbre estándar, estándar combinada e incertidumbre expandida en cada uno de los niveles de concentración, donde la muestra del Material de referencia de concentración nivel bajo proporcionó un valor de 8,79g/kg con una incertidumbre de $\pm 0,16$ g/kg, la muestra de concentración nivel medio dio un valor de 21.40 g/Kg con incertidumbre de $\pm 0,16$ g/kg y la muestra del material de referencia de concentración nivel alto se determinó un valor de 35,64g/kg, con incertidumbre de $\pm 0,70$ g/kg.

Por todo lo antes mencionado, se acepta la hipótesis planteada en esta investigación, por consiguiente, se concluye que las condiciones en que se desarrolla el instructivo de trabajo para la determinación de carbono orgánico empleando el método volumétrico de Walkley y Black, permite el cumplimiento de los parámetros de validación e incertidumbre en los resultados obtenidos requeridos por la ONA.

5.2. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el proceso de validación del método Walkley & Black para la determinación de carbono orgánico en suelo se recomienda lo siguiente:

- Debido a que las incertidumbres son las principales magnitudes de dispersión o desviación en los resultados de los análisis a través de las incertidumbres de los mensurando, se debe tener especial cuidado en las masas de las muestras, volúmenes de los reactivos, volúmenes gastados y las concentraciones utilizadas en el desarrollo experimental del método.
- Es necesaria la verificación de la calibración de los instrumentos a utilizar, así como la cristalería, esta debe ser evaluada y calibrada por un laboratorio de calibración acreditado según el alcance previsto, esto aumentará el grado de confiabilidad de los resultados brindados en los análisis por el laboratorio.
- Seguir promoviendo la repetibilidad y reproducibilidad de los patrones de referencia intralaboratorio como un control de calidad interno, esto como cumplimiento del aseguramiento de la validez de los resultados.
- Se recomienda el uso de un titrador para disminuir la incertidumbre de volumen del blanco y la muestra.
- Utilizar un dispensador con una capacidad de 200 mL para la adición de agua en las muestras y blancos de análisis para mejorar la rapidez en la rutina.
- Para eliminar las interferencias de ion férrico adicionar H_3PO_4 y las causadas por cloruro adicionar de Ag_2SO_4 a la mezcla de digestión ácida

5.3. BIBLIOGRAFÍA

- Alemán Vásquez, I. M., & Guido Paniagua, F. P. (2015). Comparación de dos técnicas para la determinación de carbono orgánico del suelo, en le LAFQA Departamento de Química, UNAN-Managua, septiembre-diciembre, 2015 (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua).
- CENAM. (2005). Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos relacionados. CNM-MRDPT-030.
- Chica Martínez. O., Galvis Caballero. N., Madrid Acevedo. J. (2007). Validación de métodos analíticos (MDQO, Hierro, H₂O₂, COT) en aguas.
- Eurachem, G. (2005). Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. 2da. Edición.
- Fassbender, H. W., & Bornemisza, E. (1994). Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. 2^{da} edición. Editorial IICA.
- García Guzmán. D. (2003). Validación del método de reflujo cerrado para la determinación de la demanda química de oxígeno por titulometría.
- Guerrero. M., Herrera. J. (2016). Desarrollo, validación y estimación de incertidumbre de un método cromatográfico para determinar residuos de plaguicidas organofosforados y cipermetrina en tomate.
- Guamán, C. A. (2018). Validación del método para determinar materia orgánica en el suelo por la técnica de Walkley And Black. Ecuador: Universidad de Cuenca.

- GUM (2008). Evaluación de datos de medición. Guía para la expresión de la incertidumbre de medida. Centro Español de Metrología.
- Harris, D. C. (2007). Explorando la química Analítica. 4ta Edición., Editorial LTC.
- Hernández, M. M. P. (2012). Estimación de incertidumbres. Guía GUM. Revista Española de Metrología, 1(3), 113-130.
- Hernández-Sampieri, R., Fernández, C., & Batista, P. (2010). Metodología de la Investigación. 5^{ta}. Edición. Editorial Mc Graw Hill.
- Hernández-Sampieri, R., Fernández, C., & Batista, P. (2014). Metodología de la Investigación. 5^{ta} Edición. Editorial: McGrawHill.
- ISO/IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayos y calibración. Tercera edición.
- Méndez. G., 2016. Validación del método analítico de Walkley y Black de materia orgánica en suelos arcillosos, francos y arenosos del Ecuador.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. 4^{ta} edición. Pearson Educación. S.A.
- NMX-AA-115-SCFI-2001. Análisis de agua - criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos.
- ONA, (2012). Política Para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración. DOC-ONA-12-011. versión N° 1.

ONA. (2021). Política Sobre Incertidumbre en la Calibración. DOC-ONA-17-020, versión N° 3.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2014). Propiedades Físicas del suelo. Recuperado 26 de septiembre de 2019, de <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/propiedades-del-suelo/propiedadesfisicas/es/>

Pedroza, M. E. (1993). Fundamentos de Experimentación Agrícola. Centro de Estudio de Ecodesarrollo para el Trópico (Primera ed.). Managua: Editora de Arte, S. A. (EDITARTE).

Piura López, J. (2008). Metodología de la investigación científica. Un enfoque integrador. 6ª edición. Editorial: Xerox.

Quino, I., Ramos, O., & Guisbert, E. (2007). Determinación del límite de detección instrumental (LDI) y límite de cuantificación instrumental (LCI) en elementos traza de agua subterránea. Revista Boliviana de química, 24(1), 53-57

Red mundial de laboratorios de Suelo GLOSOLAN-SOP-02., 2019. Carbono orgánico del suelo por el método de Walkley y Black. Método de titulación y colorimétrico.

Tamayo y Tamayo, M. (2004). El proceso de la investigación científica incluye evaluación y administración de proyectos de investigación. 4ª edición. Editorial: Limusa

USDA. 1998. Keys to Soil Taxonomy, 9th edn., United State Department of Agriculture, Natural Resource Conservation Service, Washington DC.

Walpole, R. E., Myers, R. H., Myers, S. L., & Ye, K. (2007). Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias (No. TA340. P76 2007.). México: Pearson educación.

Zumbado Fernández, H. (2002). Análisis químico de los alimentos: Métodos clásicos. Editorial Universitaria (Cuba).

ANEXOS

5.4. ANEXO

En los anexos se desarrollan todos los cálculos de concentración de carbono orgánico, cálculo de pruebas estadística de exactitud, de precisión, linealidad e incertidumbre.

Anexo 1

Cálculo de carbón orgánico para la muestra código WEPAL 866, nivel de concentración bajo (8,77 g/Kg).

Para el cálculo de carbón orgánico se usa la Ec. 44, para proceder al cálculo se debe calcular la normalidad estandarizada del $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, el cálculo se efectúa usando la Ec. 45.

$$N_{FeSO_4 \cdot 7H_2O} = \frac{0,9989N \times 10mL}{19,95mL} = 0,5007N$$

$$C. or (Mx 866.1) = \frac{[19,95 - 17,7] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5001} \times 1000 = 8,78 g/kg$$

$$C. or (Mx 866.2) = \frac{[19,95 - 17,8] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5000} \times 1000 = 8,39 g/kg$$

$$C. or (Mx 866.3) = \frac{[19,95 - 17,7] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5001} \times 1000 = 8,78 g/kg$$

$$C. or (Mx 866.4) = \frac{[19,95 - 17,7] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5002} \times 1000 = 8,78 g/kg$$

$$C. or (Mx 866.5) = \frac{[19,95 - 17,7] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5000} \times 1000 = 8,78 g/kg$$

$$C. or (Mx 866.6) = \frac{[19,95 - 17,6] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1.3}{0,5000} \times 1000 = 9,17 g/kg$$

El mismo procedimiento se aplicará para las muestras nivel medio y alto en los datos de ambos técnicos, por tal razón no se seguirá con el cálculo, solo se muestran los resultados en las tablas 7 y 8.

Anexo 2

Cálculos para la evaluación de exactitud

La evaluación de exactitud se calcula por medio de la veracidad y a la vez esta se calculó por medio del sesgo y para evaluar el sesgo se utilizó Ec.46, posteriormente con ayuda de la Ec. 1 se determina el contraste t - student, con el fin de descartar si existe estadísticamente diferencias significativas entre los valores y dejar definido si el método es exacto.

Cálculo del sesgo y contraste t- student para la concentración de nivel bajo (Cód-WEPAL 866 (8,77g/kg)).

$$S = 8,78 - 8,77 = 0,01$$

$$t_{cal} = \frac{(0,01)}{0,25/\sqrt{6}} = 0,09$$

$$t_{Tab} \text{ con } 6 - 1 \text{ grados de libertad} = 2,57$$

Aparte que el t-calculado se realizó manualmente, se determinó utilizando la herramienta de Excel Análisis de datos para medias dos muestras emparejadas, el análisis se realizó para los tres escenarios (Nivel bajo, medio y alto).

	<i>C.org g/kg esperado</i>	<i>C.org g/kg experimental</i>
Media	8.77	8.77745214
Varianza	3.7865E-30	0.06089229
Observaciones	6	6
Coefficiente de correlación de Pearson	1.3143E-15	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	0.07397335	
P(T<=t) una cola	0.47194991	
Valor crítico de t (una cola)	2.01504837	
P(T<=t) dos colas	0.94389983	
Valor crítico de t (dos colas)	2.57058184	

Fuente: Excel

Cálculo del sesgo y contraste t-student para la concentración de nivel medio (Cód-WEPAL 860 (21,40g/kg)).

$$S = 21,403 - 21,40 = 0.003$$

$$t_{cal} = \frac{(0,003)}{0,20/\sqrt{6}} = 0,03$$

$$t_{Tab} \text{ con } 6 - 1 \text{ grados de libertad} = 2,57$$

	<i>C.org g/kg esperado</i>	<i>C.org g/kg experimental</i>
Media	21.4	21.4017198
Varianza	1.5146E-29	0.04099084
Observaciones	6	6
Coefficiente de correlación de Pearson	1.9222E-14	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	0.02080664	
P(T<=t) una cola	0.49210234	
Valor crítico de t (una cola)	2.01504837	
P(T<=t) dos colas	0.98420469	
Valor crítico de t (dos colas)	2.57058184	

Fuente: Excel

Cálculo del sesgo y contraste t-student para la concentración de nivel alto (Cód-WEPAL 854 (35,40 g/kg))

$$S = 35,64 - 35,40 = 0,24$$

$$t_{cal} = \frac{(0,24)}{0,48/\sqrt{6}} = 1,22$$

$$t_{Tab} \text{ con } 6 - 1 \text{ grados de libertad} = 2,57$$

	<i>C.org g/kg esperado</i>	<i>C.org g/kg experimental</i>
Media	35.4	35.6400691
Varianza	0	0.23023895
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1.22552591	
P(T<=t) una cola	0.13747497	
Valor crítico de t (una cola)	2.01504837	

Continuación	
P(T<=t) dos colas	0.27494995
Valor crítico de t (dos colas)	2.57058184

Fuente: Excel

Para calcular el coeficiente de variación del porcentaje de recobro en cada una de los niveles de concentraciones se utilizó la Ec. 48:

Nivel bajo

$$CV_{x/y} = \frac{2,82}{100,19} \times 100\% = 2,81\%$$

Nivel medio

$$CV_{x/y} = \frac{0,95}{100,01} \times 100\% = 0,94\%$$

Nivel alto

$$CV_{x/y} = \frac{1,36}{100,68} \times 100\% = 1,35\%$$

Anexo 3

Cálculo para la evaluación de la precisión.

Cálculo del coeficiente de variación para evaluar la precisión por repetibilidad interdía, para dicho cálculo se puede utilizar la Ec. 3.

Cálculo para el primer día

Nivel bajo

$$RSD = \frac{0,25}{8,79} \times 100\% = 2,84\%$$

Nivel medio

$$RSD = \frac{0,20}{21,40} \times 100\% = 0,93\%$$

Nivel alto

$$RSD = \frac{0,48}{35,64} \times 100\% = 1,34\%$$

Cálculo para el segundo día

Nivel bajo

$$RSD = \frac{0,20}{8,61} \times 100\% = 2,32\%$$

Nivel medio

$$RSD = \frac{0,16}{22,64} \times 100\% = 0,70\%$$

Nivel alto

$$RSD = \frac{0,41}{34,55} \times 100\% = 1,18\%$$

Cálculo para precisión por repetibilidad intradías, para el cálculo se sigue utilizando la Ec. 3.

Nivel bajo

$$RSD = \frac{0,38}{9,01} \times 100\% = 4,21\%$$

Nivel medio

$$RSD = \frac{0,32}{9,01} \times 100\% = 1,47\%$$

Nivel alto

$$RSD = \frac{0,38}{35,61} \times 100\% = 1,06\%$$

Cálculo de la repetibilidad Intralaboratorio (reproducibilidad)

El contraste F se calcula utilizando la Ec. 4, a continuación, se muestra el procedimiento del cálculo en cada uno de los niveles de concentración.

Cálculo del contraste F para el **nivel bajo**, para efectuar el cálculo se utilizan los datos del técnico 1 y 2 de la tabla 12, muestras Cód-WEPAL 866 (8,77g/kg). (Ver código en tabla 4)

$$F_{cal} = \frac{(0,38)^2}{(0,25)^2} = 2,31$$

$$F_{Tab} = 5,05$$

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>Técnico 2</i>	<i>Técnico 1</i>
Media	9.00551562	8.77745214
Varianza	0.14576976	0.06089229

Continuación		
Observaciones	6	6
Grados de libertad	5	5
F	2.39389508	
P(F<=f) una cola	0.18002422	
Valor crítico para F (una cola)	5.05032906	

Fuente: Excel

El F calculado es menor que el F tabulado, indicando que no hay diferencia significativa entre la varianza, por lo tanto, para el cálculo del contraste t – student la ecuación apropiada a utilizar es la 5.

$$t = \frac{9.01 - 8.79}{\sqrt{\frac{(6-1)(0.25)^2 + (6-1)(0.38)^2}{6+6-2}}} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6}}$$

$$t = \frac{0,22}{(0,32163644)(0.5777350269)} = 1,18$$

t – tabulado: 2,23 (dos colas)

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Técnico 1</i>	<i>Técnico 2</i>
Media	8.77745214	9.00551562
Varianza	0.06089229	0.14576976
Observaciones	6	6
Varianza agrupada	0.10333103	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	1.22885603	
P(T<=t) una cola	0.12362936	
Valor crítico de t (una cola)	1.81246112	
P(T<=t) dos colas	0.24725871	
Valor crítico de t (dos colas)	2.22813885	

Fuente: Excel

De igual manera, el mismo procedimiento de cálculo que se ejecutó en nivel bajo será aplicado en los niveles medio y alto, usando las mismas ecuaciones.

Nivel medio: muestras Cód-WEPAL 860 (21,4g/kg) (Ver código en tabla 4), igualmente se utilizan los datos del técnico 1 y 2 de la tabla 12.

$$F_{cal} = \frac{(0,32)^2}{(0,20)^2} = 2,56$$

$$F_{Tab} = 5,05 \text{ (Una cola)}$$

Prueba F para varianzas de dos muestras

	Técnico 2	Técnico 1
Media	21.6216436	21.3802966
Varianza	0.10249046	0.04090882
Observaciones	6	6
Grados de libertad	5	5
F	2.50533886	
P(F<=f) una cola	0.16813966	
Valor crítico para F (una cola)	5.05032906	

Fuente: Excel

$$t = \frac{21,64 - 21,40}{\sqrt{\frac{(6-1)(0,20)^2 + (6-1)(0,32)^2}{6+6-2}}} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6}}$$

$$t = \frac{0,24}{(0,266833281)(0,5777350269)} = 1,55$$

t – tabulado: 2,23 (dos colas)

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Técnico 1	Técnico 2
Media	21.3802966	21.6216436
Varianza	0.04090882	0.10249046
Observaciones	6	6
Varianza agrupada	0.07169964	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	1.56114786	
P(T<=t) una cola	0.07477554	
Valor crítico de t (una cola)	1.81246112	
P(T<=t) dos colas	0.14955107	
Valor crítico de t (dos colas)	2.22813885	

Fuente: Excel

Nivel alto: muestra Cód-WEPAL 854 (35,40 g/kg), el cálculo se realiza de igual manera, usando los datos del técnico 1 y 2 de la tabla 12. (Ver código en tabla 4)

$$F_{cal} = \frac{(0,48)^2}{(0,38)^2} = 1,59$$

$$F_{Tab} = 5,05 \text{ (Una cola)}$$

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>Técnico 1</i>	<i>Técnico 2</i>
Media	35.6043934	35.5785782
Varianza	0.22977824	0.14067266
Observaciones	6	6
Grados de libertad	5	5
F	1.63342506	
P(F<=f) una cola	0.30168407	
Valor crítico para F (una cola)	5.05032906	

Fuente: Excel

$$t = \frac{35,64 - 35,61}{\sqrt{\frac{(6-1)(0,48)^2 + (6-1)(0,38)^2}{6+6-2}}} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6}}$$

$$t = \frac{0,03}{(0,432897216)(0,5773503)} = 0,12$$

t-tabulado: 2,23 (dos colas)

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Técnico 1</i>	<i>Técnico 2</i>
Media	35.6043934	35.5785782
Varianza	0.22977824	0.14067266
Observaciones	6	6
Varianza agrupada	0.18522545	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	0.10389254	
P(T<=t) una cola	0.45965437	
Valor crítico de t (una cola)	1.81246112	
P(T<=t) dos colas	0.91930874	
Valor crítico de t (dos colas)	2.22813885	

Fuente: Excel

Cálculo de la precisión intermedia

Para el cálculo de la precisión intermedia se usa la Ec. 3 y se operan con los datos de la tabla 13.

Ambos días

Nivel bajo

$$RSD = \frac{0,23}{8,70} \times 100\% = 2,64\%$$

Nivel medio

$$RSD = \frac{0,67}{22,02} \times 100\% = 3,04\%$$

Nivel alto

$$RSD = \frac{0,71}{35,09} \times 100\% = 2,02\%$$

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo para el día 1 y 2.

RESUMEN	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto	Total
<i>Día 1</i>				
Cuenta	6	6	6	18
Suma	52.6647128	128.28178	213.62636	394.572853
Promedio	8.77745214	21.3802966	35.6043934	21.920714
Varianza	0.06089229	0.04090882	0.22977824	127.255334
<i>Día 2</i>				
Cuenta	6	6	6	18
Suma	51.6312922	135.858109	207.287973	394.777374
Promedio	8.60521536	22.6430181	34.5479955	21.9320763
Varianza	0.04027602	0.02456114	0.17007592	119.106296
<i>Total</i>				
Cuenta	12	12	12	
Suma	104.296005	264.139889	420.914333	
Promedio	8.69133375	22.0116574	35.0761944	
Varianza	0.05407619	0.46461333	0.4861091	

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	0.00116192	1	0.00116192	0.01230642	0.91240731	4.17087679
Columnas	4177.09609	2	2088.54805	22120.8396	2.9169E-48	3.3158295
Interacción	8.21916079	2	4.1095804	43.5265873	1.3523E-09	3.3158295
Dentro del grupo	2.83246217	30	0.09441541			
Total	4188.14888	35				

Fuente: Excel

Dado $\alpha = 0.05$, el valor de “p” es mayor que 0.05 para “Muestra” por lo que aceptamos la hipótesis nula, no hay diferencias en los días.

Dado $\alpha = 0.05$, el valor de “p” es menor que 0.05 para “Columnas” por lo que rechazamos la hipótesis nula, sí hay diferencias en los niveles.

El valor de “p” para “Interacción” fue menor que 0.05 (1.3523E-09), por lo que en rechazamos la hipótesis nula y no descartamos algún efecto por interacciones.

Anexo 4

Cálculo para la evaluación de la linealidad

En este anexo se muestra el cálculo del tratamiento estadístico del intercepto (a), de la recta (b), del coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2), desviación estándar residual o errores aleatorios ($s_{y/x}$), varianza residual ($(s_{y/x})^2$), desviación estándar de la pendiente (s_b), desviación estándar del intercepto (s_a), varianza del intercepto ($(s_a)^2$) y varianza de la pendiente ($(s_b)^2$), para la determinación de la linealidad.

Cálculo del a usando la Ec. 9

$$a = \frac{(63,594144)(1788.032900) - (65.570000)(1743.946980)}{3(1788.032900) - (65,57)^2} = -0,603$$

Cálculo de la b usando la Ec. 10

$$b = \frac{3(1743.946980) - (65,57)(63.594144)}{3(1788.032900) - (65,57)^2} = 0,997$$

Cálculo del r usando la Ec. 11

$$r = \frac{3(1743,946980) - (65,57)(63,594144)}{\sqrt{(3 \times 1788,032900 - (65,57)^2)(3 \times 1701,239079 - (63,594144)^2)}} = 0,999894$$

El r^2 se calcula de la siguiente manera, usando la Ec. 12

$$r^2 = (0,999894)^2 = 0,99978$$

Una vez obtenido los resultados del intercepto (a), la pendiente, (b), y coeficiente de correlación, (r), seguidamente se aplica la prueba estadística de t-student, para comprobar si la linealidad del método es aceptable. A continuación, se muestran los cálculos.

En el cálculo del estadístico de prueba para el coeficiente de correlación (r), se usa la Ec.13:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|0,999894| \sqrt{(3-2)}}{\sqrt{(1-0,99978)}} = 67,41$$

$$t_{\text{tabulado}} = 12,71$$

Para el caso de la pendiente y el intercepto, antes de ser probados con el contraste estadístico t- student se calculan los errores aleatorios con la Ec. 16 y posteriormente la desviación estándar de la pendiente (S_b) con la Ec. 17 y la desviación estándar del intercepto (s_a) con ayuda del Ec. 18.

Cálculo del estadístico $s_{y/x}$ (Ec. 16), para estimar los errores aleatorios

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{0,074399}{3-2}} = 0,2727 \Rightarrow (s_{y/x})^2 = 0,074$$

Una vez obtenido el valor de $s_{y/x}$, usando la Ec.17 se calcula la desviación estándar de la pendiente (s_b)

$$s_b = \frac{0,2727}{\sqrt{354,891267}} = 0,0144$$

Y la ordena en el origen o intercepto (s_a), con la Ec.18

$$s_a = (0,2727) \sqrt{\frac{1788,032900}{3(354,891267)}} = 0,3534$$

Para el cálculo de prueba t- student de la pendiente (b) también llamada coeficiente de regresión, se usa la Ec.14 y el resultado calculado anteriormente de la desviación estándar de la pendiente.

$$t_{calaculado} = \frac{|0,997|}{0,0144} = 69,23$$

$$t_{Tabulado} = 12,71$$

Y para la prueba del intercepto (a), se utiliza la Ec.15 y el valor de la desviación del intercepto, el cual fue calculado anteriormente.

$$t_{calaculado} = \frac{|-0,603|}{0,3544} = 1,70$$

$$t_{Tabulado} = 12,71$$

Análisis de varianza de la linealidad.

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.99989466
Coeficiente de determinación R^2	0.99978934
R^2 ajustado	0.99957868
Error típico	0.27248793
Observaciones	3

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	352.38644	352.38644	4745.966455	0.00924033
Residuos	1	0.07424967	0.07424967		
Total	2	352.460689			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>
Intercepción	-0.60256916	0.35312359	-1.7063974	0.337462012	5.08942979	3.88429147	-5.08942979
Variable X 1	0.99646474	0.01446437	68.8909751	0.009240326	0.81267746	1.18025203	0.81267746

Fuente: Excel

Nota: Se logra observar que los cálculos realizados a mano, haciendo uso de calculadora y ecuaciones, difieren de los resultados del análisis de varianza de cada uno de los parámetros, pero eso no indica que los datos manuales estén erróneos, esos pequeños cambios se deben a que Excel utiliza todos los decimales y manualmente se trabajó a lo sumo con tres decímeles.

Anexo 5

Calculo del límite de detección y cuantificación

Para el cálculo de límite de detección se utiliza la ecuación 20

$$LOD = -0,603 + 3 (0,2727) = 0,22$$

Y para el límite de cuantificación se usa la ecuación 22

$$LOQ = -0,603 + 10 (0,2727) = 2,12$$

Anexo 6

Estimación de la incertidumbre en la determinación de C.org en suelo

Para el cálculo de la incertidumbre del resultado de carbón orgánico en muestras de suelos, el mesurando está compuesto por las siguientes magnitudes de entras: concentraciones estandarizadas del sulfato de hierro (C_2), volumen de sulfato de hierro gastado en el blanco (C_{Blanco}), Volumen sulfato de hierro gastado en la muestra ($C_{Muestra}$) y la masa de la muestra m_m . Dentro del procedimiento del cálculo de incertidumbre de cada mesurando que nos interesa medir se debe calcular la incertidumbre estándar, el coeficiente de sensibilidad y la contribución.

El cálculo da inicio con la estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada de $FeSO_4$ 0,5N (C_2), para realizar este cálculo inicialmente de debe estimar la incertidumbre de la concentración de $K_2Cr_2O_7$ 1N (C_1), debido a que es un mesurando que se encuentra dentro de las magnitudes de entrada de C_2 .

Anexo 6.1

Estimación de la incertidumbre de la concentración de $K_2Cr_2O_7$ 1N (C_1) para el nivel bajo del técnico número 1

Para estimar la concentración de $K_2Cr_2O_7$ al 1N se utilizando la ecuación 53:

$$C_1 = \frac{m \times P}{V_3 \times FM}$$

Donde la variable ubicada a la izquierda de la igualdad es llamada mesurando o fuente de incertidumbre y los cuatros variables que se encuentran a la derecha de la igualdad son las magnitudes de entradas.

El origen de la información de las magnitudes de entradas de incertidumbre tanto de la pureza, volumen y fórmula molecular, se encuentran dada por certificado del fabricante, sus incertidumbres son de tipo B, únicamente la masa el origen de la información es experimental y su incertidumbre es de tipo A.

Anexo 6.1.1

Masa del dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

➤ Cálculo de la incertidumbre de la masa del dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

Para el cálculo de la incertidumbre estándar combinada de la masa del dicromato de potasio se toman en cuenta las siguientes magnitudes de entradas: calibración, repetibilidad y la resolución, donde a cada una se les calcula la incertidumbre estándar respectivamente.

Calibración

$$u(Cal): 0,0003$$

$$u(Cal) = 0,0003/2 = 0,00015$$

Dado que esta contribución tiene que ser tomada en cuenta por dos veces, sustituyendo datos en la Ec. 58, se obtiene la incertidumbre estándar

$$u(Cal) = \sqrt{2 \times (0,00015)^2} = 2,1213 \times 10^{-04}$$

Repetibilidad

$$u(Rep) = 0,0000$$

$$u(Rep) = 0,0000/2 = 0,00000$$

Tomando en cuenta por dos veces la incertidumbre estándar se usa la Ec. 59

$$u(\text{Rep}) = \sqrt{2 \times (0,00000)^2} = 0.00000$$

Resolución

$$u(\text{Res}) = 0,0001$$

Sustituyendo datos en la Ec.27 se estima la incertidumbre estándar

$$u(\text{Res}) = 0,0001/2 \times \sqrt{3} = 2,8868 \times 10^{-05}$$

De igual manera la incertidumbre estándar se toma en cuenta por dos veces, para el cálculo se utiliza la Ec.60

$$u(\text{Res}) = \sqrt{2 \times (2,8868 \times 10^{-05})^2} = 4,0825 \times 10^{-05}$$

Utilizando al Ec.60 se calcula la incertidumbre estándar combinada

$$u_c(m) = \sqrt{(2,1213 \times 10^{-04})^2 + (0,0000)^2 + (4,0825 \times 10^{-05})^2} = 2,1602 \times 10^{-04}$$

<i>u(Cal)</i>	0,0003	0,00015	$2,1213 \times 10^{-04}$
<i>u(Rep)</i>	0,0000	0,00000	0,00000
<i>u(Res)</i>	0,0001	$2,8868 \times 10^{-05}$	$4,0825 \times 10^{-05}$
		<i>u_c(m)</i>	$2,1602 \times 10^{-04}$
	Masa experimental	12,2565	$2,1602 \times 10^{-04}$

Anexo 6.1.2

Pureza del reactivo (P)

➤ Cálculo de la incertidumbre de la pureza del reactivo (P)

Pureza declara (PD)	99,900
Incertidumbre	0,001

$$u = (100 - PD/100)$$

$$u = (100 - 99,90/100) = 0,001$$

$$P = 99,9/100 = 0,999$$

Haciendo uso la Ec.26 se obtiene la incertidumbre estándar de la pureza

$$u(P) = \frac{0,001}{\sqrt{3}} = 5,7735 \times 10^{-04}$$

P	0,999
$u_c(P)$	0,0006
P: 0,999	$5,7735 \times 10^{-04}$

Anexo 6.1.3

Volumen de aforo 250 mL

➤ Cálculo de la incertidumbre del volumen de aforo 250 mL

Para el calcular la incertidumbre del volumen de aforo se toman en cuenta las siguientes magnitudes de entradas: calibración, tolerancia y temperatura, donde respectivamente a las tres se les calcula la incertidumbre estándar y posteriormente la incertidumbre estándar combinada.

Calibración

$$u(Cal): 0,0230$$

Esta incertidumbre es de tipo B, debido a que es una incertidumbre proporcionada por el certificado de calibración y por ende se trata de una incertidumbre expandida, para conocer la incertidumbre estándar se divide entre el factor de cobertura dos.

$$u(Cal) = 0,0230/2 = 0,0115$$

Tolerancia

$$u(Tol) = 0,12$$

Aplicando la Ec.26 se obtiene la incertidumbre estándar

$$u(Tol) = 0,12/\sqrt{3} = 6,9282 \times 10^{-02}$$

Temperatura

Para el cálculo de la incertidumbre estándar de la temperatura se utiliza la Ec.61

$$u(Tem) = \frac{250 \text{ mL} (21^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C} \times 2,11 \times 10^{-04} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1})}{\sqrt{3}}$$

$$u(T^\circ) = 3,0311 \times 10^{-02}$$

Cálculo de la incertidumbre estándar combinada utilizando la Ec.62

$$u_c(V \text{ 250 mL}) = \sqrt{(0,0115)^2 + (6,9282 \times 10^{-02})^2 + (3,0311 \times 10^{-02})^2} = 7,6492 \times 10^{-02}$$

$u(Cal)$	0.0230	0,0115
$u(Tol)$	0,12	$6,9282 \times 10^{-02}$
$u(T^\circ)$	$3,0311 \times 10^{-02}$	$3,0311 \times 10^{-02}$
	$u_c (V\ 250\ mL)$	$7,6492 \times 10^{-02}$

Anexo 6.1.4

Formula molecular (FM)

➤ Cálculo de la incertidumbre de la formula molecular (FM)

Para el cálculo de la incertidumbre estándar de los tres elementos se utiliza la Ec.26

Elemento	K_2	Cr_2	O_7
$u(MA)$	0,0001	0,0006	0,000001

Incertidumbre estándar del Potasio

$$u(K_2) = 2 \times \frac{0,0001}{\sqrt{3}} = 1,1547 \times 10^{-04}$$

Incertidumbre estándar del cromo

$$u(Cr_2) = 2 \times \frac{0,0006}{\sqrt{3}} = 6,9282 \times 10^{-04}$$

Incertidumbre estándar del oxígeno

$$u(O_7) = 7 \times \frac{0,000001}{\sqrt{3}} = 4,0415 \times 10^{-06}$$

Cálculo de la incertidumbre estándar combinada aplicando la Ec.63

$$u_c(FM) = \sqrt{(1,1547 \times 10^{-04})^2 + (6,9282 \times 10^{-04})^2 + (4,0415 \times 10^{-06})^2}$$

$$u_c(FM) = 7,0239 \times 10^{-04}$$

Elemento	K_2	Cr_2	O_7
MA	39,0983	51,9961	15,9990
u (E)	$1,1547 \times 10^{-04}$	$6,9282 \times 10^{-04}$	$4,0415 \times 10^{-06}$
$u_c (FM)$	$7,0239 \times 10^{-04}$		
Peso Atómico: 294,1820	$7,0239 \times 10^{-04}$		

Coefficiente de sensibilidad y contribución

- Cálculo del coeficiente de sensibilidad para la masa del $K_2Cr_2O_7$ (m) usando la Ec.64

$$\frac{\partial C_1}{\partial m} = \frac{0,999}{250,0 \times 294,1820} = 1,3583 \times 10^{-05}$$

Cálculo de la contribución

Para calcular la contribución se multiplica la incertidumbre estándar combinada al cuadrado por el coeficiente de sensibilidad al cuadrado.

$$\begin{aligned} \text{contribución} &= (u(m))^2 \times \frac{\partial C_1^2}{\partial m} \\ \text{contribución} &= (2,1602 \times 10^{-04})^2 \times (1,3583 \times 10^{-05})^2 = 8,610 \times 10^{-18} \end{aligned}$$

- Cálculo del coeficiente de sensibilidad para la pureza del $K_2Cr_2O_7$ (P) usando la Ec .65

$$\frac{\partial C_1}{\partial P} = \frac{12,2565}{250,0 \times 294,1820} = 1.6665 \times 10^{-04}$$

$$\text{contribución} = (5,7735 \times 10^{-04})^2 \times (1.6665 \times 10^{-04})^2 = 9,257 \times 10^{-15}$$

- Cálculo del coeficiente de sensibilidad del volumen de aforo 250 mL (V_3) usando la Ec.66

$$\frac{\partial C_1}{\partial V_3} = -\frac{12,2565 \times 0,999}{(250,0)^2 \times 294,1820} = -6,6594 \times 10^{-07}$$

$$\text{contribución} = (7,6492 \times 10^{-02})^2 \times (-6,6594 \times 10^{-07})^2 = 2,595 \times 10^{-15}$$

- Cálculo del coeficiente de sensibilidad de la fórmula molecular de $K_2Cr_2O_7$ (FM) usando la Ec.67

$$\frac{\partial C_1}{\partial FM} = -\frac{12,2565 \times 0,999}{250,0 \times (294,1820)^2} = -5.6593 \times 10^{-07}$$

$$\text{contribución} = (7,0239 \times 10^{-04})^2 \times (-5.6593 \times 10^{-07})^2 = 1.580 \times 10^{-19}$$

Sumatoria cuadrática de las contribuciones

Con ayuda de la Ec. 37 se estima la incertidumbre estándar combinada

$$\sum = \text{contribución (m)} + \text{contribución (P)} + \text{contribución (V aforo)} \\ + \text{contribución (FM)}$$

$$\sum = 8,610 \times 10^{-18} + 9,257 \times 10^{-15} + 2,595 \times 10^{-15} + 1.580 \times 10^{-19}$$

$$\sum = 1,186 \times 10^{-14}$$

$$u_c(C_1) = \sqrt{\sum \text{ de la contribuciones}}$$

$$u_c(C_1) = \sqrt{1,186 \times 10^{-14}} = 1,089 \times 10^{-07}$$

Para el cálculo de la incertidumbre expandida se utiliza la Ec.43

$$U_{exp}(C_1) = u_c(C_1) \times 2$$

$$U_{exp}(C_1) = 1,089 \times 10^{-07} \times 2 = 2,178 \times 10^{-17}$$

Cálculo de la concentración de $K_2Cr_2O_7$ reportado en Eq/L utilizando la Ec.53

$$C_1 = \frac{m \times P}{V_3 \times FM/6} \times 1000$$

$$N = \frac{12,2565 \times 0,999}{250 \times 294,1820} \times 1000$$

$$N_{K_2Cr_2O_7} = 0,9989$$

$$N_{K_2Cr_2O_7} = \mathbf{0,9989 \pm 2,178 \times 10^{-17}}$$

Cálculo para conocer el % de contribución de incertidumbre de cada una de las magnitudes.

$$\sum = 8,610 \times 10^{-18} + 9,257 \times 10^{-15} + 2,595 \times 10^{-15} + 1.580 \times 10^{-19}$$

$$\sum = 1,186 \times 10^{-14}$$

$$\text{Contribución \% } (x_i) = \frac{\text{Contribución}}{\text{Suma cuadrática}} \times 100$$

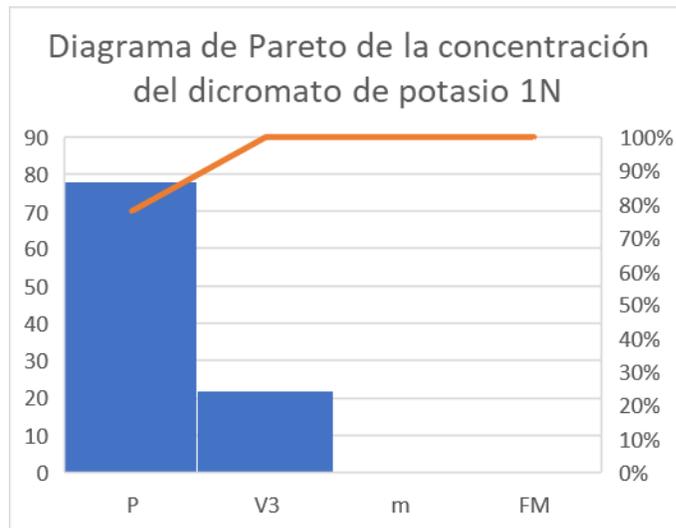
$$\text{contribuci3n\%(m)} = \frac{8,610 \times 10^{-18}}{1,186 \times 10^{-14}} \times 100 = 0,07\%$$

$$\text{Contribuci3n \% (P)} = \frac{9,257 \times 10^{-15}}{1,186 \times 10^{-14}} \times 100 = 78,05\%$$

$$\text{Contribuci3n\%(V. aforo)} = \frac{2,595 \times 10^{-15}}{1,186 \times 10^{-14}} \times 100 = 21,88\%$$

$$\text{Contribuci3n \% (FM)} = \frac{1.580 \times 10^{-19}}{1,186 \times 10^{-14}} \times 100 = 0,00133\%$$

Se observa que la magnitud de entrada que m3s contribuye a la incertidumbre en la concentraci3n de $K_2Cr_2O_7$ 1N es la pureza con un 78,05% de contribuci3n, posteriormente le sigue el volumen de aforo contribuyendo con un 21,88%, y las magnitudes que menos contribuyen son la masa con un 0,07% y la f3rmula molecular con un 0,00133%, por ende no contribuyen significativa a incertidumbre, de manera gr3fica se puede evidencia en el siguiente diagrama de Pareto.



Anexo 6.2

Estimación de la incertidumbre de la concentración estandarizada de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,5N (C_2) para el nivel bajo del técnico número 1.

La ecuación para calcular la concentración estandarizada de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,5M es la Ec. 54:

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

Donde la variable que pertenece al mesurando es la concentración estandarizada de sulfato de hierro (C_2) y las que se encuentran a la derecha de la igualdad son las magnitudes de entradas.

Las magnitudes de entradas o fuentes de incertidumbre son las siguientes: la concentración del dicromato de potasio (C_1), el volumen de dicromato adicionado a la muestra a la muestra (V_1) y el volumen de sulfato ferroso gastado en la titulación del blanco (V_2), donde las tres respectivamente el origen de la información es de origen experimental. En cuanto al tipo de incertidumbre la magnitud C_1 y la V_2 es de tipo A y la V_1 es de tipo B.

Anexo 6.2.1

Concentración del dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$ (C_1)

La incertidumbre de la concentración del dicromato de potasio ya no se calcula, ya que fue calculada en el anexo 6.1, únicamente se toman los datos de incertidumbre estándar combinada, expandida y la concentración del dicromato de potasio.

Concentración de $K_2Cr_2O_7$ (C_1)	
$u_c(C_1)$	$1,089 \times 10^{-07}$
$U_{exp}(C_1)$	$2,178 \times 10^{-07}$
$N_{K_2Cr_2O_7}$	0,9989

Volumen del $K_2Cr_2O_7$ (V_1)

- **Cálculo de la incertidumbre del Volumen del dicromato de potasio adicionada a la muestra (V_1)**

Para el calcular la incertidumbre del volumen del dicromato de potasio adicionado a la muestra (V_1) se toman en cuenta las siguientes magnitudes de entradas: calibración, resolución y temperatura, donde respectivamente a las tres se les calcula la incertidumbre estándar y posteriormente la incertidumbre combinada y la expandida.

Calibración

$$u(Cal): 0,0230$$

Esta incertidumbre es de tipo B, debido a que es una incertidumbre proporcionada por el certificado de calibración del matraz volumétrico, por tanto, para conocer la incertidumbre estándar se divide entre el factor de cobertura 2, debido a que es una incertidumbre expandida.

$$u(Cal) = 0,0230/2 = 0,0115$$

Resolución

$$u(res) = 0,020$$

Usando la Ec.26

$$u(res) = 0,02/\sqrt{(6)} = 8,1650 \times 10^{-03}$$

Temperatura

Usando la Ec.61

$$u(T^\circ) = \frac{10 \text{ mL} (21^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C} \times 2,11 \times 10^{-04} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1})}{\sqrt{3}}$$

$$u(T^\circ) = 1,2124 \times 10^{-03}$$

Cálculo de la incertidumbre estándar combinada

$$u_c (V 250 \text{ mL}) = \sqrt{(0,0115)^2 + (8,1650 \times 10^{-03})^2 + (1,2124 \times 10^{-03})^2} = 0,0142$$

$$U_{exp}(V_1) = 0,0142 \times 2 = 0,028$$

$u(Cal)$	0,023	0,0115
$u(res)$	0,02	$8,1650 \times 10^{-03}$
$u(T^\circ)$	0,0012	$1,2124 \times 10^{-03}$
	$u_c (V 10 \text{ mL})$	0,01416
	$U_{exp}(V_1)$	0,028
	10,0000	0,028

Anexo 6.2.3

Volumen de titulación del blanco (V_2)

- Cálculo de la incertidumbre del volumen de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación del blanco (V_2)

	Blanco 1	Blanco 2	Valor medio	Desviación estándar
Volumen gasto de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ en los blancos (V_b)	19,9	20	19,95	0,0707

Para la estandarización del $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ se utilizan blancos por duplicados con el fin de poder realizar el análisis estadístico, ya que solo con un dato es imposible hacer un tratamiento estadístico, cabe destacar que se pueden montar los blancos por triplicado y hasta cuadruplicado, etc., pero por efectos de gastos de reactivos no se suelen usar.

Es importante mencionar, debido a que el trabajo se trata de la validación del método analítico, las muestras WEPAL (MR) de cada uno de los niveles de concentración fueron analizados por sextuplicados, con la finalidad de realizar un tratamiento estadístico muy riguroso y reportar los datos más verídico posible de cada uno de los parámetros de eficiencia a evaluar en la validación el método analítico incluyendo la incertidumbre.

A continuación, se muestran los datos de la masa pesada de las seis replicas, las cuales pertenecen a la muestra WEPAL de nivel concentración bajo, con sus respectivos volúmenes del agente titulante gastado en cada replica.

Masa de la muestra (m_m)		Volumen de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la muestra (V_m)	
	0,5001		17,7
	0,5000		17,8
	0,5001		17,7
	0,5002		17,7
	0,5000		17,7
	0,5000		17,6
Media	0,5001	Media	17,7
D. Estándar	8.165E-05	D. Estándar	0,06

Para el calcular la incertidumbre del volumen del dicromato de potasio gastado en el blanco (V_2) se toman en cuenta las siguientes magnitudes de entradas: calibración, resolución, temperatura y repetibilidad, donde a los cuatros magnitudes se les calcula la incertidumbre estándar, una vez obtenida esta incertidumbre se combina, para posteriormente calcular la incertidumbre expandida.

Calibración

Esta incertidumbre ya fue calcula y explicada, por ende, únicamente se mostrarán los datos.

$$u(Cal): 0,023$$

$$u(Cal) = 0,0230/2 = 0,0115$$

Resolución

$$u(res) = 0,1$$

$$u(res) = 0,1/\sqrt{(6)}$$

$$u(res) = 4,0825 \times 10^{-02}$$

Temperatura

$$u(Tem) = \frac{25 \text{ mL} (21^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C} \times 2,11 \times 10^{-04} \text{ }^\circ\text{C}^{-1})}{\sqrt{3}}$$

$$u(T^\circ) = 3,0311 \times 10^{-03}$$

Reproducibilidad

$$u(Rep) = 0,0707$$

$$u(Rep) = 0,0707/\sqrt{2} = 0,050$$

Cálculo de la incertidumbre estándar combinada

$$u_c (V_2 \text{ 10 mL}) = \sqrt{(0,0115)^2 + (4,0825 \times 10^{-02})^2 + (3,0311 \times 10^{-03})^2 + (0,050)^2}$$

$$u_c (V_2 \text{ 10 mL}) = 0,0656$$

$$U_{exp}(V_2) = 0,065 \times 2 = 0,131$$

Volumen medio gasto de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ en el blanco = $19.95 \pm 0,13$

$u(Cal)$	0,023	0,0115
$u(res)$	0,1	$4,0825 \times 10^{-02}$
$u(T^\circ)$	0,003	$3,0311 \times 10^{-03}$
$u(Rep)$	0,0707	0,0656
	$u_c (V_2)$	0,065
	$U_{exp}(V_2)$	0,131
V_b	19,95	0,13
medio		

Anexo 6.2.4

Coefficiente de sensibilidad y contribución

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad de la concentración del $K_2Cr_2O_7$ (C_1) usando la Ec.68**

$$\frac{\partial C_2}{\partial C_1} = \frac{10}{19,95} = 5,013 \times 10^{-01}$$

$$contribución = (u(C_1))^2 \times \left(\frac{\partial C_2}{\partial C_1}\right)^2$$

$$contribución = (1,089 \times 10^{-07})^2 \times (0,5013)^2 = 2,980 \times 10^{-15}$$

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad del volumen del $K_2Cr_2O_7$ (V_1) usando la Ec.69**

$$\frac{\partial C_2}{\partial V_1} = \frac{0,9989}{19,95} = 0,05007$$

$$contribución = (0,01416)^2 \times (0,050070)^2 = 5,02 \times 10^{-07}$$

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad del volumen del $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación del blanco (V_2) usando la Ec.70**

$$\frac{\partial C_2}{\partial V_2} = -\frac{0,9989 \times 10}{(19,95)^2} = -0,0251$$

$$contribución = (0,0656)^2 \times (-0,0251)^2 = 2,71 \times 10^{-06}$$

Sumatoria cuadrática de las contribuciones

$$\sum = contribución (C_1) + contribución (V_1) + contribución (V_2)$$

$$\sum = 2,98 \times 10^{-15} + 5,02 \times 10^{-07} + 2,71 \times 10^{-06} = 3,21 \times 10^{-06}$$

$$u_c(C_2) = \sqrt{\sum \text{ de la contribuciones}}$$

$$u_c(C_2) = \sqrt{3,21 \times 10^{-06}} = 1,792 \times 10^{-03}$$

$$U_{exp}(C_2) = u_c(C_2) \times 2$$

$$U_{exp}(C_2) = 1,792 \times 10^{-03} \times 2 = 3,58 \times 10^{-03}$$

Concentración de $K_2Cr_2O_7$ reportado en Eq/L

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$N = \frac{0,9997 \times 100000}{19,95}$$

$$N_{FeSO_4} = 0,5007$$

$$N_{FeSO_4} = 0,5007 \pm U_{exp}$$

$$N_{FeSO_4} = \mathbf{0,5007 \pm 3,58 \times 10^{-03}}$$

Cálculo para obtener el % de contribución de incertidumbre de cada una de las Magnitudes.

$$Contribución \% (x_i) = \frac{Contribución}{Suma cuadrática} \times 100$$

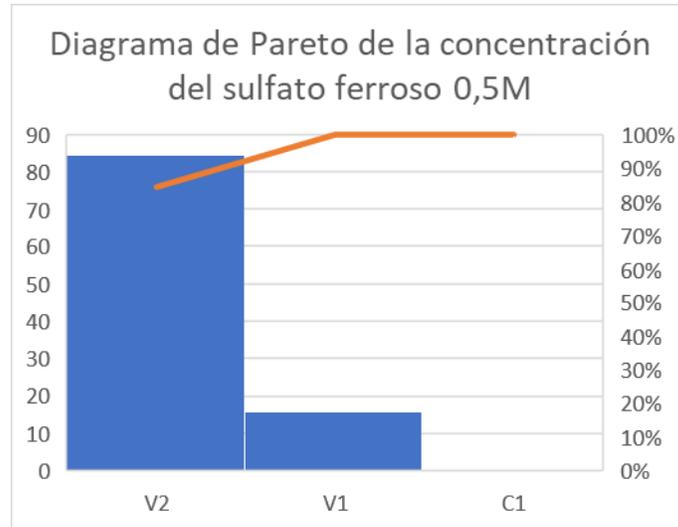
$$Contribución \% (C_1) = \frac{2,98 \times 10^{-15}}{3,21 \times 10^{-06}} \times 100 = 9,3 \times 10^{-08}\%$$

$$Contribución \% (V_1) = \frac{5,02 \times 10^{-07}}{3,21 \times 10^{-06}} \times 100 = 15,6\%$$

$$Contribución \% (V_2) = \frac{2,71 \times 10^{-06}}{3,21 \times 10^{-06}} \times 100 = 84,4\%$$

La primera magnitud de entrada que más contribuye a incertidumbre en la concentración estandarizada de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ al 0,5 M (C_2), es el volumen de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación del blanco (V_2) con un 84,4% de contribución, la segunda es la magnitud es el volumen de $K_2Cr_2O_7$ adicionado a la muestra (V_1) contribuyendo con 15,6% y la que menos contribuye es la concentración del $K_2Cr_2O_7$ (C_1), con un

$9,3 \times 10^{-08}\%$, esta información se observa de manera graficada en la siguiente diagrama de Pareto.



Anexo 6.3

Estimación de la incertidumbre de C.org para el nivel bajo

Para la estimación de la incertidumbre de C.org se toman en cuenta el mesurando o fuentes de incertidumbre medibles que se encuentran dentro del siguiente modelo matemático (Ec.52).

Donde las magnitudes de entradas de incertidumbre a medir son las siguientes: volumen del blanco (V_b), volumen de la muestra (V_m), concentración estandarizada de sulfato de hierro (C_2) y masa de la muestra (m_m).

Anexo 6.3.1

Calculo de la incertidumbre del volumen de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación del blanco (V_2)

Puesto que este cálculo ya se realizó anteriormente, únicamente se retoman los datos.

$V_b(mL)$	Origen de la información	Valor	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar
$u(Cal)$	Certif. Calibración	N. A	0,023	Tipo B, distribución normal	0,0115
$u(res)$	Declarado por el fabricante	0,1	0,1	Tipo B, distribución rectangular	0,0408
$u(T^\circ)$	Experimental	N. A	$3,0311 \times 10^{-03}$	Tipo B	$3,0311 \times 10^{-03}$
$u(Rep)$	Experimental	19,95	0,0707	Tipo A	0,05
$u_c (Vol_{muestra})$					0,06

$$u_c (V_b) = \sqrt{(0,0115)^2 + (0,0408)^2 + (3,0311 \times 10^{-03})^2 + (0,05)^2} = 0,0656$$

Anexo 6.3.2

Cálculo de la incertidumbre del volumen de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación de la muestra (V_m)

El cálculo para determinar la incertidumbre del volumen de sulfato de hierro gasto en la titulación de la muestra (V_m), tiene la misma condición de cálculo para la estimación de la incertidumbre del volumen de $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la titulación del blanco (V_2), por lo tanto solo se retoman los datos, únicamente en la magnitud de entrada donde los datos cambian es en la repetibilidad, los datos son: el valor de la repetibilidad, el cual se toma del promedio calculado del $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en las 6 réplicas de la concentración del nivel bajo y la incertidumbre se toma de la desviación estándar calculada del mismo lote de la 6 réplicas del nivel bajo respectivamente.

$V_m(mL)$	Origen de la información	Valor	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar
$u(Rep)$	Experimental	17,7	0,063	Tipo A	0,026

Usando la Ec 26

$$u(Rep) = \frac{0,063}{\sqrt{6}} = 0,026$$

$V_m(mL)$	Origen de la información	Valor	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar
$u(Cal)$	Certif. Calibración	N. A	0,023	Tipo B, distribución normal	0,0115
$u(res)$	Declarado por el fabricante	0,1	0,1	Tipo B, distribución rectangular	0,0408
$u(T^\circ)$	Experimental	N. A	$3,0311 \times 10^{-03}$	Tipo B	$3,0311 \times 10^{-03}$
$u(Rep)$	Experimental	17,7	0,063	Tipo A	0,026
$u_c(Vol_{muestra})$					0,049

$$u_c(V_m) = \sqrt{(0,0115)^2 + (0,0408)^2 + (3,0311 \times 10^{-03})^2 + (0,026)^2} = 0,049$$

Anexo 6.3.3

Cálculo de la incertidumbre de la concentración estandarizada de $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,5N (C_2)

$$u(C_2) = \text{Incertidumbre original} / \text{Factor } K$$

$$u(C_2) = 0,0040 / 2 = 0,002$$

$C_2(Eq/L)$	Origen de la información	Valor	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar
C_2	Experimental	0,5007	0,0036	Tipo A	$1,793 \times 10^{-03}$

El valor 0,5007 fue tomado del cálculo de la concentración normal del sulfato de hierro heptahidratado en el acápite anterior de igual manera la incertidumbre original.

Anexo 6.3.4

Cálculo de la incertidumbre de la masa de la muestra (m_m)

Para el cálculo de la incertidumbre de la masa de la muestra como magnitudes de entradas se toman las siguientes variables: calibración, resolución, repetibilidad.

$$u_{exp}(Cal) = 0,0002$$

$$u(Cal) = 0,0002/2 = 1 \times 10^{-04}$$

$$u(res) = 0,0001$$

Usando la Ec.27

$$u(res) = \frac{0,0001}{2\sqrt{3}} = 2,887 \times 10^{-05}$$

$$u(Rep) = \frac{8,1650 \times 10^{-05}}{\sqrt{3}} = 3,33 \times 10^{-05}$$

$$u_c(m_m) = \sqrt{(0,0001)^2 + (2,887 \times 10^{-05})^2 + (3,33 \times 10^{-05})^2} = 1,093 \times 10^{-04}$$

m_m (g)	Origen de la información	Valor	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre estándar
$u(Cal)$	Certif. Calibración	N. A	0,0002	Tipo B, distribución normal	0,0001
$u(res)$	Declarado por el fabricante	0,0001	N. A	Tipo B, distribución rectangular	$2,887 \times 10^{-05}$
$u(Rep)$	Experimental	0,05001	0,0001	Tipo A	$3,33 \times 10^{-05}$
u_c (masa muestra)					$1,093 \times 10^{-04}$

Coefficientes de sensibilidad y contribuciones

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad del volumen del $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en el blanco (V_b) usando la Ec. 71**

$$\frac{\partial C.O}{\partial V_b} = \frac{0,5007}{0,5001} = 1,001$$

$$\text{contribución} = (\text{Incertidumbre estándar del } V_B)^2 \times \left(\frac{\partial C.O}{\partial V_b}\right)^2$$

$$\text{contribución} = (0,066)^2 \times (1,001)^2 = 4,31 \times 10^{-03}$$

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad del volumen del $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ gastado en la muestra (V_m) usando la Ec. 72**

$$\frac{\partial C.O}{\partial V_m} = -\frac{0,5007}{0,5001} = -1,001$$

$$\text{contribución} = (\text{Incertidumbre estándar del } V_m)^2 \times \left(\frac{\partial C.O}{\partial V_m}\right)^2$$

$$\text{contribución} = (0,0497)^2 \times (-1,001)^2 = 2,48 \times 10^{-03}$$

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad de la concentración estandarizada de $Fe_2SO_4 \cdot 7 H_2O$ 0.5M (C_2) usando la Ec 73**

$$\frac{\partial C.O}{\partial C_2} = \frac{19,95 - 17,7}{0,05001} = 4,499$$

$$\text{contribución} = (\text{Incertidumbre estándar del } C_2)^2 \times \left(\frac{\partial C.O}{\partial C_2}\right)^2$$

$$\text{contribución} = (1,793 \times 10^{-03})^2 \times (4,499)^2 = 6,51 \times 10^{-05}$$

- **Cálculo del coeficiente de sensibilidad de la masa de la muestra (m_m) usando la Ec.74**

$$\frac{\partial C.O}{\partial m_m} = -\frac{(19,95 - 17,7) \times 0,5007}{(0,5001)^2} = -4,505$$

$$\text{contribución} = (\text{Incertidumbre estándar del } m_m)^2 \times \frac{\partial C.O^2}{\partial m_m}$$

$$\text{contribución} = (0,00013642)^2 \times (-4,5756)^2 = 2,42 \times 10^{-07}$$

Sumatoria cuadrática de las contribuciones

$$\sum = \text{contribución } (V_b) + \text{contribución } (V_m) + \text{contribución } (C_2) + \text{contribución } (m_m)$$

$$\sum = 4,31 \times 10^{-03} + 2,48 \times 10^{-03} + 6,51 \times 10^{-05} + 2,42 \times 10^{-07} = 6,9 \times 10^{-03}$$

$$u_c(C.org) = \sqrt{\sum \text{ de la contribuciones}}$$

$$u_c(C.org) = \sqrt{6,9 \times 10^{-03}} = 0,08$$

$$U_{exp}(C.org) = u_c(C.org) \times 2$$

$$U_{exp}(C.org) = 0,08 \times 2 = 0,16$$

Concentración de *C.org* reportado en g/kg

$$C.orgg/kg = \frac{[V_b - V_m] \times C_2 \times 0,003 \times 1000 \times 1,3}{m_m}$$

$$C.orgg/kg = \frac{[19,95 - 17,7] \times 0,5007 \times 0,003 \times 1,3}{0,5001} \times 1000$$

$$C.orgg/kg = 8,79$$

$$C.orgg/kg = 8,79 \pm U_{exp}$$

$$C.orgg/kg = \mathbf{8,79} \pm 0,16$$

Análisis de la contribución de los componentes de incertidumbre del nivel bajo

Cálculo para obtener el % de contribución de incertidumbre de cada una de las magnitudes.

$$\text{Contribución \% } (x_i) = \frac{\text{Contribución}}{\text{Suma cuadrática}} \times 100$$

$$\text{Contribución \% } (V_b) = \frac{4,31 \times 10^{-03}}{6,9 \times 10^{-03}} \times 100 = 62\%$$

$$\text{Contribución \% } (V_m) = \frac{2,48 \times 10^{-03}}{6,9 \times 10^{-03}} \times 100 = 36\%$$

$$\text{Contribución \% } (C_2) = \frac{6,51 \times 10^{-05}}{6,9 \times 10^{-03}} \times 100 = 0,94\%$$

$$\text{Contribución \% } (m_m) = \frac{2,42 \times 10^{-07}}{6,9 \times 10^{-03}} \times 100 = 3,5 \times 10^{-03}$$

Digrama de Pareto de la contribución porcentual de incertidumbre de cada una de las magnitudes

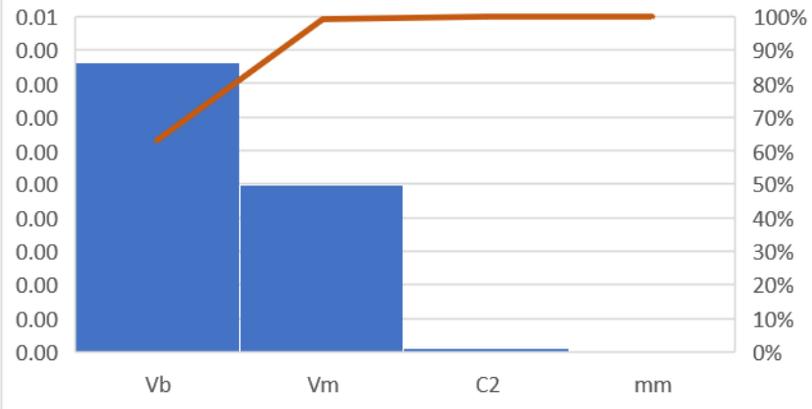


Tabla de distribución de *t* - student

Valor de <i>t</i> para un intervalo de confianza de Valor crítico de <i>t</i> para valores <i>P</i> de numero de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
	0.1	0.05	0.02	0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.3	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.6
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
11	1.80	2.20	2.72	3.11
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	2.1	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.7	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.4	2.68

Nota: Los valore críticos de *t* son adecuados para un contraste de dos. Para un contraste de *una* cola el valor se toma de la columna para *dos veces* el valor de *P* deseado, es decir, para un contraste de una cola, $P = 0.005$, 5 grados de libertad, el valor critico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual a 2,02. *Fuente:* Modificado de Miller y Miller (2002. p. 263)

Anexo 8

Tablas de valores críticos de F para un contraste de una cola ($P = 0.05$)

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
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 y v_2 = número de grados de libertad del denominador.

Fuente: Miller y Miller (2002. p. 264)

Tabla de los pesos atómicos estándar (2013), con sus respectivas incertidumbres

Order of atomic number			Unabridged table	Uncertainty
Atomic number	Element name	Symbol	Standard atomic weight	u (Element)
1	hydrogen	H	[1.007 84, 1.008 11]	±0.000 000 05
2	helium	He	4.002 602(2)	±0.000002
3	lithium	Li	[6.938, 6.997]	±0.00024
4	beryllium	Be	9.012 1831(5)	±0.00000005
5	boron	B	[10.806, 10.821]	±0.0002
6	carbon	C	[12.0096, 12.0116]	±0.000 027
7	nitrogen	N	[14.006 43, 14.007 28]	±0.000 004
8	oxygen	O	[15.999 03, 15.999 77]	±0.000 001
9	fluorine	F	18.998 403 163(6)	±0.000000006
10	neon	Ne	20.1797(6)	±0.0006
11	sodium	Na	22.989 769 28 (2)	±0.00000002
12	magnesium	Mg	[24.304, 24.307]	±0.00024
13	aluminium (aluminum)	Al	26.981 5385(7)	±0.00000007
14	silicon	Si	[28.084, 28.086]	± 0.000 007
15	phosphorus	P	30.973 761 998(5)	±0.000000005
16	sulfur	S	[32.059, 32.076]	±0.00002
17	chlorine	Cl	[35.446, 35.457]	±0.0009
18	argon	Ar	39.948(1)	±0.001
19	potassium	K	39.0983(1)	±0.0001
20	calcium	Ca	40.078(4)	±0.004
21	scandium	Sc	44.955 908(5)	±0.000005
22	titanium	Ti	47.867(1)	±0.001
23	vanadium	V	50.9415(1)	±0.0001
24	chromium	Cr	51.9961(6)	±0.0006
25	manganese	Mn	54.938 044(3)	±0.000003
26	iron	Fe	55.845(2)	±0.002
27	cobalt	Co	58.933 194(4)	±0.000004
28	nickel	Ni	58.6934(4)	±0.0004
29	copper	Cu	63.546(3)	±0.003

Continuación

Atomic number	Element name	Symbol	Standard atomic weight	u (Element)
30	zinc	Zn	65.38(2)	±0.02
31	gallium	Ga	69.723(1)	±0.001
32	germanium	Ge	72.630(8)	±0.008

Certificado de calibración de la balanza analítica marca: KERN, serie: WB15AR0244, modelo: ABS-220-4N

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración NI-MCCC-01	 Oficina Nacional de Acreditación Laboratorio de Calibración Código de Acreditación: CC-000-18-02
---	---	---

Identificación del certificado: Código de servicio: Fecha de calibración: Fecha de emisión del certificado: Objeto de calibración: Fabricante/Marca: Serie: Modelo: Rango de medida: Resolución: Código de identificación: Solicitante: Dirección del solicitante: Lugar de calibración:	NI-MC-B-166-2021 NI-CS-0087-21 2021-04-07 2021-04-08 Balanza Analítica KERN WB15AR0244 ABS-220-4N 0 g a 220 g 0,0001 g EM-001 Universidad Nacional Agraria km 12,5 Carretera Norte Laboratorio de Suelo y Agua
---	---



Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración

Masa de referencia	Indicación del equipo	Error	Repetibilidad	Excentricidad máxima	Incertidumbre expandida k = 2
g	g	g	g	g	g
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002
1,0000	0,9999	-0,0001			0,0002
3,0000	3,0001	0,0001			0,0004
5,0000	5,0000	0,0000			0,0003
10,0000	10,0000	0,0000			0,0003
50,0002	50,0001	-0,0001			0,0005
100,0003	100,0000	-0,0003			0,0008
200,0006	200,0000	-0,0006			0,0016

Condiciones ambientales

Temperatura: (22,5 ± 0,3) °C
 Hum R: (59,9 ± 1,3) % HR

Presión atmosférica

Presión: (1001 ± 10) hPa

Método de calibración

Las pruebas se realizaron con NI-MCIT-B-01 Instrucción para calibración de instrumentos de pesaje de funcionamiento no automático.

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las medición se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de aproximadamente un 95 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medida, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de los factores de influencia durante la calibración y del equipo sujeto a calibración.

1-Certificado de Calibración emitido dentro del alcance de acreditación con código: LC-000-14-01. 2-Puntos de Calibración realizados con (*) sin tener el elemento de acreditación.

Certificado de calibración de la bureta marca: Pyrex

 <p>Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.</p>	<p>Certificado de Calibración NI-MCCC-01</p>	 <p>Organismo Nacional de Acreditación Laboratorio de Calibración Código de Acreditación: LC-000-00-01</p>
--	--	---

Identificación del certificado:	NI-MC-V-265-2021
Código de servicio:	NI-CS-0087-21
Fecha de calibración:	2021-04-22
Fecha de emisión del certificado:	2021-04-23
Objeto de calibración:	Bureta
Fabricante/Marca:	Pyrex
Serie:	No Aplica (N/A)
Cap. nominal/alcance:	25 ml
División de escala:	0,1 ml
Código de identificación:	B-001
Solicitante:	Universidad Nacional Agraria
Dirección del solicitante:	km 12,5 Carretera Norte
Lugar de calibración:	Laboratorio #1 Metrocal



Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración

Volumen Nominal	Volumen Convencional	Desviación	Incertidumbre expandida k = 2
ml	ml	ml	ml
5,0	5,0262	0,0262	0,023
10,0	10,0536	0,0536	0,023
15,0	14,9963	-0,0137	0,023
20,0	20,0910	0,0910	0,023
25,0	25,0872	0,0872	0,023

Condiciones ambientales

Temperatura: (19,9 ± 0,4) °C
Hum R.: (50,8 ± 1,3) % HR

Presión atmosférica

Presión: (100100 ± 10) Pa

Método de calibración

Las pruebas se realizaron utilizando el NI-MCIT-V-01 Instrucción para calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las mediciones se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de aproximadamente un 95 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medida, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de los factores de influencia durante la calibración y del equipo

1-Certificado de Calibración emitido dentro del alcance de acreditación con código LC-000-00-01. 2-Puntos de Calibración marcados con (*) son fuera del alcance de acreditación.

Bello Horizonte VI etapa, casa #135. De la Iglesia Pío X, 350 m al este Managua, Nicaragua

Email: info@metrocal.co.ni web: www.metrocal.co.ni

Teléfono: (505) 2249 0758

v1 Ap NI-MCPS-26 v1 2020-12-01

Certificado de calibración del matraz volumétrico, marca: Pyrex, cód: M-001

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración NI-MCCC-01	 Oficina Nacional de Acreditación Laboratorio de Calibración Código de Acreditación: LC-002-14-R1
---	--	---

Identificación del certificado:	NI-MC-V-267-2021
Código de servicio:	NI-CS-0087-21
Fecha de calibración:	2021-04-22
Fecha de emisión del certificado:	2021-04-23
Objeto de calibración:	Matraz Volumétrico
Fabricante/Marca:	Pyrex
Serie:	No Aplica (N/A)
Cap. nominal/alcance:	250 ml
División de escala:	No Aplica (N/A)
Código de identificación:	M-001
Solicitante:	Universidad Nacional Agraria
Dirección del solicitante:	km 12,5 Carretera Norte
Lugar de calibración:	Laboratorio #1 Metrocal



Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración

Volumen Nominal	Volumen Convencional	Desviación	Incertidumbre expandida k = 2
ml	ml	ml	ml
250,0	250,1022	0,1022	0,023

Condiciones ambientales	Presión atmosférica
Temperatura: (19,9 ± 0,4) °C	Presión: (100100 ± 10) Pa
Hum R.: (50,8 ± 1,3) % HR	

Método de calibración

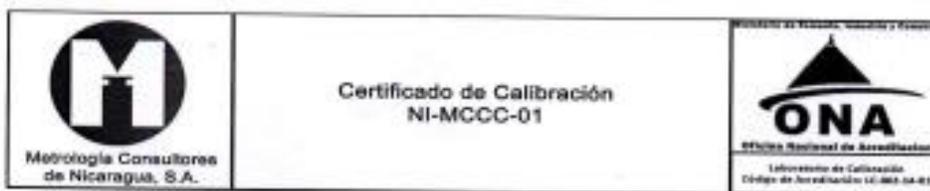
Las pruebas se realizaron utilizando el NI-MCIT-V-01 Instrucción para calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las medición se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de aproximadamente un 95 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medida, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de los factores de influencia durante la calibración y del equipo

1-Certificado de Calibración emitido dentro del alcance de acreditación con código LC-002-14-R1. 2-Puntos de Calibración marcados con (*), son fuera del alcance de acreditación.

Certificado de calibración del matraz volumétrico, marca: Pyrex, cód: M-002



Identificación del certificado: NI-MC-V-268-2021
Código de servicio: NI-CS-0087-21
Fecha de calibración: 2021-04-22
Fecha de emisión del certificado: 2021-04-23
Objeto de calibración: Matraz Volumétrico
Fabricante/Marca: Pyrex
Serie: No Aplica (N/A)
Cap. nominal/alcance: 250 ml
División de escala: No Aplica (N/A)
Código de identificación: M-002
Solicitante: Universidad Nacional Agraria
Dirección del solicitante: km 12,5 Carretera Norte
Lugar de calibración: Laboratorio #1 Metrocal



Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración

Volumen Nominal	Volumen Convencional	Desviación	Incertidumbre expandida k = 2
ml	ml	ml	ml
250.0	249,8917	-0,1083	0,023

Condiciones ambientales

Temperatura: (19,8 ± 0,4) °C
 Hum R.: (46,3 ± 1,3) % HR

Presión atmosférica

Presión: (100090 ± 10) Pa

Método de calibración

Las pruebas se realizaron utilizando el NI-MCIT-V-01 Instrucción para calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las medición se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de aproximadamente un 85 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medida, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de los factores de influencia durante la calibración y del equipo

Certificado de calibración de la masa patrón, cód. Ident: EA-004

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración	Código NI-MCCC-01
---	-----------------------------------	-----------------------------

Identificación del certificado:	NI-MC-M-309-2021
Código de servicio:	NI-CS-0437-21
Fecha de calibración:	2021-10-01
Fecha de emisión del certificado:	2021-10-04
Objeto de calibración:	Masa Patrón
Marca/Fabricante:	No aplica (N/A)
Serie:	No Aplica (N/A)
Modelo:	No Aplica (N/A)
Rango:	500 mg
Intervalo de escala:	No Aplica (N/A)
Código de identificación:	EA-004
Solicitante:	Universidad Nacional Agraria
Dirección del solicitante:	km 12,5 Carretera Norte
Lugar de calibración:	Laboratorio # 1 Metrocal

Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración			
Indicación del Patrón	Indicación del Instrumento	Corrección	Incertidumbre expandida K = 2
mg	mg	mg	mg
500,0	509,9	-9,9	0,010

Condiciones ambientales

Temperatura: 21,5 °C ± 0,5 °C
 Humedad relativa: 44,6 % ± 3,1 %



Método de calibración

Comparación Directa: Se comparan directa e instantáneamente los valores proporcionadas por el equipo (instrumento de medición o medida materializada) bajo calibración, contra los valores proporcionados por un patrón.

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las medición se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de al menos 95 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a la Guide to Expression of Uncertainty in Measurement, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de las condiciones durante la calibración y del equipo sujeto a calibración.

Certificado de calibración de la micropipeta, marca Fisher: Brand, serie: RU16912, modelo: Elite, cód. Ident: P-001

 <p>Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.</p>	<p>Certificado de Calibración</p>	<p>Código NI-MCCC-01</p>
--	--	-------------------------------------

Identificación del certificado:	NI-MC-V-264-2021
Código de servicio:	NI-CS-0087-21
Fecha de calibración:	2021-04-22
Fecha de emisión del certificado:	2021-04-23
Objeto de calibración:	Micropipeta
Marca/Fabricante:	Fisher Brand
Serie:	RU16912
Modelo:	Elite
Rango:	1 ml a 10 ml
Intervalo de escala:	0,02 ml
Código de identificación:	P-001
Solicitante:	Universidad Nacional Agraria
Dirección del solicitante:	km 12,5 Carretera Norte
Lugar de calibración:	Laboratorio # 1 Metrocal

Resultados de la calibración

Tabla de resultados de la calibración			
Indicación del Patrón	Indicación del Instrumento	Corrección	Incertidumbre expandida K = 2
ml	ml	ml	ml
1,026	1,00	0,026	0,020
4,993	5,00	-0,007	0,020
9,979	10,00	-0,021	0,020

Condiciones ambientales

Temperatura: 20,9 °C ± 0,5 °C
 Humedad relativa: 54,5 % ± 3,1 %

Método de calibración

Comparación Directa: Se comparan directa e instantáneamente los valores proporcionados por el equipo (instrumento de medición o medida materializada) bajo calibración, contra los valores proporcionados por un patrón.

Incertidumbre de los datos

La incertidumbre de las medición se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura k = 2, con el que se alcanza un nivel de confianza de al menos 95 %. La incertidumbre estándar de la medición se determinó conforme a la Guide to Expression of Uncertainty in Measurement, BIPM-IEC-IFCC-ISO-IUPAC-IUPAP-OIML, en la cual se toma en cuenta la incertidumbre de los patrones, del método de calibración, de las condiciones durante la calibración y del equipo sujeto a calibración.



Datos de International Soil-Analytical Exchange

Código de muestra: 866

Origen: Netherlands

Tipo: Loess soil

Sample/ Determinand	Assigned Value	Units	NDA st.dev	NDA rel. st.dev (%)	Nobs numerical	Nobs LCV	Median	MAD	Model Mean	Uncer- tainty
866										
C - org others (W&B a.o.)	8.77	g/kg	1.05	12.0	38	0	8.84	0.74	8.769	0.213
TIC=Tot.Inorg C(as CaCO3)	0.233	%	0.294	126.3	10	11	0.226	0.173	0.2325	0.1161
TOC=Total Org. C	9.91	g/kg	0.88	8.9	38	0	10.00	0.63	9.906	0.179
TC=Total C (org.+inorg.)	10.4	g/kg	0.4	4.3	35	0	10.4	0.3	10.41	0.09
<i>Active Lime (as CaCO3)</i>		%			1	1	1.00			
Org.matter (L.O.I.)	3.01	%	0.32	10.8	26	0	2.96	0.24	3.008	0.079
EC-SC (ISO 11265)	21.3	mS/m	1.8	8.6	31	0	21.5	1.3	21.30	0.41
pH - CaCl2	5.59	...	0.09	1.6	28	0	5.60	0.06	5.595	0.021
pH - H2O	5.87	...	0.19	3.2	80	0	5.89	0.13	5.870	0.026
pH - KCl	5.31	...	0.11	2.0	37	0	5.31	0.07	5.315	0.022
Fraction < 2 µm	12.5	%	2.6	20.7	23	0	12.9	1.8	12.48	0.67
Fraction < 16 µm	34.9	%	4.9	13.9	11	0	34.7	3.4	34.95	1.83
Fraction < 63 µm	93.5	%	1.6	1.8	19	0	93.2	1.1	93.52	0.47
Fraction > 63 µm	6.64	%	1.47	22.2	19	0	6.78	0.97	6.645	0.423

Código de muestra: 860

Origen: Netherlands

Tipo: Sediment

Sample/ Determinand	Assigned Value	Units	NDA st.dev	NDA rel. st.dev (%)	Nobs numerical	Nobs LCV	Median	MAD	Model Mean	Uncer- tainty
860										
C - org others (W&B a.o.)	21.4	g/kg	3.4	16.1	39	0	21.2	2.4	21.35	0.69
TIC=Tot.Inorg C(as CaCO3)	8.68	%	1.08	12.5	30	0	8.66	0.76	8.683	0.247
TOC=Total Org. C	31.3	g/kg	4.5	14.4	38	0	30.7	3.1	31.32	0.91
TC=Total C (org.+inorg.)	45.3	g/kg	1.8	3.9	35	0	45.0	1.2	45.32	0.37
<i>Active Lime (as CaCO3)</i>		%			3	0	2.70	0.28		
Org.matter (L.O.I.)	5.47	%	0.43	7.9	28	0	5.35	0.26	5.465	0.102
EC-SC (ISO 11265)	63.7	mS/m	3.5	5.6	32	0	63.2	2.6	63.74	0.78
pH - CaCl2	7.40	...	0.19	2.5	30	0	7.40	0.13	7.403	0.043
pH - H2O	7.59	...	0.19	2.6	79	0	7.58	0.13	7.586	0.027
pH - KCl	7.49	...	0.17	2.2	38	0	7.50	0.11	7.489	0.034
Fraction < 2 µm	12.8	%	3.4	26.2	24	0	12.7	2.2	12.84	0.86
Fraction < 16 µm	27.8	%	6.1	22.1	12	0	27.2	4.1	27.76	2.21
Fraction < 63 µm	44.1	%	8.9	20.2	20	0	43.5	5.9	44.11	2.50
Fraction > 63 µm	57.9	%	4.6	8.0	19	0	57.3	3.1	57.93	1.33

Código de muestra: 854

Origen: Netherlands

Tipo: Riverclay

Sample/ Determinand	Assigned Value	Units	NDA st.dev	NDA rel. st.dev (%)	Nobs numerical	Nobs LCV	Median	MAD	Model Mean	Uncer- tainty
854										
C - org others (W&B a.o.)	35.4	g/kg	6.5	18.3	46	0	35.1	4.4	35.41	1.19
TIC=Tot.Inorg C(as CaCO3)	8.38	%	1.57	18.8	34	0	8.29	1.09	8.383	0.337
TOC=Total Org. C	53.2	g/kg	3.1	5.9	48	0	52.3	2.3	53.23	0.57
TC=Total C (org.+inorg.)	63.4	g/kg	2.0	3.2	40	0	63.1	1.5	63.42	0.40
Org.matter (L.O.I.)	11.2	%	0.7	6.4	34	0	11.1	0.5	11.23	0.15
Active Lime (as CaCO3)	3.32	%	1.33	39.9	8	0	3.53	0.98	3.323	0.586
EC-SC (ISO 11265)	25.0	mS/m	3.7	15.0	39	0	24.6	2.7	24.97	0.75
pH - CaCl2	7.15	...	0.09	1.3	28	0	7.14	0.07	7.149	0.022
pH - H2O	7.50	...	0.21	2.7	96	0	7.50	0.14	7.499	0.026
pH - KCl	7.07	...	0.20	2.8	41	0	7.09	0.13	7.069	0.039
Fraction < 2 µm	26.5	%	7.4	28.1	33	0	26.0	5.0	26.47	1.62
Fraction < 16 µm	60.3	%	7.1	11.7	9	0	59.7	4.9	60.29	2.94
Fraction < 63 µm	89.1	%	2.8	3.1	18	0	88.6	2.0	89.14	0.82
Fraction > 63 µm	10.4	%	2.9	28.2	17	0	11.0	2.2	10.43	0.89

Certificado del dicromato de potasio



Certificate of Analysis

1.04864.0500 Potassium dichromate for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur

Batch K45119864

Batch Values

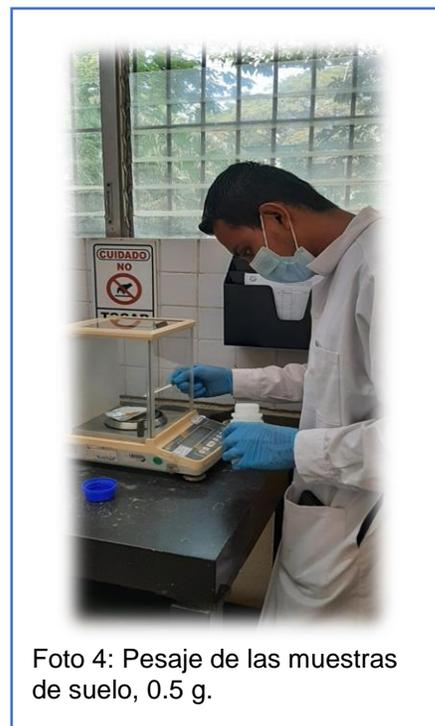
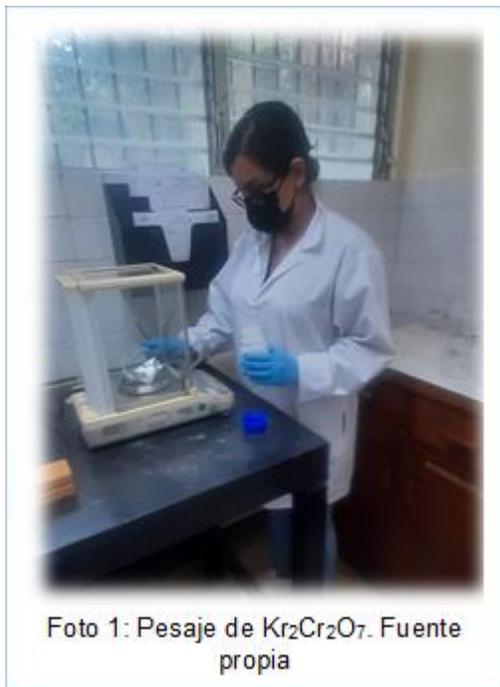
Assay (iodometric, calc. on dried substance)	99.9	%
Insoluble matter	< 0.005	%
Chloride (Cl)	≤ 0.001	%
Sulphate (SO ₄)	≤ 0.005	%
Ca (Calcium)	≤ 0.002	%
Cu (Copper)	≤ 0.001	%
Fe (Iron)	≤ 0.001	%
Na (Sodium)	≤ 0.02	%
Pb (Lead)	≤ 0.005	%
Loss on drying (130 °C)	0.01	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 22.11.2013
 Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.11.2018

Dr. Matthias Rompel
 Responsible laboratory manager quality control

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000
 SALSA Version 137007 /990000071351/ Date: 22.11.2013

Page 1 of 1





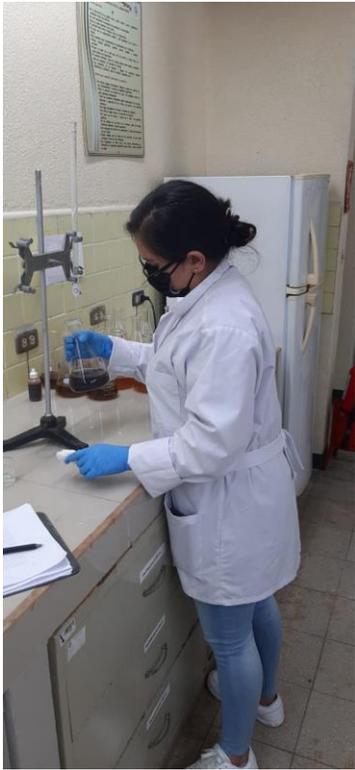


Foto 9: Proceso de titulación con $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$



Foto 10: Proceso de titulación con $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$