



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(A) EN QUÍMICA
AMBIENTAL**

TÍTULO: Validación y Estimación de la Incertidumbre de una Metodología Analítica para Determinar la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en Aguas Residuales por el Método Colorimétrico de Reflujo Cerrado, Laboratorio Ambiental PRONIC de Nicaragua, Febrero – Noviembre 2022

Autores:

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán

Tutor:

M.Sc. Josseth Díaz Domínguez

Asesora:

M.Sc. Indira Mejía Cruz

Managua, Enero 2023

Validación y Estimación de la Incertidumbre de una Metodología Analítica para Determinar la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en Aguas Residuales por el Método Colorimétrico de Reflujo Cerrado, Laboratorio Ambiental PRONIC de Nicaragua, Febrero – Noviembre 2022



Dedicatoria

Dedico esta Monografía a mi familia, principalmente a mis Padres:

Juana Aguilar Icabalceta y Denis Rodríguez Morales

Por apoyarme y motivarme constantemente en todo momento, por formarme con valores y principios para ser un ciudadano de bien.

A mi único hijo, quien es mi motivación de vida; con este esfuerzo le ofrezco un mejor futuro y ejemplo de vida.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar



Dedicatoria

Dedico esta Monografía a mi familia, principalmente a mis Padres:

María Guzmán Huerta y Eloy Agustín Zapata

Por la dedicación que tuvieron para forjarme en lo que soy, por su apoyo y consejos que me han brindado a lo largo de mi vida.

A mis hermanas y a mi hermano, quienes me enseñaron que podía llegar a ser todo lo que me propusiera en la vida.

Bra. Alejandra Marina Zapata Guzmán.



Agradecimiento

Agradecemos principalmente a Dios, que ha estado con nosotros en cada momento de nuestras vidas; brindándonos habilidades e inteligencia para forjarnos en lo que anhelamos.

Un agradecimiento especial a la Gerente General de *Laboratorio Ambiental Pronic*, MSc Winnie Zambrana Orozco; por facilitarnos información bibliográfica, condiciones y equipos necesarios para la realización de nuestro trabajo.

A nuestro Tutor, MSc Josseth Díaz Domínguez; por habernos brindado su apoyo, tiempo y paciencia en la revisión de este trabajo.

A nuestra Asesora y Coordinadora de la carrera de Química Ambiental, MSc Indira Mejía Cruz; por brindarnos asesoría y seguimiento hasta la culminación de este trabajo.

A nuestros docentes de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de UNAN-Managua, especialmente al Dr. Jorge Pitty Tercero; por transmitirnos sus conocimientos en nuestra formación profesional.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar

Bra. Alejandra Marina Zapata Guzmán.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Carta Aval del Tutor

Por medio de la presente doy fe que el trabajo de tesis denominado: *Validación y Estimación de la Incertidumbre de una Metodología Analítica para Determinar la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en Aguas Residuales por el Método Colorimétrico de Reflujo Cerrado, Laboratorio Ambiental PRONIC de Nicaragua, Febrero – Noviembre 2022*, elaborado por los bachilleres: **Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar** y **Alejandra Marina Zapata Guzmán**, cumple con los requisitos metodológicos y con la estructura definida para Tesis de licenciatura establecida por la UNAN-Managua.

La investigación y el documento fue desarrollado bajo una fundamentación lógica con el apoyo de una variedad de fuentes bibliográficas sustentada con trabajo en laboratorio desarrollado con mucha científicidad, responsabilidad, ética, autocritica, objetividad y alto grado de independencia, aplicando todos los pasos de la investigación científica, por lo que se establece que: **cumple con los requerimientos necesarios para optar al grado de licenciados en Química Ambiental.**

Dado en la ciudad de Managua a los 05 días del mes de diciembre del 2022

M.Sc. Josseth Díaz Domínguez

Docente investigador
Coordinador del Centro
Nacional de Innovación Abierta
“Carlos Martínez Rivas”
UNAN-Managua

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán

M.Sc. Indira Mejía Cruz

Coordinadora de la carrera Química Ambiental
Departamento de Química
UNAN-Managua



Resumen

El presente trabajo describe la validación y estimación de la incertidumbre por medio del método analítico para determinar la demanda química de oxígeno, por el método colorimétrico de reflujo cerrado en muestras de aguas residuales domésticas, en el laboratorio de aguas residuales del laboratorio ambiental PRONIC. Esto con la finalidad de que el laboratorio demuestre que el método analítico proporciona resultados fiables, siguiendo la metodología establecida por el standard methods for the examination of water and wastewater 23 ed. Washington.; apha.

Se evaluaron los parámetros de validación del método analítico: Exactitud, precisión, linealidad del sistema y método, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre; de acuerdo a la política establecida por la oficina nacional de acreditación (ONA, 2012)

Al comparar los resultados obtenidos con los criterios de aceptación establecidos según la política establecida por la oficina nacional de acreditación, estos resultados ser satisfactorios, es decir el método presenta un buen desempeño en el análisis de la demanda química de oxígeno.

En la estimación de la incertidumbre en la validación de la DQO se tomó en cuenta todas las variables y fuentes que generan incertidumbre y se obtuvo un valor de 0.97 mgO₂/L de incertidumbre expandida, utilizando un factor de cobertura de 2, con una confiabilidad de 95%; Así mismo se determinó que la fuente que aporta mayor incertidumbre a los resultados es la calibración del equipo termostato seco (Digestor) tomada del certificado de calibración.

Palabras claves: Validación, método, incertidumbre, evaluación, espectrofotometría.

Contenido

Dedicatoria.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Carta Aval del Tutor	iv
Resumen.....	v
Índice de Tablas	x
Índice de Ilustraciones	xii
CAPÍTULO I	1
1.1. Introducción	2
1.2. Planteamiento del Problema.....	4
1.2.1 Análisis crítico	6
1.2.1.1 Árbol de Problemas	6
1.3. Justificación	7
1.4. Objetivos de la Investigación.....	8
1.4.1. Objetivo General.....	8
1.4.2. Objetivos Específicos.....	8
CAPÍTULO II.....	9
2.1. Marco Teórico.....	10
2.1.1. Antecedentes Investigativos.....	10
2.1.2. Terminología.....	11
2.1.3. Marco Conceptual de la Variable Independiente.....	19
2.1.3.1 Espectrofotometría.....	19
2.1.3.1.1. Propiedades de la luz.....	19
2.1.3.1.2. Absorción de la luz.	21

2.1.3.1.3. Gravimetría	23
2.1.4. Generalidades de los Métodos a Validar	24
2.1.4.1. <i>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</i>	24
2.1.4.2. <i>Interferencias y Limitaciones</i>	26
2.1.5. Marco Conceptual de la Variable Dependiente	28
2.1.5.1. <i>Sistema de Gestión de Calidad</i>	28
2.1.5.2. <i>Normalización</i>	30
2.1.5.3. <i>NTN ISO/IEC 17025 Tercera Edición 2017-11</i>	30
2.1.5.4. <i>Acreditación</i>	32
2.1.5.5. <i>Calibración y Trazabilidad</i>	35
2.1.5.5.1. <i>Calibración</i>	35
2.1.5.5.2. <i>Trazabilidad</i>	35
2.1.6. Requisitos Generales.....	37
2.1.6.1. <i>Política para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración según la Política de la Oficina Nacional de Acreditación</i>	37
2.1.6.2. <i>Pasos para la Validación</i>	38
2.1.6.3. <i>Establecimiento del Protocolo de Validación</i>	38
2.1.6.4. <i>Realización de la Validación</i>	39
2.1.6.4.1. <i>Elaboración del Informe de Validación</i>	39
2.1.6.4.2. <i>Establecimiento y Condiciones del Alcance de la Validación</i>	40
2.1.6.4.2.1. <i>Establecimiento de las Condiciones</i>	40
2.1.6.4.2.2. <i>Establecimiento del Alcance de la Validación</i>	41
2.1.7. Alcance de la Validación Según el Tipo de Procedimiento de Ensayo.....	44
2.1.7.1. <i>Método Normalizado</i>	44
2.1.7.1.1. <i>Selectividad/Especificidad</i>	44
2.1.7.1.2. <i>Estabilidad Analítica de la Muestra</i>	47

2.1.7.1.3. Linealidad del Sistema	50
2.1.7.1.4. Linealidad del Método y Rango.....	52
2.1.7.1.5. Exactitud.....	57
2.1.7.1.5.1. Veracidad.....	57
2.1.7.2. <i>Porcentaje de Recobro</i>	60
2.1.7.3. <i>Precisión</i>	60
2.1.7.3.1. Repetibilidad.....	60
2.1.7.3.2. <i>Precisión Intermedia</i>	60
2.1.7.3.2.1. <i>Reproducibilidad</i>	61
2.1.7.4. <i>Límite de Detección y Límite de Cuantificación</i>	62
2.1.7.5. <i>Robustez</i>	66
2.1.7.6. <i>Incertidumbre</i>	68
2.1.7.6.1. Tipos de Incertidumbres.....	69
2.1.7.6.1.1. <i>Incertidumbre Tipo A</i>	69
2.1.7.6.1.2. <i>Incertidumbre Tipo B</i>	69
2.1.7.6.1.3. <i>Incertidumbre Estándar Combinada</i>	70
2.1.7.6.1.4. <i>Incertidumbre Expandida</i>	70
2.1.7.8. <i>Aseguramiento y Control de la Calidad</i>	70
2.1.7.8.1. Blancos.....	72
2.1.7.8.2. Blancos de Reactivos	72
2.1.7.8.3. Blancos de Muestra.....	72
2.1.7.8.4. Soluciones/ Muestras Fortificadas	72
2.1.7.8.5. Patrones de Medida.....	73
2.1.7.9. <i>Estadística</i>	73
2.1.8.0. Tipos de Errores.....	74

2.1.8.0.1. Errores en las Mediciones Analíticas.....	74
2.1.8.0.2. Errores Determinados (Sistemáticos).....	74
2.1.8.0.3. Errores Indeterminados (Aleatorios).....	75
2.1.8.1. Marco Legal.....	76
2.2. Antecedentes.....	77
2.3. Hipótesis.....	79
CAPÍTULO III.....	80
3.1. Diseño Metodológico/ Marco Metodológico.....	81
3.1.1. Descripción del Ámbito de Estudio.....	81
3.1.2. Tipo de Estudio.....	82
3.1.2.1. El Método.....	82
3.1.2.2. Población y Muestra.....	83
3.1.2.3. Criterios de Inclusión y Exclusión.....	83
3.1.2.3.1. Criterios de Inclusión.....	83
3.1.2.3.2. Criterios de Exclusión.....	84
3.1.3. Variables y Operacionalización.....	85
3.1.4. Operacionalización de Variables.....	87
3.1.5. Materiales y Métodos.....	91
3.1.5.1. Materiales para la Recolectar Información.....	91
3.1.5.2. Materiales para Procesar la Información.....	91
3.1.5.3. Equipos, Reactivos y Materiales de Laboratorio.....	91
3.1.5.3.1. Equipos.....	91
3.1.5.3.2. Reactivos.....	92
3.1.5.3.2. Materiales.....	93
3.1.5.3.2.1. Cristalería.....	93

3.1.5.4. Método	95
3.1.5.4.1. Procedimiento Analítico.	95
3.1.5.4.1.1. Limpieza y Calibración del Material Volumétrico.	95
3.1.5.4.1.2. Procedimiento Utilizado Para la Calibración de Matraz.....	97
3.1.5.4.1.3. Procedimiento Utilizado Para la Calibración de Pipetas.	97
3.1.5.4.1.4. Preparación de Soluciones.	99
3.1.5.4.1.5. Curva de Calibración.....	100
3.1.5.4.1.6. Procedimiento del Análisis.	103
➤ Tratamiento de la Muestra	103
➤ Digestión de la Muestra	103
➤ Selección Longitud de Onda y Medición de Muestra.....	104
3.1.5.4.1.7. Flujoograma Para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno	106
3.2. Evaluación de los Parámetros de Validación	107
3.2.1. Linealidad del Sistema	107
3.2.2. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)	108
3.2.3. Linealidad del Método y Rango.....	109
3.2.4. Exactitud	111
3.2.5. Precisión.....	113
3.2.6. Límites de Confianza Para las Curvas de Calibración de la Demanda Química de Oxígeno en el Rango Bajo y Alto.....	116
3.2.7. Incertidumbre de los Resultados	117
3.2.8. Incertidumbre en la Calibración del Material Volumétrico	121
3.2.8.1. Identificación y Organización de las Fuentes de Incertidumbre	122
3.2.8.2. Incertidumbre por la Repetibilidad de las Mediciones	123
3.2.8.3. Incertidumbre según el Certificado de Calibración	123
3.2.8.4. Incertidumbre por la Resolución de la Balanza	123

3.2.8.5. Incertidumbre de la Temperatura	124
3.2.8.6. Incertidumbre de la Calibración de la Temperatura	124
3.2.8.7. Incertidumbre de las Variaciones de la Temperatura del Agua durante la Calibración ...	124
3.2.8.8. Incertidumbre del Coeficiente de Expansión Cúbica.....	125
3.2.8.9. Incertidumbre de la Densidad de las Pesas de la Balanza	125
3.2.9.0. Incertidumbre de la Densidad del Agua	126
3.2.9.1. Incertidumbre de la Densidad del Aire	126
3.2.9.2. Coeficientes de Sensibilidad de la Incertidumbre del Material Volumétrico	130
3.2.9.3. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente Vacío (Mb):	130
3.2.9.4. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente con Agua (Mc):....	130
3.2.9.5. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Agua	131
3.2.9.6. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Aire.....	131
3.2.9.7. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Expansión Cúbica:	131
3.2.9.8. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Densidad de las Pesas de la Balanza.....	132
3.2.9.9. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Temperatura	132
3.3.3. Cálculo de los Grados de Libertad.....	133
3.3.4. Incertidumbre Expandida, Informe del Resultado	134
CAPÍTULO IV.....	135
4.1. Análisis de Resultados	136
4.1.1. Cálculos del Volumen en la Calibración de la Cristalería Utilizada.....	136
4.1.2. Estimación de la Incertidumbre del Material Volumétrico.....	138
4.1.2.1. Incertidumbre por la Repetibilidad de las Mediciones	139
4.1.2.2. Incertidumbre según la Resolución de la Balanza.....	139
4.1.2.3. Calibración de la Balanza:	140
4.1.2.4. Repetibilidad de las Mediciones:	140

4.1.2.5. Resolución de la Balanza.....	140
4.1.2.6. Calibración la Balanza:	141
4.1.2.7. Cálculo de la Densidad del Agua.....	141
4.1.2.8. Cálculo de la Densidad del Aire	142
4.1.2.9. Densidad de las Pesas de la Balanza.....	146
4.1.3. Coeficiente de Expansión Cúbica del Vidrio	146
4.1.4. Temperatura.	146
4.1.5. Determinación de los Coeficientes de Sensibilidad para la Calibración del Material Volumétrico.	148
4.1.5.1. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente Vacío (M_b):	148
4.1.5.2. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente con Agua (M_c):	149
4.1.5.3. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Agua	149
4.1.5.4. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Aire.....	150
4.1.5.5. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Expansión Cúbica:	150
4.1.5.6. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Densidad de las Pesas de la Balanza.....	151
4.1.5.7. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Temperatura.....	151
4.1.6. Cálculo de los Grados de Libertad.....	152
4.1.7. Incertidumbre Expandida, Informe del Resultado	153
4.1.8. Determinación de los Parámetros de Validación	154
4.1.8.1. Linealidad del sistema	154
4.2.2. Linealidad del Método y Rango	156
4.1.8.3. Exactitud	158
4.1.8.4. Precisión	161
4.1.8.5. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ).....	167
4.1.9. Incertidumbre.....	169
CAPÍTULO V.....	171

5.1 Conclusiones	172
5.2. Recomendaciones	173
5.3. Bibliografía	174
5.4. Anexos	176
Anexo 1 Alcance de la validación para métodos normalizados.....	176
Anexo 2 Alcance de la validación métodos normalizados modificados o no normalizados.....	177
Anexo 3 Alcance de la validación para métodos desarrollados/internos.....	178
Anexo 4 Valores de t para las probabilidades seleccionadas	179
Anexo 5 Valores de F para las probabilidades seleccionadas de una cola	180
Anexo 6 Valores de F para las probabilidades seleccionadas de dos colas	181
Anexo 7 Tolerancias establecidas por la CENAM para pipetas graduadas de vidrio clase A.....	182
Anexo 8 Tolerancias establecidas por la ASTM para matraces volumétricos de vidrio clase A	183
Anexo 9 Cantidades de muestras y reactivos para varios recipientes de digestión	184
Anexo 10 Ilustración 1. Cálculos de los coeficientes de sensibilidad utilizando el programa maple 19 ..	185
Anexo 11 Ilustración 2. Inicio del programa maple 19	186
Anexo 12 Ilustración 3. Introducción de ecuaciones	187
Anexo 13 Ilustración 4. Selección de la función.....	188
Anexo 14 Ilustración 5. Certificado de calibración de balanza de precisión	189
Anexo 15 Ilustración 6. Certificado de calibración de la balanza analítica	190
Anexo 16 Ilustración 7. Certificado de calibración de termostato seco	191
Anexo 17 Ilustración 8. Certificado de calibración del higrómetro	192
Anexo 18 Ilustración 9. Certificado de calibración del espectrofotómetro parte 1	193
Anexo 19 Ilustración 10. Certificado de calibración del espectrofotómetro.....	194
Anexo 20 Ilustración 11. Certificado de calibración de la pipeta de 5 mL.....	195
Anexo 21 Ilustración 13. Certificado de calibración del balón 1000 mL.....	196

Anexo 22 Ilustración 14. Certificado de calibración de la termocupla (termómetro digital)	197
Anexo 23 Ilustración 15. Certificado de pureza del estándar KHP	198
Anexo 24 Ilustración 16. Certificado de pureza del dicromato de potasio.....	199
Anexo 25 Ilustración 17. Certificado del material de referencia (MRC) rango bajo.....	200
Anexo 26 Ilustración 18. Certificado del material de referencia (MRC) rango alto.....	201
Anexo 27 Tabla 25. Resultado verificación calibración matraz volumétrico 1000mL	202
Anexo 28 Tabla 26. Resultado verificación de calibración de la pipeta graduada 5 mL.....	203
Anexo 29 Tabla 27. Resultado presupuesto de incertidumbre en la calibración del matraz volumétrico de 100 mL.....	204
Anexo 30 Tabla 28. Resultado del presupuesto de incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en el matraz 100mL	205
Anexo 31 Tabla 29. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para determinar la densidad del aire en matraz 100 mL	206
Anexo 32 Tabla 30. Resultado del presupuesto de incertidumbre para determinar la densidad del aire en pipeta graduada de 5 mL	207
Anexo 33 Tabla 31. Resultado del presupuesto de incertidumbre en la calibración de la pipeta graduada de 5mL.....	208
Anexo 34 Tabla 32. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en la pipeta graduada de 5mL.....	209
Anexo 35 Tabla 33. Resultado de presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua del matraz de 1000 mL.....	210
Anexo 36 Tabla 34. Resultado del presupuesto de la determinación de la incertidumbre en la calibración del matraz de 1000 mL.....	211
Anexo 37 Tabla 35. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en el matraz de 1000 mL.....	212
Anexo 38 Gráfica de la linealidad del sistema (Instrumento) rango bajo en DQO	213
Anexo 39 Gráfica de la linealidad del sistema (instrumento) rango alto en DQO.....	214

Anexo 40 Gráfica de la linealidad del método (instrumento) rango bajo en DQO.....	215
Anexo 41 Gráfica de la linealidad del método (instrumento) rango alto en DQO	216
Anexo 42 Fotografías del proceso.....	217
Anexo 43 Fotografías del proceso.....	218
Anexo 44 Fotografías del proceso.....	219

Índice de Tablas

TABLA 1.COLORES DE LUZ VISIBLE ESPECTROFOTOMETRÍA.....	20
TABLA 2.OBJETIVOS DE ACUERDO AL ALCANCE DE LA VALIDACIÓN.....	41
TABLA 3.ALCANCE DE LA VALIDACIÓN SEGÚN EL TIPO DE PROCEDIMIENTO DE ENSAYO	43
TABLA 4.MATERIALES VOLUMÉTRICOS CLASE A CON TOLERANCIA DEL FABRICANTE.....	93
TABLA 5.OTROS MATERIALES UTILIZADOS DURANTE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA	94
TABLA 6.CONCENTRACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN RANGO BAJO DQO.....	101
TABLA 7.CONCENTRACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN EN RANGO ALTO DQO	102
TABLA 8.ECUACIONES DE SUMAS DE CUADRADOS Y GRADOS DE LIBERTAD.....	114
TABLA 9.VARIABLES DE LAS INCERTIDUMBRES	118
TABLA 10. COMBINACIÓN DE INCERTIDUMBRES	119
TABLA 11.RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DEL MATRAZ DE AFORO DE 100 mL.....	137
TABLA 12. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE LA VERACIDAD EN RANGO BAJO	158
TABLA 13. DATOS DE LA MUESTRA DE REFERENCIA CERTIFICADA.....	159
TABLA 14.RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA VERACIDAD RANGO ALTO.....	160
TABLA 15.DATOS DE LA MUESTRA DE REFERENCIA CERTIFICADA	160
TABLA 16.RESULTADO PARA DETERMINAR LA PRECISIÓN POR REPETIBILIDAD RANGO BAJO	161
TABLA 17. RESULTADOS PARA DETERMINAR LA PRECISIÓN POR REPETIBILIDAD EN RANGO ALTO	162

TABLA 18. RESULTADO PARA DETERMINAR LA PRECISIÓN INTERMEDIA (REPRODUCIBILIDAD) EN RANGO BAJO	163
TABLA 19. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR 54.7 MGO_2/L POR EL MÉTODO DE ANOVA	164
TABLA 20. RESULTADO PARA DETERMINAR LA PRECISIÓN INTERMEDIA (REPRODUCIBILIDAD) EN RANGO ALTO.....	165
TABLA 21. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR 130 MGO_2/L POR EL MÉTODO DE ANOVA	166
TABLA 22. RESULTADOS DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO	167
TABLA 23. RESULTADO DE ESTIMACIÓN DE INCERTIDUMBRES INDIVIDUALES	169
TABLA 24. RESULTADO COMBINACIÓN DE INCERTIDUMBRES	170
TABLA 25. RESULTADO VERIFICACIÓN CALIBRACIÓN MATRAZ VOLUMÉTRICO DE 1ML.....	202
TABLA 26. RESULTADO VERIFICACIÓN DE PIPETA GRADUADA 5 ML	203
TABLA 27. RESULTADO PRESUPUESTO DE INCERTIDUMBRE EN LA CALIBRACIÓN DEL MATRAZ VOLUMÉTRICO DE 100ML	204
TABLA 28. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE INCERTIDUMBRE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DEL AGUA MATRAZ 100 ML	205
TABLA 29. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE LA INCERTIDUMBRE PARA DETERMINAR LA DENSIDAD DEL AIRE EN MATRAZ 100ML.....	206
TABLA 30. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE INCERTIDUMBRE PARA DETERMINAR LA DENSIDAD DEL AIRE EN PIPETA GRADUADA DE 5 ML.....	207
TABLA 31. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE INCERTIDUMBRE EN LA CALIBRACIÓN DE LA PIPETA GRADUADA DE 5 ML	208
TABLA 32. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE LA INCERTIDUMBRE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DEL AGUA EN LA PIPETA GRADUADA DE 5ML.....	209
TABLA 33. RESULTADO DE PRESUPUESTO DE LA INCERTIDUMBRE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DEL AIRE DEL MATRAZ DE 1000 ML.....	210
TABLA 34. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE LA DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA CALIBRACIÓN DEL MATRAZ DE 1000 ML.....	211
TABLA 35. RESULTADO DEL PRESUPUESTO DE LA INCERTIDUMBRE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DEL AGUA EN EL MATRAZ DE 1000 ML	212

Índice de Ilustraciones

ILUSTRACIÓN 1. CÁLCULOS DE LOS COEFICIENTES DE SENSIBILIDAD UTILIZANDO EL PROGRAMA MAPLE 19.....	185
ILUSTRACIÓN 2. INICIO DEL PROGRAMA MAPLE 19	186
ILUSTRACIÓN 3. INTRODUCCIÓN DE ECUACIONES	187
ILUSTRACIÓN 4. SELECCIÓN DE LA FUNCIÓN.....	188
ILUSTRACIÓN 5 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE BALANZA DE PRECISIÓN.....	189
ILUSTRACIÓN 6. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA BALANZA ANALÍTICA.....	190
ILUSTRACIÓN 7. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE TERMOSTATO SECO.....	191
ILUSTRACIÓN 8. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL HIGRÓMETRO.....	192
ILUSTRACIÓN 9. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO PARTE 1	193
ILUSTRACIÓN 10. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO PARTE 2	194
ILUSTRACIÓN 11. CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA PIPETA DE 5 mL	195
ILUSTRACIÓN 12.CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL BALÓN 100 mL.....	195
ILUSTRACIÓN 13.CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL BALÓN 1000 mL.....	196
ILUSTRACIÓN 14.CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA TERMOCUPLA (TERMÓMETRO DIGITAL). 197	
ILUSTRACIÓN 15.CERTIFICADO DE PUREZA DEL ESTÁNDAR KHP.....	198
ILUSTRACIÓN 16. CERTIFICADO DE PUREZA DEL DICROMATO DE POTASIO.....	199
ILUSTRACIÓN 17.CERTIFICADO DEL MATERIAL DE REFERENCIA (MRC) RANGO BAJO	200
ILUSTRACIÓN 18.CERTIFICADO DEL MATERIAL DE REFERENCIA (MRC) RANGO ALTO.....	201



CAPÍTULO I



1.1. Introducción

Validar un método es un proceso que permite determinar un requisito analítico a partir de una evidencia objetiva y del cumplimiento de requisitos particulares que confirmen el uso específico previsto, demostrando que es apto para el propósito indicado, a la misma vez al momento en que se realiza una validación se sigue una metodología en la cual se determinan una serie de parámetros por medio de cálculos estadísticos y pruebas de laboratorio; es importante destacar que para la realización de la metodología la cristalería debe de estar completamente verificada.

Según la ONA se deben de hacer una cantidad de cálculos estadísticos mediante la comprobación de ciertos parámetros de validación a como lo son; La precisión (en repetibilidad y/o reproducibilidad) y exactitud, como los más destacados de la validación, se hacen con el fin de obtener pruebas documentadas y demostrativas de que este tipo de análisis que se lleva a cabo en el laboratorio es fiable.

La verificación o validación de los métodos de ensayo es una parte imprescindible para el trabajo de un laboratorio conforme a la UNE-EN ISO/IEC 17025. Gran cantidad de industrias requieren de mediciones analíticas debido a las exigencias ambientales o para la toma de decisiones. Los laboratorios realizan diariamente bastas cantidades de análisis, los mismos que deben ser previamente validados, cada método que el laboratorio establezca debe ser fundamentado mediante una serie de análisis, además éstos deben estar acorde al cumplimiento de requisitos establecidos, lo cual permite garantizar la confiabilidad de los resultados e incrementar la competitividad del laboratorio y así mismo los laboratorios poder requerir la acreditación de la metodología. La determinación de un ensayo analítico permite a los



laboratorios entrar al mercado; de modo que validar métodos de ensayo se considera una herramienta competitiva.

Es un método aplicable en aguas continentales (ríos, lagos o acuíferos), aguas negras, aguas pluviales o aguas de cualquier otra procedencia que puedan contener una cantidad apreciable de materia orgánica. Este ensayo es muy útil para la apreciación del funcionamiento de las estaciones depuradoras. No es aplicable a las aguas potables, debido que al tener un contenido tan bajo de materia oxidable la sensibilidad del método no sería adecuada. En este caso se utiliza el método de oxidabilidad con permanganato potásico.

La DQO varía en función de las características de las materias presentes, de sus proporciones respectivas, de sus posibilidades de oxidación y de otras variables. Por esto, la reproducibilidad de los resultados y su interpretación no pueden ser satisfechas más que en condiciones metodológicas de ensayo bien definidas y estrictamente respetadas. Se han realizado estudios acerca de validación de métodos, tanto nacional como internacionalmente, los requerimientos ambientales han sido fundamentales para su desarrollo, ya que ayudan de manera significativa a estudiantes, entidades prestadoras de servicios y a las industrias que necesitan cumplir determinados requisitos.

Para el cumplimiento de los objetivos se seleccionó el método de análisis adecuado, considerando las necesidades e infraestructura disponible, el método a desarrollar se encontró en bibliografía específica, se estableció un procedimiento normalizado de acuerdo al sistema de gestión de calidad que sigue, para llevar a cabo siempre que se desarrolle dicho método. Además,



para validar un método es necesario acondicionar la parte instrumental a usarse, lo que conlleva calibraciones y verificaciones de equipos a utilizar.

Por lo cual el presente trabajo monográfico tiene como objetivo realizar una validación de la técnica de DQO por el método de reflujo cerrado, utilizando dicromato de potasio como agente oxidante bajo condiciones dadas por el laboratorio para aguas residuales en rangos bajos y altos.

1.2. Planteamiento del Problema

En el laboratorio ambiental PRONIC, es necesario validar el método de DQO para aguas residuales, la validación del método para laboratorio es indispensable, debido a los requerimientos impuestos por los entes reguladores (MARENA) o (MINSA) con el objetivo de demostrar que el desempeño del método es adecuado para el análisis ofrecido a los propietarios de industrias y propios del laboratorio ambiental PRONIC.

¿Qué sucede si el método para determinar DQO en aguas residuales en el laboratorio no se encuentra validado? Al no estar validadas estas técnicas de análisis el laboratorio no garantiza la calidad del análisis necesario, con el cual se puedan ofrecer resultados con alto grado de validez y confiabilidad. Por tanto, el laboratorio de análisis debe cumplir con los parámetros normalizados por el decreto 21-2017 para aguas residuales.



Esto establece que el laboratorio ambiental PRONIC, debe cumplir con los criterios de calidad establecidos por los distintos organismos nacionales. Por lo cual ¿El laboratorio de aguas cumple con los requisitos y condiciones necesarios para realizar el montaje del método colorimétrico para la validación? Según las normas del laboratorio, este cumple con todas las condiciones y materiales de referencia requeridos para desarrollar el proceso de validación sin ningún inconveniente.

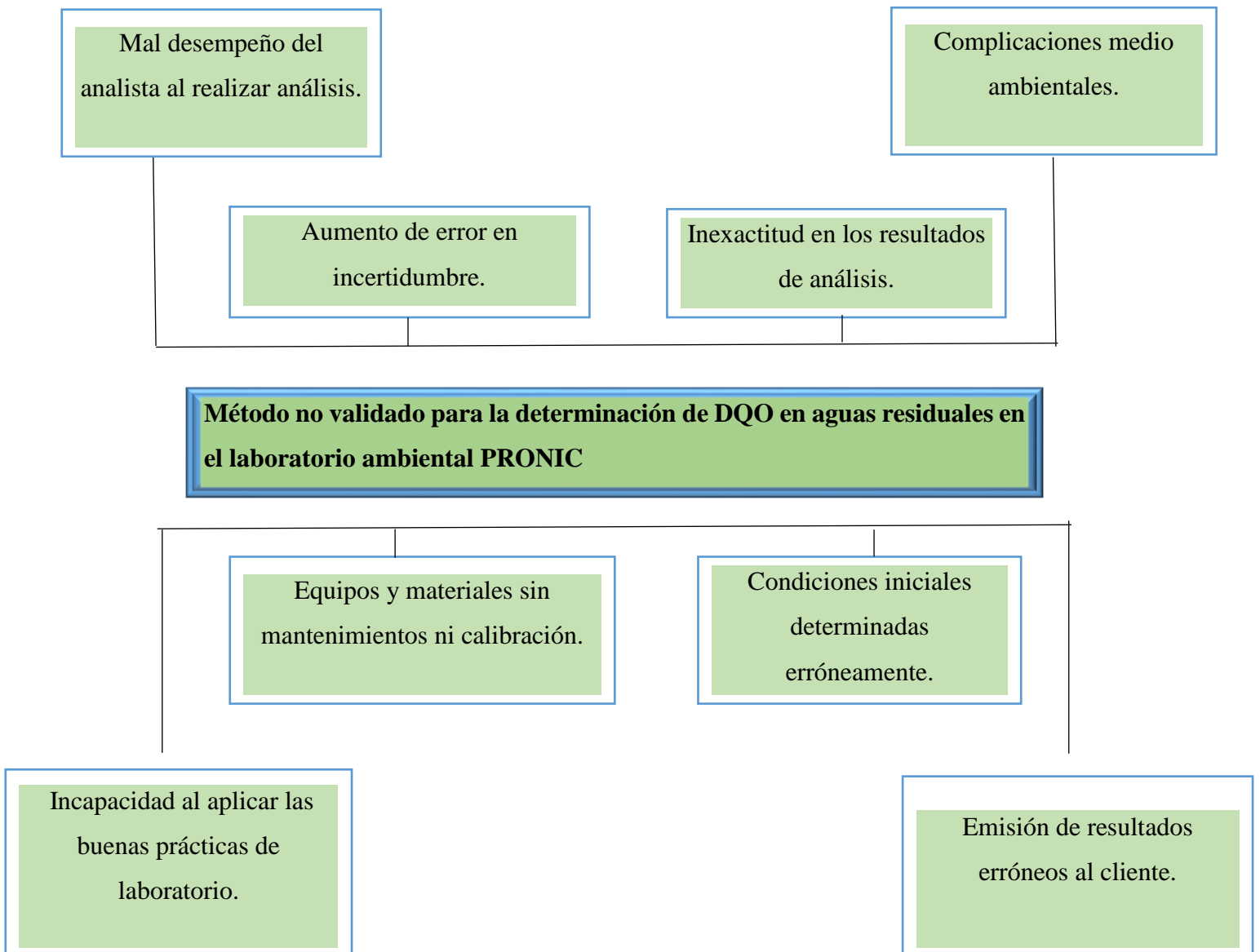
Para validar el método se debe determinar los parámetros estadísticos de calidad analítica que certifiquen que se ofrece un servicio con resultados válidos.

El laboratorio ambiental PRONIC busca la documentación y validación del método para determinación de DQO en aguas residuales, cumpliendo de esta forma con los requisitos establecidos en la ISO/IEC: 17025: 2017, que rige los laboratorios de ensayos analíticos, de esta forma al validar el procedimiento podemos ofrecer resultados confiables de los análisis que emitirá el laboratorio.



1.2.1 Análisis crítico

1.2.1.1 Árbol de Problemas





1.3. Justificación

Dada la necesidad que tienen las empresas industriales, privadas y comerciales de carácter público, de cumplir con la ley de vertidos establecido en el Decreto No. 21-2017 (Reglamento en el que se establecen las disposiciones para el vertido de aguas residuales, 2017), en el cual se establecen los valores límite máximos permisibles de parámetros provenientes de descargas de agua residuales, domésticas, industriales y agropecuarias. Por esta razón el laboratorio ambiental PRONIC, ha implementado el método analítico de demanda química de oxígeno (5220D- Método de reflujo cerrado – Método colorimétrico) (Standard methods for the examination of water and wastewater 23RD EDITION).

Para tal fin, debe validarse el método empleado para proveer al usuario resultados confiables y credibilidad, lo cual se debe respaldar con documentos que hagan referencia al método de ensayo, a los equipos empleados, reactivos y otros aspectos que aseguren la confiabilidad de los resultados analíticos.

Adicionalmente, la norma ISO / IEC 17025 estipula que los laboratorios que están en proceso de acreditación deben validar todas las metodologías que se usen en el, tanto las desarrollados por ellos mismos. Los criterios de calidad que al menos deben verificarse son: La precisión, la reproducibilidad y la exactitud de los resultados obtenidos con el método ya que, de esta forma se obtienen resultados comparables y verificables.



Cuando se valida una metodología se emiten resultados confiables en los cuales se da a conocer a las entidades que requirieron nuestro servicio, las concentraciones a las cuales se encuentra el medio en el cual fue tomada la muestra, de tal manera que el lugar que lo solicitó al momento de conocer el resultado pueda hacer algo al respecto para disminuir las concentraciones de ese medio.

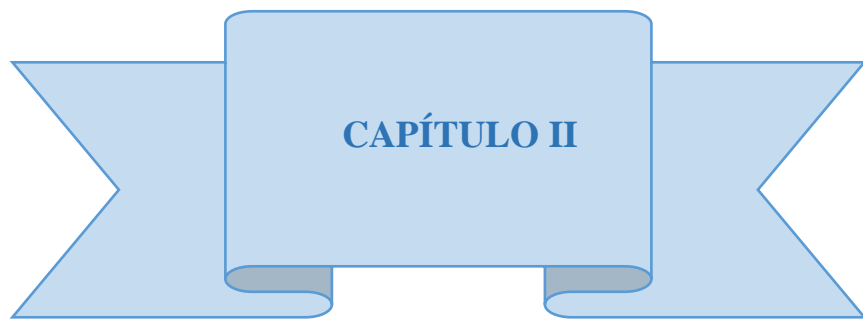
1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

- Evaluar los parámetros de validación y la incertidumbre de los resultados obtenidos utilizando la metodología analítica para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales que permitan la acreditación del ensayo.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar el alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo que rige la organización nacional de acreditación (ONA): (Linealidad del método y rango, linealidad del sistema, exactitud, precisión, límite de detección y límite de cuantificación).
- Estimar la incertidumbre de la medición del método analítico para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales.
- Verificar la calibración del material volumétrico previo a realizar la validación del método analítico.



CAPÍTULO II



2.1. Marco Teórico

2.1.1. Antecedentes Investigativos

En la actualidad se requieren métodos analíticos fiables para cumplir con las normativas nacionales e internacionales en todas las áreas de análisis. Convirtiéndose así, la validación de métodos en un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables. La realización de estas actividades de validación de los métodos de ensayo utilizados por el propio laboratorio, contemplan la satisfacción de las necesidades del cliente y la adecuación para realizar los ensayos previstos (Castelluci, 2005).

Para manejar un sistema de aseguramiento de la calidad de un laboratorio ambiental, se debe tener en cuenta muchos componentes como la elaboración de los protocolos analíticos e implementación de las metodologías para medición de los parámetros, la validación de las metodologías analíticas aplicadas a la evaluación de la calidad ambiental de acuerdo con las recomendaciones de las agencias nacionales e internacionales, y la vigilancia de muestras ambientales, incluyendo también la elaboración de toda la documentación relacionada (manual de funcionamiento de instrumentación y equipos, protocolos de calibración y análisis, instructivos, manuales, formatos) (Macas, 2011).

El creciente compromiso de la sociedad por cuidar el ambiente, ha influenciado en la creación y/o modificación de las normas ambientales y legislativas. Con el consiguiente incremento de la demanda de análisis de aguas por parte de las industrias en el que se establecen las disposiciones



para el vertido de aguas residuales. Al ser el laboratorio ambiental PRONIC uno de los laboratorios que ofrece dicho servicio de análisis de aguas, es indispensable demostrar que los mismos proporcionan resultados confiables (Suarez, 2011).

2.1.2. Terminología

Adecuación al propósito: ‘Grado al cual los datos producidos por un proceso de medición permiten a un usuario tomar decisiones técnica y administrativamente correctas para un propósito establecido.’ (Guía EURACHEM).

Validación: Verificación de determinados parámetros de un método en la que los requisitos especificados para estos, demuestran que el método es idóneo para un uso previsto. (Referencia: VIM, International Vocabulary for Basic and General Terms in Metrology: 2007).

Verificación: Suministro de prueba(s) objetiva(s) de que un elemento dado satisface el (los) requisito(s) especificado(s). (Referencia: VIM, JCGM 200:2008).

Es decir, es la comprobación experimental de que un método establecido funciona de acuerdo con las especificaciones, en las condiciones disponibles en el laboratorio usuario. Se entiende como verificación a las pruebas realizadas por un laboratorio en la rutina de trabajo que permiten comprobar y documentar la aplicabilidad y uso adecuado del método por parte del laboratorio.



Control de calidad interno: ‘Serie de procedimientos asumidos por el personal de un laboratorio para el continuo seguimiento de las operaciones y de los resultados de las mediciones con el fin de decidir si los resultados son lo suficientemente confiables como para ser emitidos’ . (Guía EURACHEM).

Especificidad: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.’ (Guía de validación de métodos analíticos, Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.).

Incertidumbre de medida: Parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mesurando (VIM 3.9).

Estabilidad analítica de la muestra: Propiedad de una muestra, preparada para su análisis, de conservar su integridad física o química y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado durante condiciones específicas. (Basado en la Guía de Validación de Métodos analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos, Biólogos, México A.C. Edición 2002).

Linealidad: ‘Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito’. (Guía EURACHEM).



Nota: Se deduce que el intervalo lineal es el intervalo de concentraciones del analito dentro del cual los resultados de prueba obtenidos por el método son proporcionales a la concentración del analito.

Rango: Se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior para las cuales se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método. (Validación de métodos analíticos; A.E.F.I.) 2001.

Exactitud de una medición: Es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. (Guía EURACHEM).

Repetibilidad (de los resultados de las mediciones): ‘Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos’. (Guía EURACHEM).

Precisión: ‘Es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas’. (Guía EURACHEM).

Nota 1: La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o valor especificado. La medida de la precisión generalmente se calcula como una desviación estándar de los resultados de la prueba. “Resultados de pruebas



independientes” significa que los resultados fueron obtenidos de tal forma que no son influenciados por cualquier otro resultado previo sobre el mismo o similar objeto de prueba. Las mediciones cuantitativas de la precisión dependen en forma crítica de las condiciones estipuladas. La repetibilidad y la reproducibilidad son series particulares de condiciones extremas.

Precisión intermedia: ‘La precisión intermedia expresa la variación dentro de un laboratorio en: diferentes días, diferentes analistas, diferente equipo, etc.’. (Guía EURACHEM).

Reproducibilidad: ‘Precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos’. (Guía EURACHEM).

Límite de detección: ‘El menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable o la menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba’. (Guía EURACHEM).

Límite de cuantificación: ‘La menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión (repetibilidad) y una exactitud aceptable bajo las condiciones establecidas de la prueba’. (Guía EURACHEM)



Prueba de robustez: ‘Estudio dentro del laboratorio para evaluar el comportamiento de un proceso analítico cuando se efectúan pequeños cambios en las condiciones ambientales y/o de operación, semejantes a aquéllos que pudieran surgir en los diferentes ambientes de prueba. La prueba de robustez permite obtener información de los efectos de cambios menores de una forma rápida y sistemática’. (Guía EURACHEM).

Protocolo de validación: Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistentes (Guía de validación de métodos analíticos, Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.)

Material de referencia certificado (MRC): ‘Material de referencia acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza’. (Guía EURACHEM).

Mensurando: Magnitud particular sometida a medición (VIM 2.6).

Material de referencia (MR): ‘Material o sustancia en la cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien definidos como para ser utilizados en la calibración de aparatos, en la evaluación de un método de medición o para asignar valores a otros materiales’. (Guía EURACHEM).



Matriz: Es el tipo de sustancia compuesta (líquida, sólida, gaseosa) que puede o no contener al analito de interés, ejemplo: matriz de alimento, matriz ambiental, etc.

Método de ensayo validado: Método de ensayo aceptado para el que se han llevado a cabo estudios de validación (desempeño) con el fin de determinar su precisión y fiabilidad para un propósito específico. (Referencia: ICCVAM Guidelines for the nomination and submission of new, revised and alternative test methods, 2003).

Método normalizado: Método apropiado para el ensayo dentro de su alcance, publicado por organismos de normalización internacional, nacional o regional (ISO, EN, NM, ASTM, BS, DIN, IRAM, etc.) o por organizaciones reconocidas en diferentes ámbitos (AOAC, FIL-IDF, EPA, USP etc.).

Plan de validación: Documento tipo protocolo en el cual se definen las pruebas o parámetros de validación necesarios y el diseño experimental a desarrollar en base a los requerimientos del método.

Validación de un método: 1. Es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones requeridas. Inherente a esto está la necesidad de evaluar el desempeño del método. Es importante la valoración de la idoneidad del método; en el pasado la validación del método se centraba solo en la evaluación de las características de desempeño. (Guía EURACHEM).



2. El proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito, o sea, para resolver un problema analítico particular. (Guía EURACHEM).

Nota 5: La definición 1: Es aplicable cuando un método se desarrolla sin tener en mente ningún problema en particular. La definición 2: Es aplicable cuando el método se está desarrollando con un propósito específico. En química analítica otro uso comúnmente encontrado del término de validación es en el contexto de instrumentación. La Validación de instrumentos se usa para describir el proceso de establecer que un instrumento en un momento dado es capaz de desempeñarse de acuerdo a la especificación diseñada. Estos procesos podrán alcanzarse, por ejemplo: Mediante calibraciones o verificaciones de desempeño.

La Demanda química de oxígeno (DQO): Es un parámetro que mide la cantidad de sustancias susceptibles de ser oxidadas por medios químicos que hay disueltas o en suspensión en una muestra líquida. Se utiliza para medir el grado de contaminación y se expresa en miligramos de oxígeno diatómico por litro (mgO_2/L). Aunque este método pretende medir principalmente la concentración de materia orgánica, sufre interferencias por la presencia de sustancias inorgánicas susceptibles de ser oxidadas (sulfuros, sulfitos, yoduros.), que también se reflejan en la medida.

La DQO: Es la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica por medios químicos y convertirla en CO_2 y H_2O . Los valores emitidos nos permiten saber a qué grado de contaminación se encuentra ese medio, por lo que entre mayor sea el rango, mayor es la contaminación.



Absorbancia: Es la cantidad de intensidad de luz que absorbe la muestra. Está definida como:

$$A = -\text{Log} \frac{I}{I_0}$$

Siendo I , la intensidad después de haber habido la absorción e I_0 , la intensidad de la luz que se hace incidir en la muestra. Refería

Se suele emplear en la química analítica ya que se cumple, la llamada, Ley de Beer-Lambert:

$$A = E.C.D$$

Siendo **E** el coeficiente de extinción molar, **C** la concentración y **D** distancia de la celda.

Análisis de la varianza (ANOVA): Es una herramienta estadística, de gran utilidad tanto en la industria, para el control de procesos, como en el laboratorio de análisis, para el control de métodos analíticos. (UCE, Quito).

Estándar métodos (SM): Es un manual completo de procedimientos analíticos para el muestreo, análisis de aguas y efluentes; es utilizado como referencia y guía en laboratorios de todo el mundo. (UCE, Quito).



2.1.3. Marco Conceptual de la Variable Independiente

2.1.3.1 Espectrofotometría

Según Harris (2007) el término espectrofotometría se refiere al uso de la luz para medir concentraciones de sustancias químicas.

2.1.3.1.1. Propiedades de la luz.

Se debe describir la luz en términos tanto de partículas como de ondas. Las ondas de luz están constituidas por campos eléctricos y magnéticos oscilantes, perpendiculares entre sí.

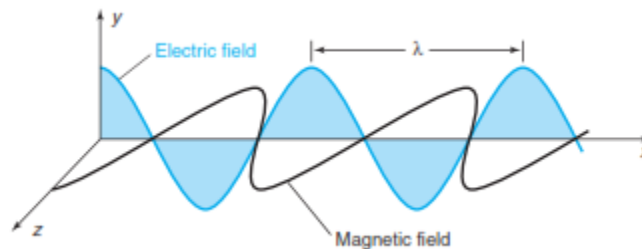


Figura 1: Radiación electromagnética polarizada en un plano

Fuente: (Harris, 2007)



El campo eléctrico se sitúa en el plano xy, y el campo magnético en el plano xz. La longitud de onda λ , es la distancia entre cresta y cresta de una onda, su unidad son los nanómetros (nm), la frecuencia ν , es el número de oscilaciones completas de la onda cada segundo. La unidad de frecuencia es el segundo recíproco, S^{-1} . Una oscilación por segundo es igual a un Hertz (Hz).

Tabla 1. Colores de luz visible espectrofotometría

Longitud de onda de máxima absorción (nm)	Color absorbido	Color observado
380 – 420	Violeta	Amarillo verdoso
420 – 440	Azul violáceo	Amarillo
440 – 470	Azul	Naranja
470 – 500	Verde azulado	Rojo
500 – 520	Verde	Púrpura
520 – 550	Verde amarillento	Violeta
550 – 580	Amarillo	Azul violáceo
580 – 620	Naranja	Azul



620 – 680	Rojo	Verde azulado
680 – 780	púrpura	Verde

Fuente: (Harris, 2007)

2.1.3.1.2. Absorción de la luz.

Cuando una molécula absorbe un fotón, la energía de la molécula se incrementa. Se dice que la molécula pasa a un estado excitado. Si una molécula emite un fotón, su energía disminuye. El estado de menor energía de una molécula se llama estado basal o fundamental.

Cuando una muestra absorbe luz la potencia radiante del haz de luz disminuye, dicha potencia radiante P se evalúa como energía por segundo por unidad de área del haz de luz.

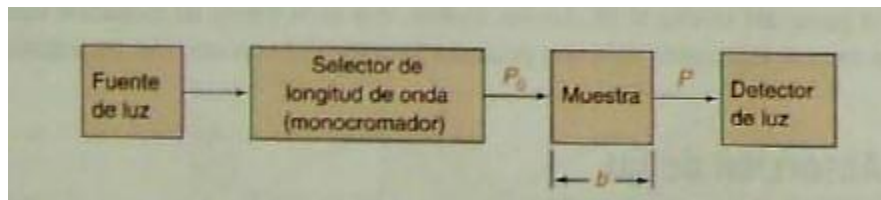


Figura 2: Principio de medición espectrofotométrico

Fuente: (Harris, 2007)

La luz pasa por un monocromador, el cual puede ser un prisma, una rejilla de difracción o un filtro, para aislar una sola longitud de onda, la potencia de salida del monocromador P_0 incide sobre la muestra de espesor b . La transmitancia T se define como la fracción de la luz incidente que sale de la muestra.



$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{Transmitancia}$$

Por lo tanto, T varía de cero a uno. Una magnitud física más útil es la absorbancia, que se define como:

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = -\log T \quad \text{Absorbancia}$$

La importancia de la absorbancia estriba en que es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente en la muestra.

La ley de Lambert – Beer o simplemente ley de Beer es fundamental para aplicar la espectrofotometría en química analítica.

$$A = E \cdot B \cdot C \quad \text{La ley de Beer}$$

La absorbancia A es adimensional, la concentración de la muestra c suele expresarse en moles por litro, la trayectoria óptica b se expresa comúnmente en centímetros, la cantidad ϵ se llama absorptividad molar o coeficiente de extinción y sus unidades son: $M^{-1} \cdot cm^{-1}$. El coeficiente de extinción es la propiedad característica de las sustancias que indica cuanta luz se absorbe a una longitud de onda dada.



La parte de la molécula a la que se debe la absorción de la luz se llama cromóforo. Cualquier sustancia que absorba luz visible se verá coloreada cuando refleje la luz blanca o cuando ésta se transmita a través de ella.

Conforme una solución se vuelve más concentrada, las moléculas de soluto interactúan entre sí debido a su proximidad. Cuando una molécula interactúa con otra es probable que cambien las propiedades eléctricas de ambas, incluyendo la absorbancia de luz. De ello resulta que la gráfica de absorbancia en función de la concentración deja de ser una línea recta (Harris, 2007).

2.1.3.1.3. Gravimetría.

El análisis gravimétrico abarca una variedad de técnicas en las que la masa de un producto se utiliza para determinar la cantidad original de analito, es decir de la especie que se analiza. Puesto que la masa puede medirse con gran exactitud, los métodos gravimétricos se cuentan entre los más exactos de la química analítica (Harris, 2007).

Los métodos gravimétricos se determinan con la diferencia de peso existente entre la especie sin ningún tratamiento previo, tratamiento de secado, y el peso constante obtenido después de realizarse el tratamiento, para ello se hace necesaria la utilización de una balanza analítica debidamente calibrada.



2.1.4. Generalidades de los Métodos a Validar

2.1.4.1. Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La demanda química de oxígeno se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte.

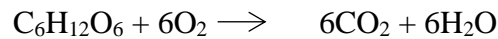
Para las muestras de una fuente específica, la DQO puede relacionarse empíricamente con la demanda biológica de oxígeno, el carbono orgánico o la materia orgánica (APHA, AWWA, & WPCF, 1992).

En condiciones naturales esta materia orgánica puede ser degradada u oxidada lentamente a dióxido de carbono y agua (CO_2 y H_2O), en un proceso lento que puede demorar dependiendo del tipo de materia orgánica que se encuentre y de las condiciones medioambientales de biodegradación.

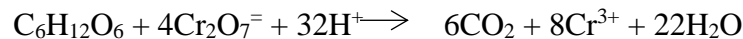
En las pruebas de demanda química de oxígeno se acelera artificialmente el proceso de biodegradación mediante un proceso de oxidación forzada, utilizando oxidantes químicos y métodos estandarizados, que tienen por objeto garantizar la reproducibilidad y comparabilidad de las mediciones.



La degradación biológica de un carbohidrato en condiciones aeróbicas puede expresarse como:



Mientras que la degradación química de la misma sustancia, acelerada con dicromato de potasio y medida bajo la forma de DQO, puede expresarse como:



El medio oxidante en las pruebas de DQO son: La digestión a 150 °C de una alícuota de muestra con mezcla sulfocrómica 0.1 N en un sistema reaccionante cerrado por dos horas.

La DQO así determinada se expresa como, el equivalente al contenido de materia orgánica en miligramos por litro.

Cuando una muestra es digerida, el ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) oxida el material de DQO en la muestra. Esto da como resultado un cambio en el estado de oxidación del cromo, de hexavalente (VI) a trivalente (III). Ambas especies de cromo son coloreadas y absorben en la región visible del espectro. El $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ absorbe fuertemente en la región de los 400 nm, donde la absorción del ion crómico (Cr^{3+}) es mucho menor. El Cr^{3+} absorbe fuertemente en la región de los 600 nm, donde el $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ tiene casi cero de absorción. En ácido sulfúrico 9M solución, los coeficientes de extinción molares aproximados para estas especies de cromo son las siguientes: Cr^{3+} - 50 L/mol cm a 604 nm; $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ - 380 L/mol Cm a 444 nm; Cr^{3+} - 25 L/mol Cm a 426 nm. El ion Cr^{3+} tiene



un mínimo en la región de 400 nm. Por lo tanto, un máximo de absorción de trabajo es a 420 nm (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

Para valores de DQO entre 100 y 900 mg O₂/L, aumento de Cr³⁺ en se determina la región de 600 nm. Se pueden obtener valores más altos por dilución de la muestra. Se pueden determinar valores de DQO de 90 mg O₂/L o menos siguiendo la disminución de Cr₂O₇²⁻ a 420 nm. La correspondiente generación de Cr³⁺ da un pequeño aumento de absorción a 420 nm, pero esto se compensa en el procedimiento de calibración (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

2.1.4.2. *Interferencias y Limitaciones*

La oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos es del 95 al 100% del valor teórico; la piridina y los compuestos relacionados resisten a la oxidación y los compuestos orgánicos volátiles reaccionarán en proporción a su contacto con el oxidante. Los compuestos alifáticos de cadena lineal se oxidan más eficazmente en presencia de un catalizador de sulfato de plata (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

El interferente más común es el ion cloruro, el cloruro reacciona con iones de plata para precipitar el cloruro de plata, y así inhibe la actividad catalítica de la plata, bromuro, yoduro y cualquier otro reactivo que inactiva el ion de plata puede interferir de manera similar. Tales interferencias son negativas porque tienden a restringir la acción oxidante del propio ion dicromato. Sin embargo, bajo la rigurosa digestión procedimientos para análisis COD, cloruro, bromuro o yoduro pueden reaccionar con dicromato para producir la forma elemental del halógeno y el ion crómico.



Los resultados son erróneos si la presencia del cloruro es alto pueden ser superadas en gran parte, aunque no completamente, por formación de complejos con HgSO_4 antes del procedimiento de reflujo, Aunque 1 g HgSO_4 se especifica para una muestra de 50 mL, se puede usar una cantidad menor cuando se sabe que la concentración de cloruro en la muestra es inferior a 2000 mg/L, siempre que se mantenga una relación en peso de 10:1 de HgSO_4 : Cl. No use la prueba para muestras que contengan más de 2000 mg Cl /L (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

Las técnicas diseñadas para medir la DQO en aguas salinas dan interferencias de haluros se pueden eliminar por precipitación con iones de plata y filtración antes de la digestión. Este enfoque puede introducir errores sustanciales debido a la oclusión y arrastre de materia DQO de muestras heterogéneas (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

Amoníaco y sus derivados, estos residuos son generados a partir de materia orgánica que contiene nitrógeno, no se oxidan. Sin embargo, el cloro elemental reacciona con estos compuestos. Por lo tanto, las correcciones de las interferencias de cloruro son difíciles (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

Nitrito (NO_2^-) ejerce una DQO de 1.1 mg O_2 /mg NO_2^- -N, debido a que las concentraciones de NO_2^- en aguas rara vez superan 1 o 2 miligramos de NO_2^- -N/L, la interferencia se considera insignificante y generalmente se ignora, Para eliminar una interferencia significativa de NO_2^- , añadir 10 mg de ácido sulfámico por cada mg de NO_2^- -N presente en el volumen de muestra utilizado; añadir la misma cantidad de ácido sulfámico al recipiente de reflujo que contiene el blanco de agua destilada (Standard Methods 23RD Edition, 2017).



Especies inorgánicas reducidas tales como hierro ferroso, sulfuro, manganeso, etc., se oxidan cuantitativamente bajo las condiciones de la prueba. Para muestras que contengan niveles significativos de estas especies, la oxidación estequiométrica se puede suponer a partir de conocidos concentración inicial de las especies de interferencia y correcciones puede hacerse al valor COD obtenido (Standard Methods 23RD Edition, 2017).

2.1.5. Marco Conceptual de la Variable Dependiente

2.1.5.1. Sistema de Gestión de Calidad

El sistema de gestión de calidad se trata de un conjunto de normas internacionales, que determinan la manera de organizar y administrar de forma ordenada y sistemática una organización, de forma que esta puede garantizar la calidad de sus operaciones y servicios

Los principales elementos que constituyen un sistema de gestión de calidad son:

- La estructura de la organización: Descrita en forma de organigrama, documenta la jerarquía en los niveles directivos y de gestión.
- Como se estructuran las responsabilidades de las distintas personas y departamentos.
- Los procedimientos destinados a controlar de forma permanente las acciones de la organización.



- Los procesos o secuencia de operaciones que permiten lograr objetivos específicos dentro de la organización.
- La identificación y descripción clara de los recursos económicos, humanos y técnicos.
- El sistema de gestión de la calidad es aquella parte del sistema de gestión de la organización enfocada en el logro de resultados, en relación con los objetivos de la calidad, para satisfacer las necesidades, expectativas y requisitos de las partes interesadas, según corresponda. Los objetivos de la calidad complementan otros objetivos de la organización, tales como aquellos relacionados con el crecimiento, los recursos financieros, la rentabilidad, el medio ambiente y la seguridad y salud ocupacional (International Organization for Standardization, 2005).

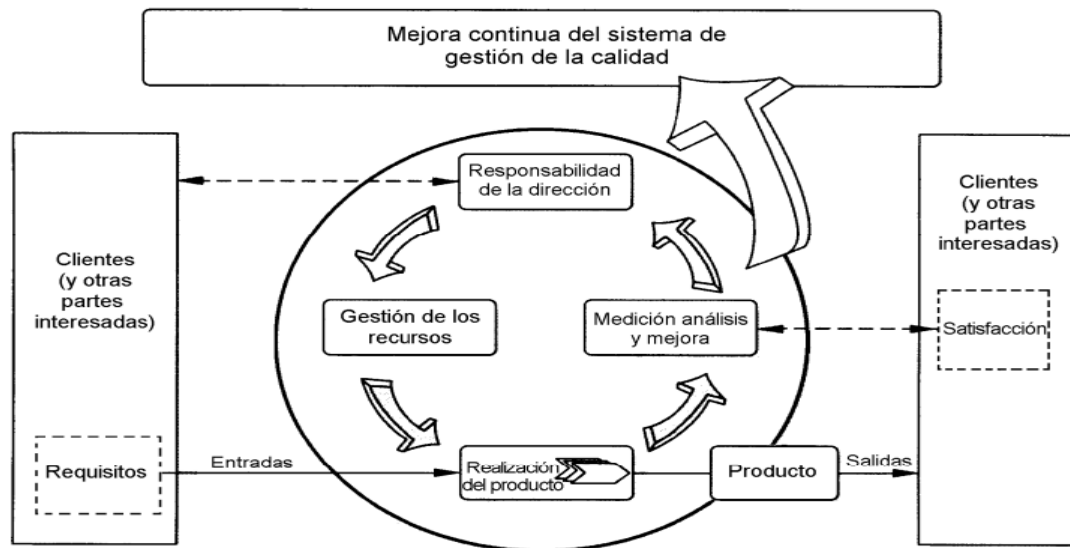


Figura 3: Modelo de un sistema de gestión de la calidad basado en procesos

Fuente: (International Organization for Standardization, 2005).



2.1.5.2. Normalización

La normalización es una actividad mediante la cual fabricantes, consumidores, usuarios, laboratorios de ensayo y administración establecen un acuerdo voluntario que se describe en un documento técnico, o norma, de aplicación repetitiva o continuada, en el que se definen las características técnicas que debe reunir un material, producto, servicio o sistema para garantizar su seguridad, su aptitud a la función o su compatibilidad con otros productos, servicios o sistemas.

La norma, entendida como la expresión práctica de la normalización, se caracteriza por ser un documento:

- ✓ Público (tanto durante su elaboración como durante su período de vida).
- ✓ Voluntario (las normas no son obligatorias, salvo que estén citadas en la reglamentación elaborada por la administración correspondiente).
- ✓ Elaborado con el consenso de todas las partes interesadas.
- ✓ Basado en los resultados de la experiencia y el desarrollo tecnológico y aprobado por un organismo reconocido (Massó, 2004).

2.1.5.3. NTN ISO/IEC 17025 Tercera Edición 2017-11

Esta normativa específica los requisitos generales para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Esta normativa es aplicable a todas las organizaciones que desarrollan actividades de laboratorio, independientemente de la cantidad de personal.

Los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias, las organizaciones y los esquemas utilizados en evaluación de pares, los organismos de acreditación y otros utilizan este documento para confirmar o reconocer la competencia de los laboratorios.

Esta normativa se ha desarrollado con el objetivo de promover la confianza en la operación de los laboratorios. Este documento contiene requisitos que permiten a los laboratorios demostrar que operan de forma competente y que tienen la capacidad de generar resultados válidos. Los laboratorios que cumplen con este documento también operarán en general de acuerdo con los principios de la Norma NTN ISO 9001.

Esta normativa requiere que el laboratorio planifique e implemente acciones para abordar los riesgos y las oportunidades. Al abordar los riesgos y las oportunidades se establece una base para incrementar la eficacia del sistema de gestión, lograr mejores resultados y prevenir efectos negativos. El laboratorio es responsable de decidir qué riesgos y oportunidades es necesario abordar.

El uso de esta normativa facilitará la cooperación entre los laboratorios y otros organismos, y ayudará al intercambio de información y experiencia, así como también a la armonización de normas y procedimientos. La aceptación de resultados entre países se facilita si los laboratorios cumplen con el presente documento.



En este documento se usan las siguientes formas verbales:

"Debe" indica un requisito.

"Debería" indica una recomendación.

"Puede" indica un permiso; una posibilidad o una capacidad.

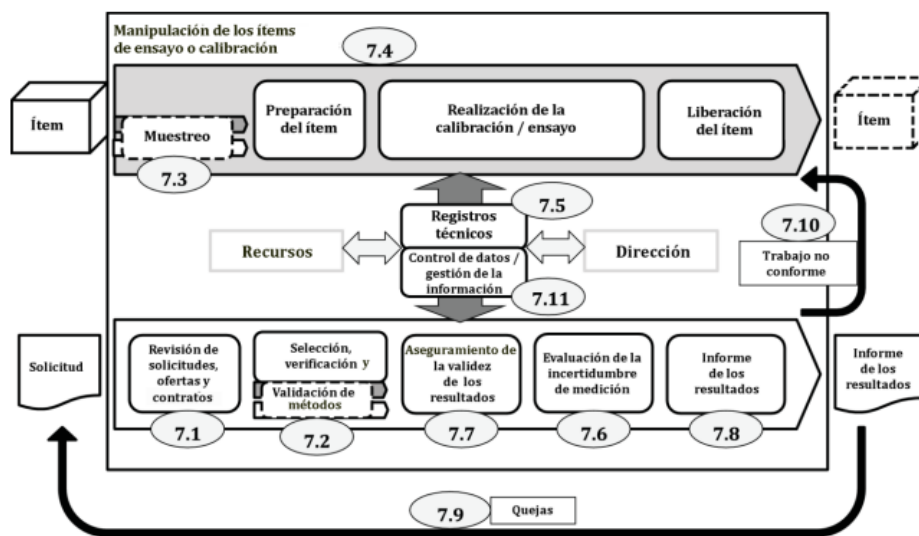


Figura 4: Representación esquemática de los procesos operacionales de un laboratorio

Fuente: NTN ISO/IEC 17025 tercera edición 2017-11

2.1.5.4. Acreditación

El organismo nacional de acreditación es un ente público sin fines de lucro, que se rige bajo las directrices establecidas en las normas técnicas nicaragüense para la evaluación de la conformidad, en las políticas, reglamentos y procedimientos de la ONA; motivando a empresas, instituciones y organismos privados y públicos a participar de las ventajas que

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán

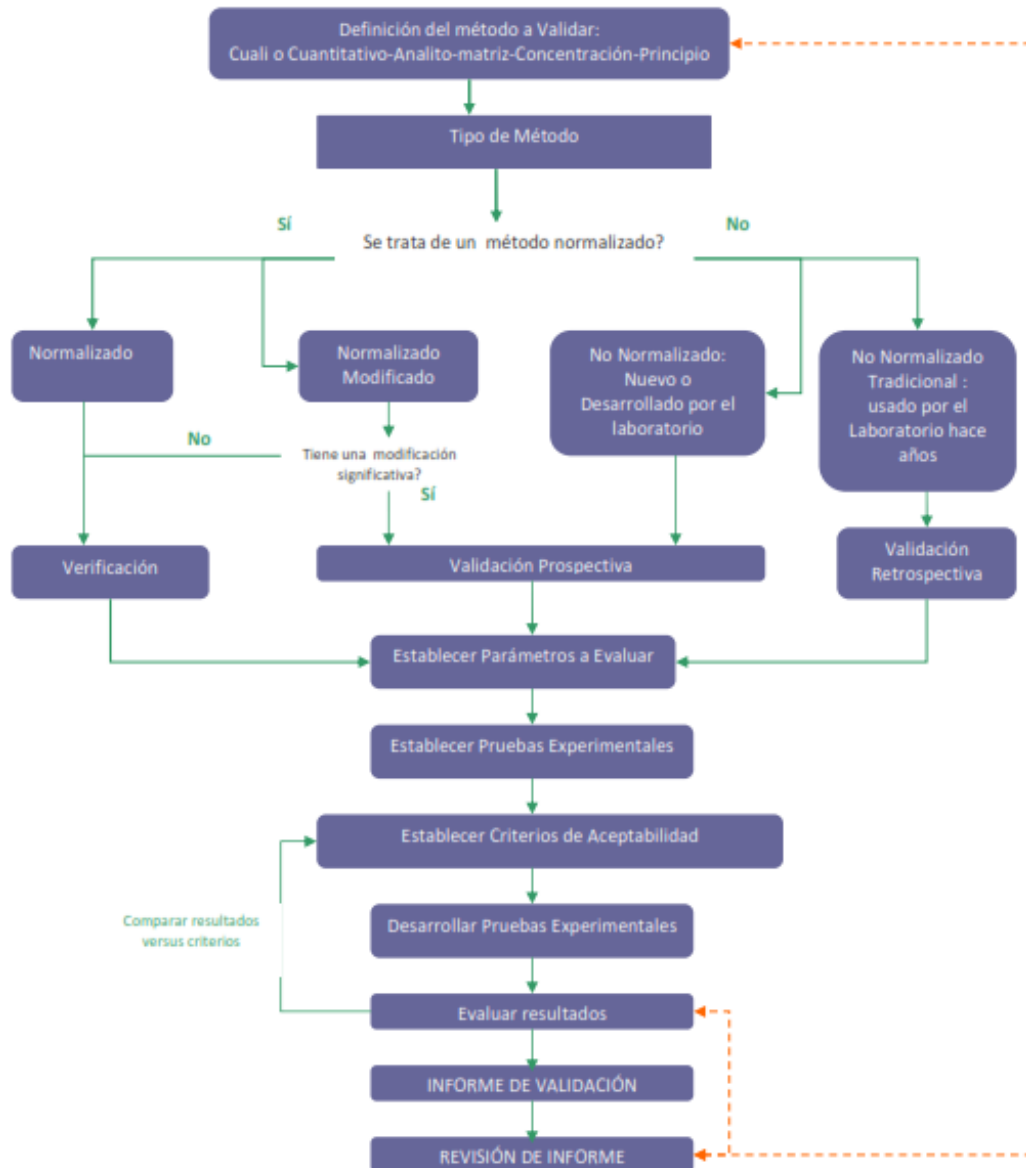


proporciona un sistema confiable, transparente y reconocido a nivel mundial, que facilita el intercambio con los mercados externos (MIFIC, s.f.).

Este organismo establece una guía para las actividades de validación de métodos de ensayo y calibración no normalizados, desarrollados o diseñados por el laboratorio, métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados y para las verificaciones necesarias para confirmar que el laboratorio puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos.

Los laboratorios que realizan ensayos o calibraciones acreditan sus actividades como una manera de atestiguar, ante una organización tercera, que son competentes en la realización y ejecución de sus métodos.

La entidad acreditadora es la responsable de verificar y evaluar que la organización interesada en lograr su acreditación, cumpla con los requerimientos y señalamientos que establece la normativa a la cual se rigen, para el caso de un laboratorio de ensayo o calibración la norma NTN ISO/IEC 17025 tercera edición 2017-11 es la utilizada.



Flujograma del sistema a validar (2010 edición diciembre, comité editor -Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición).

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



2.1.5.5. Calibración y Trazabilidad

2.1.5.5.1. Calibración.

Se entiende por calibración como la operación que, bajo condiciones específicas, en primer paso, se establece una relación entre el valor cuantificado de la medición provista por un estándar de medición y los correspondientes indicadores asociados a la incertidumbre de dicha medición, y en segundo paso, usando esta información para establecer la relación de la obtención del resultado de la medición de dicho indicador en el instrumento de medición (EURACHEM, 2011).

2.1.5.5.2. Trazabilidad.

Según EURACHEM (2003), la trazabilidad es una propiedad del resultado de una medida o del valor de un patrón mediante la cual puede relacionarse con referencias establecidas, normalmente patrones nacionales o internacionales, mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones cada una de las cuales con su incertidumbre calculada.

El laboratorio debe establecer y mantener la trazabilidad metrológica de los resultados de sus mediciones por medio de una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medición, vinculándolos con la referencia apropiada.



- El laboratorio debe asegurarse de que los resultados de la medición sean trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) mediante:

- a) La calibración proporcionada por un laboratorio competente.

NOTA 1: Los laboratorios que cumplen con los requisitos de este documento se consideran competentes.

- b) Los valores certificados de materiales de referencia certificados proporcionados por productores competentes con trazabilidad metrológica establecida al SI.

NOTA 2: Los productores de materiales de referencia que cumplen con los requisitos de la Norma NTN ISO 17034 se consideran competentes.

- c) La realización directa de unidades del SI aseguradas por comparación, directa o indirecta, con patrones nacionales o internacionales.

NOTA 3: En el folleto de SI se proporcionan detalles de la realización práctica de las definiciones de algunas unidades importantes.

- d) Cuando la trazabilidad metrológica a unidades del SI no sea técnicamente posible, el laboratorio debe demostrar trazabilidad metrológica a una referencia apropiada, como, por ejemplo:

- ✓ Valores certificados de materiales de referencia certificados suministrados por un productor competente.



- ✓ Resultados de los procedimientos de medición de referencia, métodos especificados o normas de consenso que están descritos claramente y son aceptados, en el sentido de que proporcionan resultados de medición adecuados para su uso previsto y asegurados mediante comparación adecuada (NTN ISO/IEC 17025 tercera edición 2017-11).

2.1.6. Requisitos Generales

2.1.6.1. Política para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración según la Política de la Oficina Nacional de Acreditación

El organismo nacional de acreditación es un ente público sin fines de lucro, que se rige bajo las directrices establecidas en las normas técnicas nicaragüenses para la evaluación de la conformidad, en las políticas, reglamentos y procedimientos de la ONA, motivando a empresas, instituciones y organismos privados y públicos a participar de las ventajas que proporciona un sistema confiable, transparente y reconocido a nivel mundial, que facilita el intercambio con los mercados externos (MIFIC, s.f.)

Este organismo establece una guía para las actividades de validación de métodos de ensayo y calibración no normalizados, desarrollados o diseñados por el laboratorio, métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados y para las verificaciones necesarias para confirmar que el laboratorio puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos (ONA, 2012).



Sistematizar los procedimientos para la realización de la validación de los métodos de ensayo y de calibración facilitando implementación de este aspecto por parte de los laboratorios, así como su evaluación por parte del personal de la ONA o sus evaluadores (ONA, 2012).

Evitando la discrepancia respecto a cuándo validar y la extensión de la validación según sea el caso (ONA, 2012).

2.1.6.2. Pasos para la Validación

Cada validación de un procedimiento consiste en tres pasos:

- ✓ Establecimiento del protocolo de validación.
- ✓ Realización de la validación.
- ✓ Elaboración del informe de validación.

2.1.6.3. Establecimiento del Protocolo 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 (ONA, 2012).

2.1.6.4. Realización de la Validación

Una vez 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 (ONA, 2012).

2.1.6.4.1. Elaboración del Informe de Validación.

El informe de validación contendrá la información suficiente para poder concluir acerca de la validación que se ha desarrollado. 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 y 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.

Además, será autorizado por o las personas asignadas por el laboratorio (ONA, 2012).

2.1.6.4.2. Establecimiento y Condiciones del Alcance de la Validación.

2.1.6.4.2.1. Establecimiento de las Condiciones.

El laboratorio responsable del análisis o ensayo debe definir las condiciones y el alcance de la validación de acuerdo a lo definido por esta guía y a su caso en particular.

En el caso de que el cliente lo solicite, el responsable del análisis o ensayo deberá ponerse de acuerdo con el cliente sobre este aspecto (ONA, 2012).



2.1.6.4.2.2. Establecimiento del Alcance de la Validación.

Se diferencian tres casos, en los que la dificultad de la validación aumenta del primero al tercero:

- a. Se trata de un método **de ensayo estandarizado y normalizado**, que se aplica exactamente como está descrito en la norma/procedimiento.

- b. 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.

- c. Se trata de un método **de ensayo desarrollado en el laboratorio** y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos (ONA, 2012).

Tabla 2. Objetivos de acuerdo al alcance de la validación

Método de ensayo	Objetivo de la validación
Caso 1: Método normalizado.	Comprobación de que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente (Verificación).



<p>Caso 2: Método normalizado modificado o uno no modificado.</p>	<p>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.</p> <p>Demostrar que el método proporcionado por el fabricante es capaz de dar resultados confiables para el fin propuesto.</p>
<p>Caso 3: Método desarrollado / interno</p>	<p>Comprobación de que el método cumple con las características necesarias para dar resultados confiables para el fin propuesto.</p>

Fuente: (ONA, 2012).



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

	OFICINA NACIONAL DE ACREDITACIÓN			
	Política Para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración.			
	DOC-ONA-12-011	Versión N°:01	Revisión N°:00	

Tabla b: Alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo

Parámetros	Métodos Normalizados			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas en trazas	Evaluación de características o 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	No	Sí	Sí	Sí
Precisión Intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de Detección	+	No	No	No
Límite de Cuantificación	No	+	+	+
Robustez	+	+	+	+

+: 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.

(ONA,2012)



2.1.7. Alcance de la Validación Según el Tipo de Procedimiento de Ensayo

2.1.7.1. Método Normalizado

2.1.7.1.1. Selectividad/Especificidad.

En el estudio de la selectividad, como norma general se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas, excipientes (matriz o placebo), y dependiendo del tipo de muestra, tipo de técnica analítica, instrumento de medición (ONA, 2012).

Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias y/o elementos y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

Para métodos de identificación (ONA, 2012).

- Se deben seleccionar sustancias que potencialmente interfieran en la determinación con base en la estructura molecular del analito, precursores, sustancias relacionadas, vías degradativas, entre otros (ONA, 2012).



Para métodos de contenido/valoración de impurezas:

- Si se dispone de las impurezas se deben adicionar éstas al analito y/o a la muestra analítica en niveles que incluya la especificación. Analizar como lo indica el método.
- Cuando no se dispone de las impurezas, la muestra que contiene el analito debe someterse a condiciones que generen su inestabilidad química (luz, calor, humedad, hidrólisis, ácido-básica y oxidación) y aplicar el método a la muestra resultante (ONA, 2012).

Para métodos de límite de impurezas:

Proceder a analizar, como lo indica el método los siguientes:

- Muestras individuales de la impureza (orgánicas, inorgánicas, o solventes residuales).
- El producto (de pureza aceptable).
- Y la mezcla de estos (ONA, 2012).

Para métodos indicadores de estabilidad:

Si se cuenta con los productos de degradación, preparar muestras:

- La matriz sola.



- Con matriz adicionada de estos.
- La matriz adicionada del analito.
- La matriz adicionada analito y de productos de degradación.
- Analizar como lo indica el método (ONA, 2012).

En el caso de métodos no selectivos, como por ejemplo los métodos que utilizan sistemas de medición volumétricas, la especificidad para los componentes de una muestra, es sustentada con los resultados de exactitud y linealidad del método cumplidos los criterios de aceptación (ONA, 2012).

Cuando haya duda en la demostración de la especificidad de un método analítico, se sugiere que sea investigada por otra metodología de soporte (ONA, 2012).

Los resultados del estudio de selectividad están vinculados principalmente al origen de la muestra, su preparación y las condiciones instrumentales. Cualquier cambio en estos factores supone reconsiderar el estudio realizado (ONA, 2012).

Criterios de aceptación:

La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito (ONA, 2012).



2.1.7.1.2. Estabilidad Analítica de la Muestra.

El analista debe establecer la etapa de análisis en la cual se desea evaluar la estabilidad, además de determinar si en dicha etapa es posible fraccionar (muestras dependientes) o no (muestras independientes) y las condiciones de almacenaje (ONA, 2012).

Muestras dependientes:

- El analista debe procesar hasta la etapa preestablecida por lo menos por triplicado una muestra homogénea.
- Fraccionar cada una de las preparaciones de acuerdo a las condiciones de almacenaje (Ambiente, Refrigeración, t °C, etc. durante un tiempo determinado) de interés.
- Terminar el análisis de una de las fracciones de cada preparación.
- Proseguir el análisis de cada una de las fracciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, si el método contempla el uso de una solución de referencia.
- Reportar el resultado (ONA, 2012).



Muestras independientes:

- A partir de una muestra homogénea, el analista debe analizar por triplicado hasta completar el análisis y obtener el resultado.
- Simultáneamente y de la misma muestra, procesar el número de muestras necesarias para cada condición de almacenaje hasta la etapa preestablecida (preparaciones) por triplicado.
- Proseguir el análisis de cada una de las preparaciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, si el método contempla el uso de una solución de referencia.
- Reportar el resultado (ONA, 2012).

Cálculos:

- Calcular la media aritmética del análisis inicial y de cada condición de almacenaje.
- Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto del análisis inicial (ONA, 2012).



Criterios de aceptación:

- $|di| \leq 2\%$ para métodos cromatográficos y volumétricos.
- $|di| \leq 3\%$ para métodos químicos o espectrofotométricos.
- $|di| \leq 5\%$ para métodos biológicos.
- No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del analito en la muestra.
- Otros criterios de aceptación, deben ser justificado (ONA, 2012).



2.1.7.1.3. Linealidad del Sistema.

- Un analista debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (Intervalo o rango) de la solución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma solución concentrada o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución) (ONA, 2012).
- La concentración central debe ser igual a la que se prepara la solución de referencia en el método (ONA, 2012).
- El intervalo debe incluir la especificación para el caso de aquellos métodos utilizados para evaluar muestras que se conoce el contenido estimado de activo (ejemplo: Formas farmacéuticas, Principios activos) (ONA, 2012).
- Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, reportar la relación concentración vs. respuesta analítica (Ejemplo: Concentración vs. área, concentración vs. absorbancia) (ONA, 2012).
- Calcular el valor de la pendiente (b), la ordenada en el origen (a), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente (IC(b)). Si el método presenta un ajuste distinto a la línea recta, utilizar la estadística apropiada y justificarla (ONA, 2012).



El intervalo (rango) está en función del propósito del método, y por lo general se expresa como concentración. Es crítico que el intervalo no excluya valores de concentración que potencialmente puedan dar lugar al contenido del analito en la muestra (ONA, 2012).

Criterios de aceptación:

- $r^2 \geq 0.98$.
- IC (β_1), no debe incluir el cero.
- Otro criterio de aceptación debe ser justificado (ONA, 2012).



2.1.7.1.4. Linealidad del Método.

Se conocen los componentes de la muestra y es posible preparar una matriz.

- Un analista debe preparar una matriz con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra (ONA, 2012).
- A la cantidad de matriz analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) correspondiente al 100% de este en la muestra (ONA, 2012).
- Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito (intervalo) y preparar el matriz adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de matriz analítico en los tres niveles (ONA, 2012).
- Las matrices adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición a la matriz analítica (ONA, 2012).
- Como lo indica el método, preparar 3 soluciones estándar al 100% de la concentración teórica (ONA, 2012).
- Realizar una determinación de cada matriz adicionado, de acuerdo a la siguiente secuencia:

 Estándar.



- ✚ Matriz adicionado nivel inferior.
 - ✚ Matriz adicionada 100%.
 - ✚ Matriz adicionado nivel superior.
 - ✚ Hasta terminar los 3 bloques (ONA, 2012).
- Hacer cálculos, como lo indica el método para cada bloque de muestras con referencia a su estándar respectivo (ONA, 2012).
- Determinar la cantidad recuperada del analito (ONA, 2012).

No se conocen los componentes de la muestra

- Un analista debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido del analito.
- El mismo analista debe preparar por lo menos 3 muestras adicionadas, por ejemplo, utilizando la mitad de la muestra analítica que originalmente requiere el método y adicionar el analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) hasta completar lo que represente el 100% de éste en la muestra (ONA, 2012).
- Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito (intervalo) y preparar la muestra adicionada al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de muestra en los tres niveles (ONA, 2012).



- Las muestras adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra (ONA, 2012).
- Realizar una determinación de cada preparación de muestra, de acuerdo a la siguiente secuencia:
 - ✚ Estándar.
 - ✚ Muestra adicionado nivel inferior.
 - ✚ Muestra adicionada 100%.
 - ✚ Muestra adicionado nivel superior.
 - ✚ Hasta terminar los 3 bloques (ONA, 2012).
- Hacer cálculos, como lo indica el método para cada bloque de muestras con referencia a su estándar respectivo (ONA, 2012).
- Determinar la cantidad recuperada del analito:

Cuando no sea posible adicionar de manera directa el analito a la muestra, la adición puede ser llevada a cabo en alguna etapa del método. Se recomienda que la adición se lleve a cabo en las primeras etapas del método, para poder asegurar que las etapas posteriores, no den lugar a resultados incorrectos. Por ejemplo, si una muestra se debe extraer, filtrar y diluir, es conveniente que la adición se lleve a cabo antes de extraer; ya que, si existiera algún problema con la extracción o con la filtración, puede dar lugar a resultados incorrectos si el analito se



adiciona a la muestra o matriz analítico hasta antes de diluir. El intervalo (rango) de la concentración del analito adicionado, depende del propósito del método y debe incluir la especificación, los límites según una normativa en particular (ONA, 2012).

Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados, calcular el valor de la pendiente (b), la ordenada en el origen (a), el coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente (IC(b)), el intervalo de confianza para la ordenada al origen (IC(a)), y el coeficiente de variación de regresión (CV y/x) (ONA, 2012).

Calcular:

Promedio aritmético, la desviación estándar (S), el coeficiente de variación (CV) y el intervalo de confianza para la media poblacional IC (μ) del porcentaje de recobro (recuperación) (ONA, 2012).

Criterios de aceptación:

Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$r^2 \geq 0.995$ (El criterio de aceptación definido por el laboratorio dependerá del tipo de análisis y del nivel de concentración del analito en la matriz.) IC (b), debe incluir la unidad IC (a), debe incluir el cero (ONA, 2012).



El (CV_{y/x}) coeficiente de variación de regresión (del porcentaje de recobro) no > 2% si el método es volumétrico o cromatográfico, no > 5% si el método es químico o espectrofotométrico (ONA, 2012).


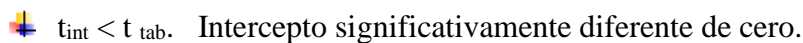

Criterios de aceptación:

Cantidad adicionada vs. Señal obtenida

$r^2 \geq 0.995$ (El criterio de aceptación definido por el laboratorio dependerá del tipo de análisis y del nivel de concentración del analito en la matriz.) IC (b), no debe incluir el cero (ONA, 2012).

El (CV_{y/x}) coeficiente de variación de regresión (del porcentaje de recobro) no > 2% si el método es volumétrico o cromatográfico, no > 5% si el método es químico o espectrofotométrico (ONA, 2012).

Criterios de decisión sobre la linealidad:

-  $t_{reg} \gg t_{tab}$. Correlación significativa.
-  $t_{int} < t_{tab}$. Intercepto significativamente diferente de cero.
-  $t_{pend} > t_{tab}$. Pendiente significativamente diferente de cero (ONA, 2012).



2.1.7.1.5. Exactitud.

2.1.7.1.5.1. Veracidad.

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. Se dispone de dos técnicas básicas:

- ✚ Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y Comparación con otro método caracterizado (ONA, 2012).

Para verificar la veracidad utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. Es recomendable que el material de referencia sea un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés (ONA, 2012).

Claramente la disponibilidad de estos materiales es limitada. Los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- ✚ Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada.



- ✚ Materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno (ONA, 2012).

Análisis	Tratamientos de datos	Comentarios
Efectuar 10 réplicas del material de referencia usando el método a validar. Efectuar 10 réplicas del material de referencia usando el método a validar y un método oficial o validado.	Comparar con un contraste estadístico adecuado el valor medio con el valor del material de referencia utilizado. Comparar con un contraste estadístico adecuado los valores medios del material de referencia obtenido por ambos métodos.	Contraste “t” de un valor conocido contra una media poblacional. Contraste “t” de comparación de dos medias.

The fitness for purpose of analytical methods. a laboratory guide to method validation and related topics. first edition 1998. EURACHEM

Fuente: (ONA, 2012).

Criterio de decisión para la exactitud:

- Si $t_{calculada} < t_{critica}$, el método analítico desarrollado tiene la exactitud requerida, y ambos valores no son estadísticamente diferentes (ONA, 2012).



- Mientras que, si $t_{calculada} > t_{critica}$ significa que el método analítico no es exacto y que existe un error sistemático por defecto o por exceso que en valor absoluto es $|\mu - X_{med}|$, donde μ representa el valor verdadero o esperado de concentración del analito (ONA, 2012).

Suposiciones: Distribución $t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s / \sqrt{n}}$ | aproximadamente Normal

Hipótesis: Nula: $H_0: \mu = \mu_0$ Alternativa: H_1 ,

Dos colas: $\mu \neq \mu_0$

Una cola: $\mu < \mu_0$ y $\mu > \mu_0$

Test estadístico: Distribución t con (n-1) grados de libertad

Decisiones:

$H_1: \mu \neq \mu_0$ (test dos colas) $-t_{\alpha/2, n-1} < t < t_{\alpha/2, n-1}$ **H_0 aceptada**

$H_1: \mu < \mu_0$ (test una cola) $t > -t_{\alpha, n-1}$ **H_0 aceptada**

$H_1: \mu > \mu_0$ (test una cola) $t < t_{\alpha, n-1}$ **H_0 aceptada**



2.1.7.2. Porcentaje de Recobro

Debe evaluarse en al menos tres réplicas de tres niveles de concentración, incluidos en el rango de trabajo del método. (Ver linealidad del método) (ONA, 2012).

2.1.7.3. Precisión

La precisión es medida mediante la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia (ONA, 2012).

2.1.7.3.1. 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 de tiempo corto (ONA, 2012).

2.1.7.3.2. 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).



2.1.7.3.2.1. Reproducibilidad.

Estudia la variabilidad de método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios.

Análisis	Tratamientos de datos	Comentarios
10 réplicas de un material de referencia utilizando mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto.	Determinar la desviación estándar de los resultados.	Determina la Repetibilidad.
10 réplicas de un material de referencia, utilizando diferente analista, equipo, y mismo laboratorio y período.	Determinar la desviación estándar de los resultados.	Determina la precisión intermedia.
10 réplicas de un material de referencia utilizando diferentes analistas, equipos y laboratorio en período de tiempo prolongado.	Determinar la desviación estándar de los resultados.	Determina la reproducibilidad.

The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. First Edition 1998. EURACHEM

Fuente: (ONA, 2012).



Nota: Ver en esta misma guía: cálculos estadísticos involucrados en la evaluación de la precisión intermedia (reproducibilidad).

Criterio de decisión para la precisión: 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%. Al aplicar el análisis de varianza en la evaluación de la repetibilidad intermedia se aplicó el criterio de Fisher, en cuyo caso el valor experimental de F debe ser menor que el valor crítico (ONA, 2012).

2.1.7.4. Límite de Detección y Límite de Cuantificación

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo (ONA, 2012).

Según un resultado "positivo" no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa, además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo contrario se puede incurrir en un falso positivo: cuando el analito presente en la muestra no está presente. (ONA, 2012).

El límite de cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable) (ONA, 2012).



Numéricamente es mayor el límite de cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un % de coeficiente de variación y de recuperación aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse, pero no cuantificarse (ONA, 2012).

Si las concentraciones a determinar son elevadas, se puede sustituir su estudio por la determinación de la precisión y la exactitud a la concentración más baja que presente el analito en la práctica (ONA, 2012).

Determinación de los límites de detección y cuantificación.

➤ Relación señal-ruido (aplica a métodos instrumentales).

Se compara la respuesta del blanco de la muestra (matriz de la muestra conteniendo todos los excipientes excepto el analito a estudiar) con la respuesta de muestras preparadas por la adición de pequeñas cantidades de analito al blanco. Se obtiene, primero el nivel medio de ruido del blanco y se multiplica por 2 o 3 para el límite de detección y por 6 o 10 para el límite de cuantificación. Estos valores se comparan con las respuestas de la serie de blancos con analito, hallándose finalmente la concentración de analito que corresponde al valor de la señal (ONA, 2012).



➤ Estudio de la menor cantidad detectable

El límite de detección se determina mediante el análisis de muestras con cantidades o concentraciones conocidas de analito y estableciendo el nivel mínimo en el que este puede detectarse fiablemente (ONA, 2012).

Este se emplea en cromatografía en capa fina para hallar el límite de detección de las impurezas y/o productos de degradación en una materia prima (ONA, 2012).

Primero se determina experimentalmente la máxima cantidad de materia prima (carga máxima) que se separa correctamente en las condiciones cromatográficas establecidas (sin colas, ni distorsión en la mancha). Después se halla experimentalmente la menor cantidad de impureza o producto de degradación que puede detectarse fiablemente sin interferencia de la mancha principal (ONA, 2012).

Para ello, se preparan una serie de soluciones conteniendo una cantidad constante de materia prima, del orden de la carga máxima y cantidades decrecientes del analito que se desea estudiar. El límite de detección se calculará a partir de la dilución en que no se pueda distinguir la respuesta del analito de la del blanco. El resultado se expresa en valor absoluto o bien en forma de porcentaje respecto a la carga máxima de materia prima. Este último es el utilizado habitualmente por las farmacopeas en los ensayos de pureza por cromatografía en capa fina (ONA, 2012).



➤ **Estimación del límite de detección mediante el valor de la ordenada en el origen expresada en unidades de concentración**

Si la recta del ensayo de linealidad ($y = bx + a$) se ha confeccionado con un rango de concentraciones bajo, se admite utilizar el término independiente "a", para estimar, aproximadamente el límite de detección. El límite inferior de la respuesta se toma como $3 \frac{1}{b}$ y

el límite de detección expresado en las mismas unidades que las abscisas en la recta de calibración es $3 \frac{1}{b}$ (ONA, 2012).

➤ **Análisis repetido del blanco de la muestra:**

Se analizan una serie de blancos de la muestra ($n \geq 10$) y se calcula la media y blanco y la desviación estándar S_{blanco} de las respuestas obtenidas. A partir de estos valores existen diferentes expresiones en las que interviene la sensibilidad (pendiente de la recta de calibración) y que da una estimación de los límites de detección y cuantificación expresados en unidades de concentración (ONA, 2012).



2.1.7.5. Robustez

La robustez es una medida de la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método; proporciona una indicación de la fiabilidad del procedimiento en un uso normal. En este sentido el objetivo de la prueba de robustez es optimizar el método analítico desarrollado o implementado por el laboratorio, y describir bajo qué condiciones analíticas (incluidas sus tolerancias), se pueden obtener a través de este resultado confiable (ONA, 2012).

Un método de ensayo es más robusto entre menos se vean afectados sus resultados frente a una modificación de las condiciones analíticas (ONA, 2012).

Para esta determinación se aplica el **Test de Youden y Steiner** para la evaluación de la robustez de un método químico analítico. Este procedimiento permite evaluar el efecto de siete variables con solo ocho análisis de una muestra.

Para proceder a realizar el estudio de robustez se deben identificar aquellos factores del método que posiblemente afectarían los resultados finales obtenidos a través de este.

Los factores (k) a tomar en cuenta son 3: A: concentración de cloruros en la muestra. B: Tiempo de reflujo. C: Temperatura del digestor. Los valores mínimos se les asigna el signo -, y los máximos se les asigna el signo +.



Cada experimento i , se realizará al menos por duplicado. Se pueden considerar las interacciones entre el tiempo de reflujo y la temperatura. La concentración de cloruros no depende del proceso de digestión, por tanto, es independiente de los otros factores.

Los efectos por cada factor o interacción se calculan utilizando la siguiente ecuación:

$$E_f = \frac{\sum y_{(+)}}{n_{(+)}} - \frac{\sum y_{(-)}}{n_{(-)}}$$

El criterio de robustez tomando como referencia la desviación estándar de $y_{promedio}$ es el siguiente:

Si $E_f > 2 s_y$ los factores son significativos y afectan la robustez del método.



2.1.7.6. Incertidumbre

El cálculo de la incertidumbre se realizará aplicando la ley de propagación de la incertidumbre establecida en la guía GUM 1995:2008. El procedimiento a seguir es el siguiente:

- Identificar el mesurando.
- Identificar las variables que influyen en el mesurando.
- Deducir el modelo matemático.
- Calcular los coeficientes de sensibilidad.
- Calcular los componentes de la incertidumbre, basado en el diagrama de Ishikawa.
- Calcular las incertidumbres de las variables (tipo A y B).
- Elaborar tabla del presupuesto o balance de las incertidumbres.
- Calcular la incertidumbre combinada aplicando la ley propagación de la incertidumbre.
- Evaluar la contribución de las incertidumbres en el mesurando, utilizando el diagrama de Pareto.
- Calcular el intervalo de confianza. reportar con el número de cifras significativas correcto.



2.1.7.6.1. Tipos de Incertidumbres.

2.1.7.6.1.1. Incertidumbre Tipo A.

Son las que se pueden determinar exclusivamente a partir del análisis estadístico de una serie de observaciones individuales. En vista que esta incertidumbre (Tipo A) son basadas en el análisis de las observaciones, se puede evaluar llevando a cabo un número de mediciones independientes que consisten en poner a punto el sistema de medición y repetir el ciclo tantas veces como se requiera, se anotan los resultados y se calcula la media aritmética y la desviación estándar de la media (Chacón, J., 2004).

2.1.7.6.1.2. Incertidumbre Tipo B.

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 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, esta información puede incluir:

- 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.
- Datos de mediciones anteriores.
- Experiencia sobre el conocimiento general de las características, el comportamiento y las propiedades de los materiales e instrumentos relevantes (Chacón, J., 2004).

2.1.7.6.1.3. Incertidumbre Estándar Combinada.

La incertidumbre estándar combinada uc (y) es la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, siendo éstos, las varianzas o covarianzas de esas otras magnitudes ponderadas de acuerdo a como varía el resultado de la medición con respecto esas magnitudes (CENAM, 2005).

2.1.7.6.1.4. Incertidumbre Expandida.

Se denota por U y se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada (y) por un factor de cobertura k : $U = k(Y)$. Los resultados de la medición se expresan como $Y = y \pm U$ (Chacón, J., 2004).

2.1.7.8. Aseguramiento y Control de la Calidad

El aseguramiento de la calidad analítica forma parte imprescindible de la administración de laboratorios, que busca demostrar y evaluar de manera transparente, objetiva y documentada la validez de los procedimientos utilizados en el laboratorio para generar datos confiables, mediante la participación de un tercero.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



El aseguramiento de calidad presupone la existencia de un sistema de control de calidad (Quality Control) de las mediciones, de un sistema de evaluación de la calidad (Quality Assessment) y de un sistema de documentación que proporcione evidencia objetiva de su existencia. La ausencia de cualquiera de estos componentes compromete la validez de los resultados analíticos.

La norma ISO/IEC 17025 en su versión 2017 dice en el requisito 5.9 “aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y calibración” que el laboratorio debe tener procedimientos de control de calidad apropiados para el tipo y volumen de trabajo del laboratorio, para realizar el seguimiento de la VALIDEZ de los ensayos y calibraciones llevados a cabo, registrarlos con el objetivo de detectar tendencias, y en la medida de lo posible aplicar técnicas estadísticas, para la revisión de resultados y puede incluir los elementos siguientes:

Uso regular de materiales de referencia certificados (MRC), una matriz natural certificada lo más similar posible a las muestras de interés, o secundarios material de referencia (MR) utilizado generalmente cuando se requiere demostrar trazabilidad.

- ✓ Participación en comparaciones inter laboratorios o ensayos de aptitud.

Repetición de ensayos o calibraciones o de la calibración utilizando el mismo método o métodos diferentes.

- ✓ Repetición del ensayo o de la calibración de los objetos retenidos.

- ✓ Correlación de resultados para diferentes características de un instrumento.



2.1.7.8.1. Blancos.

El uso de diversos tipos de blancos permite evaluar cuánta señal de medida es atribuible al analito y cuánta a otras causas. Varios tipos de blanco están disponibles para el analista, entre los cuales tenemos:

2.1.7.8.2. Blancos de Reactivos

Los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución) se analizan para determinar si contribuyen a la señal de la medida.

2.1.7.8.3. Blancos de Muestra

Se trata de muestras matriz sin presencia de analito, por ejemplo: Muestra de orina humana sin fármaco específico, o una muestra de carne sin residuo de hormonas. Los blancos de muestra pueden ser difíciles de obtener, pero son necesarios para tener una estimación más real de las interferencias que pueden aparecer en un análisis de muestras de rutina.

2.1.7.8.4. Soluciones/ Muestras Fortificadas

Son materiales o soluciones en los que el analito(s) ha sido adicionado a valores conocidos.



Debe ponerse atención en los valores de concentración de modo que la adición no supere el intervalo de trabajo del método (colaboradores, P.P Morillas y, 2016).

2.1.7.8.5. Patrones de Medida

Hay que distinguir entre material de referencia (MR) y material de referencia certificado (MRC), ya que su uso en el proceso de validación es diferente. Los MR pueden ser cualquier material empleado como valor de referencia, ya sean reactivos de laboratorio de pureza conocida, productos químicos industriales u otros dispositivos. La propiedad o analito debe ser estable y homogénea pero no necesita contar con el alto grado de caracterización, trazabilidad metrológica, incertidumbre y documentación exigida a los MRC.

La caracterización del parámetro de interés en un MRC se controla de manera más rigurosa que un MR, y el valor caracterizado se certifica con un documento que demuestra su trazabilidad metrológica y en el que se declara su incertidumbre (colaboradores, P.P Morillas y, 2016).

2.1.7.9. Estadística

Las técnicas estadísticas son esenciales para agrupar los datos obtenidos y realizar un análisis objetivo de las diferencias entre conjuntos de datos (pruebas de significación). Los analistas deben



familiarizarse con los elementos básicos de la teoría estadística como ayuda para la evaluación de la precisión, sesgo, rango lineal, límite de detección y cuantificación (LOD y LOQ) (Eurolab España. P. P. Morillas y colaboradores, 2016).

2.1.8. Tipos de Errores

2.1.8.1. Errores en las Mediciones Analíticas.

Todo resultado contendrá algo de error, independientemente de lo cuidadosa que haya sido la medición. Así mismo los métodos no apropiados de recolección y conservación de las especificaciones para muestras analíticas, pueden introducir errores en los resultados analíticos.

Para controlar estos errores, el laboratorio debe establecer un sistema de calidad sobre la base de buenas prácticas de laboratorio y los procedimientos de control interno, lo cual debe reforzarse con un control externo que se manifiesta en la participación, en estudios inter laboratorios, donde se puede evaluar la competencia técnica de cada laboratorio. Los errores se pueden clasificar según su origen.

2.1.8.2. Errores Determinados (Sistemáticos).

Los errores sistemáticos hacen que todos los datos se desplacen en una sola dirección. Estos errores tienen, con frecuencia, una magnitud muy parecida. Este comportamiento se debe a que se presenta el mismo tipo de error cada vez que se hace una medición.



Hay tres fuentes principales de errores determinados que son:

1. Errores instrumentales.
2. Errores de metodología.
3. Errores personales.

Cada vez que se realiza una réplica, el error determinado siempre será alto o bajo. Los errores sistemáticos no se incluyen en las estimaciones de la incertidumbre, pero se establecen empleando materiales de referencia como es habitual y así se corrigen o eliminan.

2.1.8.3. Errores Indeterminados (Aleatorios).

Los errores indeterminados o aleatorios surgen debido a variaciones pequeñas e imprescindible, es decir no tienen causa concreta, debido a esto no puede asignarse su presencia a una variable determinada, la fuente de error puede deberse a muchos factores, como error humano, fluctuaciones de temperatura o pequeñas diferencias en las cantidades de reactivos usados.

Sin embargo, para revelar la presencia de errores aleatorios en los experimentos químicos es necesario habitualmente realizar medidas repetidas, para analizar el grado de variabilidad (o dispersión), entre n mediciones realizadas en un experimento, conocida como la media aritmética que es la suma de todas las medidas dividida por el número de medidas.



La media \bar{x} , de n mediciones viene dada por: $\bar{x} = \frac{\sum xi}{n}$

Otra medida más útil que utiliza todos los valores, es la desviación estándar experimental, de una serie de n mediciones de la misma magnitud a medir viene dada:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

En el cual xi es el resultado de la i-esima medición \bar{x} es la media aritmética de los n resultados considerados. El límite de confianza de la media viene dado por:

$$\bar{x} \pm t_{n-1} \cdot s/\sqrt{n}$$

2.1.8.1. Marco Legal

- ✚ NTN ISO/IEC 17025 tercera edición 2017-11.

Norma técnica nicaragüense, evaluación de la conformidad. requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

- ✚ Standard methods for the examination of water and wastewater 23RD EDITION, 5220 D, closed reflux, colorimetric method.



- ✚ Política para la validación de métodos de laboratorios de ensayos y calibración
DOC-ONA-12-011 [v01]

- ✚ Reglamento en el que se establecen las disposiciones para el vertido de aguas residuales, decreto 21-2017

2.2. Antecedentes

En 2019, en Ecuador- Sangolqui, Báez determinó la validación de métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente. La metodología se basó principalmente en el uso de métodos estandarizados, y para la validación se usaron como referencia la guía EURACHEM: Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados, y guía para la determinación de la incertidumbre en métodos analíticos, finalmente, se verificó si los métodos son aptos para su aplicación en aguas limpias y residuales bajo condiciones específicas con fines de cumplimiento de normas ambientales nacionales vigentes. Los métodos analíticos que se validaron son: Color, sulfatos, nitratos, pH, conductividad, sólidos totales, sólidos totales suspendidos, y sólidos totales disueltos.

En el año 2008 en Nicaragua, Carrasco Amanda y Mendoza Leonardo determinaron la validación del método colorimétrico de reflujo cerrado para determinar la metodología analítica de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales por espectrofotometría uv – visible. Teniendo como objetivo, validar el método colorimétrico de reflujo cerrado para determinar la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales en rango de concentraciones de 100 -900



ppm. De los cuales los principales parámetros de validación evaluados fueron: Linealidad, precisión, límite de detección y límite de cuantificación, la linealidad del método la determinaron a través de las curvas de calibración normal preparadas en

días diferentes, obteniendo coeficientes de determinación mayores de 0.995 dando una buena linealidad. El límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) obtenidos a partir de la curva de calibración normal resultó ser de 29.21 mg O₂/L y 97.39 mg O₂/L respectivamente. La precisión del método la evaluaron a través de la repetibilidad expresada como desviación típica relativa (%C. V) para tres niveles de concentración comprendidos en el intervalo considerado: 100, 400 y 900 mgO₂/L, siendo esta menor del 10%; requisito que debe ser cumplido para métodos espectrofotométricos. En el cual demostraron que el método evaluado tiene una buena repetibilidad para las condiciones establecidas de trabajo. Esta metodología la aplicaron en base a las especificaciones que rige la ONA y los rangos establecidos por la norma NTC/ISO/IEC17025.

En el año 2015 en Colombia, Rueda Lorena y Casayan Angélica, verificaron el efecto de matriz realizando curvas de adición patrón en muestras de aguas residuales en el laboratorio multipropósito de Calarca S.A. ESP. En el cual verificaron el método para determinar la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales por colorimetría en rango bajo y rango alto. La muestra fue suministrada por el laboratorio de análisis de aguas de la empresa multipropósito de Calarca S.A. ESP; donde la preservaron con ácido sulfúrico concentrado hasta pH < 2 y almacenaron en envases plásticos rotulados. Las muestras, el blanco y los estándares la introdujeron en las ampollas para DQO, cuando la concentración en las muestras fue menor a 150mg O₂/L se montó con las ampollas de digestión marca HACH, y cuando su concentración fue mayor a 150 mg O₂/L se realizó con los reactivos preparados en el laboratorio. Para la verificación, se hizo uso de material volumétrico calibrado, lavado adecuadamente y enjuagado con agua



destilada. Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro a 420 nm (rango bajo) y 600nm (rango alto).

Finalmente, realizaron análisis estadísticos a partir de los cálculos de la media, coeficiente de variación, desviación y % de error, parámetros que permiten determinar si el método a verificar, es adecuado y cumple con las especificaciones exigidas por la norma NTC/ISO/IEC17025. Después de haber verificado el método analítico en rango bajo y alto del análisis estadístico de muestras de aguas residuales presentaron desviaciones estándar y coeficientes de variación aceptables para el proceso de verificación en el laboratorio multipropósito de calarca, estipula que, en su sistema de gestión de calidad, el resultado del coeficiente de variación y la desviación estándar se encuentran dentro de los valores aceptables en el proceso de verificación inferiores al 10%. El error relativo debe ser inferior al 10 %, por lo tanto, los resultados del método aplicado son aceptables en el proceso de verificación.

2.3. Hipótesis

De acuerdo a la clasificación de la hipótesis en la validación de métodos, al realizar los análisis y determinar los parámetros de la ONA se podrán diferir si estos cumplen con los valores descritos, por lo que se utilizan las pruebas de significancia de t de Student, test de Fisher y la prueba de ANOVA, los criterios de objeto serían: La hipótesis nula (estadística) o la hipótesis alternativa; por lo consiguiente se plantea para ser rechazada o aceptada, por lo consiguiente una vez descrito los resultados emitidos por el laboratorio ambiental PRONIC de Nicaragua (PRONIC-Managua), se determinará la eficacia del método por medio de pruebas documentadas y demostrativas de que este tipo de análisis que se lleva a cabo en el laboratorio es fiable.



CAPÍTULO III



3.1. Diseño Metodológico/ Marco Metodológico

3.1.1. Descripción del Ámbito de Estudio

La evaluación de los parámetros de validación del método analítico para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas residuales y los establecimientos de las condiciones instrumentales del espectrofotómetro para la identificación y cuantificación de los analitos, se llevó a cabo en el laboratorio ambiental PRONIC de aguas residuales.





3.1.2. Tipo de Estudio

3.1.2.1. El Método

De acuerdo con el método de la investigación, en este estudio se aplicará un método experimental debido a que se empleará la técnica colorimétrica de reflujo cerrado para determinar la demanda química de oxígeno (DQO) en muestras de aguas residuales, utilizando la técnica analítica de espectrofotometría por Uv visible para su determinación y cuantificación. Por consiguiente, se determina como un estudio explicativo de acuerdo al nivel de profundidad del conocimiento, debido a que se pretende obtener resultados mediante la realización de pruebas de la metodología de standard methods for the examination.

El tipo de estudio es correlacional, debido a que los resultados que se obtengan durante la validación nos ayudarán a determinar que el método que se realiza en el laboratorio ambiental PRONIC, cumplen con los criterios que se describe en la UNE-E ISO/IEC 17025 al validar esta técnica, se obtendrán pruebas documentadas y demostrativas de que este tipo de análisis que se lleva a cabo en el laboratorio es fiable.

Según el tiempo en que se realizarán los análisis, la investigación presenta las características de un estudio de tipo prospectivo, debido a que los datos están agrupados en grupos que avanzan hacia adelante en el tiempo en que se inició hasta la obtención de resultados.

Esta investigación cuenta con un corte transversal, debido a que según (Samperie, 2003) “el diseño no experimental se divide tomando en cuenta el tiempo durante se recolectan los datos, estos son: diseño transversal, donde se recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único, su propósito es describir variables y su incidencia de interrelación en un momento dado, y



el diseño longitudinal, donde se recolectan datos a través del tiempo en puntos o periodos, para hacer inferencias respecto al cambio, sus determinantes y sus consecuencias”.

Se estima que el alcance de los resultados es analítico puesto que se controlan las condiciones en las que se trabajan las variables al momento de realizar los análisis estadísticos, posteriormente ya realizados los análisis con los métodos de confianza (Método Hach).

3.1.2.2. Población y Muestra

En la presente investigación se tomará muestras no probabilísticas, por lo cual se considera esta selección informal y derivada de un proceso arbitrario, la población en este estudio está definida por soluciones preparadas o fortificadas en el laboratorio a partir de agua destilada. Para este estudio se ha considerado una muestra no probabilística por conveniencia, se analizará un total de 20 muestras, dentro de las cuales están, las muestras fortificadas preparadas en el laboratorio, blancos del laboratorio y muestra de referencia (MR).

3.1.2.3. Criterios de Inclusión y Exclusión

3.1.2.3.1. Criterios de Inclusión.

1. Concentraciones de rangos aceptables que se estén dentro del rango que exige el decreto 21-2017 para las disposiciones para el vertido de aguas residuales.
2. Mediante la validación del método, el laboratorio emitirá resultados confiables, por lo que se logrará alternar como un laboratorio de calidad al emitir los resultados por el personal encargado.



3. Conseguir la probabilidad de obtener respuesta positiva que permita estimar los parámetros de validación para la demanda química de oxígeno en aguas residuales.

3.1.2.3.2. Criterios de Exclusión.

1. Obtener como resultado una cantidad alta de concentración por arriba del rango, según lo establecido en el decreto 21-2017.
2. Que la industria de la que se obtuvo la muestra no proponga alternativas en caso de que los resultados estén por arriba del rango establecido.
3. Menor solicitud de cotizaciones de análisis en cuanto a la realización de DQO en aguas residuales domésticas.



3.1.3. Variables y Operacionalización

Variabes independiente	Descripción conceptual	Subvariables	Indicador
Método analítico	Establece la estabilidad y confiabilidad del método.	Eficiencia del método.	Determinación cuantitativa de la validación del métodos analíticos para la demanda química de oxígeno (DQO).
Método experimental	Garantiza cuantitativamente los resultados en cuanto a las mediciones de la cristalería.	Niveles de Concentración.	Determina cuantitativamente la validez de los resultados.



Variable dependiente		
Crerios que determinan la validación del método.	Condiciones instrumentales analíticas.	Linealidad del sistema, linealidad del método y rango, exactitud, precisión, límite de detección y límite de cuantificación, y el cálculo de la incertidumbre.



3.1.4. Operacionalización de Variables

Objetivos específicos	Variable conceptual	Subvariables, o dimensiones	Variable operativa ó indicador	Técnicas de recolección de datos e información y actores participantes				Tipo de variable estadística	Categorías estadísticas
				<u>Cuasi Experimento</u>	<u>Experimento de Campo</u>	<u>Experimento de Laboratorio</u>	<u>Experimento en la Naturaleza</u>		
Objetivo específico No.1 Determinar el alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo que rige la Organización Nacional de Acreditación (ONA): (Linealidad del método y rango, linealidad	Parámetro de: Linealidad del método y rango, linealidad del sistema exactitud,	Parámetros: Límite de LOD y LOQ. Parámetros: Exactitud y precisión. Parámetros: Linealidad del	Variable operativa se mide cuantitativamente.			x		Variable continua	Variable ordinal



del sistema, exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación)	precisión, límite de detección, límite de cuantificación) para la determinación de DQO en agua residuales.	método y , linealidad del sistema DQO							
Objetivo específico No.2 Estimar la incertidumbre de la medición del método analítico para la	Considerar la incertidumbre del método	Parámetros de: LOD, LOQ. Parámetros de: Exactitud, precisión.	Variable operativa se mide			x		Variable continua	Variable ordinal



determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales.	analítico para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales.	Parámetros de linealidad del sistema de método y , linealidad del sistema	cuantitativamente.						
Objetivo específico No.3 Verificar la calibración del material volumétrico previo	Determinar mediante cálculos que los volúmenes tomados y las	Determinar mediante la medición de 10 réplicas de un matraz de 1,000 mL tanto vacío como a su	Verificar que los volúmenes medidos y las incertidumbres en la	x				Variable ordinal	Variable Nominal



a realizar la validación del método analítico.	incertidumbres asociadas sean mínimos.	medida; tomando en cuenta factores, mediante el cual se determinará la incertidumbre del material.	cristalería sea la adecuada para la validación.						
--	--	--	---	--	--	--	--	--	--



3.1.5. Materiales y Métodos

3.1.5.1. *Materiales para la Recolectar Información*

Los materiales utilizados para recolectar información fueron: Standard methods for the examination of water and wastewater 23RD edition, normativas naciones e internacionales, tesis de grado, tesis de posgrado, libros online, revistas y publicaciones científicas.

3.1.5.2. *Materiales para Procesar la Información*

Para procesar la información se utilizarán programas tales como: Microsoft word 2016, Microsoft Excel 2016, el programa MAPLE 19 (programa matemático) y el método de ANOVA.

3.1.5.3. *Equipos, Reactivos y Materiales de Laboratorio*

3.1.5.3.1. **Equipos.**

Los equipos que se utilizaron durante la metodología analítica, consisten en aparatos eléctricos facilitando las mediciones requeridas.

- Balanza analítica.



- Termostato seco con 2 bloques de calentamiento separado.
- Espectrofotómetro.
- Balanza de precisión.
- Termocupla.
- Horno de secado.
- Campana extractora de gases.
- Higrómetro
- Hot plate (Agitador)

3.1.5.3.2. Reactivos.

Los reactivos utilizados durante la metodología analítica fueron:

- Dicromato de potasio, Pureza 99.94%
- Ácido sulfúrico, concentrado.
- Ácido sulfámico.
- Hidrógeno ftalato de potasio (KHP), pureza 100 % \pm 0.05 %.
- Sulfato de plata.
- Sulfato de mercurio (II).
- Agua destilada grado reactivo.



3.1.5.3.2. Materiales.

3.1.5.3.2.1. Cristalería.

Durante la metodología analítica se utilizaron: pipetas graduadas y balones volumétricos, estos fueron calibrados a la temperatura de trabajo del laboratorio. Estos materiales volumétricos presentan diferentes tolerancias especificadas por el fabricante, mostrándose en la tabla 4

Tabla 4. Materiales volumétricos clase A con tolerancia del fabricante

Cristalería	Volumen
Pipetas graduadas clase A.	5.00 ± 0.0200 mL.
	25.00 ± 0.05 mL.



Balones volumétricos clase A.	100.00 ± 0.08 mL.
	1000.00 ± 0.3 mL.

Tabla 5. Otros materiales utilizados durante la metodología analítica

- Platos para pesaje de reactivos.	- Guantes látex.
- Macropipeteador.	- Pipetas pasteur, pisetas.
- Gradilla de tubos de ensayo.	- Varilla de vidrio.
- Tubos digestión de vidrio borosilicato con tapa de teflón 16x 100 mm.	- Beaker graduado de 1L. - Paño (kleenex).
- Espátulas.	- Parafilm.



3.1.5.4. Método

Las pruebas de ensayo utilizadas para la evaluación de la validación del método analítico, se llevaron a cabo siguiendo el método SM 5220 D del standard methods for the examination of water and wastewater 23RD edition este método se puede usar para determinar las concentraciones de: 20 - 900 mg O₂/L de DQO a muestras de aguas y aguas residuales por espectrofotometría de uv visible, método colorimétrico de reflujo cerrado. Los parámetros de validación se evaluaron de acuerdo a la política que establece la oficina nacional de acreditación (ONA, 2012).

3.1.5.4.1. Procedimiento Analítico.

3.1.5.4.1.1. Limpieza y Calibración del Material Volumétrico.

Asimilar la metodología de un ensayo de validación según la norma NTN 0400105 en el mejoramiento de la calidad de los resultados analíticos precisa la calibración del material volumétrico utilizado en la realización del ensayo, planteado lo anterior la calibración del material volumétrico se llevó a cabo para:

- Establecer sus límites de tolerancia al 95% y comparar si están dentro del rango de tolerancia establecido por el fabricante.

- Establecer la incertidumbre estándar.



Es importante que antes de utilizar cualquier material de vidrio éste esté debidamente limpio de tal manera que no produzca ningún tipo de contaminación en su utilización causando cualquier alteración en los resultados de los análisis, este procedimiento consistió en lo siguiente:

1. Se lavó la cristalería con agua de grifo, luego se preparó una solución de Extran - agua en una proporción 1:25.
2. Se depositó la cristalería en la solución (Extran – agua) ya preparada en un recipiente y se dejó hervir 60 minutos aproximado.
3. Después se lavó cuatro veces con agua destilada, luego se depositó en un recipiente que contenía una solución preparada de ácido clorhídrico: agua destilada en una proporción de 1:4 y se dejó durante 24 horas.
4. Se enjuago cuatro veces con agua destilada, posteriormente se secó en el horno durante dos horas a una temperatura de 105 °C y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Una vez lavada la cristalería se procedió a la calibración:

La calibración de los recipientes volumétricos de vidrio (clase A), consiste en determinar el volumen de líquido verdaderamente contenido o entregado por el recipiente. Este volumen (V), se conoce midiendo la masa de líquido; para lo cual se mide la masa del recipiente vacío (M_b) y



después la masa del recipiente lleno (M_c) hasta la marca de aforo con el líquido utilizado para la calibración (hexano, grado pesticida); la diferencia de masa de ambas mediciones ($M_c - M_b$) será la masa del líquido contenida en el recipiente y luego se calculó el volumen medido aplicando la ecuación del volumen del agua, planteada más adelante.

3.1.5.4.1.2. Procedimiento Utilizado Para la Calibración de Matraz.

1. Se pesó el matraz vacío de 100 mL diez veces.
2. Se agregó al matraz agua destilada, hasta la marca de aforo y se pesó nuevamente.
3. Con ayuda de una pipeta Pasteur se retiró aproximadamente 1.00 mL de agua destilada del matraz aforado.
4. Luego se aforó nuevamente el matraz y se repitió este procedimiento al menos 10 Veces, se anotaron las masas de cada pesada (Trujillo, S., y Arias, R., 2002).

3.1.5.4.1.3. Procedimiento Utilizado Para la Calibración de Pipetas.

1. Se pesó el matraz vacío 10 veces.
2. Se llenó la pipeta de 5 mL con agua destilada hasta la marca.
3. Se secó el exterior de la punta de la pipeta con papel kleenex.



4. Se depositó el agua destilada contenido en la pipeta dentro del matraz.
5. Se colocó el matraz en la balanza analítica y se anotó el peso obtenido.
6. Se repitió los pasos del 2 al 5, hasta obtener 10 mediciones del volumen de agua destilada agregado al matraz.

Luego de la calibración se realizó el cálculo del volumen real contenido (en el caso del balón) o entregado (caso de las pipetas), se calcula por medio de la siguiente ecuación que constituye el modelo matemático:

$$V_{20} = (M_c - M_b) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20)) \quad (1)$$

Dónde:

V₂₀ = Es el volumen de agua contenido en el matraz a la temperatura de 20 °C, [cm³].

M_c-M_b= Es la masa del recipiente con agua (M_c) menos la masa del recipiente vacío (M_b); es decir, la masa de agua contenida en el recipiente (M_a), [g].

ρ_A = Es la densidad del agua que se usa en la calibración, calculada.

ρ_a = Es la densidad del aire a las condiciones ambientales del laboratorio, calculada



ρ_B = Es la densidad de las pesas de la balanza (8000 kg/m^3), valor convencional según la recomendación internacional No. 33 de la OIML.

α = Coeficiente de expansión cúbica del vidrio de borosilicato ($1,0 \times 10^{-5} \text{ K}^{-1}$).

TA = Es la temperatura del agua medida durante la calibración, [$^{\circ}\text{C}$].

3.1.5.4.1.4. Preparación de Soluciones.

En este proceso se prepararon soluciones estándares para la cuantificación de la demanda química de oxígeno, soluciones intermedias, soluciones de trabajo y soluciones de referencia.

➤ **Preparación de soluciones intermedias**

Las soluciones intermedias son todas aquellas que fueron preparadas a partir de una concentración madre de estándar, con el objetivo de disminuir concentraciones en el caso que la solución madre sea demasiado alta y así obtener una concentración más baja y adecuada del analito que se estudia.

La preparación obedece la ecuación de la dilución:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$



Dónde:

C_1 = Concentración del estándar madre

V_1 = Volumen a tomar del estándar madre

C_2 = Concentración buscada de la solución intermedia

V_2 = Volumen a preparar de la solución intermedia

➤ **Preparación de las soluciones trabajo**

Posterior de preparar las soluciones intermedias, se procedió a preparar las soluciones de trabajo que se preparan a distintas concentraciones utilizando la **ecuación de la dilución** con el objetivo de facilitar el volumen a tomar en la preparación de la curva de calibración.

3.1.5.4.1.5. Curva de Calibración.

- **Preparación de la curva de calibración:** Preparar al menos cinco estándares a partir de una solución de hidrógeno ftalato de potasio con equivalentes de DQO para cubrir cada rango de concentración. Maquilla el volumen con agua reactiva; use los mismos volúmenes de reactivo, tubo o tamaño de ampolla, y procedimiento de digestión como para las muestras.
- Prepare la curva de calibración para cada nuevo lote de tubos o ampollas o cuando los estándares se preparan en anterior difiere en un 5% de la curva de calibración.



Las curvas deben ser lineal. Sin embargo, puede producirse cierta no linealidad, según el instrumento utilizado y precisión general necesaria.

Tabla 6. Concentraciones para la preparación de la curva de calibración en rango bajo DQO

Concentraciones del estándar (KHP) esperadas (mgO₂/L)	Volumen tomado de la solución intermedia (mL)	Solvente	Volumen de aforo balón volumétrico (mL)
18	18	Agua destilada	100
36	36		100
54	54		100
72	72		100
90	90		100



Tabla 7. Concentraciones para la preparación de la curva de calibración en rango alto DQO

Concentraciones del estándar (KHP) esperadas (mg O₂/L)	Volumen tomado de la solución intermedia (mL)	Solvente	Volumen de aforo balón volumétrico (mL)
150	15	Agua destilada	100
300	30		100
450	45		100
600	60		100
750	75		100
900	90		100

La preparación de estas soluciones estándar para la realización de las curvas de calibraciones, consistió en medir cada uno de los volúmenes indicados en las tablas anteriores con una pipeta, posterior adicionarlo a cada uno de los balones volumétricos hasta la marca de aforo con el solvente universal de agua destilada con ayuda de una pipeta Pasteur.



3.1.5.4.1.6. Procedimiento del Análisis.

➤ **Tratamiento de la Muestra**

Blancos: Preparar dos (2) tubos como blancos colocando 2.5 mL de agua destilada en un tubo de digestión, adicionar 1.5 mL de solución de digestión y 3.5 mL de reactivo de ácido sulfúrico (este reactivo debe ser dispensado lentamente por la pared del tubo).

Agitar vigorosamente la muestra, transferir a un tubo de digestión, 2.5 mL de muestra, agregar 1.5 mL de solución de digestión y 3.5 mL de reactivo de ácido sulfúrico por la pared del tubo de tal manera que se forme una capa de ácido sulfúrico en el fondo del tubo.

Tapar herméticamente, agitar varias veces invirtiendo el tubo 5 veces, si alguna muestra presenta coloración verdosa o azul, indica que se encuentra fuera de rango de lectura, repetir el procedimiento utilizando dicromato de potasio 0.21 N, enfriar y leer la muestra en el espectrofotómetro rango según corresponda.

➤ **Digestión de la Muestra**

Encienda el digestor con suficiente anticipación para que éste alcance una temperatura de 150 °C, para colocar las muestras.



Colocar los tubos con las muestras, los blancos (2) para digestión y estándares de control en el digestor precalentado a 150°C. Esperar a que se estabilice la temperatura en 150°C y dejar en digestión por 2 horas. Después de este tiempo, sacar los tubos y colocarlos en una gradilla para que se enfríen a temperatura ambiente.

Usar agua destilada para enjuagar exterior de los tubos y un paño (kleenex) para limpiarlos antes de insertar en el adaptador del instrumento.

PRECAUCIÓN: Usar guantes gruesos para proteger las manos del calor producido al mezclar el contenido de los tubos, mezclar bien antes de aplicar calor, para prevenir el calentamiento local en el fondo del tubo y una posible reacción explosiva.

➤ **Selección Longitud de Onda y Medición de Muestra**

- Encienda el instrumento 15 minutos antes de leer las muestras, blancos y controles del método.

Nota: Revise que se encuentre el adaptador para los viales.

- Seleccione en el instrumento espectrofotómetro DR1900 el rango de trabajo utilizado (420 nm rango bajo o 600 nm rango alto) en el programa almacenado.
- Inserte el blanco digestado y presione CERO mg/L (repita dos veces el proceso) con la misma muestra.



- Coloque las muestras y controles preparado (mida dos veces sin extraer el vial).
- Registre los resultados obtenidos y verifique los controles de calidad en las cartas de control para asegurar los resultados.
- Apague el instrumento.

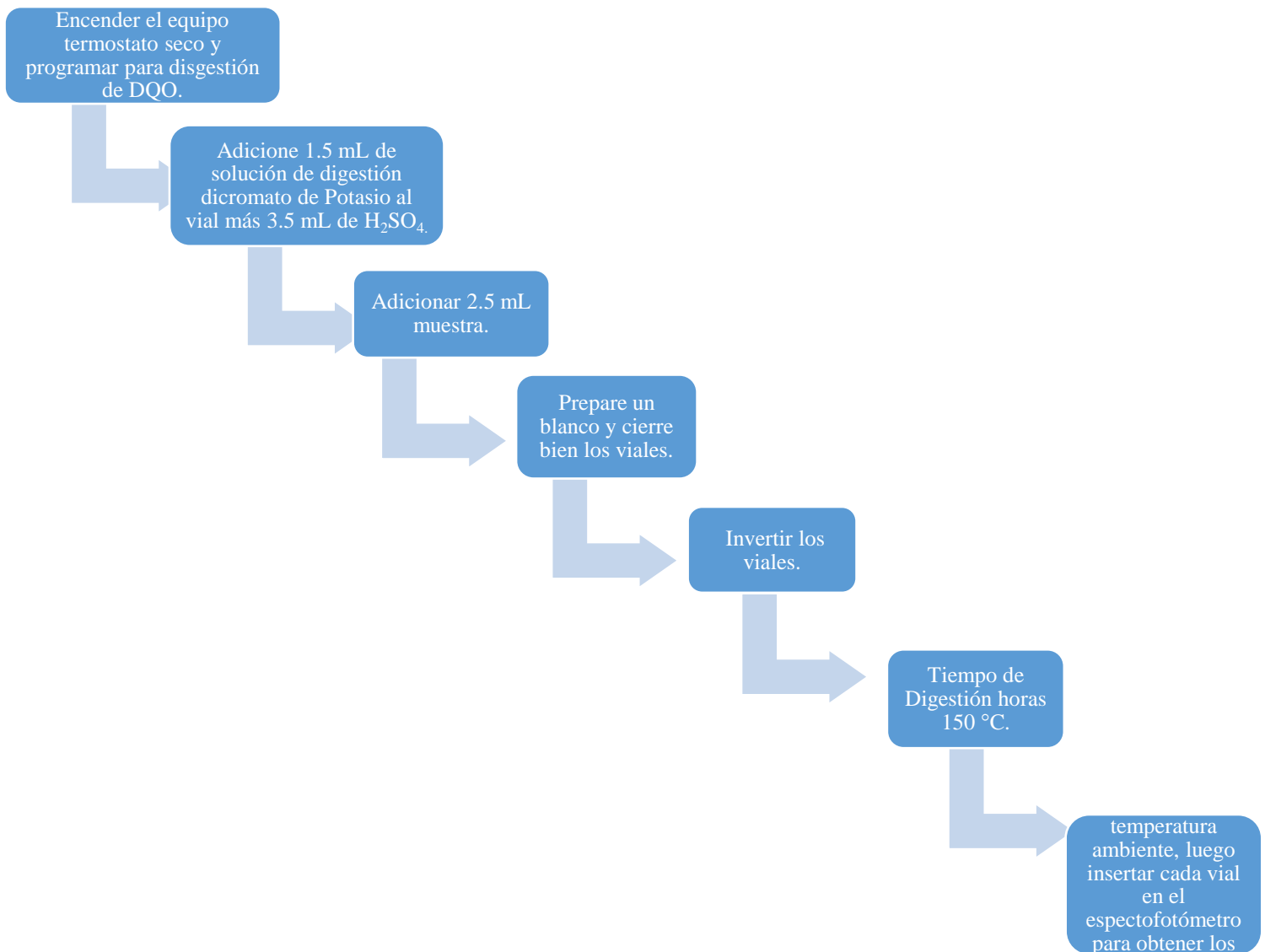
➤ **Cálculo y Expresión de Resultados:**

Los valores de DQO se determinan directamente a partir de las lecturas del rango de trabajo almacenado en el instrumento. Calcule el promedio de las dos mediciones realizadas.

Reportar la lectura obtenida en el equipo con dos cifras significativas.



3.1.5.4.1.7. Flujoograma Para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno





3.2. Evaluación de los Parámetros de Validación

Los parámetros de validación se evaluaron según la política establecida en la oficina nacional de acreditación (ONA, 2012), para un método de ensayo normalizado, determinando los criterios de aceptación y de decisión establecidos, con la intención de demostrar que el método analítico es adecuado para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas residuales.

3.2.1. Linealidad del Sistema

Para determinar la linealidad del sistema se preparó por triplicado 6 niveles de concentración (intervalo o rango) de la solución de trabajo (ver Tabla 6 y 7), en capítulo. 3, sección 3.1.5.4.1.5, calculando el coeficiente de determinación (r^2) y coeficiente de correlación (r), los cuales se determinaron mediante las ecuaciones de Meier y Zund (Meier, P., y Zund, R., 2000).

Luego se aplicó el contraste estadístico t- student a un grado de confianza del 95%, y n-2 grados de libertad, tomando un valor crítico de " t_4 " = 2.78, para demostrar si la correlación a partir de la respuesta de medición de las soluciones de calibración es realmente significativa es decir si la relación es lineal. Resultados en cap.4 sección 4.2.1.

Los criterios de aceptación son $r^2 = 0.98$, IC(B1) no debe incluir el cero. Otros criterios de aceptación deben ser justificados (ONA, 2012).



3.2.2. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)

El límite de detección y el límite de cuantificación de la demanda química de oxígeno se determinaron tanto para el sistema como para el método analítico.

El Límite de detección y de cuantificación del sistema (instrumento), se calcularon por medio de Meier y Zund (Meier, P., y Zund, R., 2000), así se logró determinar la concentración mínima detectable y determinable, así mismo la concentración mínima cuantificable del sistema (instrumento).

Resultados en capítulo.4, sección 4.1.8.5. Tabla 22.

El límite de detección y el límite de cuantificación del método se calcularon mediante el análisis repetido del blanco matriz (ONA, 2012), son todos los excipientes, excepto el analito de interés.

Se analizaron diez réplicas de blancos de la muestra para la demanda química de oxígeno como rango bajo de la curva, según la política de ONA y Guía Eurachem:

$$\text{LOD} = 3 \cdot S_o$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot S_o$$



Dónde:

LOD o LOQ: Límite de detección del método o límite de cuantificación del método.

K: Constante; $K = 3$ para límite de detección, $K = 10$ para límite de cuantificación.

S_o= Desviación estándar estimada de *n* mediciones

3.2.3. Linealidad del Método y Rango

En este ensayo de validación el comportamiento lineal del método se demostró dentro del rango en el cual se trabajarían las muestras, lo cual se realizó tomando en cuenta que esta determinación es un método de ensayo de principio activo (ONA, 2012), estableciéndose así los intervalos dentro de los cuales se llevó a cabo las pruebas.

La evaluación de este parámetro consistió en preparar por triplicado muestras fortificadas por un material de referencia (Solución de KHP) a tres niveles de concentración diferentes, con un nivel de concentración superior e inferior a la concentración del analito en la mezcla de trabajo para ambas curvas de calibración.

Luego de realizar los análisis de las distintas muestras fortificadas se aplicó el contraste estadístico de t-student a un grado de confianza del 95% y *n*-2 grados de libertad, tomando un valor crítico de “*t*” = 4.30, para la correlación (*r*), pendiente (*b*) y para el intercepto (*a*), para demostrar si el método es lineal o no. Las ecuaciones utilizadas se muestran en la siguiente tabla:



➤ Ecuaciones con respecto al estadístico de prueba para la correlación, pendiente e intercepto

Contraste estadístico de t-student		
r	b	a
$t = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}}$	$t_{\text{calculado}} = \frac{ b }{S_b}$	$t_{\text{calculado}} = \frac{ a }{S_a}$
CRITERIOS DE DECISIÓN:		
<p>Si tcalculado > tCrítico: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.</p> <p>Si tcalculado < tCrítico: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa.</p>	<p>Si tcalculado > tCrítico: La pendiente se diferencia significativamente de cero</p> <p>Si tcalculado < tCrítico: La pendiente no se diferencia significativamente de cero</p> <p>ENSAYO DE HIPÓTESIS PARA LA PENDIENTE (b). Suposiciones: Ausencia de linealidad. Hipótesis Nula: H0: b = 0 Alternativa: H1, dos colas: b ≠ 0.</p>	<p>Si tcalculado < tCrítico: El intercepto no se diferencia significativamente de cero.</p> <p>Si tcalculado > tCrítico: El intercepto se diferencia significativamente de cero</p> <p>ENSAYO DE HIPÓTESIS PARA EL INTERCEPTO Suposiciones: El valor numérico del intercepto (a) no se diferencia significativamente de cero. Hipótesis Nula: H0: a = 0 Alternativa: H1, Dos colas: a ≠ 0.</p>
CONCLUSIONES		
<p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: La linealidad es adecuada.</p> <p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es no significativa: La linealidad no es adecuada</p>	<p>Si la pendiente se diferencia significativamente: La pendiente y la linealidad son adecuadas.</p> <p>Si la pendiente no se diferencia significativamente: La pendiente y la linealidad no son adecuadas.</p>	<p>Si el intercepto no se diferencia significativamente de cero: El efecto de fondo de los reactivos sobre la señal analítica no es significativo y la linealidad es válida.</p> <p>Si el intercepto se diferencia significativamente de cero: El efecto de fondo de los reactivos sobre la señal analítica es significativo y la linealidad no es válida.</p>



3.2.4. Exactitud

En este método de validación, la exactitud se evaluó mediante la veracidad, la cual se calculó mediante la comparación de la media de los resultados del método con relación a valores conocidos, es decir se determinó contra un valor de referencia certificado con identificación ERA a water companys catalogo N° P300-578 y P324-578, se fundamentó en el análisis de 10 réplicas del material de referencia para la curva baja y curva alta (Solución DQO certificada) a una concentración de 130 mg O₂/L ± 0.355% y 54.7 mg O₂/L ± 0.322%.

Luego se comparó con un contraste estadístico adecuado (t-student a un grado de confianza del 95% y n-1 grados de libertad, obteniendo el valor critico de “t” = 2.26). el valor medido con el valor del material de referencia utilizado.

Para evaluar el porcentaje de recuperación se utilizó la siguiente ecuación:

$$RC = \frac{C_{\text{concentrado}}}{C_{\text{valor certificado}}} 100$$

Dónde:

C_{concentrado}= Es la media de las 10 replicas

C_{valor certificado}= Es el valor de referencia del MRC



El contraste “t” de un valor conocido contra la media de las 10 réplicas analizadas se determinó por medio de la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s / \sqrt{n}}$$

Dónde:

\bar{X} = Promedio de los valores de las concentraciones obtenidas.

S= Desviación estándar del promedio de las concentraciones obtenidas.

n= Número de réplicas.

μ_0 = Valor esperado.

El criterio de decisión para la exactitud consiste: Si $t_{calculada} < t_{crítico}$, el método analítico desarrollado tiene la exactitud requerida y ambos valores no son estadísticamente diferentes. Mientras que, si $t_{calculada} > t_{crítico}$ significa que el método analítico no es exacto y que existe un error sistemático por defecto (ONA, 2012).



3.2.5. Precisión

En este método de validación, la precisión del método analítico se evaluó en términos de repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad, consistió en que 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 de tiempo corto; se fundamentó en el análisis de 10 réplicas del material de referencia para la curva baja y curva alta (Solución DQO certificada catalogo N° P300-578 y P324-578) a una concentración de $130 \text{ mgO}_2/\text{L} \pm 0.355\%$ y $54.7 \text{ mgO}_2/\text{L} \pm 0.322\%$.

Para los resultados de las 10 réplicas en el ensayo, se determinó el coeficiente de variación, donde el criterio de decisión para la precisión consiste: en que el coeficiente de variación de los resultados para los datos correspondientes a la repetibilidad, no debe ser mayor de 5%. (ONA, 2012).

Para los resultados de la precisión intermedia y la reproducibilidad que no es más que el estudio de 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, se realizó un análisis de varianzas por el método de ANOVA (Miller, J., y Miller, J., 2002), para contrastar si las varianzas no se diferencian significativamente. El valor de referencia de “F-tabulado” se obtuvo de las tablas estadísticas de Fisher (contraste de una cola), con un grado de confianza del 95% (ver cap 4, sección 4.2.4), teniendo en cuenta que V_1 = número de grados de libertad del numerador y V_2 = número de grados de libertad del denominador, ocupando un valor crítico de “ $F_{\text{critico}}= 2.39$ ”.

Las ecuaciones utilizadas para determinar la precisión se presentan en la siguiente tabla:

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Tabla 8. Ecuaciones de sumas de cuadrados y grados de libertad

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre muestras	$\sum_i T_i^2/n - T^2/N$	h-1
Dentro de muestras	Por diferencia $\sum_i \sum_j (X_{ij} - \bar{X})^2$	Por diferencia h(n-1)

(Miller, J., y Miller, J., 2002).

Dónde:

N= nh: número total de medidas.

T_i: Suma de las medidas en la e-sima muestra.

T: Suma de todas las medidas, gran total.

El estadístico de prueba de F= Cuadrado medio entre muestras / Cuadrado medio dentro de muestras. Ver capítulo. 4, sección 4.1.8.4.

También se calculó el porcentaje de recobro a partir de las concentraciones adicionadas y el coeficiente de variación se determinó por medio de la siguiente ecuación:

$$CV, \% = \frac{S}{X_{media}} * 100$$

Dónde:

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



$C_{vy/x}$ = Coeficiente de variación.

S = Desviación estándar.

\bar{x} = Promedio de los datos.

El criterio de decisión para la precisión consiste: En que el coeficiente de variación de los resultados para los datos correspondientes a la repetibilidad, no debe ser mayor de 5%. Al utilizar el análisis de varianza en la evaluación de la repetibilidad, se aplicará el criterio de Fisher, en cuyo caso el valor experimental de F debe ser menor que el valor crítico (ONA, 2012).

Los criterios de decisión para la prueba estadística consisten en (ONA, 2012):

- Si $F_{calculado} < F_{critico}$: varianzas no se diferencian significativamente.
- Si $F_{calculado} > F_{critico}$: varianzas se diferencian significativamente.



3.2.6. Límites de Confianza Para las Curvas de Calibración de la Demanda Química de Oxígeno en el Rango Bajo y Alto.

Para poder determinar el intervalo de confianza de las curvas se determinó:

$$S_{yy} = \sum (y_i)^2 - (\sum y_i)^2 / n$$

$$S_{xx} = \sum (x_i)^2 - (\sum x_i)^2 / n$$

$$S_y = \sqrt{\frac{\left(S_{yy} - \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} \right)}{n-2}}$$

Luego de haber obtenido los valores de S_{yy} , S_{xx} y S_y se determinó los límites de confianza de las curvas, para esto se utilizó el método de Meier y Zünd, por tanto, se aplicaron las siguientes ecuaciones:

$$Y_0(i) = \pm LC_{95\%}$$

$$LC_{95\%} = S_y * t * \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{[x(i) - \bar{x}]^2}{S_{xx}}}$$

$$Y_0(i) = \pm S_y * t * \sqrt{\frac{1}{n} + [x(i) - \bar{x}]^2 / S_{xx}}$$

El valor $Y_0(i)$ es el valor corregido de Y (área corregida), se calculó utilizando la ecuación de la recta:



$$Y_0 = a + (i)$$

Dónde:

Y_0 = Área corregida del patrón.

b= Pendiente de la recta.

a= Ordenada en el origen.

(i)= Concentración.

3.2.7. Incertidumbre de los Resultados

Para la evaluación de las incertidumbres de los resultados se utilizó el procedimiento ver capítulo 2 sección 2.1.7.6. Incertidumbre y se utilizaron las siguientes ecuaciones de acuerdo a la GUM 1995, 2008 y sus componentes:



- **Estimación de incertidumbres individuales para determinar las incertidumbres estándar de cada una de las variables de la validación de DQO tenemos:**

Tabla 9. Variables de las incertidumbres

Variables	Tipo de evaluación	Distribución	Ecuación
Incertidumbre Pureza	Tipo B	Rectangular	$\Delta P / \sqrt{3}$
Incertidumbre MRC RB	Tipo B	Normal	$U_{MRC/2}$
Incertidumbre MRC RA	Tipo B	Normal	$U_{MRC/2}$
Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k
Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res / \sqrt{12}$

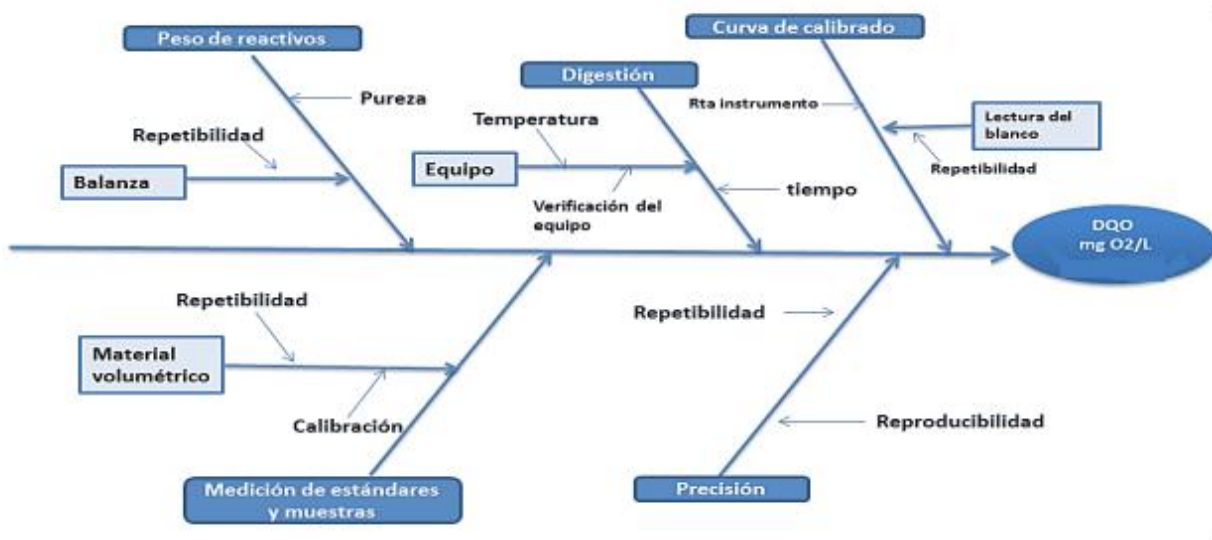


Tabla 10. Combinación de incertidumbres

Variables	Tipo de evaluación	Distribución	Incert. Combinada	Contribución %
Incertidumbre Pureza	Tipo B	Rectangular	$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1, n} u(y, x_i)^2}^*$	$Ct\% = \frac{(\text{Incert. Std})^2}{(\text{Incert. Comb.})^2}$
Incertidumbre MRC RB	Tipo B	Normal		
Incertidumbre MRC RA	Tipo B	Normal		
Incertidumbre calibración	Tipo B	Normal		
Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular		



➤ Componentes de las incertidumbres



Elaboración propia



3.2.8. Incertidumbre en la Calibración del Material Volumétrico

Como control de aseguramiento de la calidad, la validez técnica y la trazabilidad de cada medición en este sentido radica la importancia de estimar numéricamente la incertidumbre combinada y expandida del material volumétrico que utilizamos en el laboratorio como lo describe la guía del CENAM, 2002.

➤ Incertidumbre combinada (u)

Después de haber calculado el volumen ya sea contenido o entregado por la cristalería utilizada, se procedió a calcular la incertidumbre combinada de los mismos, haciendo uso de la ecuación siguiente:

$$u_c(V_{20}) = \sqrt{\sum_x (c_x u_x)^2} =$$

$$ucV_{20} = \sqrt{(c_{Mb} u_{Masa b})^2 + (c_{Mc} u_{Masa c})^2 + (c_{\rho A} u_{\rho A})^2 + (c_{\rho a} u_{\rho a})^2 + (c_{\rho B} u_{\rho B})^2 + (c_{\alpha} u_{\alpha})^2 + (c_{T_A} u_{T_A})^2}$$



3.2.8.1. Identificación y Organización de las Fuentes de Incertidumbre

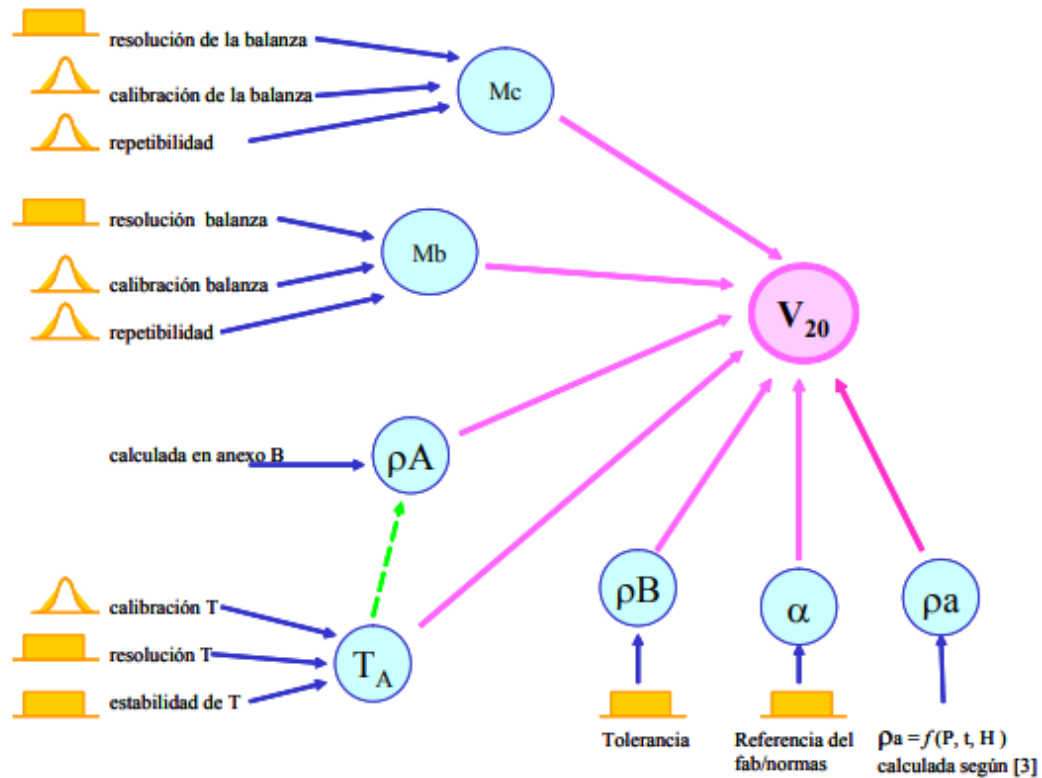


Diagrama de las fuentes de incertidumbre del material volumétrico



3.2.8.2. Incertidumbre por la Repetibilidad de las Mediciones

La incertidumbre por la repetibilidad de los resultados tanto para el recipiente vacío (M_b) como para el recipiente lleno (M_c) se calculó con la siguiente ecuación:

$$u(M_b, R) = \frac{1}{\sqrt{n}} \cdot \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

es decir,

$$u(M_b, R) = \frac{1}{\sqrt{12}} \cdot \sqrt{\frac{1}{11} \cdot \sum_{i=1}^{12} (M_b - \bar{M}_b)^2}$$

3.2.8.3. Incertidumbre según el Certificado de Calibración

El certificado de calibración de la balanza analítica utilizado, indica incertidumbres expandida a diferentes cargas de prueba, con un intervalo de confianza del 95%, $k = 2$. La Incertidumbre estándar según el certificado de calibración se calculó para una distribución normal.

$$U_{cert. calibración} = \frac{U_{expandida}}{2}$$

3.2.8.4. Incertidumbre por la Resolución de la Balanza

Resolución de la balanza 0.0001 g la incertidumbre estándar se calcula considerando una distribución de probabilidad uniforme:

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar

Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



$$U (\text{Mb, res}) = \text{res}/\text{raíz } 12$$

3.2.8.5. Incertidumbre de la Temperatura

Resolución del termómetro. La resolución del termómetro es de 0.1 °C. La incertidumbre estándar se calcula con base en una distribución rectangular:

$$U (\text{TA, res}) = 0.1/\text{RAIZ } (12)$$

3.2.8.6. Incertidumbre de la Calibración de la Temperatura

El certificado de calibración del termómetro indica una incertidumbre de 0,1 °C con k=2.

$$U (\text{TA, cal}) = 0.1/2 = \mathbf{0.05} \text{ °C}$$

3.2.8.7. Incertidumbre de las Variaciones de la Temperatura del Agua durante la Calibración

Las variaciones en la temperatura del agua durante la calibración se observan cuando se mide la temperatura del agua al inicio y al final de la calibración. La incertidumbre estándar se obtiene suponiendo una distribución rectangular:



$$U(\text{TA, var}) = 0.2/\text{RAIZ} \quad (12)$$

La incertidumbre debido a la temperatura u_t se calcula sumando cuadráticamente las fuentes de incertidumbre relacionadas,

$$u_c(T_A) = \sqrt{u_{res}^2 + u_{cal}^2 + u_{var}^2}$$

3.2.8.8. Incertidumbre del Coeficiente de Expansión Cúbica

La norma ISO 4787 [5] y la información técnica que proporciona el fabricante [6] indican el mismo valor de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ K}^{-1}$ para el coeficiente de expansión cúbica del vidrio de borosilicato. Asumiendo una variación del valor de $\pm 5 \cdot 10^{-6}$, la incertidumbre estándar relacionada con este coeficiente es:

$$U(\alpha) = 0.00001/\text{RAIZ} \quad (12)$$

3.2.8.9. Incertidumbre de la Densidad de las Pesas de la Balanza

La variación promedio de la densidad de las pesas de acero inoxidable es de $\pm 0.08 \text{ g/cm}^3$. La incertidumbre estándar se calcula suponiendo una distribución de probabilidad rectangular.

$$U(\rho) = 0.016/\text{Raíz } 12$$



3.2.9.0. Incertidumbre de la Densidad del Agua

La densidad del agua se calcula en kg/m³ en función de la temperatura, utilizando la ecuación de Kell modificada para usarse con la ITS-90 y en el intervalo de 5 °C a 40 °C [7], como

$$\rho_A = 999,853\ 08 + 6,326\ 93 \cdot 10^{-2} T_A - 8,523\ 829 \cdot 10^{-3} T_A^2 + 6,943\ 248 \cdot 10^{-5} T_A^3 - 3,821\ 216 \cdot 10^{-7} T_A^4$$

(2),

La incertidumbre de la densidad del agua $u(\rho_A)$, se calcula multiplicando el coeficiente de sensibilidad c_{TA} con la incertidumbre de la temperatura u_{TA}

$$u_{\rho_A} = \sqrt{(c_i \cdot u(x_i))^2} =$$

3.2.9.1. Incertidumbre de la Densidad del Aire

El cálculo de la densidad del aire y su incertidumbre estándar se determinan de acuerdo al ejemplo “Incertidumbre en la determinación de la densidad del aire”, tomando en cuenta los valores promedio registrados de la temperatura ambiente (23.9 °C ± 0,5 °C equivalente a 297.05 k), de la presión atmosférica (101525 Pa) y de la humedad relativa (62.7 % ± 8 %) imperantes durante la calibración

Para el cálculo de la densidad del aire es necesario calcular la presión de vapor saturado P_{sv} mediante la fórmula:



Presión de Vapor Saturado P_{sv} [2,3]

$$P_{sv} = 1\text{Pa} \times \exp\left(AT^2 + BT + C + \frac{D}{T}\right)$$

donde:

A	$1,237\,884\,7 \times 10^{-5} \text{ K}^{-2}$
B	$-1,912\,131\,6 \times 10^{-2} \text{ K}^{-1}$
C	33,937 110 47
D	$-6,343\,164\,5 \times 10^3 \text{ K}$
T	Temperatura del aire en K ó temperatura de punto de rocío (T_r) en K

Aplicando fórmula para determinar el factor de fugacidad:

Factor de Fugacidad f

Cuando se utiliza la humedad relativa para calcular x_v (ec. 12), el factor de fugacidad f se calcula con la temperatura ambiente t expresada en °C (ec. 15). Cuando x_v se calcula con la temperatura del punto de rocío (ec. 14) el factor de fugacidad f se calcula con la temperatura del punto de rocío en la ec. 15. [2, 3]

$$f = \alpha + \beta p + \gamma t^2$$

donde:

α	1,000 62
β	$3,14 \times 10^{-8} \text{ Pa}^{-1}$
γ	$5,6 \times 10^{-7} \text{ K}^{-2}$
p	La presión del aire en Pa
t	Temperatura del aire en °C ó temperatura de punto de rocío (t_r) en °C

Aplicando la fórmula para determinar la fracción molar del vapor de agua e introduciendo la humedad relativa del aire tenemos:

$$x_v = hf \frac{P_{sv}}{p}$$



Valor de h= Humedad relativa

Valor de P= Presión atmosférica

El factor de compresibilidad se determina con la fórmula:

Factor de Compresibilidad

Para calcular el factor de compresibilidad se tiene la siguiente fórmula [2, 3]

$$Z = 1 - \frac{p}{T} [a_0 + a_1 t + a_2 t^2 + (b_0 + b_1 t)x_v + (c_0 + c_1 t)x_v^2] + \frac{p^2}{T^2} (d + e x_v^2)$$

donde

t	temperatura en °C
a_0	$1,58123 \times 10^{-6} \text{ K Pa}^{-1}$
a_1	$-2,9331 \times 10^{-7} \text{ Pa}^{-1}$
a_2	$1,1043 \times 10^{-10} \text{ K}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
b_0	$5,707 \times 10^{-6} \text{ K Pa}^{-1}$
b_1	$-2,051 \times 10^{-8} \text{ Pa}^{-1}$
c_0	$1,9898 \times 10^{-4} \text{ K Pa}^{-1}$
c_1	$-2,376 \times 10^{-6} \text{ Pa}^{-1}$
d	$1,83 \times 10^{-11} \text{ K}^2 \text{ Pa}^{-2}$
e	$-0,765 \times 10^{-8} \text{ K}^2 \text{ Pa}^{-2}$
T	temperatura del aire en K

Finalmente, la densidad del aire:

$$\rho = \frac{pM_a}{ZRT} \left[1 - x_v \left(1 - \frac{M_v}{M_a} \right) \right]$$

La ecuación se usa para determinar la densidad del aire, la cual tiene una incertidumbre relativa de la ecuación $\pm 1 \times 10^{-4}$.



Dónde:

Ma= Masa molar del aire húmedo ($M_a = 0.028963512440 \text{ kg mol}^{-1}$).

Mv= Masa molar del agua ($M_v = 0.018015 \text{ kg mol}^{-1}$).

Z= Factor de compresibilidad.

R= Constante universal de los gases ideales $8.314510 \pm 8,4 \times 10^{-6} \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

T= Temperatura del aire en K.

P= Presión.

Suponiendo que las variables presión, temperatura y humedad relativa son independientes la incertidumbre combinada de la densidad del aire se obtiene por la suma cuadrática de las contribuciones individuales:

$$u_{\rho} = \sqrt{\sum_i [c_i \cdot u(x_i)]^2}$$



3.2.9.2. Coeficientes de Sensibilidad de la Incertidumbre del Material Volumétrico

Los coeficientes de sensibilidad se obtienen por la derivada parcial en función de cada uno de los parámetros involucrados en la medición a cada variable de la ecuación (1):

$$V_{20} = (M_c - M_b) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20)) \quad (1)$$

3.2.9.3. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente Vacío (Mb):

1. Masa del recipiente vacío (Mb):

$$c_{M_b} = \frac{\partial V_{20}}{\partial (M_b)} = - \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20))$$

3.2.9.4. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente con Agua (Mc):

2. Masa del recipiente con agua (Mc):

$$c_{M_c} = \frac{\partial V_{20}}{\partial (M_c)} = \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20))$$



3.2.9.5. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Agua

3. Densidad del agua:

$$c_{\rho_A} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_A} = (Mc - Mb) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{-1}{(\rho_A - \rho_a)^2} \right)$$

3.2.9.6. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Aire

4. Densidad del aire:

$$c_{\rho_a} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_a} = (Mc - Mb) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{-1}{\rho_B(\rho_A - \rho_a)} + \left(\frac{\rho_B - \rho_a}{\rho_B} \right) \left(\frac{1}{(\rho_A - \rho_a)^2} \right) \right)$$

3.2.9.7. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Expansión Cúbica:

5. Coeficiente de expansión cúbica:

$$c_{\alpha} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \alpha} = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{(\rho_A - \rho_a)} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (20 - T_A)$$



3.2.9.8. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Densidad de las Pesas de la Balanza

6. Densidad de las pesas de la balanza:

$$c_{\rho_B} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_B} = (Mc - Mb) \left(\frac{I}{\rho_A - \rho_a} \right) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{\rho_a}{\rho_B^2} \right)$$

3.2.9.9. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Temperatura

7. Temperatura

$$c_{T_A} = \frac{\partial V_{20}}{\partial T_A} = (Mc - Mb) \left(\frac{I}{(\rho_A - \rho_a)} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (-\alpha)$$

La contribución de cada fuente de incertidumbre se obtiene finalmente cuando se multiplica la incertidumbre estándar con su coeficiente de sensibilidad: $c_x \cdot u_x$,



La incertidumbre combinada se obtiene con la suma cuadrática de las contribuciones individuales:

$$u_c(V_{20}) = \sqrt{\sum_x (c_x u_x)^2} =$$

$$ucV_{20} = \sqrt{(c_{Mb} u_{Masa\ b})^2 + (c_{Mc} u_{Masa\ c})^2 + (c_{\rho A} u_{\rho A})^2 + (c_{\rho\alpha} u_{\rho\alpha})^2 + (c_{\rho B} u_{\rho B})^2 + (c_{\alpha} u_{\alpha})^2 + (c_{T_A} u_{T_A})^2}$$

3.3.3. Cálculo de los Grados de Libertad

El número efectivo de grados de libertad se calcula según la ecuación de Welch- Satterhwaite:

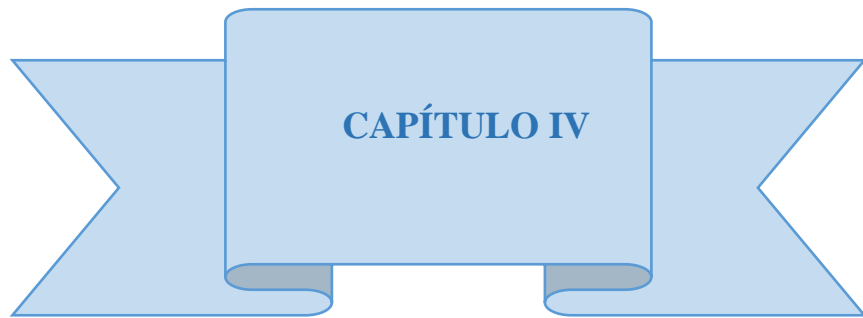
$$v_{ef} = \frac{u_c^4(V_{20})}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(V_{20})}{v_i}} = \frac{u_{V_{20}}^4}{\frac{u_{Mb}^4}{v_{Mb}} + \frac{u_{Mc}^4}{v_{Mc}} + \frac{u_{\rho A}^4}{v_{\rho A}} + \frac{u_{\rho\alpha}^4}{v_{\rho\alpha}} + \frac{u_{\rho B}^4}{v_{\rho B}} + \frac{u_{Mb}^4}{v_{Mb}} + \frac{u_{\alpha}^4}{v_{\alpha}} + \frac{u_{T_A}^4}{v_{T_A}}}$$



3.3.4. Incertidumbre Expandida, Informe del Resultado

$$U = u_c \cdot t_{95,45}(v_{ef})$$

Donde $t_{95,45}(v_{ef})$ es el factor derivado de la distribución t de Student con un nivel de confianza de 95,45% y 98 grados de libertad, obtenidos para V_{20} .



CAPÍTULO IV



4.1. Análisis de Resultados

En este ítem se plantean todos los cálculos de cada una de las etapas realizadas para el control de calidad y la evaluación del desempeño del método desarrollado para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas residuales. Se muestran los cálculos de la calibración de la cristalería, los de la preparación de las soluciones estándares en estudio, el cálculo de incertidumbre en cada etapa de medición y los contrastes estadísticos de los parámetros de la validación.

4.1.1. Cálculos del Volumen en la Calibración de la Cristalería Utilizada

El principal objetivo de la calibración es determinar la masa del volumen contenido por el recipiente de medición, luego con la masa determinada y haciendo uso de las ecuaciones anteriores podemos determinar el volumen que realmente mide dicho recipiente.

El material volumétrico se calibró a la temperatura de trabajo establecida en el laboratorio (23.9 °C), en la Tabla 11 se presenta los resultados de la calibración para un matraz de 100 mL. Los resultados obtenidos para los demás materiales se presentan en Anexo 24.



Tabla 11. Resultados de la calibración del matraz de aforo de 100 mL

Nº Mediciones	Masa Inicial Mb (g)	Masa Final Mc (g)	Mc-Mb (g)
1	69.0303	168.7837	99.7534
2	69.0304	168.7840	99.7536
3	69.0304	168.7996	99.7692
4	69.0303	168.7892	99.7589
5	69.0304	168.7910	99.7606
6	69.0304	168.7838	99.7534
7	69.0304	168.7740	99.7436
8	69.0304	168.7996	99.7692
9	69.0303	168.7909	99.7606
10	69.0304	168.7838	99.7534
X_{media}	69.0304	168.7880	99.7576
S	0.00005	0.0078	0.0078
Tolerancia ±			0.08
Volumen Real (mL)			99.7
Incertidumbre expandida (mL)			0.0162

Una vez obtenidos los valores anteriores se procedió a calcular el volumen real del matraz de aforo de 100 mL.

$$V_{20} = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20)) \quad (1)$$

$$V_{20} = (168.7880 - 69.0304) \left(\frac{1}{0.997561 - 0.01171} \right) \left(1 - \frac{0.01171}{8} \right) (1 - 0.000010(22.9 - 20))$$

$$V_{20} = 99.7 \text{ mL}$$

Dónde:

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



V_{20} = Es el volumen de agua contenido en el matraz a la temperatura de 20 °C, [cm³].

$M_c - M_b$ = Es la masa del recipiente con agua (M_c) menos la masa del recipiente vacío (M_b); es decir, la masa de agua contenida en el recipiente (M_a), [g].

ρ_A = Es la densidad del agua que se usa en la calibración, calculada ver anexo 26 en adelante

ρ_a = Es la densidad del aire a las condiciones ambientales del laboratorio, calculada ver anexo 26 en adelante.

ρ_B = Es la densidad de las pesas de la balanza (8000 kg/m³), valor convencional según la recomendación internacional No. 33 de la OIML [4].

α = Coeficiente de expansión cúbica del vidrio de borosilicato ($1.0 \times 10^{-5} \text{ K}^{-1}$)

T_A = Es la temperatura del agua medida durante la calibración, [°C].

4.1.2. Estimación de la Incertidumbre del Material Volumétrico

Para cada material volumétrico se determinó la incertidumbre expandida a un nivel del 95% de confiabilidad. A continuación, se presenta el cálculo de las fuentes de incertidumbre en la calibración del matraz de aforo de 100 mL.



4.1.2.1. Incertidumbre por la Repetibilidad de las Mediciones

$$u(Mb, R) = \frac{1}{\sqrt{n}} \cdot \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

es decir,

$$u(Mb, R) = \frac{1}{\sqrt{12}} \cdot \sqrt{\frac{1}{11} \cdot \sum_{i=1}^{12} (Mb - \bar{Mb})^2}$$

$$U(Mb, R) = \frac{1}{\sqrt{10}} \cdot \sqrt{\frac{1}{9} \cdot \sum^{10} (69.0303 - 69.0304)^2 \dots}$$

$$U(Mb, R) = \mathbf{0.00005 \text{ g}}$$

4.1.2.2. Incertidumbre según la Resolución de la Balanza

Resolución de la balanza 0.0001 g la incertidumbre estándar se calcula considerando una distribución de probabilidad uniforme:

$$U(Mb, res) = res / \text{raíz } 12$$

$$U(Mb, res) = 0.0001 \text{ g} / \text{raíz } 12$$

$$U(Mb, res) = \mathbf{0.000028868 \text{ g}}$$



4.1.2.3. Calibración de la Balanza:

El certificado de calibración de la balanza indica una incertidumbre de 0,0012 g con $k = 2$.

Incertidumbre estándar:

$$U (M_b, cal) = 0,0012 \text{ g} / 2$$

$$U (M_b, cal) = \mathbf{0.0006 \text{ g}}$$

4.1.2.4. Repetibilidad de las Mediciones:

$$U (M_c, R) = \mathbf{0.0078 \text{ g}}$$

4.1.2.5. Resolución de la Balanza

La resolución de la balanza es 0,0001 g; la incertidumbre estándar se calcula considerando una distribución de probabilidad uniforme para esta variable aleatoria:

$$U (M, res) = res / \text{raíz } 12$$

$$U (M, res) = 0.0001 \text{ g} / \text{raíz } 12$$

$$U (M, res) = \mathbf{0.000028868 \text{ g}}$$



4.1.2.6. Calibración la Balanza:

El certificado de calibración de la balanza indica una incertidumbre de 0,016 g con $k = 2$.

$$U(M, \text{cal}) = 0,0016 \text{ g} / 2$$

$$U(M, \text{cal}) = \mathbf{0.0008 \text{ g}}$$

4.1.2.7. Cálculo de la Densidad del Agua

La densidad del agua se calcula en kg/m³ en función de la temperatura, utilizando la ecuación de Kell modificada para usarse con la ITS-90 y en el intervalo de 5°C a 40 °C [7], como:

$$\rho_A = 999,85308 + 6,32693 \cdot 10^{-2} T_A - 8,523829 \cdot 10^{-3} T_A^2 + 6,943248 \cdot 10^{-5} T_A^3 - 3,821216 \cdot 10^{-7} T_A^4 \quad (2),$$

$$P_A = 997.561 \text{ kg/m}^3 = 0.997561 \text{ g/cm}^3$$

La incertidumbre de la densidad del agua $u(\rho_A)$, se calcula multiplicando el coeficiente de sensibilidad c_{T_A} con la incertidumbre de la temperatura u_{T_A} .

$$u_{\rho_A} = \sqrt{(c_i \cdot u(x_i))^2} =$$

$$U_{P_A} = \mathbf{2.88976E-05 \text{ g/cm}^3}$$



4.1.2.8. Cálculo de la Densidad del Aire

El cálculo de la densidad del aire y su incertidumbre estándar se determinan de acuerdo al ejemplo “Incertidumbre en la determinación de la densidad del aire” [3], tomando en cuenta los valores promedio registrados de la temperatura ambiente ($23.9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ equivalente a 297.05 K), de la presión atmosférica (101525 Pa) y de la humedad relativa ($62.7\% \pm 8\%$) imperantes durante la calibración

Para el cálculo de la densidad del aire es necesario calcular la presión de vapor saturado P_{sv} mediante la fórmula:

Presión de Vapor Saturado P_{sv} [2,3]

$$P_{sv} = 1\text{Pa} \times \exp\left(AT^2 + BT + C + \frac{D}{T}\right)$$

donde:

<i>A</i>	$1,237\,884\,7 \times 10^{-5}\text{ K}^{-2}$
<i>B</i>	$-1,912\,131\,6 \times 10^{-2}\text{ K}^{-1}$
<i>C</i>	$33,937\,110\,47$
<i>D</i>	$-6,343\,164\,5 \times 10^3\text{ K}$
<i>T</i>	Temperatura del aire en K ó temperatura de punto de rocío (T_r) en K

$$P_{sv} = 1\text{Pa} \times \exp(7.995555648)$$

$$P_{sv} = \mathbf{2967.73896\text{ Pa}}$$



Aplicando fórmula para determinar el factor de fugacidad:

Factor de Fugacidad f

Cuando se utiliza la humedad relativa para calcular x_v (ec. 12), el factor de fugacidad f se calcula con la temperatura ambiente t expresada en °C (ec. 15). Cuando x_v se calcula con la temperatura del punto de rocío (ec. 14) el factor de fugacidad f se calcula con la temperatura del punto de rocío en la ec. 15. [2, 3]

$$f = \alpha + \beta p + \gamma t^2$$

donde:

α	1, 000 62
β	$3,14 \times 10^{-8} \text{ Pa}^{-1}$
γ	$5,6 \times 10^{-7} \text{ K}^{-2}$
p	La presión del aire en Pa
t	Temperatura del aire en °C ó temperatura de punto de rocío (t_r) en °C

$$F= 1.004127763$$

Aplicando la fórmula para determinar la fracción molar del vapor de agua e introduciendo la humedad relativa del aire tenemos:

$$x_v = hf \frac{P_{sv}}{p} \quad X_v = 0.018491929$$

Valor de h = Humedad relativa es decir 63 %/100 equivalente a 0.63

Valor de P = Presión atmosférica 101,525 P_a



El factor de compresibilidad se determina con la fórmula:

Factor de Compresibilidad

Para calcular el factor de compresibilidad se tiene la siguiente fórmula [2, 3]

$$Z = 1 - \frac{p}{T} [a_0 + a_1 t + a_2 t^2 + (b_0 + b_1 t)x_v + (c_0 + c_1 t)x_v^2] + \frac{p^2}{T^2} (d + ex_v^2)$$

donde

t	temperatura en °C
a_0	$1,581\,23 \times 10^{-6} \text{ K Pa}^{-1}$
a_1	$-2,933\,1 \times 10^{-9} \text{ Pa}^{-1}$
a_2	$1,104\,3 \times 10^{-10} \text{ K}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
b_0	$5,707 \times 10^{-6} \text{ K Pa}^{-1}$
b_1	$-2,051 \times 10^{-8} \text{ Pa}^{-1}$
c_0	$1,989\,8 \times 10^{-4} \text{ K Pa}^{-1}$
c_1	$-2,376 \times 10^{-6} \text{ Pa}^{-1}$
d	$1,83 \times 10^{-11} \text{ K}^2 \text{ Pa}^{-2}$
e	$-0,765 \times 10^{-8} \text{ K}^2 \text{ Pa}^{-2}$
T	temperatura del aire en K

$$Z = 1 - 0.002276734371 + 1.832085317 \times 10^{-6} = \mathbf{0.9977250977}$$

Finalmente, la densidad del aire:

$$\rho = \frac{pM_a}{ZRT} \left[1 - x_v \left(1 - \frac{M_v}{M_a} \right) \right]$$

La ecuación se usa para determinar la densidad del aire, la cual tiene una incertidumbre relativa de la ecuación $\pm 1 \times 10^{-4}$.

$$\rho = \mathbf{1.171227 \text{ kg m}^{-3}}$$

$$\rho = \mathbf{0.001171 \text{ g/cm}^3}$$

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Dónde:

Ma= Masa molar del aire húmedo ($M_a = 0.028963512440 \text{ kg mol}^{-1}$).

Mv= Masa molar del agua ($M_v = 0.018015 \text{ kg mol}^{-1}$).

Z= Factor de compresibilidad.

R= Constante universal de los gases ideales $8.314510 \pm 8,4 \times 10^{-6} \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

T= Temperatura del aire en K.

P= Presión.

Suponiendo que las variables presión, temperatura y humedad relativa son independientes la incertidumbre combinada de la densidad del aire se obtiene por la suma cuadrática de las contribuciones individuales:

$$u_{\rho} = \sqrt{\sum_i [c_i \cdot u(x_i)]^2}$$

$U_{\rho} = 0.00135 \text{ Kg/m}^3$

$U_{\rho} = 1.35486 \text{E}^{-06} \text{ g/cm}^3$



4.1.2.9. Densidad de las Pesas de la Balanza

La variación promedio de la densidad de las pesas de acero inoxidable es de $\pm 0,08 \text{ g/cm}^3$. La incertidumbre estándar se calcula suponiendo una distribución de probabilidad rectangular.

$$U(\text{pm}) = 0.016/\text{Raíz } 12$$

$$U(\text{pm}) = \mathbf{0.0046 \text{ g/cm}^3}$$

4.1.3. Coeficiente de Expansión Cúbica del Vidrio

La norma ISO 4787 [5] y la información técnica que proporciona el fabricante [6] indican el mismo valor de $1.0 \cdot 10^{-5} \text{ K}^{-1}$ para el coeficiente de expansión cúbica del vidrio de borosilicato. Asumiendo una variación del valor de $\pm 5 \cdot 10^{-6}$, la incertidumbre estándar relacionada con este coeficiente es:

$$U(\alpha) = 0.00001/\text{RAIZ}(12)$$

$$U(\alpha) = \mathbf{0.00000289 \text{ K}^{-1}}$$

4.1.4. Temperatura.

a) resolución del termómetro. La resolución del termómetro es de $0.1 \text{ }^\circ\text{C}$. La incertidumbre estándar se calcula con base en una distribución rectangular:



$$U (T_A, \text{res}) = 0.1/\text{RAIZ} (12) = \mathbf{0.029} \text{ } ^\circ\text{C}$$

b) Calibración del termómetro:

El certificado de calibración del termómetro indica una incertidumbre de 0.1 °C con k=2.

$$U (T_A, \text{cal}) = 0.1/2 = \mathbf{0.05} \text{ } ^\circ\text{C}$$

c) variaciones de la temperatura del agua durante la calibración.

Las variaciones en la temperatura del agua durante la calibración se observan cuando se mide la temperatura del agua al inicio y al final de la calibración. La incertidumbre estándar se obtiene suponiendo una distribución rectangular:

$$U (T_A, \text{var}) = 0.2/\text{RAIZ} (12) = \mathbf{0.06} \text{ } ^\circ\text{C}$$

La incertidumbre debido a la temperatura ut se calcula sumando cuadráticamente las fuentes de incertidumbre relacionadas,

$$u_c(T_A) = \sqrt{u_{\text{res}}^2 + u_{\text{cal}}^2 + u_{\text{var}}^2}$$

$$U_c(T_A) = \sqrt{(0.029)^2 + (0.05)^2 + (0.06)^2}$$

$$U_c(T_A) = \mathbf{0.08} \text{ } ^\circ\text{C}$$



4.1.5. Determinación de los Coeficientes de Sensibilidad para la Calibración del Material Volumétrico.

Los coeficientes de sensibilidad se obtienen por la derivada parcial en función de cada uno de los parámetros involucrados en la medición a cada variable de la ecuación (1):

$$V_{20} = (M_c - M_b) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20)) \quad (1)$$

4.1.5.1. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente Vacío (M_b):

1. Masa del recipiente vacío (M_b):

$$c_{M_b} = \frac{\partial V_{20}}{\partial (M_b)} = - \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha (T_A - 20))$$

$$C_{M_b} = - \left(\frac{1}{0.997561 - 0.001171} \right) \left(1 - \frac{0.001171}{8} \right) (1 - 0.000010(22.9 - 20))$$

$$C_{M_b} = -1.003623079 \text{ cm}^3/\text{g}$$



4.1.5.2. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Masa del Recipiente con Agua (Mc):

2. Masa del recipiente con agua (Mc):

$$c_{Mc} = \frac{\partial V_{20}}{\partial (Mc)} = \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha(T_A - 20))$$

$$C_{Mc} = \left(\frac{1}{0.997561 - 0.001171} \right) \left(1 - \frac{0.001171}{8} \right) (1 - 0.000010(22.9 - 20))$$

$$C_{Mc} = 1.003623079 \text{ cm}^3/\text{g}$$

4.1.5.3. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Agua

3. Densidad del agua:

$$c_{\rho_A} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_A} = (Mc - Mb) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{-1}{(\rho_A - \rho_a)^2} \right)$$

$$C_{\rho_A} = (168.7880 - 69.0304) \left(1 - \frac{0.001171}{8} \right) (1 - 0.000010(22.9 - 20)) \left(\frac{-1}{(0.997561 - 0.001171)^2} \right)$$

$$C_{\rho_A} = -100.4641 \text{ cm}^6/\text{g}$$



4.1.5.4. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de la Densidad del Aire

4. Densidad del aire:

$$c_{\rho_a} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_a} = (Mc - Mb) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{-1}{\rho_B(\rho_A - \rho_a)} + \left(\frac{\rho_B - \rho_a}{\rho_B} \right) \left(\frac{1}{(\rho_A - \rho_a)^2} \right) \right)$$

$$C_{\rho_a} = (168.7880 - 69.0304) (1 - 0.000010 (22.9 - 20)) \left(\frac{-1}{8(0.997561 - 0.001171)} + \left(\frac{8 - 0.001171}{8} \right) \left(\frac{1}{(0.997561 - 0.001171)^2} \right) \right)$$

$$C_{\rho_a} = 99.73465 \text{ cm}^6/\text{g}$$

4.1.5.5. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Expansión Cúbica:

5. Coeficiente de expansión cúbica:

$$c_{\alpha} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \alpha} = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{(\rho_A - \rho_a)} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (20 - T_A)$$

$$C_{\alpha} = (168.7880 - 69.0304) \left(\frac{1}{0.997561 - 0.001171} \right) \left(1 - \frac{0.001171}{8} \right) (20 - 22.9)$$

$$C_{\alpha} = -290.3027 \text{ cm}^3/\text{K}$$



4.1.5.6. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Densidad de las Pesas de la Balanza

6. Densidad de las pesas de la balanza:

$$c_{\rho_B} = \frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_B} = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a} \right) (1 - \alpha(T_A - 20)) \left(\frac{\rho_a}{\rho_B^2} \right)$$

$$C_{PB} = (168.7880 - 69.0304) \left(\frac{1}{0.997561 - 0.001171} \right) (1 - 0.000010(22.9 - 20)) \left(\frac{0.001171}{(8)^2} \right)$$

$$C_{PB} = 0.001832 \text{ cm}^6/\text{g}$$

4.1.5.7. Cálculo de los Coeficientes de Sensibilidad de Temperatura

7. Temperatura

$$c_{T_A} = \frac{\partial V_{20}}{\partial T_A} = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{(\rho_A - \rho_a)} \right) \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B} \right) (-\alpha)$$

$$C_{TA} = (168.7880 - 69.0304) \left(\frac{1}{(0.997561 - 0.001171)} \right) \left(1 - \frac{0.001171}{8} \right) (-0.000010)$$

$$C_{TA} = -0.001001 \text{ cm}^3/^\circ\text{C}$$

La contribución de cada fuente de incertidumbre se obtiene finalmente cuando se multiplica la incertidumbre estándar con su coeficiente de sensibilidad: $C_x \cdot u_x$.



La incertidumbre combinada se obtiene con la suma cuadrática de las contribuciones individuales:

$$u_c(V_{20}) = \sqrt{\sum_x (c_x u_x)^2} =$$

$$ucV_{20} = \sqrt{(c_{Mb} u_{Masa b})^2 + (c_{Mc} u_{Masa c})^2 + (c_{\rho A} u_{\rho A})^2 + (c_{\rho \alpha} u_{\rho \alpha})^2 + (c_{\rho B} u_{\rho B})^2 + (c_{\alpha} u_{\alpha})^2 + (c_{T_A} u_{T_A})^2}$$

$$ucV_{20} = \sqrt{(-1.003623079 * 0.00005)^2 + (1.003623079 * 0.0078)^2 + (-100.4641 * 0.0000288976)^2 + (99.73465 * 0.00000135486)^2 + (0.001832 * 0.046)^2 + (-290.3027 * 0.00000289)^2 + (-0.001001 * 0.08)^2}$$

$$ucV_{20} = 0.008 \text{ cm}^3$$

4.1.6. Cálculo de los Grados de Libertad

El número efectivo de grados de libertad se calcula según la ecuación de Welch- Satterhwaite:

$$v_{ef} = \frac{u_c^4(V_{20})}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(V_{20})}{v_i}} = \frac{u_{V_{20}}^4}{\frac{u_{Mb}^4}{v_{Mb}} + \frac{u_{Mc}^4}{v_{Mc}} + \frac{u_{\rho A}^4}{v_{\rho A}} + \frac{u_{\rho \alpha}^4}{v_{\rho \alpha}} + \frac{u_{\rho B}^4}{v_{\rho B}} + \frac{u_{Mb}^4}{v_{Mb}} + \frac{u_{\alpha}^4}{v_{\alpha}} + \frac{u_{T_A}^4}{v_{T_A}}}$$

$$v_{ef} = 98$$



4.1.7. Incertidumbre Expandida, Informe del Resultado

$$U = u_c \cdot t_{95,45}(v_{ef})$$

Donde $t_{95,45}(v_{ef})$ es el factor derivado de la distribución t de student con un nivel de confianza de 95,45% y 98 grados de libertad, obtenidos para V20.

$$U = 0.008 \cdot 2.02 = 0.0162$$



4.1.8. Determinación de los Parámetros de Validación

4.1.8.1. Linealidad del sistema

En la siguiente tabla se presenta el intervalo o rango en el que se trabajó para la determinación de la linealidad del sistema para determinar la demanda química de oxígeno, sustituyendo las ecuaciones correspondientes y así calcular el valor del coeficiente de determinación y el coeficiente de correlación ver gráfico en anexos 38 y 39.

Linealidad del sistema (Instrumento) Rango Bajo en DQO								
N	Xi mg O2/L	Y1 Abs	Y2 Abs	Y3 Abs	Yi prom	XY	Xi ²	Yi ²
1	18	-0.023	-0.026	-0.019	-0.023	-0.408	324	0.00051
2	36	-0.084	-0.079	-0.076	-0.080	-2.868	1296	0.00635
3	54	-0.143	-0.138	-0.138	-0.140	-7.542	2916	0.01951
4	72	-0.201	-0.198	-0.193	-0.197	-14.208	5184	0.03894
5	90	-0.249	-0.257	-0.252	-0.253	-22.74	8100	0.06384
-	-	-	-	-	-	-	-	-
Σ	270	-	-	-	-0.692	-47.77	17820	0.12915
Promedio	54	-	-	-	-0.138	-	-	-
Sy	-	-	-	-	-	1.06E-01	-	-
Sxx	-	-	-	-	-	3240	-	-
Syy	-	-	-	-	-	-	3.34E-02	-
Sb	-	-	-	-	-	-	1.86E-03	-
Sxy	-	-	-	-	-	-	-	1.36E-03
Sxy ²	-	-	-	-	1.85E-06	-	-	-
r	-0.9999	-	-	-	-	-	-	-
r ²	0.9998	-	-	-	-	-	-	-
IC (b) 95 %	-	-	-	-	-	-	-	5.91E-03

Contraste estadístico de t-student

$t = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{ 0.9999 \sqrt{3}}{\sqrt{1-0.9998}} = 122.46$ <p style="text-align: center;">$T_{\text{crítica } 95, 3} = 3.18$</p>	CRITERIOS DE DECISIÓN:
	<p>Si $t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.</p> <p>Si $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa.</p> <p>Hipótesis Nula: $H_0: r = 0$</p> <p>Alternativa: H_1, dos colas: $r \neq 0$.</p> <p>Una cola: $r < 0$ y $r > 0$.</p>
	CONCLUSIONES:
	<p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: La linealidad es adecuada.</p> <p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa: La linealidad no es adecuada</p>
	RESULTADOS Y INTERPRETACIÓN
	<p>$t_{\text{calculado}}$ mayor que el valor t_{tabulado} $122.46 > 3.18$, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa en las dos variables Xi (mgO₂/L) y Y (Absorbancias), cuanto más próximo este "r" de 1, es decir cuanto más acusada se haga la relación lineal, se obtienen valores mas grandes de t y la linealidad es adecuada.</p>



Intervalo de la linealidad del sistema

Linealidad del sistema (Instrumento) Rango Alto en DQO								
N	Xi mg O2/L	Y1 Abs	Y2 Abs	Y3 Abs	Yi prom	XY	Xi ²	Yi ²
1	150	0.063	0.065	0.061	0.063	9.45	22500	0.00397
2	300	0.126	0.124	0.124	0.125	37.4	90000	0.01554
3	450	0.189	0.185	0.186	0.187	84	202500	0.03484
4	600	0.253	0.250	0.249	0.251	150.4	360000	0.06283
5	750	0.327	0.328	0.325	0.327	245	562500	0.10671
6	900	0.386	0.384	0.390	0.387	348	810000	0.14951
Σ	3150	-	-	-	1.338	874.25	2047500	0.37341
Promedio	525	-	-	-	0.223	-	-	-
Sy	-	-	-	-	-	2.24E-03	-	-
Sxx	-	-	-	-	-	393750	-	-
Syy	-	-	-	-	-	-	7.49E-02	-
Sb	-	-	-	-	-	-	3.57E-06	-
Sxy	-	-	-	-	-	-	-	4.52E-03
Sxy ²	-	-	-	-	2.05E-05	-	-	-
r	0.9995	-	-	-	-	-	-	-
r ²	0.9989	-	-	-	-	-	-	-
IC (b) 95 %	-	-	-	-	-	-	-	9.92E-06

Contraste estadístico de t-student

$t = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{ 0.9995 \sqrt{4}}{\sqrt{1-0.9989}} = 60.27$ <p style="text-align: center;">T_{crítica 95, 4} = 2.78</p>	CRITERIOS DE DECISIÓN:
	<p>Si $t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.</p> <p>Si $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa.</p> <p>Hipótesis Nula: H0: r = 0</p> <p>Alternativa: H1, dos colas: r ≠ 0.</p> <p>Una cola: r < 0 y r > 0.</p>
	CONCLUSIONES:
	<p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: la linealidad es adecuada.</p> <p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa: La linealidad no es adecuada</p>
	RESULTADOS Y INTERPRETACIÓN
	<p>t_{calculado} mayor que el valor t_{tabulado} 60.27 > 2.78, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa en las dos variables Xi (mgO2/L) y Y (Absorbancias), cuanto más próximo este "r" de 1, es decir cuanto más acusada se haga la relación lineal, se obtienen valores más grandes de t y La linealidad es adecuada.</p>



4.2.2. Linealidad del Método

En la Siguiete tabla se muestra el tratamiento estadístico en rango alto de la curva de calibración:

Linealidad del Método Rango Alto en DQO							
N	Xi mg O2/L	Y1 Abs	Y2 Abs	Yi prom	XY	Xi ²	Yi ²
1	200	0.086	0.086	0.086	17.2	40000	0.00740
2	400	0.171	0.171	0.171	68.4	160000	0.02924
3	800	0.350	0.350	0.350	280	640000	0.12250
Σ	1400	-	-	0.607	365.60	840000	0.15914
Promedio	467	-	-	0.202	-	-	-
Sy	-	-	-	-	3.13E-01	-	-
S_{xx}	-	-	-	-	513333	-	-
S_{yy}	-	-	-	-	-	9.77E-02	-
Sb	-	-	-	-	-	4.36E-04	-
Sxy	-	-	-	-	-	-	2.41E-03
S_{xy}²	-	-	-	5.79E-06	-	-	-
r	0.9999	-	-	-	-	-	-
r²	0.9998	-	-	-	-	-	-
IC (b)_{95 %}	-	-	-	-	-	-	1.21E-03

Contraste estadístico de t-student	
$t = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{ 0.9999 \sqrt{1}}{\sqrt{1-0.9998}} = 70.70$ $T_{\text{critica } 95, 2} = 4.30$	<p align="center">CRITERIOS DE DECISIÓN:</p> <p>Si $t_{\text{calculada}} > t_{\text{Crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa.</p> <p>Si $t_{\text{calculada}} < t_{\text{Crítico}}$: La correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración no es significativa.</p> <p>Hipótesis Nula: $H_0: r = 0$ Alternativa: H_1, dos colas: $r \neq 0$. Una cola: $r < 0$ y $r > 0$.</p>
	<p align="center">CONCLUSIONES:</p> <p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: la linealidad es adecuada.</p> <p>Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: La linealidad no es adecuada</p>
	<p align="center">RESULTADOS Y INTERPRETACIÓN</p> <p>t calculado mayor que el valor tabulado $70.70 > 4.30$, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existe correlación significativa en las dos variables Xi (mgO2/L) y Y (Absorbancias), cuanto más próximo este "r" de 1, es decir cuanto más acusada se haga la relación lineal, se obtienen valores más grandes de t y La linealidad del método es adecuada.</p>



En la Siguiete tabla se muestra el tratamiento estadístico en rango bajo de la curva de calibración:

Linealidad del Método Rango Bajo en DQO							
N	Xi mg O2/L	Y1 Abs	Y2 Abs	Yi prom	XY	Xi ²	Yi ²
1	25	-0.065	-0.065	-0.065	-1.625	625	0.00423
2	50	-0.148	-0.148	-0.148	-7.400	2500	0.02190
3	75	-0.228	-0.228	-0.228	-17.100	5625	0.05198
Σ	150	-	-	-0.441	-26.125	8750	0.07811
Promedio	50	-	-	-0.147	-	-	-
Sy	-	-	-	-	1.15E-01	-	-
Sxx	-	-	-	-	4250	-	-
Syy	-	-	-	-	-	1.33E-02	-
Sb	-	-	-	-	-	1.76E-03	-
Sxy	-	-	-	-	-	-	1.22E-03
S_{xy}²	-	-	-	1.50E-06	-	-	-
r	0.9999	-	-	-	-	-	-
r²	0.9999	-	-	-	-	-	-
IC (b) 95 %	-	-	-	-	-	-	7.57E-03
Contraste estadístico de t-student							
$t = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{ 0.9999 \sqrt{1}}{\sqrt{1-0.9999}} = 99.99$ <p style="text-align: center;">$T_{critica\ 95,\ 2} = 4.30$</p>				CRITERIOS DE DECISIÓN:			
				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.			
				Hipótesis Nula: $H_0: r = 0$ Alternativa: H_1 , dos colas: $r \neq 0$. Una cola: $r < 0$ y $r > 0$.			
				CONCLUSIONES:			
				Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: la linealidad es adecuada.			
				Si la correlación entre la variación de la señal analítica y la variación de la concentración es significativa: La linealidad no es adecuada			
				RESULTADOS Y INTERPRETACIÓN			
				t calculado mayor que el valor tabulado 99.99 > 4.30 , se rechaza la hipotesis nula y se concluye que existe correlación significativa en las dos variables Xi(mgO2/L) y Y(Absorbancias), cuanto más proximo este " r " de 1, es decir cuanto más acusada se haga la relacion lineal, se obtienen valores mas grandes de t y La linealidad del método es adecuada.			



4.1.8.3. Exactitud

Se evaluó mediante la veracidad, la cual se calculó mediante la comparación de la media de los resultados del método con relación a valores conocidos, es decir se determinó contra un valor de referencia certificado, como lo presenta la siguiente tabla 12 para el rango bajo de la curva de calibración y la tabla de los datos del material certificado en la tabla 13:

Tabla 12. Resultado de la determinación de la veracidad en rango bajo

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada para Determinar la Veracidad en Rango Bajo del Método DQO SM 5220D						
N ° de mediciones	Resultados mg L-1	Valor de referencia certificado como DQO mg L-1	Criterio de aceptación	Resultado $t_{calculada}$	Coefficiente de variación calculado, %	Se acepta
1	55.15	54.7	$H_0 = X = \mu$	0.61	0.56 %	sí
2	54.74		$H_1 = X \neq \mu$			
3	54.88		Si $t_{exp} < t_{tab}$ se acepta			
4	55.00		$CV\% = < 5\%$			
5	54.22		$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s / \sqrt{n}} \quad CV, \% = \frac{S}{X_{media}} * 100$			
6	54.84					
7	54.50					
8	54.35					
9	55.00					
10	54.92					
X media	54.76		$t_{tab} = 2.26$			
S	0.306					
n	10					
RESULTADOS Y INTERPRETACION						
La hipótesis nula H_0 se acepta y la hipótesis alternativa H_1 se rechaza						
El valor de t_{cal} es menor que t_{tab} el valor medio no difiere estadísticamente de μ para un nivel de significancia del 0.05, la H_0 se acepta , por tanto, los resultados, son trazables al material de referencia certificado, el método es veraz .						

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Tabla 13. Datos de la muestra de referencia certificada

Datos de la Muestra de Referencia con Certificado				
Identificación del MRC	Identificación de la muestra	Cat. NO.	Lote NO.	Fecha de vencimiento
WP324	Water Pollution for Wastewater PT Scheme	578	P324-516	12/2022
	Recuperación (%) $RC = \frac{C_{concentrado}}{C_{valor\ certificado}} 100$	100.11		

En la siguiente tabla 14 muestra los resultados de la veracidad en el rango alto de la curva de calibración, con material de referencia certificado (MRC) y en la tabla 15 nos muestra los datos del material de referencia con el que se realizaron las 10 mediciones:



Tabla 14. Resultados de la determinación de la veracidad rango alto

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada para Determinar la Veracidad en Rango Alto del Método DQO SM 5220D						
N ° de Mediciones	Resultados mg L-1	Valor de referencia certificado como DQO mg L-1	Criterio de aceptación	Resultado $t_{calculada}$	Coefficiente de variación calculado, %	Se acepta
1	130.94	130.00	$H_0 = X = \mu$	1.86	0.37 %	Sí
2	129.68		$H_1 = X \neq \mu$			
3	130.56		Si $t_{exp} < t_{tab}$ se acepta CV% = < 5%			
4	130.35		$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s / \sqrt{n}} \quad CV, \% = \frac{S}{X_{media}} * 100$			
5	129.95					
6	130.88					
7	130.48					
8	129.44					
9	130.15					
10	130.45		$t_{tab} = 2.26$			
X_{media}	130.29					
S	0.487					
n	10					
RESULTADOS Y INTERPRETACION						
La hipótesis nula H_0 se acepta y la hipótesis alternativa H_1 se rechaza						
El valor de t_{cal} es menor que t_{tab} el valor medio no difiere estadísticamente de μ para un nivel de significancia del 0.05, la H_0 se acepta , por tanto, los resultados, son trazables al material de referencia certificado, el método es veraz .						

Tabla 15. Datos de la muestra de referencia certificada

Datos de la Muestra de Referencia con Certificado				
Identificación del MRC	Identificación de la muestra	Cat. N.º.	Lote N.º.	Fecha de vencimiento
WP300	Water Pollution for Wastewater PT Scheme	578	P300-516	12/2022
	Recuperación (%) = $RC = \frac{C_{concentrado}}{C_{valor\ certificado}} * 100$	100.22	%	

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



4.1.8.4. Precisión

Se evaluó en términos de repetibilidad, precisión intermedia (reproducibilidad) con un material de referencia certificado (MRC) en ambos rangos de las curvas de calibración, en la siguiente tabla 16 nos presenta la precisión por medio de la repetibilidad, con un mismo analista, un mismo día y un mismo laboratorio.

Tabla 16. Resultado para determinar la precisión por repetibilidad Rango Bajo

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada ERA para Determinar la Repetibilidad en Rango Bajo del Método DQO SM 5220D				
N ° de Mediciones	Resultados como DQO mgO ₂ L-1	Coficiente de variación calculado, %	Criterio de aceptación	Se acepta
1	55.15	0.56 %	$CV, \% = \frac{S}{X_{media}} * 100$	sí
2	54.74			
3	54.88			
4	55.00			
5	54.22			
6	54.84			
7	54.50			
8	54.35			
9	55.00			
10	54.92			
X_{media}	54.76			
S	0.306			
n	10		< 5%	

En la siguiente tabla 17 muestra los resultados de la precisión por repetibilidad en el rango alto de la curva de calibración, con material de referencia certificado (MRC) en las mismas condiciones que la tabla 16.

Tabla 17. Resultados para determinar la precisión por repetibilidad en rango alto

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada ERA para Determinar la Repetibilidad en Rango Alto del Método DQO SM 5220D				
N ° de Mediciones	Resultados como DQO mgO ₂ L-1	Coficiente de variación calculado, %	Criterio de aceptación	Se acepta
1	130.94	0.37 %	$CV, \% = \frac{S}{X_{media}} * 100$	Sí
2	129.68			
3	130.56			
4	130.35			
5	129.95			
6	130.88			
7	130.48			
8	129.44			
9	130.15			
10	130.45			
X_{media}	130.29			
S	0.487			
n	10		< 5%	



En la siguiente tabla 18 se presenta el procedimiento para la precisión intermedia (Reproducibilidad) en el rango bajo de la curva de calibración, se determinó por el análisis de varianzas por el método de Anova y posterior se calculó el test de Fisher como se observa a continuación:

Tabla 18. Resultado para determinar la precisión intermedia (reproducibilidad) en rango bajo

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada ERA para determinar la Precisión Intermedia (Reproducibilidad) en Rango Bajo del Método DQO SM 5220D						
N ° Mediciones	Resultados DQO mgO₂ L-1 Rango Bajo					
	Analista 1			Analista 2		
	Días			Días		
	1	2	3	1	2	3
1	55.15	54.88	54.50	54.70	54.25	54.70
2	54.74	54.50	54.88	54.98	55.10	54.98
3	54.88	54.10	54.74	54.55	54.70	55.10
4	55.00	54.74	54.88	55.10	54.70	54.25
5	54.22	54.50	54.50	54.74	54.98	54.55
6	54.84	54.88	54.74	54.88	54.60	54.74
7	54.50	54.74	54.10	54.88	55.10	54.74
8	54.35	54.50	54.50	54.70	54.55	54.70
9	55.00	55.00	54.10	54.50	54.70	54.98
10	54.92	55.00	54.50	54.50	54.25	54.70
X_{media}	54.76	54.68	54.54	54.75	54.69	54.74
S	0.306	0.284	0.280	0.205	0.305	0.242
n	10	10	10	10	10	10



Tabla 19. Análisis de varianza de un factor 54.7 mgO₂/L por el método de Anova

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista 1	10	547.60	54.760	0.093488889
	10	546.84	54.684	0.080604444
	10	545.44	54.544	0.078293333
Analista 2	10	547.53	54.753	0.042134444
	10	546.93	54.693	0.092823333
	10	547.44	54.744	0.058404444

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.329053333	5	0.065810667	0.89	0.4970314	2.39
Dentro de los grupos	4.01174	54	0.074291481			
Total	4.340793333	59				

CRITERIOS DE DECISION	
<p>Hipótesis Nula: H₀: V₁ = V₂ Alternativa: H₁, Dos colas: V₁ ≠ V₂. Una cola: V₁ < V₂ y V₁ > V₂ Si F_{calculado} < F_{crítico}: Varianzas no se diferencian significativamente. Si F_{calculado} > F_{crítico}: Varianzas se diferencian significativamente.</p> <p>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%. Al aplicar el análisis de Varianza en la Evaluación de la Repetibilidad interdi se aplicó el criterio de Fisher, en cuyo caso el valor experimental de F debe ser menor que el valor crítico (ONA, 2012).</p>	
CONCLUSION	
<p>Si las varianzas no se diferencian significativamente, los dos conjuntos de resultados presentan repetibilidades similares y se pueden unir en un solo conjunto.</p> <p>Si las varianzas se diferencian significativamente, los dos conjuntos de resultados presentan repetibilidades diferentes y no se pueden unir en un solo conjunto.</p>	
RESULTADO Y INTERPRETACION	
$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}; \quad F_{\text{calc}} = \frac{(0.290)^2}{(0.251)^2} = 1.34$ <p>F_{crítico 5,54} = 2.39</p>	<p>F_{cal} es menor que F_{crítico}, se acepta la hipótesis Nula, las Varianzas no se diferencian significativamente. significativamente, a un nivel de confianza de 95 % con un alfa de 0.05, y se rechaza la hipótesis alternativa Varianzas se diferencian significativamente. .</p>

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
 Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



En la siguiente tabla 20 se presenta el procedimiento para la precisión intermedia (Reproducibilidad) en el rango alto de la curva de calibración, con 2 analistas en 3 días diferentes y en condiciones operativas diferentes, pero en el mismo laboratorio, se determinó por el análisis de varianzas por el método de Anova y posterior se calculó el test de Fisher como se observa a continuación:

Tabla 20. Resultado para determinar la precisión intermedia (reproducibilidad) en rango alto

Resultado del Análisis de la Muestra Certificada ERA para determinar la Precisión Intermedia (Reproducibilidad) en Rango Alto del Método DQO SM 5220D						
N ° Mediciones	Resultados como DQO mgO₂ L⁻¹ Rango Alto					
	Analista 1			Analista 2		
	Días			Días		
	1	2	3	1	2	3
1	130.94	130.15	129.78	129.44	130.98	129.22
2	129.68	129.95	130.56	130.96	129.75	130.35
3	130.56	129.44	130.86	129.68	130.56	129.95
4	130.35	130.35	130.88	130.15	130.10	130.35
5	129.95	129.68	129.95	130.15	130.38	130.38
6	129.68	130.94	130.94	129.88	129.68	130.88
7	130.48	130.35	129.44	129.88	129.88	129.58
8	129.44	129.68	130.94	130.25	130.94	130.94
9	130.15	129.95	129.95	130.45	130.45	130.78
10	129.68	129.95	130.94	130.45	130.94	130.45
X_{media}	130.09	130.04	130.42	130.13	130.36	130.29
S	0.484	0.428	0.580	0.436	0.497	0.559
n	10	10	10	10	10	10



Tabla 21. Análisis de varianza de un factor 130 mgO₂/L por el método de Anova

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Análista 1	10	1300.905	130.0905	0.233846944
	10	1300.435	130.0435	0.183189167
	10	1304.225	130.4225	0.3369125
Análista 2	10	1301.29	130.129	0.190276667
	10	1303.65	130.365	0.247377778
	10	1302.875	130.2875	0.312184722

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.22737	5	0.245474	0.98	0.438804892	2.39
Dentro de los grupos	13.53409	54	0.250631296			
Total	14.76146	59				

CRITERIOS DE DECISION

Hipótesis Nula: H₀: V₁ = V₂

Alternativa: H₁, Dos colas: V₁ ≠ V₂.

Una cola: V₁ < V₂ y V₁ > V₂

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

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

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%. Al aplicar el análisis de Varianza en la Evaluación de la Repetibilidad interdi se aplicó el criterio de Fisher, en cuyo caso el valor experimental de F debe ser menor que el valor crítico (ONA, 2012).

CONCLUSION

Si las varianzas no se diferencian significativamente, los dos conjuntos de resultados presentan repetibilidades similares y se pueden unir en un solo conjunto.

Si las varianzas se diferencian significativamente, los dos conjuntos de resultados presentan repetibilidades diferentes y no se pueden unir en un solo conjunto.

RESULTADO Y INTERPRETACION

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} : F_{\text{calc}} = \frac{(0.497)^2}{(0.497)^2} = 0.99$$

$$F_{\text{crítico } 5,54} = 2.39$$

F_{cal} es menor que $F_{\text{crítico}}$, se acepta la hipótesis Nula, las Varianzas no se diferencian significativamente. significativamente, a un nivel de confianza de 95 % con un alfa de 0.05, y se rechaza la hipótesis alternativa Varianzas se diferencian significativamente. .



4.1.8.5. Límite de Detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOQ)

El límite de detección y cuantificación del método se determinó por medio del análisis de las 10 réplicas individuales del blanco y posteriormente se aplicó las ecuaciones correspondientes en el capítulo 3 sección 3.2.2. respectivamente. Los resultados se observan en la tabla 22:

Tabla 22. Resultados del límite de detección y de cuantificación del método

Límite de Detección y de Cuantificación del Método DQO	
Replicas	Absorbancia
1	0.637
2	0.636
3	0.638
4	0.638
5	0.636
6	0.638
7	0.638
8	0.637
9	0.636
10	0.637
X_{promedio}	0.637
S	0.001
S_0	0.0003
LOD	0.0008
LOQ	0.003



Dónde:

S: Desviación estándar absoluta.

So: Desviación estándar estimada de n mediciones.

LOD: Límite de detección del método, es la concentración mínima que detecta el método.

LOQ: Límite de cuantificación del método, es la concentración mínima que se puede cuantificar.

Sustituyendo las ecuaciones:

$$\text{LOD} = 3 * S_o \quad \text{LOD} = 3 * 0.0003 = \mathbf{0.0008}$$

$$\text{LOQ} = 10 * S_o \quad \text{LOQ} = 10 * 0.000497 = \mathbf{0.003}$$

4.1.9. Incertidumbre

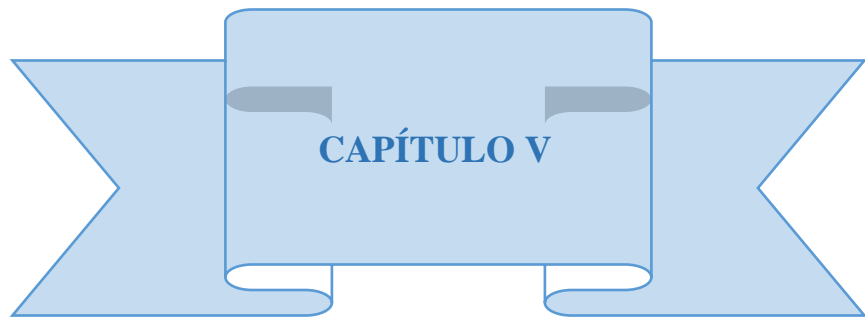
El cálculo de la incertidumbre se evaluó aplicando la ley de propagación de la incertidumbre establecida en la guía GUM 1995:2008. El procedimiento a seguir es el siguiente ver 2.1.7.9. Incertidumbre obteniendo los siguientes resultados en las siguientes tablas:

Tabla 23. Resultado de estimación de incertidumbres individuales

Variable	Valor	Fuente de Incertidumbre	Tipo de evaluación	Distribución	Ecuación	Coef. de sensibilidad	Incertidumbre estándar
$\delta_{\text{Pureza KHP}}$	0.05	Incertidumbre Pureza	Tipo B	Rectangular	$\frac{\Delta P}{\sqrt{3}}$	1	0.028867513
δ_{MRC}	0.322	Incertidumbre MRC RB	Tipo B	Normal	$U_{\text{MRC}}/2$	1	0.161
δ_{MRC}	0.355	Incertidumbre MRC RA	Tipo B	Normal	$U_{\text{MRC}}/2$	1	0.1775
$\delta_{\text{Calib Balanza}}$	0.0002	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.0001
$\delta_{\text{res Balanza}}$	0.0001	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	2.88675E-05
$\delta_{\text{calib ESP}}$	0.0032	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.001600000
$\delta_{\text{res ESP}}$	0.001	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	0.000288675
$\delta_{\text{res DRB}}$	1	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	0.288675135
$\delta_{\text{cal DRB}}$	0.59	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.295
$\delta_{\text{cal Balón 100 ml}}$	0.016	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/K	1	0.008
$\delta_{\text{cal Balón 1000 ml}}$	0.176	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/K	1	0.088
$\delta_{\text{cal pipeta}}$	0.004	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.002

Tabla 24. Resultado combinación de incertidumbres

Variable	Valor	Fuente de Incertidumbre	Tipo de evaluación	Distribución	Ecuación	Coef. de sensibilidad	Incertidumbre estándar	Contribución
$\delta_{Pureza\ KHP}$	0.05	Incertidumbre Pureza	Tipo B	Rectangular	$\frac{\Delta P}{\sqrt{3}}$	1	0.028867513	0.35%
δ_{MRC}	0.322	Incertidumbre MRC RB	Tipo B	Normal	$U_{MRC}/2$	1	0.161	10.96%
δ_{MRC}	0.355	Incertidumbre MRC RA	Tipo B	Normal	$U_{MRC}/2$	1	0.1775	13.33%
$\delta_{Calib\ Balanza}$	0.0002	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.0001	0.00%
$\delta_{res\ Balanza}$	0.0001	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	2.88675E-05	0.00%
$\delta_{calib\ ESP}$	0.0032	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.001600000	0.00%
$\delta_{res\ Esp}$	0.001	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	0.000288675	0.00%
$\delta_{res\ DRB}$	1	Resolución del equipo	Tipo B	Rectangular	$res/\sqrt{12}$	1	0.288675135	35.25%
$\delta_{cal\ DRB}$	0.59	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.295	36.81%
$\delta_{cal\ Balón\ 100\ ml}$	0.016	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.008	0.03%
$\delta_{cal\ Balón\ 1000\ ml}$	0.176	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.088	3.28%
$\delta_{cal\ pipeta}$	0.004	Incertidumbre Calibración	Tipo B	Normal	U/k	1	0.002	0.00%
Incertidumbre Combinada							0.49	100.00%
K= 2, Cobertura 95%							2	
Incertidumbre Expandida							0.97	





5.1. Conclusiones

Según los resultados obtenidos y presentados en este informe de la validación y estimación de la incertidumbre de los resultados, se logró determinar cada uno de los alcances según el procedimiento de ensayo que rige la organización nacional de acreditación (ONA) para la demanda química de oxígeno en aguas residuales, por el método colorimétrico de reflujo cerrado en el laboratorio ambiental PRONIC de Nicaragua, el método se ajusta al uso propuesto y es idóneo para ser aplicado en las condiciones del laboratorio, proporcionando valores que se encuentran dentro de los criterios permitidos por el organismo nacional de acreditación (ONA – MIFIC), evidenciando que el método puede ser sometido para la acreditación del ensayo.



5.2. Recomendaciones

- ✚ Antes de realizarse las lecturas en el equipo siempre se debe dejar reposar las muestras para que el precipitado que se forme se deposite en el fondo del vial y de esta forma evitar interferencia.
- ✚ Seguir realizando cada año las inter comparaciones del método de validación con la utilización de material de referencia certificado, para seguir garantizando el buen desempeño del método.
- ✚ Seguir efectuando el mantenimiento de los equipos para seguir garantizando su adecuado funcionamiento en la realización del método y seguir garantizando la confiabilidad de los resultados.



5.3. Bibliografía

- Báez. (2019). Validación de métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente. (Ecuador-Sangolqui).
- Becerra Santiago, L.O y Guardado González, M.E. (Diciembre 2000), (México). (CENAM) determinaron la estimación de la incertidumbre de la densidad del aire.
- CITAC guide "Quality in analytical chemistry" released. 3rd edition of Eurachem/
- DOC-ONA-12-011 [v01. Política para la validación de métodos de laboratorios de ensayos y calibración.
- Massó, D. (2004). La normalización. asociación española de normalización y certificación. Madrid
- Miller, J.N. (2002) - Estadística y Quimiometria para Química Analítica - MILLER MILLER 4ta edición.



- Normativa ISO/IEC 17025: 2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. D.O. No. 229.
- Standard Methods for the Examination of water and Wastewater 23RD EDITION edited Roger B. Baird, Andrew D. Eaton, Eugene W. Rice.
- (Septiembre 2008). (España) - Guía para la expresión de la incertidumbre de medida jcgm 100_2008.
- (Septiembre 2016-noviembre 2017). Monografía de validación y estimación de la incertidumbre de una metodología analítica para determinar la fracción media de hidrocarburos totales de petróleo en agua, en el centro para la investigación en recursos acuáticos de Nicaragua.
- Trujillo Juárez, S y Arias Romero, R (CENAM) (octubre 2002), (México). Determinaron la incertidumbre en la calibración de un matraz volumétrico.
- Unión internacional de Química pura y aplicada (IUPAC).



5.4. Anexos

Anexo 1: Alcance de la validación para métodos normalizados

	OFICINA NACIONAL DE ACREDITACIÓN			
	Política Para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración.			
	DOC-ONA-12-011	Versión N°:01	Revisión N°:00	

Tabla b: Alcance de la validación según el tipo de procedimiento de ensayo

Parámetros	Métodos Normalizados			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas en trazas	Evaluación de características o 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	No	Sí	Sí	Sí
Precisión Intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de Detección	+	No	No	No
Límite de Cuantificación	No	+	+	+
Robustez	+	+	+	+

+: 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.

(ONA, 2012)



Anexo 2: Alcance de la validación métodos normalizados modificados o no normalizados

Parámetros	Métodos Normalizados Modificados o No Normalizados			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas en trazas	Evaluación de características o establecidas*
Selectividad/ Especificidad	Si	+	+	+
Estabilidad analítica de la muestra	+	+	+	+
Linealidad del Sistema	No	Si	Si	+
Linealidad del Método	No	Si	Si	+

Página 13 de 49

Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico de la ONA	Ing. Eduardo Zamora Consultor de la ONA	Lic. Adela Miranda Espinoza Responsable de ONA
Fecha: 2012-01-09	Fecha: 2012-05-29	Fecha: 2012-11-26

Las copias impresas de este documento son SOLO REFERENCIA. Remitirse a ONA para obtener la versión más reciente

	OFICINA NACIONAL DE ACREDITACIÓN			
	Política Para la Validación de Métodos de Laboratorios de Ensayos y Calibración.			
	DOC-ONA-12-011	Versión N°:01	Revisión N°:00	

Rango	No	Si	Si	+
Exactitud	No	Si	Si	+
Repetibilidad	No	Si	Si	Si
Precisión Intermedia	No	Si	Si	Si
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de Detección	+	No	Si	No
Límite de Cuantificación	No	+	Si	+
Robustez	+	+	+	+

+: Puede o no requerirse, dependiendo de la normativa de referencia o la naturaleza del análisis o de las modificaciones que se le hagan al método.

++: 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.

(ONA, 2012)



Anexo 3: Alcance de la validación para métodos desarrollados/internos

Parámetros	Métodos Desarrollados / Internos			
	Identificación	Cuantificación de componentes mayoritarios	Cuantificación de componentes minoritarios o impurezas en trazas	Evaluación de características establecidas*
Selectividad/ Especificidad	Sí	Sí	Sí	+
Estabilidad analítica de la muestra	Sí	Sí	Sí	+
Linealidad del Sistema	No	Sí	Sí	+
Linealidad del Método	No	Sí	Sí	+
Rango	No	Sí	Sí	+
Exactitud	No	Sí	Sí	+
Repetibilidad	No	Sí	Sí	Sí
Precisión Intermedia	No	Sí	Sí	Sí
Reproducibilidad	No	++	++	++
Límite de Detección	Sí	No	+	No
Límite de Cuantificación	No	+	Sí	+
Robustez	+	Sí	Sí	+

+: 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.

(ONA, 2012)



Anexo 4: Valores de t para las probabilidades seleccionadas

Tabla A.2. La distribución t .

Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de $ t $ para valores de P de número de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de $|t|$ son adecuados para un contraste de *dos* colas. 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, $P = 0.05$, 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual a 2.02.

(Miller, J., y Miller, J., 2002)



Anexo 5: Valores de F para las probabilidades seleccionadas de una cola

264 **Tabla A.3.** Valores críticos de F para un contraste de una cola ($P = 0.05$).

Apéndice 2	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
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.

(Miller, J., y Miller, J., 2002)



Anexo 6: Valores de F para las probabilidades seleccionadas de dos colas

Tabla A.4. Valores críticos de F para un contraste de dos colas ($P = 0.05$).

265

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

Apéndice 2

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

(Miller, J., y Miller, J., 2002)



Anexo 7: Tolerancias establecidas por la CENAM para pipetas graduadas de vidrio clase A

Utensilios y recipientes volumétricos de vidrio

Servicio	Alcance	$U(V_{20}), k = 2$
Calibración de pipetas	1 mL	0,20 % del volumen entregado
	2 mL	0,10 % del volumen entregado
	5 mL	0,04 % del volumen entregado
	10 mL	0,03 % del volumen entregado
	15 mL	0,03 % del volumen entregado
	25 mL	0,02 % del volumen entregado
	50 mL	0,01 % del volumen entregado
	100 mL	0,01 % del volumen entregado
Calibración de matraces volumétricos	1 mL	0,70 % del volumen contenido
	5 mL	0,07 % del volumen contenido
	10 mL	0,05 % del volumen contenido
	20 mL	0,015 % del volumen contenido

CENAM, 2002



Anexo 8: Tolerancias establecidas por la ASTM para matraces volumétricos de vidrio clase A

Tolerancias establecidas por la ASTM para varios equipos volumétricos de vidrio clase A						
Capacidad (ml)	Pipeta		Bureta	Balón		Probeta
	Bulbo	Graduada		Contener	Verter	
1	0,006	0,01	.	0,010	.	.
2	0,006	0,01	.	0,015	.	.
3	0,01	.	.	0,015	.	.
4	0,01
5	0,01	0,02	0,01	0,020	.	0,1
10	0,02	0,03	0,02	0,020	0,40	0,2
15	0,03
20	0,03
25	0,03	0,05	0,03	0,03	0,05	0,3
50	0,05	.	0,05	0,05	0,1	0,5
100	0,08	.	0,10	0,08	0,15	1,0
200	.	.	.	0,10	0,2	.
250	.	.	.	0,12	.	2,0
300	0,25	.
500	.	.	.	0,20	0,3	4,0
1000	.	.	.	0,30	0,5	6,0
2000	.	.	.	0,50	1	12,0
3000	.	.	.	1,0	1,5	.
4000	.	.	.	1,0	2	29,0
5000	.	.	.	1,5	2,4	.
6000	.	.	.	2,0	.	.

Chacón, J, 2004



Anexo 9: Cantidades de muestras y reactivos para varios recipientes de digestión

Tubos de digestión	Volumen muestra mL	Solución de digestión mL	Volumen de ácido sulfúrico mL	Volumen total en el tubo mL
16 x 100 mm	2.50	1.50	3.5	7.5
20 x 150 mm	5.00	3.00	7.0	15.0
25 x 150 mm	10.00	6.00	14.0	30.0
Estándar 10 mL ampolla	2.50	1.50	3.5	7.5

Tabla 5220: I (Estándar método 23RD)



Anexo 10: Ilustración 1. Cálculos de los coeficientes de sensibilidad utilizando el programa maple 19

Ilustración 1. Cálculos de los coeficientes de sensibilidad utilizando el programa maple 19

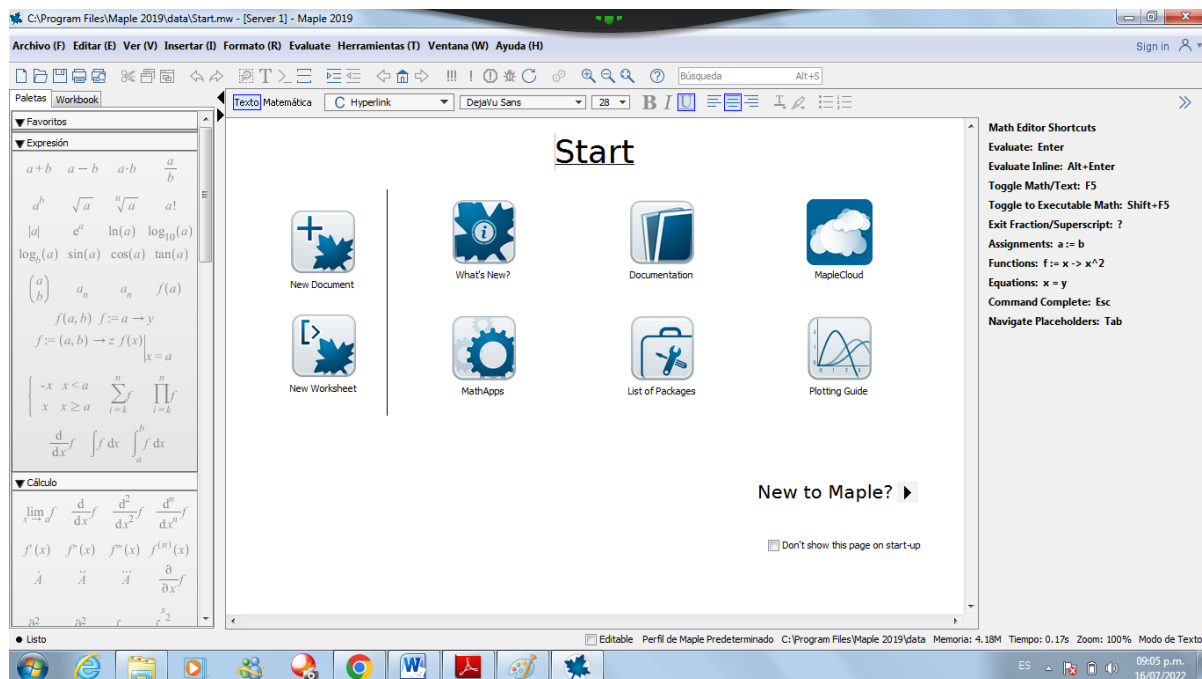


Programa matemático Maple 19, versión 2019.



Anexo 11: Ilustración 2. Inicio del programa maple 19

Ilustración 2. Inicio del programa maple 19



Inicio del programa maple 19 (opciones de las funciones; selección de nuevo documento).



Anexo 12: Ilustración 3. Introducción de ecuaciones

Ilustración 3. Introducción de ecuaciones

The screenshot shows the Maple 2019 interface. The main window displays the equation for DQO (V20) in a mathematical editor. The equation is:

$$V20 = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20))$$
$$V20 = Mc \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) - Mb \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) \quad (1)$$

The interface includes a menu bar (Archivo, Editar, Ver, Insertar, Formato, Evaluate, Herramientas, Ventana, Ayuda), a toolbar, and a sidebar with various mathematical symbols and shortcuts. The status bar at the bottom indicates the current mode is 'Modo Matemático' and shows system information like memory usage and time.

Se introduce la ecuación y luego el programa identifica.



Anexo 13: Ilustración 4. Selección de la función

Ilustración 4. Selección de la función

The screenshot shows the Maple 2019 interface. The main window displays the following mathematical expressions:

$$V20 = (Mc - Mb) \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20))$$

$$V20 = Mc \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) - Mb \left(\frac{1}{PA - Pa} \right) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) \quad (1)$$

$$\frac{\text{diff}(Mc - Mb) \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20))}{PA - Pa}$$

$$\frac{\text{diff} \left(Mc \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) - Mb \left(1 - \frac{Pa}{PB} \right) (1 - \alpha(TA - 20)) \right)}{PA - Pa} \quad (2)$$


The interface includes a left sidebar with mathematical symbols and a right sidebar with a list of commands such as "Aplicar un Comando", "Asignar al Nombre", "Coeficientes", "Combinar", "Denominador", "Diferenciar", "Evaluar en el Punto", "Expandir", "Factor", "Integrar", "Limit (Bivariate)", "Limite", "Numerador", "Recopilar", "Resolver", "Series", and "Simplificar".

Se selecciona la función de derivada parcial para la variable a derivar de la ecuación Insertada, dando inmediatamente el resultado.



Anexo 14: Ilustración 5. Certificado de calibración de balanza de precisión

Ilustración 5. Certificado de calibración de balanza de precisión

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración NI-MCCC-01	 Laboratorio de Calibración Código de Acreditación LC-002-14-03			
Identificación del certificado:	NI-MC-B-070-2021				
Código de servicio:	NI-CS-0047-1-21				
Fecha de calibración:	2021-02-15				
Fecha de emisión del certificado:	2021-02-17				
Objeto de calibración:	Balanza de Precisión				
Fabricante/Marca:	Ohaus				
Serie:	8331390419				
Modelo:	PA4101				
Rango de medida:	0 g a 4 100 g				
Resolución:	0,1 g				
Código de identificación:	LAP-004-AR-0419				
Solicitante:	Laboratorio Ambiental Pronic				
Dirección del solicitante:	AV. 20 SE Ciudad Jardín, K-15, Managua				
Lugar de calibración:	Laboratorio de Aguas Residuales				
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
0,0	0,0	0,0	0,0	No aplica (N/A)	0,06
100,0	100,0	0,0			0,06
500,0	500,0	0,0			0,06
1 000,0	1 000,0	0,0			0,10
2 000,0	2 000,0	0,0			0,10
2 500,0	2 500,0	0,0			0,10
3 000,0	3 000,0	0,0			0,10
4 000,0	4 000,0	0,0			0,10
Condiciones ambientales					Presión atmosférica
Temperatura:	(23,1 ± 0,3) °C	Presión:		(1001 ± 10) hPa	
Hum R.:	(57,1 ± 1,3) % HR				
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-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.					

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 15: Ilustración 6. Certificado de calibración de la balanza analítica

Ilustración 6. Certificado de calibración de la balanza analítica

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración NI-MCCC-01	 ONA Oficina Nacional de Acreditación Laboratorio de Calibración Código de Acreditación LC-000-18-01			
Identificación del certificado: NI-MC-B-069-2021 Código de servicio: NI-CS-0047-1-21 Fecha de calibración: 2021-02-15 Fecha de emisión del certificado: 2021-02-17 Objeto de calibración: Balanza Analítica Fabricante/Marca: Radwag Serie: 428774 Modelo: AS 220.R2 Rango de medida: 0 g a 220 g Resolución: 0,0001 g Código de identificación: LAP-003-AR-8774 Solicitante: Laboratorio Ambiental Pronic Dirección del solicitante: AV. 20 SE Ciudad Jardín, K-15, Managua Lugar de calibración: Laboratorio de Aguas Residuales					
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	No aplica (N/A)	0,0002
1,0000	1,0004	0,0004			0,0002
40,0002	40,0000	-0,0002			0,0008
80,0003	79,9998	-0,0005			0,0012
120,0004	119,9998	-0,0006			0,0012
160,0005	159,9999	-0,0006			0,0016
180,0006	179,9999	-0,0007			0,0020
220,0008	219,9999	-0,0007			0,0020
Condiciones ambientales		Presión atmosférica			
Temperatura: (22,2 ± 0,3) °C	Presión: (1001 ± 10) hPa				
Hum R: (57,0 ± 1,3) % HR					
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.					

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 16: Ilustración 7. Certificado de calibración de termostato seco

Ilustración 7. Certificado de calibración de termostato seco

 Metrología Consultores de Nicaragua, S.A.	Certificado de Calibración NI-MCCC-01	 Oficina Nacional de Acreditación Laboratorio de Calibración Código de Acreditación CC-002-14-R3
---	--	--

Identificación del certificado: NI-MC-T-140-2021
Código de servicio: NI-CS-0047-1-21
Fecha de calibración: 2021-02-15
Fecha de emisión del certificado: 2021-02-17
Objeto de calibración: Termómetro Digital
Fabricante/Marca: HACH
Serie: 14100C0066
Modelo: DRB 200
Rango de medida: 105 °C a 150 °C
Resolución: 1 °C
Código de identificación: LAP-002-AR-0066
Solicitante: Laboratorio Ambiental Pronic
Dirección del solicitante: AV. 20 SE Ciudad Jardín, k-15, Managua
Lugar de calibración: Laboratorio de Aguas Residuales

Resultados de la calibración

Temperatura de referencia	Indicación del Termómetro	Corrección	Incertidumbre expandida K = 2
°C	°C	°C	°C
106	105	1	0,58
151	150	1	0,58

Temperatura de referencia	Indicación del Termómetro	Corrección	Incertidumbre expandida K = 2
°C	°C	°C	°C
106	105	1	0,58
151	150	1	0,58

Condiciones ambientales
 Temperatura: 22,1 °C ± 0,3 °C
 Humedad relativa: 57,0 % ± 1,3 %

Método de calibración
 Las pruebas se realizaron según NI-MCIT-T-01 Instrucción para calibración de termómetros.

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 17: Ilustración 8. Certificado de calibración del higrómetro

Ilustración 8. Certificado de calibración del higrómetro

Calibration complies with ISO/IEC 17025, ANSI/NCSL Z540-1, and 9001
Cert. No.: 4040-11818559

Traceable® Certificate of Calibration for Therm./Clock/Humidity Monitor

Manufactured for and distributed by: Thomas Scientific, Box 99, 80 High Hill Road, Swedesboro, NJ, 08085-0099, U.S.A.

Instrument Identification:
Model: 9337T07, S/N: 200818422 Manufacturer: Control Company

Standards/Equipment:

Description	Serial Number	Due Date	NIST Traceable Reference
Non-Contact Frequency Counter	26 65957	05 Jun 2021	10004556570
Digital Thermometer	221197563	14 Oct 2021	4000-11821504
Calibrated Mirror Hygrometer	318741H2048MR	22 Jan 2021	18004

Certificate Information:
Technician: 126 Procedure: CAL-17 Cal Date: 17 Dec 2020 Cal Due Date: 17 Dec 2022
Test Conditions: 39.06%RH 22.35°C 1026mBar

Calibration Data: (New Instrument)

Unit(s)	Nominal	As Found	In Tol	Nominal	As Left	In Tol	Min	Max	±U	TUR
%RH	N.A.	N.A.		49.96	50	Y	45	55	0.74	>4:1
°C	N.A.	N.A.		22.60	22.5	Y	21.8	23.3	0.076	>4:1
sec/24hr	N.A.	N.A.		0.000	-0.027	Y	-0.64	0.64	0.041	>4:1

This certificate indicates Traceability to standards provided by (NIST) National Institute of Standards and Technology and/or a National Standards Laboratory.

A Test Uncertainty Ratio of at least 4:1 is maintained unless otherwise stated and is calculated using the expanded measurement uncertainty. Uncertainty analysis includes the instrument under test and is calculated in accordance with the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). The uncertainty represents an expanded uncertainty using a coverage factor k=2 to correspond to a 95% confidence level, or tolerance conditions are based on test results falling within specified limits with no reduction by the uncertainty of the measurement. The results contained herein relate only to the item calibrated. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of Control Company.

Nominal Standards Reading: As Left-Instrument's Reading; In Tol-In Tolerance; Min-Max-Acceptance Range; ±U-Correlated Measurement Uncertainty; TUR-Test Uncertainty Ratio; Accuracy (Max-Min/2; Min-Min Left-Nominal/Rounded) - Tolerance; Mean-As Left-Nominal/Rounded) - Tolerance.

Nicol Rodriguez
Nicol Rodriguez, Quality Manager

Marina Bero
Marina Bero, Technical Manager

Maintaining Accuracy:
In our opinion once calibrated your Therm./Clock/Humidity Monitor should maintain its accuracy. There is no exact way to determine how long calibration will be maintained. Therm./Clock/Humidity Monitor usage (hrs, if any) as well as can be affected by aging, temperature, shock, and contamination.

Recalibration:
For factory calibration and re-certification available to National Institute of Standards and Technology contact Control Company.

Issue Date: 17 Dec 2020

CONTROL COMPANY 12554 Galveston RD Suite 8230 Webster TX USA 77598
Phone 281 482-1714 Fax 281 482-9448 sales@control3.com www.traceable.com

Control Company is an ISO/IEC 17025:2017 Calibration Laboratory Accredited by (US) American Association for Laboratory Accreditation, Certificate No. 1750-01.
Control Company is ISO 9001:2015 Quality Certified by DNV GL, Certificate No. CER1-01889-2009-A3-MCLANAS.
International Laboratory Accreditation Cooperation - Multilateral Recognition Arrangement (ILAC-MRA).


1 of 1 Traceable® is a registered trademark of Control Company © 2017 Control Company

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 18: Ilustración 9. Certificado de calibración del espectrofotómetro parte 1

Ilustración 9. Certificado de calibración del espectrofotómetro parte 1

 <div style="float: right; border: 1px solid black; padding: 2px;">Código del Certificado SCM-0002321-2</div>				
Declaración de los patrones utilizados en la calibración				
Tipo de patrón	Identificación	Certificado	Próxima calibración	Trazabilidad
Filtro de vidrio de óxido de hierro	ESP-01	74815	13/2/2021	Starna - NIST / NPL
Juegos de filtros de densidad neutra	ESP-02	74820	13/2/2021	Starna - NIST / NPL

DATOS DEL EQUIPO SUJETO A CALIBRACIÓN	
Escala de Longitud de onda	Escala fotométrica de Absorbancia
División de escala: 1 nm	División de escala : 0,001
Ancho de banda espectral: 5 nm	
Velocidad de barrido: No aplica	

Resultados de la Calibración:
(As Left)

Calibración de la escala fotométrica de Absorbancia

	Longitud de onda (nm)				
	440,0	465,0	546,1	590,0	635,0
Valor certificado para el patrón	1,0008	0,9773	0,9902	1,0305	0,9862
Indicación promedio del instrumento sujeto a calibración	1,0492	0,9710	0,9840	1,0260	0,9784
Error de medida promedio	-0,0116	-0,0063	-0,0062	-0,0075	-0,0076
Incertidumbre expandida ($k = 2$; 95 %)	0,0032	0,0032	0,0032	0,0032	0,0033

	Longitud de onda (nm)				
	440,0	465,0	546,1	590,0	635,0
Valor certificado para el patrón	0,2516	0,5009	0,5152	0,5446	0,5293
Indicación promedio del instrumento sujeto a calibración	0,5412	0,4940	0,5080	0,5360	0,5228
Error de medida promedio	-0,0104	-0,0069	-0,0072	-0,0056	-0,0065
Incertidumbre expandida ($k = 2$; 95 %)	0,0029	0,0028	0,0028	0,0028	0,0029



Anexo 19: Ilustración 10. Certificado de calibración del espectrofotómetro

Ilustración 10. Certificado de calibración del espectrofotómetro parte 2

	Longitud de onda (nm)				
	440,0	465,0	546,1	590,0	635,0
Valor certificado para el patrón	0,2391	0,2135	0,2152	0,2298	0,2328
Indicación promedio del instrumento sujeto a calibración	0,2290	0,2050	0,2070	0,2230	0,2250
Error de medida promedio	-0,0101	-0,0085	-0,0082	-0,0068	-0,0078
Incertidumbre expandida ($k = 2$; 95 %)	0,0029	0,0029	0,0029	0,0029	0,0029

Calibración de la escala de Longitud de onda

Valor certificado para el patrón (nm)	Indicación promedio del calibrando (nm)	Error de medida promedio (nm)	Incertidumbre expandida ($k = 2$; 95 %) (nm)
361,40	360,00	+1,40	0,59
447,20	445,00	+2,20	0,59
537,00	535,00	+2,00	0,59

Notas y Aclaraciones:

Condiciones ambientales durante la calibración:

- [1] Temperatura: $(21,7 \pm 1,3) ^\circ\text{C}$ Humedad Relativa: $(63 \pm 10) \%$
La absorbancia regular espectral es una magnitud adimensional o magnitud de dimensión uno. El símbolo "1" de la unidad (el número "uno") generalmente se omite cuando se indica el valor de las magnitudes adimensionales.
- [2] El instrumento no se ajustó, por lo que el error inicial (As Found) y el error final (As Left) es el mismo.
- [3] Este certificado sustituye e invalida al certificado SCM-00002321.

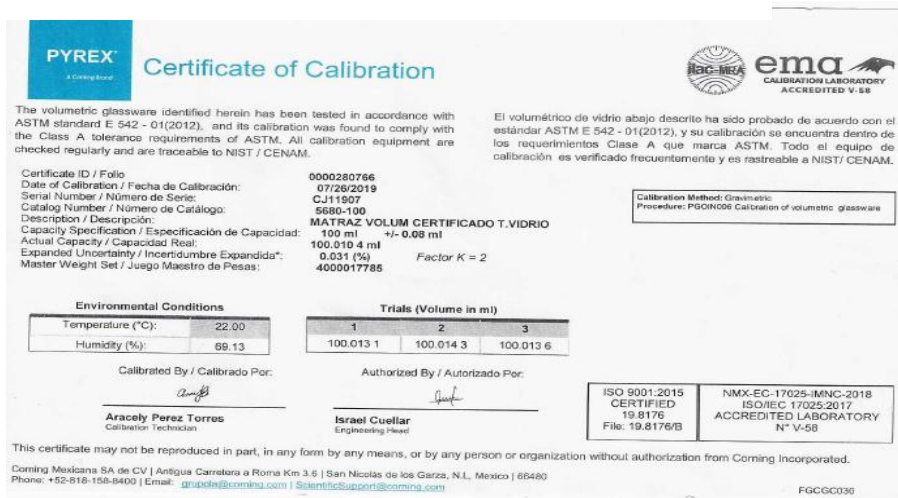


Anexo 20: Ilustración 11. Certificado de calibración de la pipeta de 5 mL

Ilustración 11. Certificado de calibración de la pipeta de 5 mL



Ilustración 12. Certificado de calibración del balón 100 mL



Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 21: Ilustración 13. Certificado de calibración del balón 1000 mL

Ilustración 13. Certificado de calibración del balón 1000 mL

PYREX **Certificate of Calibration**

The volumetric glassware identified herein has been tested in accordance with ASTM standard E 542 - 01(2012), and its calibration was found to comply with the Class A tolerance requirements of ASTM. All calibration equipment are checked regularly and are traceable to NIST / CENAM.

El volumétrico de vidrio abajo descrito ha sido probado de acuerdo con el estándar ASTM E 542 - 01(2012), y su calibración se encuentra dentro de los requerimientos Clase A que marca ASTM. Todo el equipo de calibración es verificado frecuentemente y es rastreable a NIST/ CENAM.

Certificate ID / Folio: 0000300383
 Date of Calibration / Fecha de Calibración: 12/02/2019
 Serial Number / Número de Serie: C/J3800
 Catalog Number / Número de Catálogo: 9989-1L
 Description / Descripción: MATRAZ VOLUM CERTIFICADO T. VIDRIO
 Capacity Specification / Especificación de Capacidad: 1000 ml +/- 0.3 ml
 Actual Capacity / Capacidad Real: 1 000.102 5 ml
 Expanded Uncertainty / Incertidumbre Expandida: 0.009 4 (%) Factor K = 2
 Master Weight Set / Juego Maestro de Pesas: 1000108428

Calibration Method: Gravitric
 Procedure: P000001 Calibration of volumetric glassware

Environmental Conditions		Trials (Volume in ml)		
Temperature (°C):	20.05	1	2	3
Humidity (%):	61.00	1 000.102 5	1 000.122 6	1 000.082 5

Calibrated By / Calibrado Por:
 Verónica Lucero Díaz Padilla
 Calibration Technician

Authorized By / Autorizado Por:
 Israel Cuellar
 Engineering Head

ISO 9001:2015
 CERTIFIED
 19.0176
 File: 19.0176/B

NMX-EC-17025-IMNC-2015
 ISO/IEC 17025:2017
 ACCREDITED LABORATORY
 N° V-55

This certificate may not be reproduced in part, in any form by any means, or by any person or organization without authorization from Corning Incorporated.

Corning Mexicana SA de CV | Anigua Carretera a Roma Km 3.6 | San Nicolás de los Garza, N.L., Mexico | 66460
 Phone: +52-818-158-0900 | Email: glass@corning.com | scientific@glass@corning.com



F00G0330


Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
 Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 22: Ilustración 14. Certificado de calibración de la termocupla (termómetro digital)

Ilustración 14. Certificado de calibración de la termocupla (termómetro digital)

  Calibration Certificate No. 1793.01

Calibration complies with ISO/IEC 17025, ANSI/NCSL Z540-1, and 9001 

Cert. No.: 4015-8808456

Traceable® Certificate of Calibration for Total-Range Thermometer

Manufactured for and distributed by: Fisher Scientific, 300 Industry Drive, Pittsburgh, PA 15275-1001

Instrument Identification:

Model Numbers: 15-077-14, 11740785 S/N: 170538008 Manufacturer: Control Company

Standards/Equipment:

Description	Serial Number	Due Date	NIST Traceable Reference
Thermocouple-Sheathed	35423.1	11/15/17	293990

Certificate Information:

Technician: 177 Procedure: CAL-4015-06 Cal Date: 9/13/17 Due Date: 9/13/19
 Test Conditions: 24.1°C 57.0 %RH 1010 mBar

Calibration Data: (New Instrument)

Units	Nominal	As Found	In Tol	Nominal	As Left	In Tol	Min	Max	±U	TURE
°C		N.A.		0.00	-0.6	Y	-1.0	1.0	0.17	±4.1
°C		N.A.		1,000.00	999.6	Y	998.0	1,002.0	0.17	±4.1

This instrument was calibrated using instruments traceable to National Institute of Standards and Technology.
 A Test Uncertainty Ratio of at least 4:1 is maintained unless otherwise stated and is reported using the appropriate measurement uncertainty. Uncertainty evaluation includes the instrument under test and is calculated in accordance with the ISO "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement" (GUM). The uncertainty represents an associated uncertainty using a coverage factor (k) of approximately a 95% confidence level. In tolerance conditions are based on test results falling within specified limits with no reduction in the uncertainty of the measurement. The results obtained herein shall only be the true values. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of Control Company.

Nonconformance Reading: As Left/Instrument's Reading, In Tolerance, Rejection/Acceptance Range, ±N-Expanded Measurement Uncertainty, TURE Test Uncertainty Ratio, Accuracy/±(Max-Min), Min = As Left/Max/Out-of-Tolerance, Max = As Left/Min/Out-of-Tolerance, Date-MAGS/YY

Yasser Rodríguez
 Item Receptor, Quality Manager

Alejandra Zapata
 April Julia, Technical Manager

Maintaining Accuracy:
 In our opinion unless indicated your Total-Range Thermometer should maintain its accuracy. There is no exact way to determine how long calibration will be maintained. Total-Range Thermometers change little, if any at all, but can be affected by aging, temperature, shock, and contamination.

Recalibration:
 For factory calibration and re-certification, contact National Institute of Standards and Technology contact Control Company.

CONTROL COMPANY 12554 Galveston RD Suite B236 Webster TX USA 77598
 Phone 281 482-1714 Fax 281 482-9448 service@control3.com www.control3.com
 Control Company is an ISO 17025:2005 Calibration Laboratory Accredited by IAC, an Affiliated Association for Laboratory Accreditation, Certificate No. 1793.01
 Control Company is ISO 9001:2008 Quality Certified by DNV-DEKRA Veritas, Certificate No. QCR121196-2006-AC-USA/NA
 INTERNATIONAL LABORATORY ACCREDITATION COOPERATION (ILAC) - Multilateral Recognition Arrangement (MLA)
 Page 1 of 1 Traceable® is a registered trademark of Control Company © 2017 Control Company

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
 Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 23: Ilustración 15. Certificado de pureza del estándar KHP

Ilustración 15. Certificado de Pureza del estándar KHP

M

Certificate of Analysis

Certipur® Certified Reference Material

Producer:	Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany
Accreditation:	The laboratory of Merck KGaA, Darmstadt, Germany for reference materials in titrimetry is accredited as calibration laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.
Description of CRM:	Potassium hydrogen phthalate
Ordering number:	1.02400.0083
Lot number:	182400C
Composition:	Potassium hydrogen phthalate
Certified value and uncertainty:	100.00 % ± 0.05 % Mass fraction in weight percent with expanded measurement uncertainty The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot U_{\text{combined}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and U_{combined} is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.
Method of analysis:	The certified mass fraction was determined by potentiometric titration with sodium hydroxide as titration solution. The certified value is based on a molecular mass $M = 204.222$ g/mol dried substance.
Traceability:	This volumetric standard is directly traceable to the corresponding primary standard NIST SRM® potassium hydrogen phthalate 84L, NIST, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.
Storage:	Store at +15 °C to +25 °C tightly closed in the original container and protect from light and moisture.
Application and correct use:	This volumetric standard is intended for standardisation of volumetric solutions in accordance to the chapter reagents of the Pharmacopoeia (Ph. Eur., USP). The volumetric standard potassium hydrogen phthalate must be dried at 120 °C for 2 hours before use.
Date of release:	2018/07/02
Expiry Date:	2022/12/31

A. Yildirim
Dipl.-Ing. Ayler Yıldırım
(Laboratory Manager)

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany · +49 (0)61 72-0

1.02400.0083
182400C
ANAL. 1/18

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán

Anexo 24: Ilustración 16. Certificado de pureza del dicromato de potasio

Ilustración 16. Certificado de Pureza del Dicromato de potasio



Supelco www.sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis – Certified Reference Material

Certipur® Potassium dichromate

Product no.: 1.02403.0080
Lot no.: 192403U
Description of CRM: Potassium dichromate
Expiry date: 2024/06/30
Storage: +15°C to +25°C tightly closed in the original container and protect from light and moisture
Composition: Potassium dichromate

Analyte	Certified value as mass fraction	Associated uncertainty, $U=k \cdot u$ ($k=2$) as mass fraction
Mass fraction	99.94 %	±0.11 %

Metrological traceability: Directly traceable to the corresponding primary standard NIST SRM Potassium dichromate 136f.

Measurement method: The certified mass fraction was determined by potentiometric titration with sodium thiosulfate as titration solution. The certified value is based on a molecular mass $M = 294.181$ g/mol dried substance.

Intended use: This volumetric standard is intended for standardisation of volumetric solutions in accordance to the chapter reagents of the Pharmacopoeia (USP).

Instructions for handling and correct use: The volumetric standard Potassium dichromate must be dried at 110 °C for 2 hours before use. By within-unit homogeneity studies a minimum weigh-in quantity of 150 mg was determined.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited by the German accreditation authority DAkkS as registered reference material producer D-RM-15185-01-00 in accordance with ISO 17034 and registered calibration laboratory D-K-15185-01-00 according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Certificate issue date: September 09, 2019

DAkkS (DIN EN ISO 17034) **DAkkS** (DIN EN ISO/IEC 17025)

A. Yildirim
 Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
 (Responsible QC Laboratory Manager)

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, Tel. +49 (0)6181 32-3440
 EMO Milipore Corporation, 430 Summit Street, Burlington, MA 01803, USA, Tel. +1 878 676 4301
 Sigma-Aldrich Canada Co., 61 Milverton, Canada, Tel. +1 905 874 4301
 Distrito 1 911 136, Avenida 11 4701 600 7 010

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
 Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 25: Ilustración 17. Certificado del material de referencia (MRC) rango bajo

Ilustración 17. Certificado del material de referencia (MRC) rango bajo

Product Name	Demand	PT Scheme	Water Pollution for Wastewater
Lot Number	P324-516	PT Round Number	324
Analyte (CAS)	COD (—)		

Group Summary

Relative Recovery	95.1 %
Formulation/Certified Value	54.7 mg/L
Uncertainty of Certified Value	0.322 %
Assigned Value (X)	54.1
Robust Mean	54.1
SDPA	5.54
Satisfactory Range	43.0 - 65.2
Average Relative Recovery	98.9 %
Relative Standard Deviation	10.2 %
Percent Acceptable	88.6 %
Number of Data Points	167

Method Details

Ultraviolet or Visible Mo

Robust Mean	54.4
SDPA	5.85
Data Points	118
Satisfactory Range	42.7 - 66.1
Average Percent Recovery	99.5%
Relative Standard Deviation	10.8%
Percent Acceptable	94.9%
Your Method z Score	-0.411



Anexo 26: Ilustración 18. Certificado del material de referencia (MRC) rango alto

Ilustración 18. Certificado del material de referencia (MRC) rango alto

Product Name	Demand	PT Scheme	Water Pollution for Wastewater
Lot Number	P300-516	PT Round Number	300
Analyte (CAS)	COD (—)		

Group Summary

Relative Recovery	101 %
Formulation/Certified Value	130 mg/L
Uncertainty of Certified Value	0.355 %
Assigned Value (X)	130
Robust Mean	130
SDPA	9.52
Satisfactory Range	111 - 149
Average Relative Recovery	99.9 %
Relative Standard Deviation	7.33 %
Percent Acceptable	90.8 %
Number of Data Points	163

Method Details

Ultraviolet or Visible Mo

Robust Mean	130
SDPA	8.91
Data Points	127
Satisfactory Range	112 - 148
Average Percent Recovery	99.8%
Relative Standard Deviation	6.86%
Percent Acceptable	92.1%
Your Method z Score	0.131



Anexo 27: Tabla 25. Resultado verificación calibración matraz volumétrico 1000 mL

Tabla 25. Resultado verificación calibración matraz volumétrico de 1 mL

Matraz Volumetrico de 1000 mL			
N° Mediciones	Masa Inicial Mb (g)	Masa Final Mc (g)	Mc-Mb (g)
1	264.4	1259.5	995.1
2	264.4	1259.4	995.0
3	264.5	1259.6	995.1
4	264.4	1259.4	995.0
5	264.4	1259.4	995.0
6	264.4	1259.5	995.1
7	264.5	1259.5	995.0
8	264.4	1259.4	995.0
9	264.4	1259.5	995.1
10	264.4	1259.4	995.0
X_{media}	264.4	1259.5	995.0
S	0.0422	0.0699	0.0516
Tolerancia ±	0.30		
Volumen Real (mL)	994.8		
Incertidumbre expandida (mL)	0.176		



Anexo 28: Tabla 26. Resultado verificación de calibración de la pipeta graduada 5 mL

Tabla 26. Resultado verificación de pipeta graduada 5 mL

Pipeta Graduada de 5 mL			
N° Mediciones	Masa Inicial Mb (g)	Masa Final Mc (g)	Mc-Mb (g)
1	29.3786	34.3750	4.9964
2	29.3788	34.3780	4.9992
3	29.3786	34.3814	5.0028
4	29.3788	34.3784	4.9996
5	29.3786	34.3787	5.0001
6	29.3786	34.3778	4.9992
7	29.3786	34.3782	4.9996
8	29.3788	34.3752	4.9964
9	29.3786	34.3734	4.9948
10	29.3788	34.3784	4.9996
X_{media}	29.3787	34.3774	4.9988
S	0.0001	0.0023	0.0023
Tolerancia ±	0.02		
Volumen Real (mL)	4.97		
Incertidumbre expandida (mL)	0.0040		



Anexo 29: Tabla 27. Resultado presupuesto de incertidumbre en la calibración del matraz volumétrico de 100 mL

Tabla 27. Resultado presupuesto de incertidumbre en la calibración del matraz volumétrico de 100 mL

Presupuesto de Incertidumbre en la Calibración de un Matraz Volumétrico 100 ml									
Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Coefficiente de sensibilidad ci	Contribución ui(y) (cm3)	(ui(y)) ²	Grados de libertad
Mb	69.0304 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.00005 g	-1.003623079 cm ³ /g	-5.01E-05	2.51E-09	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	-1.003623079 cm ³ /g	-2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0006 g	-1.003623079 cm ³ /g	-6.02E-04	3.62E-07	50
Mc	168.788 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.0078 g	1.003623079 cm ³ /g	7.83E-03	6.13E-05	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	1.003623079 cm ³ /g	2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0006 g	1.003623079 cm ³ /g	6.02E-04	3.62E-07	50
Densidad del agua (T)	0.997561 g/cm ³	calculada	ver tabla 2	ver tabla 2	2.88976E-05	-100.4641cm ⁶ /g	-2.90E-03	8.41E-06	100
Densidad aire	0.001171 g/cm ³	calculada	ver tabla 3	ver tabla 3	1.35E-06 g/cm ³	99.73465 cm ⁶ /g	1.35E-04	1.82E-08	100
Densidad masas	8	referencia	0.08 g/cm ³	B, rectangular	0.0046 g/cm ³	0.001832 cm ⁶ /g	8.43E-06	7.11E-11	100
Coefficiente de expansión cúbica	1.0E-05 K-1	referencia	0.000005 K-1	B, rectangular	0.00000289 k-1	-290.3027 cm ³ *K	-8.39E-04	7.04E-07	100
Temperatura	23.9								
Resolución del termómetro	---	escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029 °C	-0.001000 cm ³ /°C	-0.000029	8.41E-10	1.00E+02
Calibración del termómetro	---	certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05 °C	-0.001000 cm ³ /°C	-0.00005	2.50E-09	50
Estabilidad de la temperatura	---	Calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.08 °C	-0.001000 cm ³ /°C	-0.00008	6.40E-09	1.00E+06
Incertidumbre estándar combinada		---	---	---	---	---	Uc(V20) =	0.008	Cm ³
Grados efectivos de libertad		---	---	---	---	---	V ef =	98	---
Incertidumbre expandida		---	---	---	---	---	U(V20) =	0.0162	Cm ³

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 30: Tabla 28. Resultado del presupuesto de incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en el matraz 100 mL

Tabla 28. Resultado del presupuesto de incertidumbre para la determinación de la densidad del agua matraz 100 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Agua Balón 100 ml							
Magnitud de entrada Xi Fuente de Incertidumbre	Valor estimado xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Coficiente de sensibilidad, ci	contribución, ui(y)
Temperatura	22.9	---	---	---	---	---	---
Resolución del termómetro	---	División de escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029	-0.001000 g/cm ³ /°C	-0.000029 g/cm ³
Calibración del termómetro	---	certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05	-0.001000 g/cm ³ /°C	-0.00005 g/cm ³
Estabilidad de la temperatura	---	calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.08	-0.001000 g/cm ³ /°C	-0.00008 g/cm ³
pA =	0.997561 g/cm³					Incertidumbre combinada= g/cm³	2.88976E-05



Anexo 31: Tabla 29. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para determinar la densidad del aire en matraz 100 mL

Tabla 29. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para determinar la densidad del aire en matraz 100 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Aire Balón 100 ml								
Magnitud de entrada Xi Fuente de incertidumbre	Valor estimado x i	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Grados de Libertad	Coficiente de sensibilidad, ci	Contribución, ui(y)
Presion atmosferica	101525 Pa	Combinación de incertidumbres	27.8 Pa	B Normal, k=1	27.8 Pa	139	1.17574E-05 Kg m-3 pa-1	3.27E-04
Calibración del barómetro	---	Certificado	10 Pa	B Normal, k=2	5 Pa	100	1	5 Pa
Resolución del barómetro	---	Resolución digital	10 Pa	B Rectangular, k=1	2.9 Pa	100	1	2.9 Pa
Estabilidad de la presión atmosférica	---	Variación de la presión	63 Pa	B Triangular, k=1	27.1 Pa	100	1	27.1 Pa
Temperatura del aire	23.9	certificado de calibración	0.1 °C	B Normal, k=1	0.05 °C	100	-0.004497713 Kg m-3 °C-1	-2.25E-04
Calibración del termómetro	---	Certificado	0.076 °C	B Normal, k=2	0.038 °C	100	1	0.038
Resolución del termómetro	---	Resolución digital	0.1 °C	B Rectangular, k=1	0.029 °C	100	1	0.029
Estabilidad de la temperatura	---	Variación de la temperatura	0.1 °C	B Triangular, k=1	0.020 °C	100	1	0.020
Humedad Relativa del aire	63.0%	Combinación de incertidumbres	0.48%	B Normal, k=1	0.0048	145	-0.013114179 kgm-3	-6.29E-05
Calibración del Higrómetro	---	Certificado	0.74%	B Normal, k=2	0.0037	100	1	0.0037
Resolución del higrómetro	---	Resolución digital	1%	B Rectangular, k=1	0.0029	100	1	0.0029
Estabilidad de la Humedad Relativa	---	Variación de la H.R.	0,4 %	B Triangular, k=1	0.0008	100	1	0.0008
Constante R de los gases	8,314 51 J mol ⁻¹ K ⁻¹	Tablas	8,4 x 10 ⁻⁶ J mol ⁻¹ K ⁻¹	B Normal, k=1	8,4 x 10 ⁻⁶ J mol ⁻¹ K ⁻¹	50	-0.14251613 kg m-3J-1 mol K	-1.20E-06 kg/m3
Ajuste de la ecuación	---	Tablas	1 x 10 ⁻⁴	B Relativa, normal k=1	1.17E-04 kgm3	50	1	1.17E-04 kgm3
Densidad del aire =	1.1712 Kg/m3	---	---	---	V_{ef}(pa)	315	U_{pa}=	± 0.00135 Kg/m3

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 32: Tabla 30. Resultado del presupuesto de incertidumbre para determinar la densidad del aire en pipeta graduada de 5 mL

Tabla 30. Resultado del presupuesto de incertidumbre para determinar la densidad del aire en pipeta graduada de 5 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Aire Pipeta Graduada 5 ml								
Magnitud de entrada Xi Fuente de incertidumbre	Valor estimado x i	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Grados de Libertad	Coficiente de sensibilidad, ci	Contribución, ui(y)
Presion atmosferica	101525 Pa	Combinación de incertidumbres	27.8 Pa	B Normal, k=1	27.8 Pa	139	1.1796E-05 Kg m-3 pa-1	-3.28E-04 Kg/m3
Calibración del barómetro	---	Certificado	10 Pa	B Normal, k=2	5 Pa	100	1	5 Pa
Resolución del barómetro	---	Resolución digital	10 Pa	B Rectangular, k=1	2.9 Pa	100	1	2.9 Pa
Estabilidad de la presión atmosférica	---	Variación de la presión	63 Pa	B Triangular, k=1	27.1 Pa	100	1	27.1 Pa
Temperatura del aire	22.9	certificado de calibración	0.1 °C	B Normal, k=1	0.05 °C	100	0.004446184 Kg m-3 °C-	-2.22E-04 Kg/m3
Calibración del termómetro	---	Certificado	0.076 °C	B Normal, k=2	0.038 °C	100	1	0.038 °C
Resolución del termómetro	---	Resolución digital	0.1°C	B Rectangular, k=1	0.029 °C	100	1	0.029 °C
Estabilidad de la temperatura	---	Variación de la temperatura	0.1°C	B Triangular, k=1	0.020 °C	100	1	0.020 °C
Humedad Relativa del aire	55%	Combinación de incertidumbres	0.48%	B Normal, k=1	0.0051	145	-0.012397729 kgm-3	-6.32E-05 kg/m3
Calibración del Higrómetro	---	Certificado	0.74%	B Normal, k=2	0.0037	100	1	0.0037
Resolución del higrómetro	---	Resolución digital	1%	B Rectangular, k=1	0.0029	100	1	0.0029
Estabilidad de la Humedad Relativa	---	Variación de la H.R.	0,4 %	B Triangular, k=1	0.002	100	1	0.002
Constante R de los gases	8,314 51 J mol ⁻¹ K ⁻¹	Tablas	8.4 x 10-6 J mol ⁻¹ K ⁻¹	B Normal, k=1	8.4 x 10-6 J mol-1 K-1	50	-0.14317914 kg m-3J-1 mol K	-1.20E-06 kg/m3
Ajuste de la ecuación	---	Tablas	1 x 10 ⁻⁴	B Relativa, normal k=1	1.18E-04 kg/m3	50	1	1.18E-04 kg/m3
Densidad del aire =	1.179 Kg/m3	---	---	---	V_{ef}(pa)	315	U_{pa}=	0.00041 ± Kg/m3

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 33: Tabla 31. Resultado del presupuesto de incertidumbre en la calibración de la pipeta graduada de 5 mL

Tabla 31. Resultado del presupuesto de incertidumbre en la calibración de la pipeta graduada de 5 mL

Presupuesto de Incertidumbre en la Calibración de Pipeta Graduada 5 ml									
Fuente	Valor x_i	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar $u(x_i)$	Coficiente de sensibilidad c_i	Contribución $u_i(y)$ (cm ³)	$(u_i(y))^2$	Grados de libertad
Mb	29.3787 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.00010 g	-1.003466978 cm ³ /g	-1.00E-04	1.00E-08	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	-1.003466978 cm ³ /g	-2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0006 g	-1.003466978 cm ³ /g	-6.02E-04	3.62E-07	50
Mc	34.3774 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.0023 g	1.003466978 cm ³ /g	2.31E-03	5.34E-06	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	1.003466978 cm ³ /g	2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0008 g	1.003466978 cm ³ /g	8.03E-04	6.45E-07	50
Densidad del agua (T)	0.997724 g/cm ³	calculada	ver tabla 8	ver tabla 8	1.44779E-06	-5.0325 cm ⁶ /g	-7.29E-06	5.31E-11	100
Densidad aire	g/cm ³	calculada	ver tabla 9	ver tabla 9	4.06E-07 g/cm ³	4.99755 cm ⁶ /g	2.03E-06	4.12E-12	100
Densidad masas	8	referencia	0.08 g/cm ³	B, rectangular	0.0046 g/cm ³	0.0000092 cm ⁶ /g	4.23E-08	1.79E-15	100
Coficiente de expansión cúbica	1.0E-05 K ⁻¹	referencia	0.000005 K ⁻¹	B, rectangular	0.00000289 k-1	-14.5443 cm ³ *K	-4.20E-05	1.76E-09	100
Temperatura	22.9								
Resolución del termómetro	---	escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029 °C	-0.000050 cm ³ /°C	-1.45E-06	2.1025E-12	1.00E+02
Calibración del termómetro	---	certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05 °C	-0.000050 cm ³ /°C	-2.5E-06	6.25E-12	50
Estabilidad de la temperatura	---	Calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.06 °C	-0.000050 cm ³ /°C	-3.0E-06	9.00E-12	1.00E+06
Incertidumbre estándar combinada		---	---	---	---	---	Uc(V20) =	0.002	cm ³
grados efectivos de libertad		---	---	---	---	---	V ef =	98	---
Incertidumbre expandida		---	---	---	---	---	U(V20) =	0.004	cm ³

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 34: Tabla 32. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en la pipeta graduada de 5 mL

Tabla 32. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en la pipeta graduada de 5 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Agua Pipeta Graduada 5 ml							
Magnitud de entrada Xi Fuente de Incertidumbre	Valor estimado xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Coficiente de sensibilidad, ci	contribución, ui(y)
Temperatura	22.2	---	---	---	---	---	---
Resolución del termómetro	---	División de escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029	-0.000050 g/cm3/°C	-0.00000145 g/cm3
Calibración del termómetro	---	certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05	-0.000050 g/cm3/°C	-0.0000025 g/cm3
Estabilidad de la temperatura	---	calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.06	-0.000050 g/cm3/°C	-0.000003 g/cm3
pA =	0.997724 g/cm3					Incertidumbre combinada= g/cm3	2.89E-05



Anexo 35: Tabla 33. Resultado de presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua del matraz de 1000 mL

Tabla 33. Resultado de presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del aire del matraz de 1000 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Aire Balón 1000 ml								
Magnitud de entrada Xi Fuente de incertidumbre	Valor estimado xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Grados de Libertad	Coficiente de sensibilidad, ci	Contribución, ui(y)
Presion atmosferica	101525 Pa	Combinación de incertidumbres	27.8 Pa	B Normal, k=1	27.8 Pa	139	1.17574E-05 Kg m-3 pa-1	3.27E-04
Calibración del barómetro	---	Certificado	10 Pa	B Normal, k=2	5 Pa	100	1	5 Pa
Resolución del barómetro	---	Resolución digital	10 Pa	B Rectangular, k=1	2.9 Pa	100	1	2.9 Pa
Estabilidad de la presión atmosférica	---	Variación de la presión	63 Pa	B Triangular, k=1	27.1 Pa	100	1	27.1 Pa
Temperatura del aire	23.7	certificado de calibración	0.1 °C	B Normal, k=1	0.05 °C	100	-0.004497713 Kg m-3 °C-1	-2.25E-04
Calibración del termómetro	---	Certificado	0.076 °C	B Normal, k=2	0.038 °C	100	1	0.038
Resolución del termómetro	---	Resolución digital	0.1 °C	B Rectangular, k=1	0.029 °C	100	1	0.029
Estabilidad de la temperatura	---	Variación de la temperatura	0.1 °C	B Triangular, k=1	0.020 °C	100	1	0.020
Humedad Relativa del aire	65.0%	Combinación de incertidumbres	0.48%	B Normal, k=1	0.0048	145	-0.013114179 kgm-3	-6.29E-05
Calibración del Higrómetro	---	Certificado	0.74%	B Normal, k=2	0.0037	100	1	0.0037
Resolución del higrómetro	---	Resolución digital	1%	B Rectangular, k=1	0.0029	100	1	0.0029
Estabilidad de la Humedad Relativa	---	Variación de la H.R.	0,4 %	B Triangular, k=1	0.0008	100	1	0.0008
Constante R de los gases	8,314 51 J mol ⁻¹ K ⁻¹	Tablas	8.4 x 10 ⁻⁶ J mol ⁻¹ K ⁻¹	B Normal, k=1	8.4 x 10 ⁻⁶ J mol ⁻¹ K ⁻¹	50	-0.14251613 kg m-3J-1 mol K	-1.20E-06 kg/m3
Ajuste de la ecuación	---	Tablas	1 x 10 ⁻⁴	B Relativa, normal k=1	1.17E-04 kgm3	50	1	1.17E-04 kgm3
Densidad del aire =	1.1712 Kg/m3	---	---	---	V_{ef}(pa)	315	U_{pa}=	± 0.00135 Kg/m3

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



Anexo 36: Tabla 34. Resultado del presupuesto de la determinación de la incertidumbre en la calibración del matraz de 1000 mL

Tabla 34. Resultado del presupuesto de la determinación de la incertidumbre en la calibración del matraz de 1000 mL

Presupuesto de Incertidumbre en la Calibración de un Matraz Volumétrico 1000 ml									
Fuente	Valor xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Coficiente de sensibilidad ci	Contribución ui(y) (cm3)	(ui(y)) ²	Grados de libertad
Mb	264.4 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.04216 g	-1.003672437 cm3/g	-0.04231	1.79E-03	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	-1.003672437 cm3/g	-2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0006 g	-1.003672437 cm3/g	-6.02E-04	3.62E-07	50
Mc	1259.5 g								
Repetibilidad	---	mediciones	0.0000 g	A, normal K=1	0.0699 g	1.003672437 cm3/g	-0.07016	4.92E-03	9
Resolución	---	escala	0.0001 g	B, rectangular	0.000028868 g	1.003672437 cm3/g	2.90E-05	8.41E-10	1.00E+02
Calibración	---	certificado de calibración	0.0012 g	B, normal K=2	0.0006 g	1.003672437 cm3/g	6.02E-04	3.62E-07	50
Densidad del agua (T)	0.997513 g/cm3	calculada	ver tabla 5	ver tabla 2	2.88976E-05	-1002.2444 cm6/g	-0.02896	8.39E-04	100
Densidad aire	---	calculada	ver tabla 6	ver tabla 3	1.35E-06 g/cm3	994.85525 cm6/g	1.34E-03	1.80E-06	100
Densidad masas	8	referencia	0.08 g/cm3	B, rectangular	0.0046 g/cm3	0.018289 cm6/g	8.41E-05	7.07E-09	100
Coficiente de expansión cúbica	1.0E-05 K-1	referencia	0.000005 K-1	B, rectangular	0.00000289 k-1	-3095.6852 cm3*k	-8.95E-03	8.01E-05	100
Temperatura	23.7								
Resolución del termómetro	---	escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029 °C	-0.009986 cm3/°C	-2.90E-04	8.41E-08	1.00E+02
Calibración del termómetro	---	certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05 °C	-0.009986 cm3/°C	-4.99E-04	2.49E-07	50
Estabilidad de la temperatura	---	Calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.08 °C	-0.009986 cm3/°C	-7.99E-04	6.38E-07	1.00E+06
Incertidumbre estándar combinada		---	---	---	---	---	Uc(V20) =	0.087	Cm ³
grados efectivos de libertad		---	---	---	---	---	Vef =	98	---
Incertidumbre expandida		---	---	---	---	---	U(V20) =	0.176	Cm ³

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán



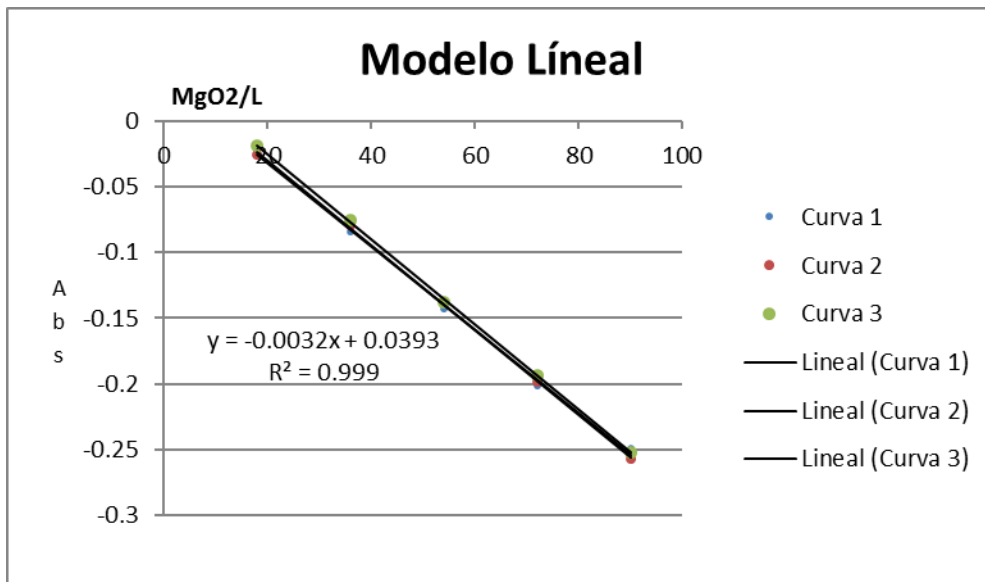
Anexo 37: Tabla 35. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en el matraz de 1,000 mL

Tabla 35. Resultado del presupuesto de la incertidumbre para la determinación de la densidad del agua en el matraz de 1000 mL

Presupuesto de Incertidumbres para la Determinación de la Densidad del Agua Balón 1000 ml							
Magnitud de entrada Xi Fuente de Incertidumbre	Valor estimado xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar u(xi)	Coefficiente de sensibilidad, ci	contribución, ui(y)
Temperatura	23.1						
Resolución del termómetro		División de escala	0.1 °C	B, rectangular	0.029	-0.009986 g/cm ³ /°C	-0.000289 g/cm ³
Calibración del termómetro		certificado de calibración	0.1 °C	B, normal K=2	0.05	-0.009986 g/cm³/°C	-0.000499 g/cm³
Estabilidad de la temperatura		calculada	0.5 °C	B, rectangular	0.08	-0.009986 g/cm ³ /°C	-0.000799 g/cm ³
pA =	0.997513 g/cm³					Incertidumbre combinada= g/cm³	2.88E-04

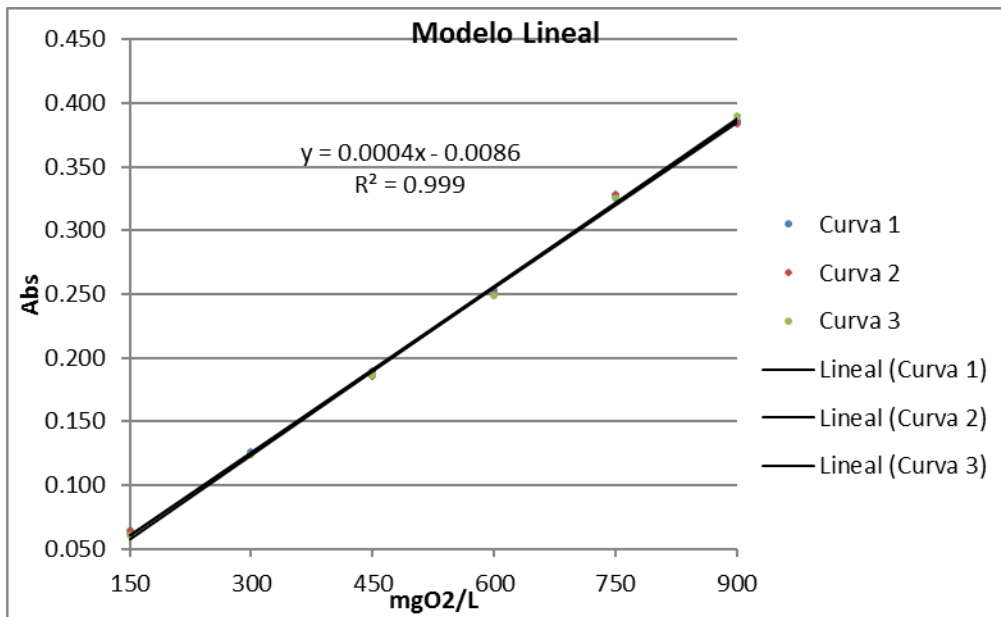


Anexo 38: Gráfica de la linealidad del sistema (Instrumento) rango bajo en DQO



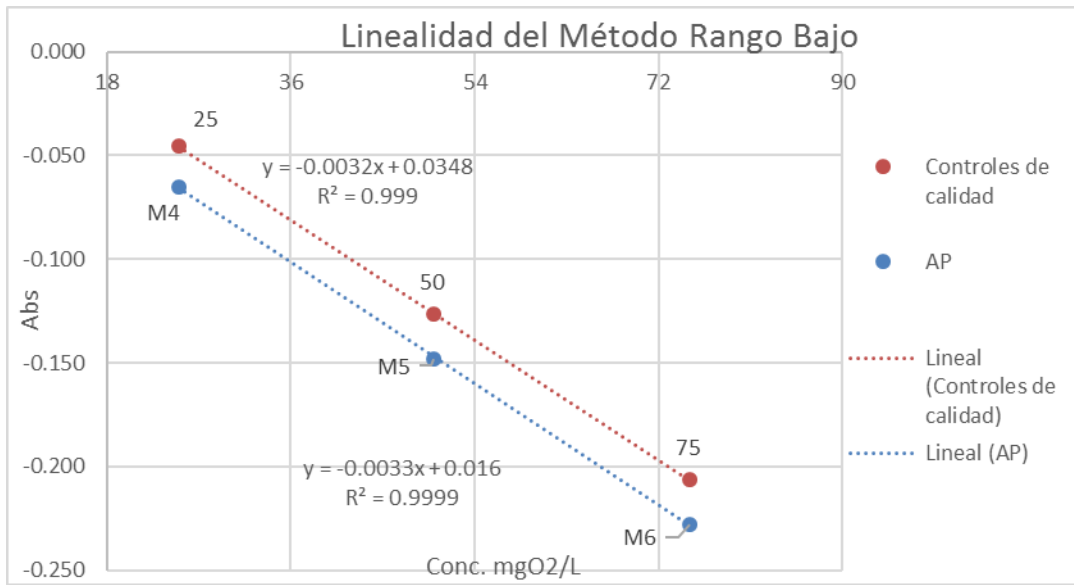


Anexo 39: Gráfica de la linealidad del sistema (instrumento) rango alto en DQO



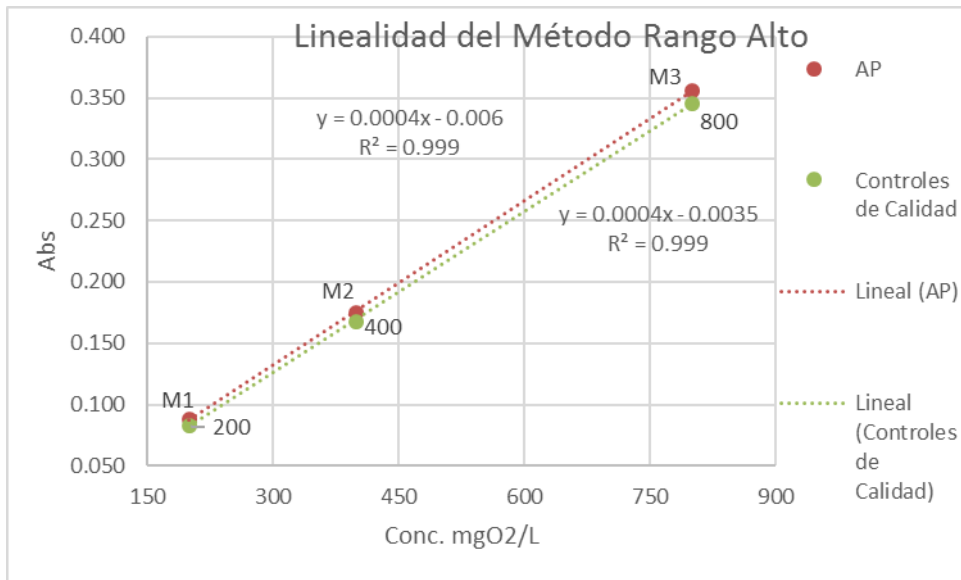


Anexo 40: Gráfica de la linealidad del método (instrumento) rango bajo en DQO





Anexo 41: Gráfica de la linealidad del método (instrumento) rango alto en DQO





Anexo 42: Fotografías del proceso



Verificación del matraz de 100 mL



Verificación del matraz de 1,000 mL



Verificación de la pipeta graduada 5 mL



Anexo 43: Fotografías del proceso



Preparación de soluciones



Preparación de las curvas de calibración



Llenado de los viales



Anexo 44: Fotografías del proceso



Digestión por 2 horas 150 °C



Invertir los viales



Reposar y leer la concentración en el espectrofotómetro

Br. Yasser Alfredo Rodríguez Aguilar
Br (a). Alejandra Marina Zapata Guzmán