

**CONTRIBUCIÓN A LA IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE CALIDAD EN EL
LABORATORIO AMBIENTAL DE LA CRC BAJO LA NORMA
NTC-ISO/IEC 17025**

MÓNICA MARCELA CARVAJAL MOLINA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2011**

**CONTRIBUCIÓN A LA IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE CALIDAD EN EL
LABORATORIO AMBIENTAL DE LA CRC BAJO LA NORMA
NTC-ISO/IEC 17025**

MÓNICA MARCELA CARVAJAL MOLINA

**Trabajo de grado en Modalidad de Pasantía presentado como requisito
parcial para optar al título de Químico**

**Directora. M.Sc. ISABEL BRAVO R.
Codirector Qco. DIEGO ZULUAGA. (C.R.C).**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2011**

Nota de Aceptación

Directora _____
M.Sc. ISABEL BRAVO REALPE

Jurado _____
M.Sc. FERNANDO HERNÁNDEZ

Jurado _____
Ing. ANA MARCELA PAPAMIJA

Fecha de sustentación: 11 de Marzo de 2011

DEDICATORIA

A Dios, por cuidarme y bendecirme con lo más valioso para mí que es mi familia.

A mi padre José Arquímedes por su abnegación, esfuerzo, amor y por inculcarme siempre los valores que me hacen ser mejor persona.

A mi madre Rosa Aura porque sé que todos los días estoy en sus oraciones y me ha enseñado la importancia de Dios en cada instante de la vida, por escucharme, acompañarme y querer para mí lo mejor.

A mi hermana Aura Yannet por brindarme la oportunidad de estudiar mi carrera, comprenderme, apoyarme y no dejarme derrumbar. Muchas gracias hermanita por demostrarme con tu maravillosa forma de ser cuanto me quieres.

A mi hermano Johann José quién siempre me cuida y me brinda momentos especialmente divertidos.

A mis sobrinos, Sergio Esteban porque su presencia basta para iluminar y alegrar cada uno de mis días y Mariana, por llenarme de ternura.

A mi tía Ana Elvia, por ser en vida tan especial conmigo, tanto que aún cuando la tristeza de su partida es inmensa, no logra superar el amor con que la recuerdo. Gracias por cuidarme desde el cielo.

A David por estar incondicionalmente para mí, a Viví, Diana, Yoba, Clara y Sandra porque sé que me brindan una amistad sincera y son maravillosas personas en quienes puedo confiar.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, M.Sc Isabel Bravo Realpe, quien con esmero asesoró este trabajo brindándome la oportunidad de ampliar mis conocimientos y afianzar los adquiridos, quien además de su valioso tiempo siempre tuvo para mí un consejo que me permitió crecer profesional y personalmente.

A mi codirector, Qco. Diego Zuluaga, responsable del Laboratorio Ambiental de la CRC, quien me brindo la oportunidad de realizar mi pasantía, dándome todo el apoyo e información necesaria para el desarrollo de este trabajo. Quiero agradecerle en forma especial por compartir conmigo sus conocimientos relacionados al análisis de aguas en materia ambiental y por depositar en mí su confianza abriéndome las puertas en el campo laboral.

Al personal docente del departamento química que contribuyeron en mi formación profesional.

A mis compañeros del Laboratorio Ambiental de la CRC, Clara, Marcela, Lucia, Zuly, Diego, Mauricio y Don Luchito, personas que quiero demasiado y quienes con su amabilidad y alegría hicieron más amena mi práctica.

A mis compañeros de estudio.

A mi familia por su paciencia, apoyo y amor.

Gracias

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	21
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
2. JUSTIFICACIÓN	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	25
4.1 INCERTIDUMBRE	25
4.1.1 Incertidumbre tipo A	25
4.1.2 Incertidumbre tipo B	25
4.1.3 Estimación de la incertidumbre típica combinada	26
4.1.4 Incertidumbre expandida U	27
4.1.5 Conceptos Relacionados	27
4.2 ACREDITACIÓN DE LABORATORIOS DE ENSAYO	28
4.2.1 Definiciones Generales	28
4.2.2 Norma ISO 17025:2005	29
4.2.3 Normatividad existente	29

4.3	PARÁMETROS PRIORIZADOS PARA ACREDITACIÓN EN EL LABORATORIO AMBIENTAL DE LA CRC	31
4.3.1	Determinación de pH en aguas	31
4.3.2	Determinación de la conductividad en aguas	31
4.3.3	Determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅) en aguas	32
4.3.4	Determinación de demanda química de oxígeno (DQO) en aguas	32
4.3.5	Determinación de sólidos suspendidos totales (SST) en aguas	33
4.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
4.4.1	Prueba de normalidad de Shapiro Wilk	34
4.4.2	Pruebas Paramétricas	34
4.4.3	Pruebas No Paramétricas	35
5	METODOLOGÍA	36
5.1	MÉTODOS DE ANÁLISIS DE AGUAS	36
5.1.1	Procedimiento para la determinación de pH en aguas	36
5.1.2	Procedimiento para la determinación de conductividad en aguas	37
5.1.3	Procedimiento para la determinación demanda bioquímica de oxígeno en aguas	38
5.1.4	Procedimiento para la determinación demanda química de oxígeno en aguas	39
5.1.5	Procedimiento para la determinación de sólidos suspendidos totales en aguas	40
5.2	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN	41
5.3	COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE	41
5.3.1	Fuentes de incertidumbre tipo A	41

5.3.2	Fuentes de incertidumbre tipo B	41
5.3.2.1	Incertidumbre debida a los equipos	41
5.3.2.2	Incertidumbre debida a los reactivos	42
5.3.2.3	Incertidumbre debida al material volumétrico	42
5.3.3	Fuentes de incertidumbre no cuantificadas en la estimación de la incertidumbre global de los métodos	42
5.4	CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE FINAL	43
5.5	ELABORACIÓN Y PRESENTACIÓN DE DOCUMENTOS	43
6	RESULTADOS Y ANÁLISIS	44
6.1	ANÁLISIS DE pH EN AGUAS	44
6.1.1	Evaluación de los datos provenientes de la validación de pH	44
6.1.2	Pruebas de intercalibración para pH	50
6.1.3	Trazabilidad en las mediciones de pH	51
6.1.4	Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de pH en agua	52
6.1.4.1	Incertidumbre tipo A para el análisis pH en agua	52
6.1.4.2	Incertidumbre tipo B para el análisis pH en agua	54
6.1.5	Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de pH en agua	55
6.2	ANÁLISIS DE CONDUCTIVIDAD EN AGUAS	56
6.2.1	Evaluación de los datos provenientes de la validación de conductividad	57
6.2.2	Exactitud en el análisis de conductividad	60
6.2.3	Trazabilidad en las mediciones de conductividad	61
6.2.4	Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de	62

conductividad en agua	
6.2.4.1	Incertidumbre tipo A para el análisis de conductividad en agua 62
6.2.4.2	Incertidumbre tipo B para el análisis conductividad en agua 63
6.2.5	Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de conductividad en agua 64
6.3	ANÁLISIS DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS 65
6.3.1	Evaluación de los datos provenientes de la validación de la DBO 65
6.3.2	Pruebas de intercalibración para la DBO ₅ 68
6.3.3	Trazabilidad en las mediciones de la DBO ₅ 70
6.3.4	Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en agua 70
6.3.4.1	Incertidumbre tipo A para el análisis de la DBO en agua 70
6.3.4.2	Incertidumbre tipo B para el análisis de la DBO en agua 71
6.3.5	Cálculo de incertidumbre final para el análisis de la demanda bioquímica de oxígeno en agua 78
6.4	ANÁLISIS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO(DQO) EN AGUAS 79
6.4.1	Evaluación de los datos provenientes de la validación de la DQO 79
6.4.2	Pruebas de intercalibración para DQO 85
6.4.3	Trazabilidad en las mediciones de la DQO 86
6.4.4	Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de la demanda química de oxígeno en agua 88
6.4.4.1	Incertidumbre tipo A para el análisis de la DQO en agua 88
6.4.4.2	Incertidumbre tipo B para el análisis de la DQO en agua 89
6.4.5	Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de la DQO en agua 92
6.5	ANÁLISIS DE SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST) 93

6.5.1	Evaluación de los datos provenientes de la validación de SST	93
6.5.2	Pruebas de intercalibración para SST	95
6.5.3	Trazabilidad en las mediciones de SST	96
6.5.4	Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de los sólidos suspendidos totales en agua	98
6.5.4.1	Incertidumbre tipo A para el análisis de SST en agua	98
6.5.4.2	Incertidumbre tipo B para el análisis de SST en agua	99
6.5.5	Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de SST en agua	102
7. CONCLUSIONES		103
RECOMENDACIONES		105
BIBLIOGRAFÍA		106
ANEXOS		108

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 3 Métodos analíticos estudiados	36
Tabla 4 Resultados de pH - Precisión en términos de repetibilidad	44
Tabla 5 Prueba de Kruskal Wallis pH - Precisión en términos de Repetibilidad	45
Tabla 6 Prueba de Tukey pH - Precisión en términos de repetibilidad	45
Tabla 7 Resultados de pH - Precisión intermedia	46
Tabla 8 Porcentaje de recuperación de pH - Precisión intermedia	47
Tabla 9 Prueba de Kruskal Wallis pH - Precisión intermedia	49
Tabla 10 Prueba de Tukey pH - Precisión intermedia	49
Tabla 11 Prueba de Kruskal Wallis Porcentaje de recuperación pH	49
Tabla 12 Resultados de SST interlaboratorios KCC - CRC	50
Tabla 13 Prueba t Porcentaje de recuperación pH (teniendo en cuenta en promedio)	50
Tabla 14 Prueba t para muestras relacionadas pH (KCC/CRC)	51
Tabla 15 Prueba t estándar pH 4,01 (teniendo en cuenta valor nominal del MRC)	51
Tabla 16 Prueba t estándar pH 4,01 (teniendo en cuenta la incertidumbre del MRC)	51
Tabla 17 Prueba t estándar pH 7,00(teniendo en cuenta el valor nominal del MRC)	51
Tabla 18 Prueba t estándar pH 7,00(teniendo en cuenta la incertidumbre del MRC)	52

Tabla 19	Prueba t estándar pH 10,00 (teniendo en cuenta el valor nominal del MRC)	52
Tabla 20	Coeficiente de Variación de Precisión Intermedia para pH	53
Tabla 21	Incertidumbre de Estándares de pH, Merck Certipur	54
Tabla 22	Fuentes de incertidumbre tipo B para determinación de pH	54
Tabla 23	Resultados de conductividad - Precisión en términos de Repetibilidad	57
Tabla 24	ANOVA de conductividad - Precisión en términos de la Repetibilidad	57
Tabla 25	Resultados de conductividad - Precisión intermedia	58
Tabla 26	Porcentaje de Recuperación conductividad - Precisión Intermedia	59
Tabla 27	Prueba de U de Mann- Whitney conductividad para precisión Intermedia	60
Tabla 28	Resultados de Conductividad MRC Merck, certipur	61
Tabla 29	Prueba t Porcentaje de recuperación conductividad del MRC	61
Tabla 30	Prueba t estándar de conductividad 1,41 mS/cm (teniendo en cuenta el promedio del MRC)	61
Tabla 31	Prueba t estándar de conductividad 12,8 mS/cm (teniendo en cuenta el promedio del MRC)	62
Tabla 32	Incertidumbre de Estándares de conductividad, Merck Certipur	63
Tabla 33	Incertidumbre tipo B para determinación de conductividad	64
Tabla 34	Resultados de DBO - Precisión en términos de la Repetibilidad	66
Tabla 35	Resultados de la DBO - Precisión intermedia	67
Tabla 36	Resultados de la DBO ₅ del agua de Dilución	68

Tabla 37	Resultados DBO ₅ interlaboratorios KCC- CRC	69
Tabla 38	Prueba t Porcentaje de recuperación DBO (teniendo en cuenta en promedio)	69
Tabla 39	Prueba t para muestras relacionadas DBO (KCC/CRC)	69
Tabla 40	Prueba t para la DBO ₅ al 95% de confianza	70
Tabla 41	Incertidumbre en la pesada de los reactivos para el agua de Dilución	72
Tabla 42	Incertidumbre en la lectura con el Oxímetro	74
Tabla 43	Incertidumbre en la medida del volumen de alícuota	75
Tabla 44	Incertidumbre en la pesada de los reactivos del estándar de Chequeo	76
Tabla 45	Resultados de la DQO - Precisión en términos de Repetibilidad	80
Tabla 46	ANOVA de DQO- Precisión de la repetibilidad	80
Tabla 47	Prueba de Duncan de DQO - Precisión de repetibilidad	80
Tabla 48	Resultados de DQO - Precisión intermedia	81
Tabla 49	Resultados de Porcentaje de recuperación DQO	82
Tabla 50	Prueba de Kruskal Wallis para la DQO- Precisión intermedia	84
Tabla 51	Prueba de Tukey para la DQO - Precisión intermedia	84
Tabla 52	Prueba de Kruskal Wallis para la DQO - Porcentaje Recuperación	85
Tabla 53	Prueba de Tukey para la DQO- Porcentaje Recuperación	85
Tabla 54	Resultados de DQO interlaboratorios KCC- CRC	86
Tabla 55	Prueba t Porcentaje de recuperación DQO (teniendo en cuenta en promedio)	86
Tabla 56	Prueba t para muestras relacionadas DQO (KCC/CRC)	86

Tabla 57	Contraste de significación para MRC VHG Labs para DQO	87
Tabla 58	Prueba t para DQO al 95% de confianza	87
Tabla 59	Prueba t para una muestra(estándar de DQO VHG Labs)	87
Tabla 60	Prueba t porcentaje de recuperación DQO MRC	87
Tabla 61	Coeficiente de Variación de Precisión Intermedia para la DQO	88
Tabla 62	Reactivos y cantidades empleadas en el test en cubetas para DQO	89
Tabla 63	u_{vr} para cada rango de medida de la DQO	90
Tabla 64	u_{tc} del test Merck en cubetas	91
Tabla 65	Resultados de SST - Precisión de la repetibilidad	93
Tabla 66	ANOVA de SST- Precisión de la repetibilidad	94
Tabla 67	Resultados SST y Porcentaje de recuperación-Precisión Intermedia	94
Tabla 68	Resultados de SST interlaboratorios KCC- CRC	95
Tabla 69	Prueba t Porcentaje de recuperación SST intercalibración (teniendo en cuenta en promedio)	96
Tabla 70	Prueba t para muestras relacionadas SST (KCC/CRC)	96
Tabla 71	Contraste de significación para MRC VHG Labs para SST	97
Tabla 72	Contraste de significación para MRC VHG Labs para SST(verificado)	97
Tabla 73	Prueba t para SST del MRC al 95% de confianza (en función del valor nominal del estándar)	98
Tabla 74	Prueba t de SST para el MRC (teniendo en cuenta el promedio)	98
Tabla 75	Prueba t para porcentaje de recuperación SST del MRC	98

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Tipos de distribución de probabilidades	26
Figura 2	Histograma de frecuencias para la determinación de pH en precisión intermedia del estándar 1	47
Figura 3	Histograma de frecuencias para la determinación de pH en precisión intermedia del estándar 2	48
Figura 4	Histograma de frecuencias para la determinación de pH en precisión intermedia del estándar 3	48
Figura 5	Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de pH en el laboratorio ambiental	56
Figura 6	Histograma de frecuencias para la determinación de conductividad en precisión intermedia del estándar 1	59
Figura 7	Histograma de frecuencias para la determinación de conductividad en precisión intermedia del estándar 2	60
Figura 8	Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de conductividad en el laboratorio ambiental	64
Figura 9	Histograma de frecuencias para la determinación de DBO en precisión intermedia del estándar de glucosa-ác. Glutámico	67
Figura 10	Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de DBO ₅ en el laboratorio ambiental	78
Figura 11	Histograma de frecuencias para la determinación de DQO en precisión intermedia del estándar 1	82
Figura 12	Histograma de frecuencias para la determinación de DQO en precisión intermedia del estándar 2	83

Figura 13	Histograma de frecuencias para la determinación de DQO en precisión intermedia del estándar 3	83
Figura 14	Histograma de frecuencias para la determinación de DQO en precisión intermedia del estándar 4	84
Figura 15	Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_c del análisis de DQO en el laboratorio ambiental	92
Figura 16	Histograma de frecuencias para la determinación de SST en precisión intermedia	95
Figura 17	Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_c del análisis de SST en el laboratorio ambiental	102

LISTA DE ACRÓNIMOS

A:	Amplitud
Ac:	Ácido
ANOVA:	Análisis de varianza
CRC:	Corporación Autónoma Regional del Cauca
CV:	Coeficiente de variación
c/u:	Cada uno
COD _{CS} :	Consumo de oxígeno disuelto del control de semilla
COD _M :	Consumo de oxígeno disuelto de la muestra
DBO:	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DBO _n :	Demanda Bioquímica de Oxígeno después de n días
DBO ₅ :	Demanda Bioquímica de Oxígeno después de 5 días
DQO:	Demanda química de oxígeno
Er:	Error relativo
F:	Factor de dilución
Fem:	Fuerza electromotriz
IDEAM:	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
K:	Factor de cobertura
KCC:	<i>Kimberly Clark Corporation</i>
Log:	Logaritmo
mg/L:	Miligramos por litro
m _r :	Masa del reactivo
MRC:	Material de referencia certificado
mS/cm:	Milisiemens por metro
MAVDT	Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial
n:	Número de mediciones
NIST:	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NTC:	Norma técnica colombiana
OD:	Oxígeno disuelto
PTB:	<i>Physikalisch -Technische Bundesanstalt</i>
rpm:	Revoluciones por minutos
RSD:	Desviación estándar relativa
s:	Desviación estándar
sig:	Significancia
SINA:	Sistema nacional ambiental
SPSS:	Statistical Product and Service Solutions
SQ:	Spectroquant

SST:	Sólidos suspendidos totales
V_F :	Volumen fijo
V_a :	Volumen de alícuota
$\mu\text{mho/cm}$	Micromho por centímetro
$\mu\text{S/cm}$:	Microsiemens por centímetro
% Rec:	Porcentaje de recuperación
u :	Incertidumbre
u_A :	Incertidumbre tipo A
u_{ad} :	Incertidumbre asociada al agua de dilución
u_b :	Incertidumbre en el balón aforado
u_B :	Incertidumbre tipo B
u_C :	Incertidumbre combinada
u_{cal} :	Incertidumbre en la calibración
u_{cgg} :	Incertidumbre en el chequeo con el estándar de glucosa- ác. glutámico
u_{cond} :	Incertidumbre del conductímetro
u_{cox} :	Incertidumbre combinada del oxímetro
u_d :	Incertidumbre en la digestión
u_e :	Incertidumbre estándar
u_E :	Incertidumbre del estándar
u_f :	Incertidumbre en el instrumento fotométrico
u_{fd} :	Incertidumbre asociada al factor de dilución
u_{hs} :	Incertidumbre en el Handy Step
u_i :	Incertidumbre instrumental
u_{inc} :	Incertidumbre en la incubación
u_{kc} :	Incertidumbre en la constante de la celda
u_l :	Incertidumbre en la linealidad
u_{mc} :	Incertidumbre en la medición del instrumento de pesaje- estándar de chequeo
u_{mi} :	Incertidumbre estándar de la masa del reactivo
u_{mn} :	Incertidumbre en la medición con el instrumento de pesaje para nutrientes
u_{mp} :	Incertidumbre en la masa patrón
u_{mr} :	Incertidumbre en la masa del reactivo
u_{MRC} :	Incertidumbre del material de referencia certificado
u_{MRCc} :	Incertidumbre del material de referencia certificado utilizado para calibración

u_{nt}	Incertidumbre asociada a los nutrientes del agua de dilución
u_{ox}	Incertidumbre asociada a la lectura de OD con el oxímetro
u_p	Incertidumbre en la precisión
u_{prc}	Incertidumbre asociada a la pureza de reactivos del estándar de chequeo
u_{pb}	Incertidumbre en la pesada con la balanza
u_{pr}	Incertidumbre debida a la pureza del reactivo
u_{pT}	Incertidumbre en el total de las pesadas
u_{pip}	Incertidumbre asociada a la pipeta
u_{pp}	Incertidumbre en la precisión de pH-metro
u_{prt}	Incertidumbre en la preparación de reactivos del test en celdas de reacción
u_r	Incertidumbre del reactivo
u_{rb}	Incertidumbre en la resolución de la balanza
u_s	Incertidumbre asociada al proceso de secado
u_t	Incertidumbre debida a la trazabilidad
u_{tc}	Incertidumbre asociada al test en cubetas Merck
u_{va}	Incertidumbre en el volumen de la alícuota
u_{vc}	Incertidumbre en la verificación de la calibración
u_{vm}	Incertidumbre en el volumen de muestra
u_{vr}	Incertidumbre en el volumen de los reactivos
u_{vad}	Incertidumbre en la verificación del agua de dilución

RESUMEN

Este trabajo está enfocado en la determinación de la incertidumbre asociada en las determinaciones de pH, conductividad, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno y sólidos suspendidos totales, en muestras de agua como un aporte al sistema de calidad del Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (C.R.C) encaminado a lograr su acreditación. La incertidumbre en los análisis se determinó a través de sus dos componentes tipo A y tipo B.

Con el análisis estadístico realizado a los datos obtenidos en las validaciones del laboratorio para cada uno de los parámetros, se verificó la precisión, exactitud y trazabilidad de los métodos empleados y se determinó su incertidumbre.

Para el proceso de estimación de incertidumbre tipo B inicialmente se recopiló información como: certificados de calibración, manuales y especificaciones de los equipos, materiales y reactivos que intervienen en los diferentes análisis. La información faltante en el registro documental se obtuvo con los proveedores. Se estudió detalladamente los procedimientos de los protocolos de análisis de agua establecidos en el Laboratorio y se determinó la incertidumbre en cada uno de los pasos considerados como posibles fuentes.

Seguido de la determinación de los dos tipos de incertidumbre se aplica la ley de propagación de errores, obteniendo así la denominada incertidumbre combinada y finalmente se expresó como incertidumbre expandida obteniendo valores de 1,1%, 2,90%, 6,00%, 10,48% y 9,36% para los parámetros de pH, conductividad, DBO5, DQO y SST respectivamente.

Además se colaboró en la elaboración, modificación, e implementación de políticas, instructivos y procedimientos que soportan el sistema de calidad del Laboratorio Ambiental de la C.R.C. en cuanto a los requisitos técnicos y de gestión para dar cumplimiento a la norma establecida para acreditación de laboratorios de ensayo.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Corporación Autónoma Regional del Cauca (C.R.C) es el ente encargado de preservar y administrar los recursos naturales del departamento colaborando con el mejoramiento de las condiciones de salubridad y de calidad de vida de sus habitantes. Por ello, como autoridad ambiental tiene el deber de implementar programas de seguimiento, monitoreo y control de las fuentes hídricas para los diferentes parámetros de calidad de agua como lo establece la normatividad (decreto 1594 de 1984 y 3100 de 2004).

El Laboratorio Ambiental de la C.R.C. ofrece diferentes servicios en análisis de aguas y es de gran importancia que proporcione confiabilidad en la calidad de los resultados obtenidos en los métodos de análisis utilizados. Lo anterior se logra con la acreditación del laboratorio bajo la norma ISO 17025-Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración¹ teniendo como prioridad los análisis anteriormente mencionados. El laboratorio ha implementado las metodologías adecuadas para el desarrollo de los mismos, sin embargo actualmente no expresa los resultados de sus análisis químicos con la incertidumbre asociada.

La incertidumbre se puede definir como: “parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza el intervalo de valores que pueden ser razonablemente atribuidos al valor verdadero”², ésta se puede producir a lo largo de todo el proceso de análisis que va desde el muestreo hasta el reporte del resultado. De aquí se desprende la necesidad de que el laboratorio tenga implementado el sistema de calidad y que cumpla tanto con los requisitos técnicos como con los requisitos de gestión. Por ello en este trabajo se estudian todas las etapas del análisis, en busca de lograr la cuantificación de la duda en la veracidad de los resultados, cumpliendo así con uno de los ítems contemplados en los requisitos técnicos de la norma.

¹ NTC-ISO 17025. Requerimientos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Bogotá: ICONTEC, 2005. p. 1-33.

² CTR-INDECOOP. Directriz para la estimación y expresión para la incertidumbre de medición. Lima-Perú: OPA, 2008, p. 3.

2. JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta que la información ambiental generada en el laboratorio pasa a formar parte de la base de datos del Sistema Nacional Ambiental, la acreditación, es una necesidad apremiante para el laboratorio de la CRC, ya que es el medio por el cual puede demostrar la confiabilidad de la información ambiental transmitida tanto a entidades gubernamentales como a usuarios externos, según los estándares internacionales y a través del sistema de calidad que comprende instalaciones, equipos, reactivos, metodologías, personal, procedimientos operativos y administrativos del laboratorio, contribuyendo a los trabajos de gestión que realiza la corporación en el departamento del Cauca.

Con el objeto de posicionar el laboratorio a nivel nacional y obtener la acreditación en los parámetros de calidad ambiental en aguas: pH, conductividad, demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos totales (SST), dando cumplimiento a la normatividad ambiental vigente, se ha implementado las metodologías adecuadas y elaborado los documentos relacionados como protocolos, manuales, instructivos, entre otros y se lleva el registro de todos los datos de las validaciones de los métodos de análisis, así como de los datos de los ensayos de colaboración en los que el laboratorio ambiental ha participado desde hace varios años.

Con base en las consideraciones anteriores, se entiende que la implementación del sistema de calidad se encuentra en un estado avanzado y que la determinación de la incertidumbre de los métodos, permite contribuir al proceso de acreditación del laboratorio y es una base para la estimación de la incertidumbre en otros parámetros que tiene el laboratorio ambiental en su portafolio de servicios y que son igualmente importantes para el monitoreo de los recursos hídricos.

Es importante resaltar que el procedimiento aplicado para la estimación de la incertidumbre en este trabajo sigue los lineamientos de la norma ISO/IEC 17025 y como ella lo especifica, busca identificar los componentes de la incertidumbre y hacer una estimación razonable, para informar el resultado de un análisis de forma correcta. Además trae beneficios, no solamente para el laboratorio por lo relevante en su proceso de acreditación, sino también para los usuarios, quienes son los más interesados en conocer el resultado de los análisis (ya sea para estudiar el efecto de un vertimiento, de un sistema de tratamiento de aguas residuales o para una concesión de agua), porque el laboratorio garantiza de esta manera una total confiabilidad en los resultados, permitiendo que los trabajos derivados tengan los requerimientos de calidad apropiados.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Aplicar herramientas quimiométricas a resultados provenientes de la validación de los cinco parámetros de aguas priorizados para acreditación en el laboratorio de la CRC, determinando la incertidumbre de las mediciones como una contribución al proceso de acreditación.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar las fuentes de incertidumbre que se presentan cuando se realizan ensayos de: pH, conductividad, DBO₅, DQO, y sólidos suspendidos totales en aguas.
- Determinar la incertidumbre global en los análisis de pH, conductividad, DBO, DQO y sólidos suspendidos totales a través de su estimación en cada punto que se presente durante el proceso.
- Emplear el paquete estadístico SPSS para el análisis de la incertidumbre con base en los lineamientos establecidos por la normativa internacional.
- Contribuir a la competencia del laboratorio de la CRC mediante el cumplimiento de uno de los requisitos técnicos de la norma ISO 17025-2005 como es la estimación de la incertidumbre de las mediciones
- Realizar recomendaciones para los puntos donde se encuentre mayor aporte de incertidumbre en vía de la optimización de los procedimientos.

4. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

4.1 INCERTIDUMBRE

En el lenguaje común la palabra *incertidumbre* denota duda, falta de concreción, sobre la realidad de un acontecimiento. El conocimiento de la incertidumbre de los acontecimientos es una aspiración para muchos: científicos, financieros, políticos, etc. Pero el conocimiento de la incertidumbre es también incierto y su medición es un problema estadístico.

Es dentro de la metrología que la noción de incertidumbre, aplicada a los resultados de las medidas, tiene una importancia notoria, ya que es una indicación cuantitativa de la calidad de un resultado de medida y permite evaluar la fiabilidad de este resultado. La incertidumbre considera todas las fuentes posibles de error que interviene en el resultado final por lo que puede definirse como un parámetro asociado al resultado de una medida. Aún cuando se dice que no existen medidas perfectas, un resultado no se ha expresado completamente si no se informa su incertidumbre, o el “parámetro asociado a una medición que caracteriza la dispersión de valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mesurando”³.

El método de evaluación de tipo A está basado en un análisis estadístico de una serie de mediciones mientras que el método de evaluación tipo B comprende las demás maneras de estimar la incertidumbre.

4.1.1 Incertidumbre tipo A Se basa en la estimación de la desviación típica de los resultados obtenidos al medir repetidamente el mesurando. Siempre que sea posible se tiene que aplicar este tipo de estimación. La incertidumbre está determinada por:

$$u = \frac{DER}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde, DER es la desviación estándar relativa y n es el número de mediciones.

4.1.2 Incertidumbre tipo B Se obtiene a partir de la información dada por los fabricantes de los instrumentos de medida o en datos bibliográficos y en el tipo de distribución de frecuencias más apropiado en cada caso. Para calcular la desviación típica correspondiente a la estimación de la incertidumbre típica de tipo B se tiene en cuenta la distribución de frecuencias que siguen los resultados si se pudiesen hacer medidas repetidas del mesurando. Las distribuciones de

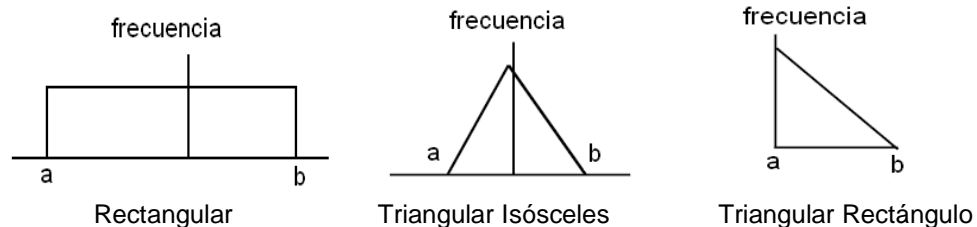
³ International vocabulary of basic and general terms in metrology, BIPM, IEC, ISO, OIML. 1993.

frecuencias más habituales mediante este tipo de estimaciones son la distribución rectangular o uniforme, la triangular isósceles y la triangular rectángulo.

Antes de comparar y combinar contribuciones de la incertidumbre que tienen diferentes distribuciones, es necesario representar los valores de las incertidumbres originales como incertidumbres estándar. Para ello se determina la desviación estándar de la distribución asignada a cada fuente:

- **Distribución rectangular o uniforme** se caracteriza porque cualquier valor tiene las mismas probabilidades de darse y la desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por $\sqrt{12}$
- **Distribución triangular isósceles** se caracteriza porque los valores centrales de un intervalo se dan con más frecuencia que los extremos y la desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por $\sqrt{24}$
- **Distribución triangular rectángulo** se caracteriza porque en un extremo de la distribución se da la frecuencia mínima y en el otro extremo la máxima y la desviación típica es igual a la amplitud de la distribución dividida por $\sqrt{18}$

Figura 1. Tipos de distribución de probabilidades



4.1.3 Estimación de la incertidumbre típica combinada Se obtiene combinando apropiadamente las incertidumbres estándares de los estimados de las fuentes de incertidumbre A y B aplicando la ley de propagación de errores a través de la regla de sumas de incertidumbres parciales

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} \quad (\text{Ecuación 2})$$

El resultado de la combinación de las contribuciones de todas las fuentes de incertidumbre es la incertidumbre combinada la cual contiene toda la información esencial sobre la incertidumbre del mesurando. La ley de propagación se aplica de forma general, cualquiera que sea la distribución de las variables de entrada, y es el método básico de cálculo de incertidumbre de medida a partir de sus componentes.

4.1.4 Incertidumbre expandida U Indica un intervalo que representa una fracción p de los valores que puede probablemente tomar el medido. Generalmente se expande el intervalo de incertidumbre multiplicando la incertidumbre combinada por el llamado factor de cobertura k (para un nivel de confianza del 95,45% considera un valor de k igual a 2)

$$U = u_c \times k$$

(Ecuación 3)

4.1.5 Conceptos relacionados

Mesurando: Magnitud particular, objeto de medición. También se conoce como mensurando⁴.

Analito: Es el componente (elemento, compuesto o ión) de interés analítico de una muestra. Son especies químicas cuya presencia o concentración se desea conocer. El analito es una especie química que puede ser identificado y cuantificado, es decir, determinar su cantidad y concentración en un proceso de medición química, constituye un tipo particular de mensurando en la metrología química.

Matriz: Se refiere las características de la composición de un material que contiene el analito de interés y puede ser matriz natural o matriz sintética

Incertidumbre estándar: Incertidumbre del resultado de medición expresado como una desviación estándar⁴.

Factor de cobertura: factor numérico usado para multiplicar la incertidumbre combinada estándar con el propósito de obtener una incertidumbre expandida. El factor de cobertura está asociado a una distribución y un nivel particular de confianza (una distribución normal al 95% de confianza, $K=2$, aproximadamente).

Precisión: Es el grado de concordancia entre los resultados del ensayo obtenidos independientemente bajo condiciones estipuladas. La precisión sólo depende de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o el específico.

Repetibilidad: Es la proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas. Es decir la medida de la precisión en condiciones bajo las cuales se obtienen resultados independientes con los mismos accesorios de laboratorio, método, laboratorio, operador y equipo en intervalos de tiempo cortos.

⁴ CTR-INDECOP. Op. Cit., p. 3-5.

Reproducibilidad: Es la precisión donde los resultados del ensayo son obtenidos con el mismo método sobre materiales de ensayo idénticos, en diferentes laboratorios con diferentes operadores usando equipos diferentes.

Exactitud: La exactitud de un método analítico, es la proximidad entre los resultados obtenidos por ese método y el valor real.

Límite de detección: Mínima cantidad de analito que puede ser detectado, aunque no cuantificarse con adecuada exactitud y precisión.

Límite de cuantificación: Mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con adecuada precisión y exactitud.

Desviación estándar: La raíz cuadrada positiva de la varianza.

Desviación estándar relativa (RSD ó W): Es la estimación de la desviación estándar de una población a partir de n resultados de una muestra dividida por la media de esa muestra. A menudo se conoce como Coeficiente de Variación (CV).

4.2 ACREDITACIÓN DE LABORATORIO DE ENSAYO

El hecho de que un laboratorio se certifique indica que se han realizado mejoras a nivel organizativo y que se reconoce que ha implementado en sus procesos un Sistema de Gestión de Calidad, sin embargo esto no le otorga competencia técnica.

La acreditación trae ventajas para el laboratorio ya que asegura la confiabilidad de los resultados por medio de la validación de métodos, mejoramiento de los procesos técnicos y la reducción de fallas en las pruebas.

Cuando un laboratorio decide implementar una Norma técnica, como la ISO 17025, garantiza la adopción de un sistema de gestión de calidad a todos sus procesos organizativos y además le asegura su competencia técnica dando validez a los resultados emitidos por el laboratorio.

4.2.1 Definiciones Generales

Calidad: totalidad de rasgos y características de un producto o servicio, que conllevan la aptitud de satisfacer necesidades preestablecidas o implícitas⁵.

Sistemas de Gestión de Calidad: como el conjunto de la estructura, responsabilidades, actividades, recursos y procedimientos de la organización de una empresa, que ésta establece para llevar a cabo la gestión de su calidad.

⁵ GUÍA ISO/IEC 2

Aseguramiento de la Calidad: conjunto de acciones planificadas y sistemáticas implementadas en el Sistema de Calidad, que son necesarias para proporcionar la confianza adecuada de que un producto satisfará los requisitos dados sobre la calidad.

La Acreditación: procedimiento por el cual un organismo con autoridad otorga un reconocimiento formal que un organismo o persona es competente para llevar a cabo tareas específicas.

4.2.2 Norma ISO 17025:2005 Establece los requisitos generales para la competencia de laboratorios en la realización de ensayos y/o calibraciones, al cumplirlos se demuestra que funcionan con un sistema de calidad, son técnicamente competentes y que están capacitados para generar resultados válidos. Es aplicable a todas las organizaciones que realizan ensayos y calibraciones independientemente de la cantidad de personal o de la extensión del alcance de las actividades. Esta norma internacional proporciona herramientas y la estructura para que el laboratorio pueda generar confianza a sus clientes mejorando su competitividad y productividad, la emplean los laboratorios cuando desarrollan sistemas de gestión para sus actividades de la calidad, administrativas y técnicas. También puede ser utilizada por los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias y los organismos de acreditación cuando confirman y reconocen la competencia de los laboratorios.

4.2.3 Normatividad existente

DECRETO 1600 de 27 de julio de 1994, por el cual se reglamenta parcialmente el Sistema Nacional Ambiental -SINA- en relación con los Sistemas Nacionales de Investigación Ambiental y de Información Ambiental.

En este decreto está contemplado el sistema de información ambiental, que comprende: datos, estadística, información documental, bibliografía, reglamentos y protocolos entre otros. El Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales -IDEAM- dirigirá y coordinará el Sistema de Información Ambiental. Las actividades de dirección y coordinación implica realizar estudios para definir criterios y proponer modelos para estudiar el cambio ambiental global, promover programas para realizar el seguimiento del estado de los recursos renovables y del medio ambiente, además de llevar registro de las actividades de explotación de los recursos naturales renovables, vertimientos, emisiones y demás factores que afectan el agua, el suelo, el aire, el clima y la biodiversidad. El IDEAM suministrará sistemáticamente, con carácter prioritario, la información que requiera el MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE para la toma de decisiones y la formulación de políticas y normas.

Artículo 5: De los servicios de laboratorio para apoyar la gestión e información ambiental. Para efectos de la normalización e intercalibración analítica de los laboratorios que produzcan información de carácter físico, químico y biótico, se establecerá la red de laboratorios para apoyar la gestión ambiental. A ella podrán pertenecer los laboratorios del sector público o privado que produzcan datos e información física, química y biótica.

PARÁGRAFO 1: Los laboratorios de la red estarán sometidos a un sistema de acreditación e intercalibración analítica, que validará su metodología y confiabilidad mediante sistemas referenciales establecidos por el IDEAM. Para ello se producirán normas y procedimientos especificados en manuales e instructivos. Los laboratorios serán intercalibrados de acuerdo con las redes internacionales, con las cuales se establecerán convenios y protocolos para tal fin.

PARÁGRAFO 2: Los laboratorios que produzcan información cuantitativa física, química y biótica para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes, y los demás que produzcan información de carácter oficial, relacionada con la calidad del medio ambiente y de los recursos naturales renovables, deberán poseer el certificado de acreditación correspondiente otorgado por los laboratorios nacionales públicos de referencia del IDEAM, con lo cual quedarán inscritos en la red.

PARÁGRAFO 3: El IDEAM coordinará los laboratorios oficiales de referencia que considere necesarios para el cumplimiento de lo previsto en el presente artículo.

Resolución 176 de 2003 del IDEAM, por la cual se establece el procedimiento de acreditación de laboratorios ambientales en Colombia.

Decreto 2570 de agosto 1 de 2006 del MAVDT, por el cual se adiciona el decreto 1600 de 1994 y se dictan otras disposiciones, artículo 1, párrafo transitorio “Durante doce (12) meses contados a partir de la entrada en vigencia del presente decreto, se aceptará la información cuantitativa física, química y biótica para los estudios o análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes, e información de carácter oficial relacionada con el recurso agua, generada por laboratorios ambientales que se encuentren inscritos en el proceso de acreditación ante el IDEAM y tengan aprobados y vigentes los resultados de la prueba de evaluación de desempeño realizada por este instituto”.

Resolución 0063 de 2007 del IDEAM, por la cual se establece un periodo de transición para la aplicación de la norma NTC/ISO/IEC17025: 2005 por parte de los laboratorios ambientales acreditados e interesados en el proceso de acreditación ante el IDEAM.

4.3 PARÁMETROS PRIORIZADOS PARA ACREDITACIÓN EN EL LABORATORIO AMBIENTAL DE LA CRC

4.3.1 Determinación de pH en aguas La concentración de iones hidrógeno es una propiedad importante cuando se estudia aguas y suelos. La escala de pH se utiliza como un indicador de la concentración de los iones hidrógeno, además es un indicador de la presencia de Al en suelos, como se muestra en las reacciones 1 a 6.

Reacciones de intercambio iónico y de hidrólisis	pH	
$\text{Al}^{+3} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})^{+2} + \text{H}^+$	4.0 - 4.5	(Reacción 1)
$\text{Al}(\text{OH})^{+2} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})_2^+ + \text{H}^+$	4.5 - 5.5	(Reacción 2)
$\text{Al}(\text{OH})_2^+ + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})_3 + \downarrow \text{H}^+$	5.5 - 7.5	(Reacción 3)
$\text{Al}(\text{OH})_3 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})_4^- + \text{H}^+$	7.5 - 9.0	(Reacción 4)
$\text{Al}(\text{OH})_4^- + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})_5^{-2} + \text{H}^+$	9.0 - 9.5	(Reacción 5)
$\text{Al}(\text{OH})_5^{-2} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Al}(\text{OH})_6^{-3} + \text{H}^+$	9.5 - 10.0	(Reacción 6)

El pH se mide en una escala logarítmica y representa el logaritmo negativo de la concentración de los iones hidrógeno en la solución, expresado en moles/L ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$).

El principio básico de la medida electrométrica del pH se fundamenta en el registro potenciométrico de la actividad de los iones hidrógeno mediante el uso de un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia, o un electrodo combinado. La fuerza electromotriz (fem) varía linealmente con pH. El pH de la muestra se determina por interpolación en una gráfica de pH vs. Fem⁶.

El valor de pH de las disoluciones acuosas es de gran importancia en la industria para definir la calidad de las mismas. El valor de pH es un parámetro regulado por límites máximos permisibles en descargas de aguas residuales al alcantarillado o a cuerpos receptores, también es un parámetro de calidad del agua para usos y actividades agrícolas, para contacto primario y para el consumo humano.

4.3.2 Determinación de la conductividad en aguas Al determinar la conductividad se evalúa la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica, es una medida indirecta la cantidad de iones en solución o de la salinidad de la misma.

⁶ Manual de Métodos y Protocolos para el Análisis Químico de Aguas Naturales, Domésticas y Efluentes Industriales. Laboratorio de Química Ambiental IDEAM. Bogotá.

La conductividad es una medida generalmente útil como indicador de la calidad de aguas dulces. Cada cuerpo de agua tiene un rango relativamente constante de conductividad, que una vez conocido, puede ser utilizado como línea de base para comparaciones con otras determinaciones puntuales⁷. Cambios significativos pueden ser indicadores eventos puntuales de contaminación.

Esta capacidad depende de la presencia de iones, de su concentración total, de su movilidad, valencia y concentraciones relativas, así como de la temperatura. La determinación de conductividad es de gran importancia pues da una idea del grado de mineralización del agua natural, potable, residual, residual tratada, de proceso o bien del agua para ser usada en el laboratorio en análisis de rutina o para trabajos de investigación. La conductividad se expresa en milisiemens por metro (mS/m) en el Sistema Internacional de Unidades.

4.3.3 Determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) en aguas es una prueba usada para la determinación de los requerimientos de oxígeno para la degradación bioquímica de la materia orgánica en las aguas municipales, industriales y en general residuales; su aplicación permite calcular los efectos de las descargas de los efluentes domésticos e industriales sobre la calidad de las aguas de los cuerpos receptores.

La prueba de la DBO es un procedimiento experimental, tipo bioensayo, que mide el oxígeno requerido por los organismos en sus procesos metabólicos al consumir la materia orgánica presente en las aguas residuales o naturales. Las condiciones estándar del ensayo incluyen incubación en la oscuridad a 20°C por un tiempo determinado, generalmente cinco días. Las condiciones naturales de temperatura, población biológica, movimiento del agua, luz solar y la concentración de oxígeno no pueden ser reproducidas en el laboratorio. Algunas muestras no contienen una población microbiana suficiente, por lo que se debe sembrar el agua de dilución añadiendo una población de microorganismos⁸.

Se debe garantizar durante el ensayo tanto la existencia de oxígeno disuelto, el cual es usado por los microorganismos como las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de los microorganismos, así que se debe proporcionar los nutrientes necesarios como nitrógeno y fósforo y eliminar cualquier sustancia tóxica en la muestra.

4.3.4 Determinación de demanda química de oxígeno (DQO) en aguas La prueba de la demanda química de oxígeno (DQO) es ampliamente usada como una forma de determinar la concentración de la materia orgánica en los residuos

⁷ GOYENOLA, G. Guía para utilizar valijas viajeras-Conductividad. RED MAPSA.2007.

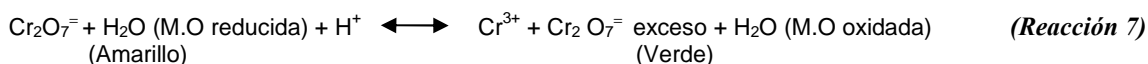
<http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/> (Acceso: 1, Diciembre, 2008)

⁸ La importancia del DBO en los análisis de agua. CATLAB, Argentina

<http://www.interciencia.com.ar/> (Acceso: 19, Noviembre, 2008)

domésticos e industriales. Esta prueba permite determinar la cantidad de oxígeno que se requiere para la oxidación de la materia orgánica a dióxido de carbono y agua. La prueba se basa en que todos los compuestos orgánicos, con unas pocas excepciones, pueden ser oxidados por la acción de agentes oxidantes fuertes como el dicromato de potasio ($\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$) en condiciones ácidas.

La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición de los ácidos crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una solución ácida fuerte con un exceso de dicromato potásico. Después de la digestión, el dicromato no reducido que quede se determina fotométricamente.



La principal ventaja de la prueba de DQO es el poco tiempo que se necesita para la evaluación; la determinación se puede hacer aproximadamente en dos horas, en vez de los cinco días necesarios para la medición de la DBO⁹.

Esta determinación, no representa lo que realmente ocurre en la naturaleza y por sobre todo no hace una distinción entre sustancias biodegradables y no degradables.

4.3.5 Determinación de sólidos suspendidos totales (SST) en aguas Todos los contaminantes del agua, con excepción de los gases disueltos, contribuyen a la "carga de sólidos". Pueden ser de naturaleza orgánica y/o inorgánica. Proviene de las diferentes actividades domésticas, comerciales e industriales. Los sólidos suspendidos totales o el residuo no filtrable de una muestra de agua natural o residual industrial o doméstica, se definen como la porción de sólidos retenidos por un filtro de fibra de vidrio que posteriormente se seca a 103-105°C hasta peso constante. El incremento de peso del filtro representa el total de sólidos suspendidos¹⁰.

Si el material suspendido taponara el filtro y prolonga la filtración, la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos disueltos totales puede dar un estimado de los sólidos suspendidos totales. Los sólidos suspendidos totales indican de manera rápida y confiable la contaminación de un cuerpo de agua por partículas en suspensión, las cuales pueden provenir de fuentes naturales o artificiales. A los sólidos en el agua se pueden adherir microorganismos patógenos y elementos químicos peligrosos para la salud humana.

⁹ RUÍZ, R. Determinación de la demanda química de oxígeno y su importancia en la ingeniería ambiental. Michoacán-México. 2006. p. 154-158.

¹⁰ SIERRA, J. Análisis de Aguas y Aguas Residuales. Universidad de Antioquia. Departamento de Ingeniería Sanitaria. Medellín. p. 21-28.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El programa SPSS (Statistical Product and Service Solutions) es un conjunto de herramientas estadísticas que permite realizar :análisis descriptivos, análisis exploratorios, análisis de variables categóricas(tablas de contingencia), contrastar medias a través de la prueba T y análisis de varianzas de un factor y de varios factores, análisis de correlación lineal, análisis de regresión lineal, pruebas no paramétricas para: una muestra, dos muestras independientes, varias muestras independientes, dos muestras relacionadas y varias muestras relacionadas.

El SPSS, responde al funcionamiento de todo programa que lleva a cabo análisis estadístico: los datos son analizados con una serie de órdenes, dando lugar a unos resultados de tipo estadístico que el investigador debe interpretar. ¹¹

4.4.1 Prueba de normalidad de Shapiro Wilk Utilizada en casos en el que el tamaño muestral sea igual o menor que 50 s utiliza Shapiro Wilk permite contrastar la hipótesis nula de q los datos muestrales proceden de poblaciones normales. Cuando el resultado de la prueba no indica significancia ($>0,05$) se acepta la hipótesis nula y se aplican pruebas paramétricas, de lo contrario (sig. $<0,05$) se debe aplicar pruebas no paramétricas.

4.4.2 Pruebas Paramétricas Son aquellas pruebas estadísticas que exigen que los datos a los que se aplican pertenezcan a una muestra aleatoria de una distribución de probabilidad de tipo normal o de Gauss, simétrica alrededor de la media. Viene determinada por dos parámetros, la media y la desviación típica.

➤ **Prueba T** La prueba T para una muestra permite contrastar hipótesis referidas a una media poblacional bajo la suposición que el verdadero valor de la media poblacional es μ y la desviación típica poblacional σ es estimada mediante la desviación típica muestral S_{n-1} . El T estadístico se ajusta apropiadamente al modelo de distribución de probabilidad *t* de *student* cuando la población muestreada es normal. Con el programa SPSS se puede realizar la prueba T para dos muestras donde se contrastan hipótesis referidas a la diferencia entre dos medias independientes o relacionadas según el caso.

➤ **ANOVA** El análisis de varianza ANOVA de un factor sirve para comparar varios grupos en una variable cuantitativa. A la variable categórica que define los grupos que se desean compararse se le llama variable independiente o factor y a la variable cuantitativa en la que desea comparar los grupos se le llama variable dependiente.

La hipótesis que se pone a prueba en el ANOVA de un factor es que las medias poblacionales de la variable dependiente en cada nivel de la variable

¹¹ MARTÍNEZ, A. SPSS Para Todos. Creado por SPSS FREE. Bogotá- Colombia. 2007. p. 11-44.

independiente son iguales. Si las medias poblacionales son iguales significa que los grupos no difieren en la variable dependiente y que, en consecuencia el factor es independiente de la variable dependiente.

➤ **Prueba de Duncan** Al rechazar la hipótesis del ANOVA, se sabe que las medias poblacionales comparadas no son iguales, pero no donde se encuentran las diferencias únicamente permite comparar. Para saber qué media difiere de qué otra se utiliza la prueba del rango múltiple de Duncan, método de comparación por pasos basado en la distribución del rango estudentizado. Controla la tasa de error al efectuar varios contrastes utilizando las mismas medias.

4.4.3 Pruebas No Paramétricas Los contrastes paramétricos no son los únicos disponibles pues existen contrastes que permiten poner a prueba hipótesis no referidas a parámetros poblacionales ni trabajar con datos obtenidos.

➤ **Prueba de U de Mann Whitney** Diseñada para analizar datos provenientes de diseños con una variable categórica (con dos niveles que definen dos grupos o muestras) y una variable dependiente cuantitativa en la cual interesa comparar las muestras. Es una excelente alternativa a la prueba t sobre diferencia de medias cuando no se cumplen los supuestos sobre los que se basa esta prueba.

➤ **Prueba de Kruskal Wallis** Es una extensión de la prueba de U de Mann Whitney al caso de más de dos muestras, no necesita establecer supuestos sobre las poblaciones originales como los del ANOVA. Cuando al realizar la prueba de Kruskal Wallis se obtienen diferencias se puede aplicar la **prueba de Tukey** con el fin de determinar entre cuales grupos de se encuentra dicha diferencia.

5. METODOLOGÍA

5.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE AGUA

La Tabla 3 muestra los métodos de ensayo para análisis de agua y a continuación se describen los procedimientos implementados por el Laboratorio Ambiental de la CRC de acuerdo a los protocolos de validación para los diferentes análisis de aguas. Es importante resaltar que se trabaja con materiales y reactivos certificados con el fin de propiciar condiciones necesarias para garantizar la calidad de los análisis.

Tabla 3. Métodos analíticos estudiados

DETERMINACIÓN	MÉTODO*
pH	Electrométrico
Conductividad	Electrométrico
DBO ₅	Incubación 5 días –Winkler
DQO	Reflujo cerrado-Fotométrico
SST	Gravimétrico

* Métodos para análisis de agua según el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health. 19th ed. 1995*

➤ **Toma y preservación de muestras**, con base en el protocolo para toma de muestras del IDEAM, la recolección puede realizarse en envases de plástico (polietileno de alta densidad), luego de llenarse deben mantenerse sellados hasta el análisis. La muestra es preservada por refrigeración a 4°C. Antes de iniciar el análisis, se llevan las muestras a temperatura ambiente.

5.1.1 Procedimiento para la determinación de pH en aguas

➤ Calibración instrumental

- Conectar el equipo a una fuente de voltaje de 110V.
- Encender el equipo presionando la tecla **ON/OFF**.
- Retirar el capuchón protector del electrodo.
- Lavar el electrodo con agua desionizada.
- Sumergir el electrodo en el primer punto de calibración (Buffer 7.0) y presionar la tecla CAL para iniciar el proceso. Cuando el equipo ha terminado de verificar el Buffer introducido, fija en la pantalla los valores de pH, temperatura, Voltaje y condiciones del electrodo, expresado esto en porcentaje. Estos datos deben reportarse en el Formato de Captura de Datos Para Calibración de pH-Metros.
- Retirar el Buffer y lavar el electrodo con agua desionizada.

-Sumergir el electrodo en el segundo punto de calibración (Buffer 4.0) y repetir el Paso No. 3. Si se va a introducir un tercer punto de calibración, lavar el electrodo nuevamente y repetir el Paso No. 3.

➤ **Medición de PH**

-Introducir el electrodo en la muestra y presionar la tecla **READ** para iniciar el proceso de medición. Al momento de estabilizarse la lectura se fijará en la pantalla el valor de pH de la determinación.

-Registrar el valor obtenido en el formato de captura de datos.

-Lavar el electrodo con abundante agua desionizada.

-Secar el electrodo con papel absorbente ó sacudirlo suavemente.

-Introducir el electrodo nuevamente en el capuchón.

-Apagar el equipo.

5.1.2 Procedimiento para la determinación de conductividad en aguas

➤ **Calibración:**

-Encender el Conductímetro Metrohm 712.

-Retirar el electrodo del capuchón.

-Lavar el electrodo con agua desionizada.

-Secar el electrodo con papel absorbente ó sacudirlo suavemente.

- Introducir el electrodo en un estándar de concentración 1.41 mS/cm y agitar brevemente.

- Presionar la tecla N° 5 –Cal C- del teclado.

- Presionar la tecla ENTER tres veces.

- Espera hasta que se estabilice la lectura de constante de celda.

-Presionar la tecla ENTER.

-Registrar el valor de la constante y del estándar en el formato de captura de datos.

➤ **Medición:**

-Lavar el electrodo con agua desionizada.

-Secar el electrodo con papel absorbente ó sacudirlo suavemente.

-Introducir el electrodo en la muestra y agitar brevemente.

-Esperar que se estabilice la lectura –aproximadamente 30s-.

-Registrar el valor obtenido en el formato de captura de datos.

-Retirar el electrodo y lavarlo con agua desionizada.

-Introducir el electrodo en el capuchón.

-Apagar el equipo

5.1.3 Procedimiento para la determinación demanda bioquímica de oxígeno en aguas

- Preparación del agua de dilución:
 - Colocar la cantidad de agua necesaria en una botella y agregar por cada litro, 1 mL de cada una de las siguientes soluciones:
 - tampón fosfato (8,5g KH_2PO_4 + 21,75g K_2HPO_4 + 33,4g $\text{Na}_2\text{HPO}_4(7\text{H}_2\text{O})$ + 1,7g NH_4Cl en aproximadamente 500mL de agua y diluir a 1L
 - Solución de MgSO_4 (22,5g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ diluir a 1 L con H_2O)
 - Solución de CaCl_2 (27,5g CaCl_2 diluir a 1 L con H_2O)
 - Solución de FeCl_3 (0,25g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ diluir a 1 L con H_2O)
 - Llevar el agua de dilución a una temperatura de 20°C antes de su uso; saturarla con OD por agitación en una botella parcialmente llena, por burbujeo de aire filtrado libre de materia orgánica.

- Verificación del agua de dilución: Aplicar este procedimiento como una forma de verificación básica de la calidad del agua de dilución. Si el agua consume más de 0,2 mg de oxígeno/L se debe mejorar su purificación o emplear agua de otra fuente.
 - Llenar una botella de DBO con agua de dilución, determinar el OD inicial, incubar a 20°C por 5 días y determinar el OD final. El OD consumido en este lapso no debe ser mayor de 0,2 mg/L y preferiblemente menor de 0,1 mg/L.

- Control de inóculos: Determinar la DBO del material inoculante como si se tratara de una muestra. Con el objeto de corregir el valor de OD consumido por una muestra, se debe restar a éste el consumido por el inóculo. El consumo de OD del agua de dilución más el inóculo puede estar en el intervalo de 0,6 a 1,0 mg/L.

- Chequeo con glucosa-ácido glutámico: En general, para determinaciones de la DBO que no requieran una semilla adaptada, usar como solución estándar de chequeo una mezcla de 150 mg de glucosa/L y 150 mg de ácido glutámico/L.
 - Determinar la DBO_5 a 20°C de una dilución al 2% de la solución estándar de chequeo glucosa-ácido glutámico y evaluar los datos estadísticamente.

- Pretratamiento de la muestra: Muestras con alcalinidad cáustica o acidez. Neutralizar las muestras a pH entre 6,5 y 7,5 con una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) o hidróxido de sodio (NaOH) de concentración tal que la cantidad de reactivo no diluya la muestra en más de 0,5%. La menor dilución de muestra no debe afectar el pH dado por el agua de dilución inoculada.

- Técnica de dilución: Los resultados más acertados se obtienen con diluciones de muestra en las que los valores de OD residual son por lo menos 1 mg/L y un consumo de OD de por lo menos 2 mg/L después de los 5 días de

incubación. La experiencia con muestras de diferente origen permiten optimizar el número de diluciones requeridas; la correlación de la DQO con la DBO puede constituir una guía efectiva para la selección de las diluciones más convenientes. Si no se dispone de esta metodología, se pueden emplear las diluciones de 0,0 a 1,0 % para efluentes líquidos industriales, 1 a 5 % para efluentes industriales no tratados y decantados, 5 a 25 % para efluentes con tratamiento secundario o biológico, y 25 a 100 % para corrientes contaminadas.

-Las diluciones se efectúan en probetas y luego se transfieren a las botellas de DBO, o se preparan directamente en las botellas. Cualquiera de los dos métodos de dilución puede combinarse con cualquier técnica para medición de OD.

-Cuando sea necesaria la inoculación, agregar la semilla directamente al agua de dilución o a cada probeta o botella de DBO antes de la dilución. La inoculación en las probetas evita la disminución de la relación semilla / muestra cuando se hace un incremento en las diluciones.

➤ Incubación. Incubar a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ las botellas que contienen las diluciones, los controles de semilla, los blancos de agua de dilución y los patrones de glucosa-ácido glutámico.

➤ Determinación del OD final. Determinar el OD en las muestras diluidas, los blancos y los patrones después de 5 días de incubación.

5.1.4 Procedimiento para la determinación demanda química de oxígeno en aguas

-Enciender el equipo y consultar el procedimiento de operación de acuerdo al manual.

-Dosificar en celdas de 16mm las soluciones Merck de acuerdo al rango de trabajo.

-Adicionar el volumen de muestra homogenizada dependiendo del rango de DQO esperado.

-Tapar adecuadamente las celdas.

-Agitar brevemente las celdas en el Miniagitador a 2500 rpm.

-Colocar las celdas en el Termorreactor a 148°C durante dos horas.

-Retirar las celdas del Termorreactor, agitarlas brevemente y dejar enfriar al ambiente.

-Realizar la lectura en el fotómetro SQ – 118 o en el Spectroquant Nova 60 de acuerdo al procedimiento de operación del equipo, asegurándose de limpiar las celdas previamente con papel absorbente.

-Retirar las celdas y almacenélas para su disposición final.

-Apagar y desconectar el equipo

5.1.5 Procedimiento para la determinación de sólidos suspendidos totales en aguas

- Preparación del filtro de fibra de vidrio: Insertar el filtro circular en el crisol Gooch con el lado rugoso hacia arriba, aplicar vacío y lavar el filtro con agua desionizada; continuar la succión hasta remover todas las trazas de agua, y descartar el filtrado.
- Llevar a peso constante (105°C) el filtro junto con el crisol para determinar su peso inicial. Después de la filtración de la muestra, retirar del sistema de vacío, y llevara a peso constante para el peso final.
- Temperatura de secado: Secar en una estufa a 103-105°C por 1 h. Dejar enfriar en un desecador hasta la temperatura ambiente, aproximadamente 30 minutos y pesar. Repetir el ciclo de secado, enfriado, hasta obtener un peso constante, o hasta que la pérdida de peso sea menor del 4% o de 0,5 mg de la pesada anterior.
- Selección del filtro y tamaño de muestras: Tomar una alícuota de muestra que produzca entre 10 y 200 mg de residuo seco. Si se emplean más de 10 minutos para completar la filtración, aumentar el tamaño del filtro o disminuir el volumen de muestra; para muestras no homogéneas tales como agua residuales, usar un filtro grande que permita filtrar una muestra representativa.
- Análisis de muestras: Ensamblar el filtro circular en el crisol Gooch, iniciar la succión mediante vacío; si es necesario, humedecer el filtro con una pequeña cantidad de agua destilada para fijarlo. Mientras se pasa la muestra, ésta se debe agitar constantemente con un agitador magnético. Secar en una estufa a 103-105°C, mínimo durante 1 h; dejar enfriar en un desecador hasta temperatura ambiente, aproximadamente 30 min. y pesar. Repetir el ciclo de secado, enfriado, desecado hasta obtener peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor del 4% o de 0,5 mg del peso anterior.
- Estándares de Chequeo: Preparar soluciones estándar a partir de Caolin y de acuerdo a los resultados esperados para las muestras. Someter los estándares al mismo procedimiento con el objeto de monitorear el proceso. Repetir los pasos a partir del secado.

5.2 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN

Inicialmente se rectificaron los cálculos de los promedios, desviación estándar y coeficiente de variación realizados en el proceso de validación para la determinación de precisión (repetibilidad y precisión intermedia), exactitud y trazabilidad. A estos resultados se les aplica un tratamiento estadístico empleando el programa SPSS versión 11.5, con el propósito de seleccionar el tipo de pruebas a aplicar (paramétricas o no paramétricas) se someten los datos inicialmente a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk utilizada para tamaños de muestra inferiores a 50.

5.3 COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE

5.3.1 Fuentes de incertidumbre tipo A Determinada en el proceso de validación, obtenida a partir de observaciones repetidas bajo condiciones de repetibilidad y se estima con base en la dispersión de los resultados individuales expresada por la desviación estándar.

Con los resultados que prueban que las metodologías implementadas han quedado validadas también se obtiene el aporte de incertidumbre en:

- Precisión
- Trazabilidad

5.3.2 Fuentes de incertidumbre tipo B Cuantificadas utilizando información externa u obtenida por experiencia como:

- Certificados de calibración
- Manuales del instrumento de medición, especificaciones del instrumento
- Normas o literatura
- Conocimiento sobre las características o el comportamiento del sistema de medición

Partiendo del conocimiento detallado de las metodologías incluyendo los procedimientos de calibración y manejo de equipos se agrupan las restantes fuentes de incertidumbre en tres corrientes según su procedencia, las cuales se combinan en determinadas partes de la estimación de la incertidumbre.

5.3.2.1 Incertidumbre debida a los equipos Entre ellos se encuentran: pHmetro, conductímetro, oxímetro, fotómetro, balanza analítica, transferpipetas, termorreactor, horno de secado etc.

5.3.2.2 Incertidumbre debida a los reactivos Para asegurar la calidad de los resultados en el laboratorio ambiental se trabaja con reactivos Merck material de referencia certificado (MRC) en los que se encuentra su pureza y fecha de vencimiento. El certificado de los estándares indica que son trazables a NIST y a PTB.

No se encontró la totalidad de los certificados en el registro de laboratorio por lo que fue necesario contactar al fabricante y con la referencia y el número de lote se consiguió los datos faltantes completando así el soporte físico de las fuentes de incertidumbre

5.3.2.3 Incertidumbre debida al material volumétrico Se refiere al material de vidrio clase A y clase B como balones aforados, pipetas y probetas marca Brand con su respectivo certificado de calibración.

5.3.3 Fuentes de incertidumbre no cuantificadas en la estimación de la incertidumbre global de los métodos.

➤ **Muestreo:** Aún cuando el muestreo es una fase determinante en el análisis, no se incluye su aporte a la incertidumbre, ya que el interés del laboratorio es determinar la incertidumbre a partir del momento en que se reciben las muestras hasta que se expide el resultado, pues no es necesariamente el laboratorio el encargado de la toma de muestras. Sin embargo el laboratorio brinda a los interesados asesoría sobre la manera en que se debe tomar la muestra y su custodia hasta llegar al laboratorio.

- **Lavado de material**
- **Calidad de agua**
- **Pretratamiento de la muestra**

Las anteriores fuentes están bajo el sistema de calidad implementado, además se cuenta con protocolos para el lavado de material y para la verificación de la calidad del agua utilizada para el trabajo en el laboratorio.

Básicamente el pretratamiento de la muestra es la homogenización.

El personal que realiza dichas funciones está debidamente capacitado para ello.

Todo lo anterior es verificado y controlado a través de los formatos que evidencian que el laboratorio se encuentra bajo condiciones de aseguramiento de la calidad a lo largo del tiempo y que la incertidumbre calculada sigue siendo válida.

5.4 CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE FINAL

Se obtiene combinando los grupos de las fuentes de incertidumbre y finalmente se multiplica por el factor de cobertura, se empleo $K=2$ indicando una probabilidad del 95% de que el valor verdadero está contenido dentro del intervalo del valor obtenido y su incertidumbre asociada.

5.5 ELABORACIÓN Y PRESENTACIÓN DE DOCUMENTOS

Se anexa a los protocolos de validación de cada parámetro el resultado de la incertidumbre calculada, como soporte al cumplimiento de uno de los ítems considerados en los requisitos técnicos de la Norma ISO 17025.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

La validación es el proceso por el cual se demuestra que el procedimiento de análisis es el adecuado para los fines previstos en forma documentada y justificada. Se utilizan varios términos para describir los requisitos de validación como: precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación y rango entre otros. Teniendo en cuenta la confidencialidad de los resultados de las validaciones en este documento solamente se muestra los datos autorizados en cuanto a la caracterización de los parámetros estadísticos de los métodos.

6.1 ANÁLISIS DE pH EN AGUAS

Para el análisis de pH el laboratorio ambiental reporta que la determinación de los límites de detección y de cuantificación no aplica.

El rango de la determinación de pH es de 0 a 14 unidades de pH.

El mesurando es el pH de la muestra, que es igual a $-\log [H^+]$, expresado en unidades de pH.

6.1.1 Evaluación de los datos provenientes de la validación de pH En la Tabla 4 se describen los datos obtenidos en el proceso de validación de pH para evaluar la precisión del método efectuando varios análisis sobre la misma muestra en iguales condiciones operativas.

Tabla 4. Resultados de pH - Precisión en términos de repetibilidad

Ensayo	Valores estándar		
	4.01	7.00	10.00
1	4.05	7.05	9.95
2	4.05	7.02	9.97
3	4.04	7.02	9.97
4	4.04	7.02	9.97
5	4.04	7.02	9.97
6	4.02	7.01	9.96
Promedio	4.04	7.02	9.97
Desviación estándar	0.01	0.01	0.008
Coeficiente de variación (%)	0.25	0.14	0.08

Los análisis realizados tienen desviación estándar y coeficiente de variación adecuados para establecer que el método es preciso desde la repetibilidad.

Se realizan una serie de pruebas con el paquete estadístico SPSS, planteando siempre dos Hipótesis: Una Hipótesis Nula (H_0) y una Hipótesis Alternativa (H_a).

Con base en el valor de significancia (sig.), se acepta o rechaza la Hipótesis Nula, de acuerdo a si este valor es mayor o menor de 0,05 respectivamente. Si se rechaza la hipótesis nula, lógicamente se debe aceptar la alternativa en cada prueba.

La prueba de Shapiro Wilk se aplica para determinar si los datos presentan una distribución normal. En los casos que se encuentra normalidad se aplican pruebas paramétricas, de lo contrario se aplica estadística no paramétrica.

Se aplican pruebas no paramétricas debido a que la prueba de Normalidad de Shapiro Wilk (Tabla1 Anexo A), indica que los datos no se ajustan a la normalidad.

La prueba de Kruskal Wallis representada en la Tabla 5 muestra que existen diferencias significativas entre las medianas.

Tabla 5. Prueba de Kruskal Wallis pH - Precisión en términos de repetibilidad

Estadísticos de contraste(a,b)	
pH	
gl	2
Sig. asintót.	,000

a Prueba de Kruskal-Wallis
b Variable de agrupación: Estándar Merck Certipur

La prueba de Tukey (Tabla 6) indica que como era de esperarse existe diferencia significativa entre cada uno de los valores de pH de los tres estándares, siendo significativamente superior el de pH 10. Los datos se encuentran separados en tres grupos, mostrando que el electrodo detecta de forma adecuada los diferentes valores de pH.

Tabla 6. Prueba de Tukey pH - Precisión en términos de repetibilidad

Estándar Merck Certipur	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
4,01	6	4,0400		
7,00	6		7,0233	
10,00	6			9,9650
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

En la Tabla 7 se muestran los datos estadísticos para evaluar la precisión del método a través de varios análisis sobre la misma muestra (por triplicado) en diferentes condiciones operativas pero en el mismo laboratorio, correspondiente a la precisión intermedia para cada uno de los tres estándares.

Tabla 7. Resultados de pH - Precisión intermedia

Ensayo	Valor nominal del estándar		
	4.01	7.00	10.00
Día 1	4,00	7,02	10,04
Día 1	4,03	7,00	10,02
Día 1	4,02	7,01	10,02
Día 2	4,10	7,06	10,05
Día 2	4,10	7,06	10,05
Día 2	4,09	7,05	10,04
Día 3	4,03	7,04	9,96
Día 3	4,03	7,06	9,99
Día 3	4,03	7,06	9,95
Día 4	3,99	7,05	10,04
Día 4	3,98	7,04	10,05
Día 4	3,98	7,05	10,05
Día 5	3,99	6,97	9,94
Día 5	4,01	6,97	9,94
Día 5	4,02	6,98	9,94
Día 6	4,04	6,99	9,96
Día 6	3,99	6,97	9,96
Día 6	4,00	6,99	9,94
Día 7	4,05	7,04	9,98
Día 7	4,04	7,01	9,97
Día 7	4,02	7,01	9,99
Promedio	4.03	7.02	9.99
Desviación estándar	0.04	0.03	0.04
Coefficiente de variación (%)	0.99	0.43	0.40

Los datos de la Tabla 7 presentan una baja desviación estándar y un coeficiente de variación inferior al 1%, indicando que el método utilizado es preciso.

Se procede a determinar los mismos parámetros estadísticos para el porcentaje de recuperación de pH en los tres estándares Merck para precisión intermedia (Tabla 8).

Para éste parámetro se tiene en cuenta la siguiente denominación:

Estándar 1: 4,01 unidades de pH, Estándar 2: 7,00 unidades de pH y Estándar 3: 10,00 unidades de pH

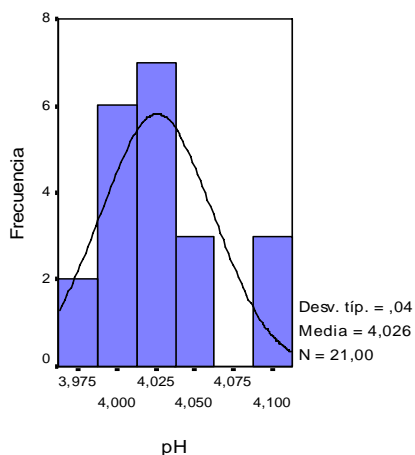
De la Tabla 8 se deduce que los promedios de los porcentajes de recuperación para cada uno de los estándares es cercano al 100% y la desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (CV) son apropiados, lo que comprueba que el método empleado es adecuado, esto es de esperarse ya que el procedimiento para la determinación de pH es una lectura directa en la muestra y prácticamente está determinado por el pH-metro.

Tabla 8. Porcentaje de recuperación de pH - Precisión intermedia

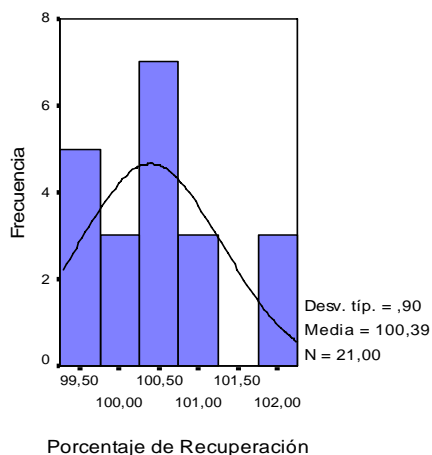
Ensayo	Estándar		
	1	2	3
Porcentaje de Recuperación (%)			
Día 1	99,75	100,29	100,40
Día 1	100,50	100,00	100,20
Día 1	100,25	100,14	100,20
Día 2	102,24	100,86	100,50
Día 2	102,24	100,86	100,50
Día 2	102,00	100,71	100,40
Día 3	100,50	100,57	99,60
Día 3	100,50	100,86	99,90
Día 3	100,50	100,86	99,50
Día 4	99,50	100,71	100,40
Día 4	99,25	100,57	100,50
Día 4	99,25	100,71	100,50
Día 5	99,50	99,57	99,40
Día 5	100,00	99,57	99,40
Día 5	100,25	99,71	99,40
Día 6	100,75	99,86	99,60
Día 6	99,50	99,57	99,60
Día 6	99,75	99,86	99,40
Día 7	101,00	100,57	99,80
Día 7	100,75	100,14	99,70
Día 7	100,25	100,14	99,90
Promedio	100,39	100,29	99,94
Desviación estándar	0,90	0,47	0,44
Coefficiente de variación (%)	0,90	0,47	0,44

Figura 2. Histogramas de frecuencias para determinación de pH para precisión intermedia del Estándar 1

a) Análisis de pH



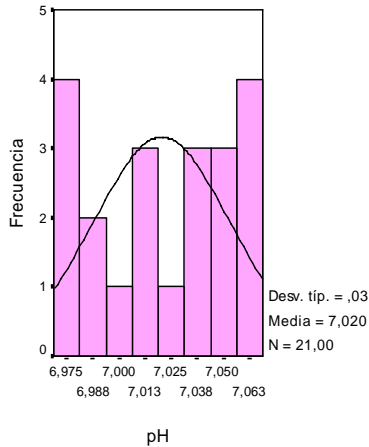
b) Porcentaje de recuperación de pH



Las Figuras 2 a 4 muestran la distribución de los datos obtenidos para precisión intermedia de los tres estándares de pH con sus respectivos porcentajes de recuperación.

Figura 3. Histogramas de frecuencias para determinación de pH para precisión intermedia del Estándar 2

a) Análisis de pH



b) Porcentaje de recuperación de pH

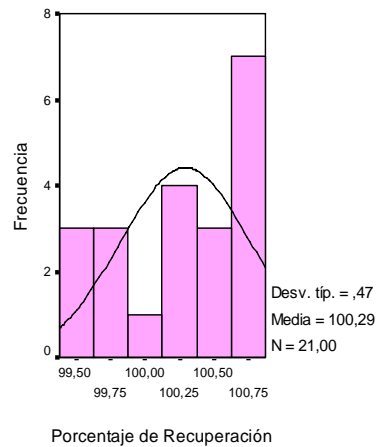
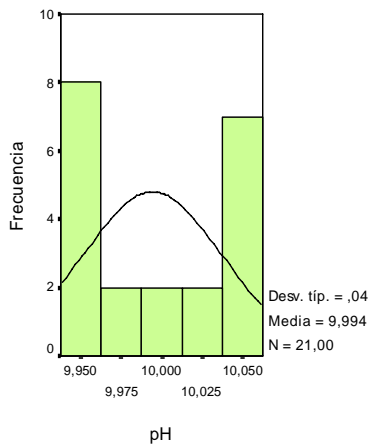
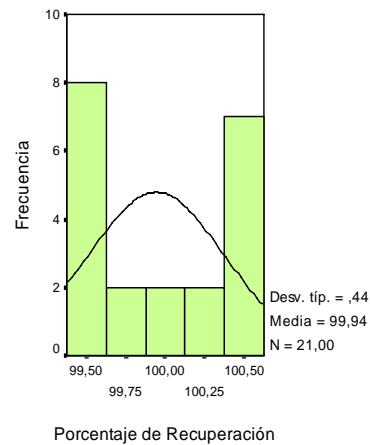


Figura 4. Histogramas de frecuencias para determinación de pH para precisión intermedia del Estándar 3

a) Análisis de pH



b) Porcentaje de recuperación de pH



Se observa en la Figura 2 que los datos tienen una tendencia central, cuando aumenta el valor de pH (Figura 3) la frecuencia se reparte a lo largo del intervalo de valores, mientras que para el estándar de pH 10 (Figura 4) los valores se inclinan hacia los extremos, indicando que el electrodo presenta mejor respuesta a pH bajo.

La prueba de Kruskal Wallis (Tabla 9) evidencia que existen diferencias significativas entre las medianas de los tres estándares de pH para los datos de precisión intermedia.

Tabla 9. Prueba de Kruskal Wallis pH - Precisión intermedia
Estadísticos de contraste(a,b)

	pH
gl	2
Sig. asintót.	,000

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: Estándar Merck Certipur

La prueba de Tukey (Tabla 10) muestra lógicamente tres grupos siendo significativamente diferentes los valores de pH de cada estándar como era de esperarse y significativamente superior el estándar de pH 10,00.

Tabla 10. Prueba de Tukey pH - Precisión intermedia

Estándar Merck Certipur	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
4,01	21	4,0257		
7,00	21		7,0205	
10,00	21			9,9943
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 21,000.

Para evaluar mejor la precisión del método se realiza el mismo tratamiento estadístico de los resultados a los datos obtenidos del porcentaje de recuperación. La prueba de Kruskal Wallis (Tabla 11) demuestra que no se presentan diferencias significativas entre las medianas de los tres grupos de porcentaje de recuperación de pH, por lo que se puede obtener un porcentaje de recuperación promedio para todas las medidas de pH que corresponde al 100.21% con una s de 0,66 y un CV de 0.66%

Tabla 11. Prueba de Kruskal Wallis Porcentaje de recuperación pH
Estadísticos de contraste(a,b)

	Porcentaje de Recuperación
gl	2
Sig. asintót.	,053

a Prueba de Kruskal-Wallis

b Variable de agrupación: Estándar Merck Certipur

6.1.2 Pruebas de intercalibración para pH El laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca realiza pruebas interlaboratorios mensuales con *Kimberly Clark Corporation* (KCC), la Tabla 12 muestra los resultados de estos ensayos, con ellos se evaluó la exactitud, grado de concordancia entre el valor obtenido y el valor real ó aceptado como real.

Tabla12. Resultados de pH interlaboratorios KCC- CRC

Muestra	KCC	CRC	Er (%)	% Rec.
1	7,05	7,03	0,28	99,72
2	8,07	8,00	0,87	99,13
3	7,65	7,69	0,52	100,52
4	7,51	7,45	0,80	99,20
5	7,21	7,20	0,14	99,86
6	7,85	7,84	0,13	99,87
7	8,16	8,16	0,00	100,00
8	7,80	7,77	0,38	99,62
9	7,26	7,30	0,55	100,55
10	6,45	6,38	1,09	98,91
11	7,79	7,79	0,00	100,00
12	7,44	7,43	0,13	99,87
13	7,97	8,03	0,75	100,75
14	6,85	6,81	0,58	99,42
15	8,22	8,26	0,49	100,49
16	7,25	7,20	0,69	99,31
Promedio				99,83
Desviación estándar				0,55
CV(%)				0,55

KCC: valor de referencia
CRC: valor reportado

Er: Error relativo
% Rec: Porcentaje de recuperación

Se aplica la prueba t a los datos de porcentaje de recuperación (Tabla 13) tomando como valor de prueba su promedio, observando que no existen diferencias significativas entre ellos. Al realizar la prueba t para muestras relacionadas, la Tabla 14 indica que no existen diferencias significativas entre el valor establecido por KCC y el obtenido en el Laboratorio Ambiental de la CRC.

Tabla 13. Prueba t Porcentaje de recuperación pH (teniendo en cuenta en promedio)

	t	gl	Sig. (bilateral)	Valor de prueba = 99.83
Porcentaje de recuperación pH (%)	-,028	15	,978	Hipótesis nula: Aceptada

Los coeficientes de variación, desviación estándar y error relativo, son criterios suficientes (junto con los resultados de las Tablas 13 y 14) para demostrar la exactitud del método.

Tabla 14. Prueba t para muestras relacionadas pH (KCC/CRC)

	Diferencias relacionadas	t	gl	Sig. (bilateral)	Hipótesis nula: Aceptada
Par 1	pH KCC - pH CRC	1,158	15	,265	

6.1.3. Trazabilidad en las mediciones de pH Otro aspecto importante es verificar la trazabilidad de los resultados, lo que resulta práctico pues se confrontan los resultados obtenidos con el Material de Referencia Certificado (MRC) que como ya se mencionó es trazable a NIST y a PTB, los datos utilizados para tal fin se presentan en la Tabla 7

Para el estándar de pH 4,01 se realiza la prueba t no paramétrica (Tabla 15) tomando como valor de prueba el valor nominal del estándar de 4,01, también se realiza la prueba t (no paramétrica) de la Tabla 16 teniendo en cuenta la incertidumbre del estándar (+/- 0,015), debido a que el valor de la mediana tiende hacia el extremo superior se establece el valor de prueba de 4,025.

Tabla 15. Prueba t estándar pH 4,01 (teniendo en cuenta el valor nominal del MRC)

Valor de prueba = 4.01				Hipótesis nula: Aceptada
	gl	tcal	t tab	
pH	20	1,15	2,09	

Tabla 16. Prueba t estándar pH 4,01 (teniendo en cuenta la incertidumbre del MRC)

Valor de prueba = 4.025				Hipótesis nula: Aceptada
	gl	tcal	t tab	
pH	20	0,57	2,09	

La mediana obtenida al analizar el estándar de pH 7,00 es 7,01 y la incertidumbre del MRC es de +/- 0,015 unidades de pH, como el valor la mediana tiende al límite superior el valor de prueba es 7,015. Al realizar la prueba t no paramétrica (Tabla 17 y 18) en ambos casos no se presentan diferencias significativas entre el valor obtenido en el laboratorio y el valor de prueba.

Tabla 17. Prueba t estándar pH 7,00 (teniendo en cuenta el valor nominal del MRC)

Valor de prueba = 7.00				Hipótesis nula: Aceptada
	gl	tcal	t tab	
pH	20	1,53	2,09	

Tabla 18. Prueba t estándar pH 7,00 (teniendo en cuenta la incertidumbre del MRC)

Valor de prueba = 7.015			
	gl	tcal	t tab
pH	20	0,76	2,09

Hipótesis nula: Aceptada

La incertidumbre del estándar de pH 10,00 es +/- 0,05, y la mediana obtenida para este estándar es de 9,99; Este valor es prácticamente igual al valor nominal del estándar y se utiliza para la prueba t no paramétrica (Tabla19).

Tabla 19. Prueba t estándar pH 10,00 (respecto al valor nominal del MRC)

Valor de prueba = 10.0			
	gl	tcal	t tab
pH	20	1,15	2,09

Hipótesis nula: Aceptada

Las pruebas t de las Tablas 15-19 indica que se debe aceptar la hipótesis nula: El valor de pH del MRC no difiere significativamente del valor de pH obtenido en el laboratorio ambiental para cada estándar indicando la trazabilidad del método.

6.1.4 Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de pH en agua

6.1.4.1 Incertidumbre tipo A para el análisis pH en agua Con la evaluación de los datos provenientes de la validación de pH se tiene el aporte de incertidumbre expresado como desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV%).

Teniendo en cuenta que se ha validado con MRC, la incertidumbre tipo A (u_A) se estima de mejor manera a través de la trazabilidad, es decir a través de la estimación de incertidumbre del material de referencia certificado y de la precisión del método (Ecuaciones 4 y 5).

$$u_A = u_t \quad \text{(Ecuación 4)}$$

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Donde u_p es la incertidumbre de precisión de método y u_{MRC} es la incertidumbre asociada al material de referencia con que se realizó los ensayos.

➤ **Incertidumbre de Precisión u_p :** Con los datos de Tabla 14 se puede calcular la incertidumbre de precisión. Se emplean los datos de precisión intermedia (Tabla 6) y no los de repetibilidad, para abarcar el mayor número de factores de variación.

Tabla 20. Coeficiente de Variación de Precisión Intermedia para pH

Estándar	% Recuperación	S	CV (%)
1	100,39		
2	100,29	0,66	0,66
3	99,94		
Mediana	100,20		

En éste caso la incertidumbre estándar se determina por la Ecuación 1:

$$u_p = \frac{DER}{\sqrt{n}}$$

Donde, n es el número de mediciones, es decir 63 ya que son 21 por cada estándar, además se parte de los porcentajes de recuperación y se calcula una desviación estándar relativa promedio:

$$u_p = \frac{0,66\%}{\sqrt{63}}$$

$$u_p = 0,083\%$$

➤ **Incertidumbre de Material de Referencia para pH u_{MRC} :** Se calcula teniendo en cuenta que el proveedor del MRC indica los límites inferior y superior (simétricos con respecto al promedio) del valor del estándar y se presenta una distribución rectangular o uniforme que se caracteriza porque cualquier valor tiene las mismas probabilidades de darse y la desviación típica de la distribución es igual a la amplitud dividida por $\sqrt{12}$.

$$u = A/\sqrt{12} \quad \text{(Ecuación 6)}$$

La incertidumbre de cada uno de los estándares u_E de pH se determina por:

$$u_E = A/\sqrt{12}$$

Donde, A es la amplitud del intervalo que es 2 veces la incertidumbre estándar de MRC.

En la Tabla 21 se observan los valores de incertidumbre reportados para el MRC de cada estándar de pH, con ellos se determina el primer término de la ecuación para el cálculo de la incertidumbre debida a la trazabilidad.

Tabla 21. Incertidumbre de Estándares de pH, Merck Certipur

Estándar (unidades de pH)	Incertidumbre estándar MRC	A	u_E	DER(%) o CV(%) estándar MRC
4,01	0,015	0,03	$8.66E^{-3}$	0,22
7,00	0,015	0,03	$8.66E^{-3}$	0,12
10,00	0,05	0,1	0.029	0,29

La incertidumbre u_{MRC} se calcula por medio de la ley de propagación de errores:

$$u_{MRC} = \sqrt{(0,22)^2 + (0,12)^2 + (0,29)^2} = 0,38\%$$

Se reemplaza u_p y u_{MRC} en la Ecuación 3

$$u_t = \sqrt{u_{MRC}^2 + u_p^2} = \sqrt{(0,38)^2 + (0,083)^2}$$

$$u_t = 0,39\%$$

El aporte de incertidumbre de la trazabilidad es atribuido principalmente a la incertidumbre de los estándares de pH, la precisión del método aporta un valor en magnitud considerablemente bajo comparado con el de la incertidumbre del MRC.

Se calcula entonces la incertidumbre tipo A

$$u_A = u_t = 0,39\%$$

$$u_A = 0,39\%$$

6.1.4.2 Incertidumbre tipo B para el análisis pH en agua Este tipo de incertidumbre se obtiene evaluando cada uno de los pasos del protocolo para el análisis de pH en aguas, del laboratorio ambiental para identificar los puntos de generación de incertidumbre.

En la Tabla 22 se reporta la contribución de las fuentes de incertidumbre tipo B con base en los certificados de calibración del equipo. Teniendo en cuenta que previo a la lectura directa de pH en la muestra, se realiza la calibración del pH-metro; este aspecto se toma como la principal fuente de incertidumbre tipo B denominada incertidumbre instrumental (u_i) y está determinada por la precisión y calibración del pH-metro conjuntamente con los estándares utilizados en la calibración habitual.

Tabla 22. Fuentes de incertidumbre tipo B para determinación de pH

Fuente de incertidumbre	Símbolo	DER(%) o CV(%)
Precisión del pH-metro	u_{pp}	0,005
Calibración del pH-metro	u_{cal}	0,093
Reactivos para calibración	u_{MRCc}	0,38

La u_{cal} se obtiene combinando la desviación estándar relativa en la calibración de temperatura es 0,067% (el equipo tiene compensador de temperatura) y en la calibración de voltaje es 0,064% del certificado de calibración Mettler Toledo. El término u_{MRCc} en éste caso es el mismo de u_{MRC} porque se emplearon los mismos reactivos

$$u_i = \sqrt{u_{pp}^2 + u_{cal}^2 + u_{MRCc}^2} \quad (\text{Ecuación 7})$$

$$u_i = \sqrt{(0,005)^2 + (0,093)^2 + (0,38)^2}$$

$$u_i = 0,39\%$$

En éste caso solo se considera el aporte de la incertidumbre instrumental, por lo tanto:

$$u_B = u_i \quad (\text{Ecuación 8})$$

$$u_B = 0,39\%$$

6.1.5 Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de pH en agua Las fuentes de incertidumbre tipo A y tipo B deben combinarse siguiendo la ley de propagación de errores. De esta forma se obtiene la incertidumbre combinada u_C usando la Ecuación 2:

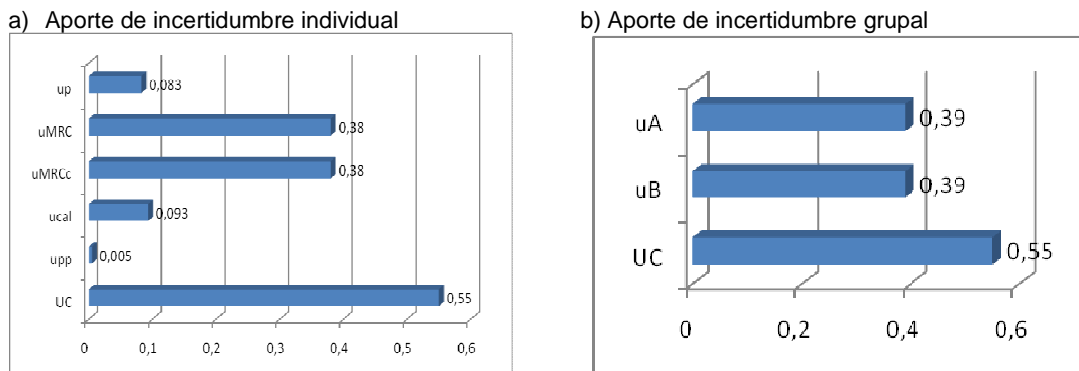
$$u_C = \sqrt{(u_A)^2 + (u_B)^2}$$

$$u_C = \sqrt{(0,39)^2 + (0,39)^2}$$

$$u_C = 0,55\%$$

En la Figura 5 se observa que individualmente el MRC utilizado en las mediciones y con el cual se hace la calibración del pH-metro es quien hace un mayor aporte a la incertidumbre. Cuando se aplica la ley de combinación de errores al tiempo que se agrupan las incertidumbres en tipo A y tipo B se obtiene igual contribución a la incertidumbre total debido a que el MRC interviene en ambos casos y la magnitud de incertidumbre es significativamente mayor a las demás.

Figura 5. Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_c del análisis de pH en el laboratorio ambiental



El último paso consiste en calcular la incertidumbre expandida U , se obtiene multiplicando la incertidumbre combinada u_c por un factor de cobertura $k=2$ a un nivel de confianza de 95,45%. Para ello se utiliza la Ecuación 3

$$U = u_c \times k$$

$$U = 0.55\% \times 2$$

$$U = 1,1\%$$

El valor encontrado para la incertidumbre es calculado a partir de coeficientes de variación y está expresado como un porcentaje. El reporte de la incertidumbre en un análisis se hace en las mismas unidades del parámetro determinado a través de la desviación estándar. Por lo tanto, para la determinación de pH en una muestra de rutina analizada en el laboratorio ambiental de la CRC se reporta:

$$\text{pH} = \text{valor medido} \pm (\text{valor medido} \times 0,011) \quad (\text{Ecuación 9})$$

Hay aproximadamente un 95% de probabilidad de que el valor verdadero de pH de una muestra se encuentre dentro del intervalo dado por el pH obtenido al analizar la muestra y su incertidumbre.

6.2 ANÁLISIS DE CONDUCTIVIDAD EN AGUAS

El límite de detección es 0,635 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

El límite de cuantificación es 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

El rango de trabajo es de 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 100mS/cm

El mesurando es la cantidad de corriente eléctrica que conducen las sales o electrolitos inorgánicos contenidos en la muestra.

6.2.1 Evaluación de los datos provenientes de la validación de conductividad

Se establece la precisión en términos de repetibilidad y precisión intermedia con datos obtenidos en la determinación de conductividad con MRC. La Tabla 23 muestra los datos obtenidos en la evaluación de la precisión de la repetibilidad.

Tabla 23. Resultados de conductividad - Precisión en términos de repetibilidad

Ensayo	Valor estándares mS/cm	
	1,41	12,8
1	1,41	12,8
2	1,42	12,9
3	1,42	12,7
4	1,42	12,7
5	1,42	12,7
6	1,42	12,8
Promedio	1,42	12,8
Desviación estándar	0.004	0.09
Coeficiente de variación (%)	0.28	0.70

Se obtienen desviación estándar y coeficiente de variación que aumentan a medida que se emplea estándar de conductividad mayor, sin embargo esto no indica que el método sea impreciso, pues los valores obtenidos se encuentran dentro de los límites aceptados.

Puesto que la prueba de Shapiro Wilk indica que los estándares de conductividad presentan resultados que se ajustan a la normalidad, se practica un análisis de varianza (Tabla 24) que muestra significancia 0,000 (resultado esperado al estándares distintos) por lo que se acepta la hipótesis alternativa del ANOVA: existen diferencias significativas entre los estándares.

Tabla 24. ANOVA de conductividad - Precisión en términos de la repetibilidad

Conductividad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	386,558	1	386,558	93418,205	,000
Intra-grupos	,041	10	,004		
Total	386,600	11			

La Tabla 25 contiene los datos del procedimiento realizado para evaluar la precisión intermedia del método.

Tabla 25. Resultados de conductividad - Precisión intermedia

Ensayo	Valor nominal de estándares mS/cm	
	1,41	12,8
Día 1	1,41	12,8
Día 1	1,41	12,8
Día 1	1,41	12,8
Día 2	1,41	12,8
Día 2	1,41	12,8
Día 2	1,41	12,8
Día 3	1,42	12,9
Día 3	1,41	12,9
Día 3	1,41	12,9
Día 4	1,42	13,0
Día 4	1,42	13,0
Día 4	1,42	13,0
Día 5	1,43	12,7
Día 5	1,43	12,7
Día 5	1,43	12,8
Día 6	1,43	12,8
Día 6	1,43	12,8
Día 6	1,43	12,8
Promedio	1,42	12,8
Desviación estándar (s)	0.009	0.08
Coefficiente de variación (%)	0.63	0.62

Los datos para los dos estándares (Tabla 25) presentan desviación estándar baja, al igual que los coeficientes de variación cuyos valores presentan una alta aproximación en el rango que permite establecer que el método es preciso.

Se calcula la desviación estándar y el coeficiente de variación de los estándares Merck para conductividad a partir de los cálculos del porcentaje de recuperación (Tabla 26).

Para éste parámetro se tiene en cuenta la siguiente denominación:

Estándar 1: 1,41mS/cm

Estándar 2: 12,8mS/cm

La Tabla 26 muestra porcentajes de recuperación promedio cercanos a 100% con desviaciones estándar bajas y coeficientes de variación inferiores al 5%, resultados conformes para la validación de conductividad.

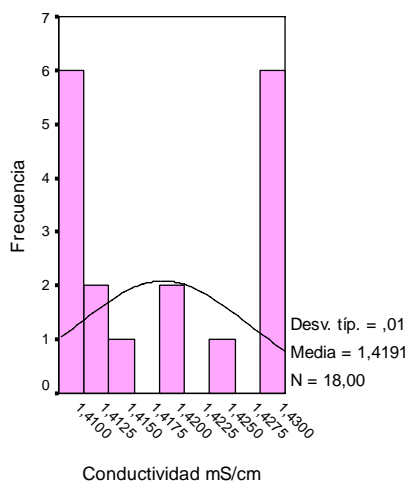
Tabla 26. Porcentaje de Recuperación conductividad - Precisión Intermedia

Ensayo	Estándar	
	1	2
Porcentaje de Recuperación (%)		
Día 1	100,00	99,7
Día 1	100,00	100,0
Día 1	100,00	99,8
Día 2	100,00	99,8
Día 2	100,07	99,8
Día 2	100,07	99,9
Día 3	100,43	100,8
Día 3	100,14	100,8
Día 3	100,21	100,7
Día 4	100,99	101,2
Día 4	100,71	101,2
Día 4	100,64	101,2
Día 5	101,42	99,4
Día 5	101,42	99,4
Día 5	101,35	99,6
Día 6	101,42	100,1
Día 6	101,35	100,2
Día 6	101,42	100,3
Promedio	100,65	100,2
Desviación estándar	0,61	0,63
Coefficiente de variación (%)	0,61	0,63

En las Figuras 6 y 7 se presentan los histogramas que muestran la distribución de los datos de conductividad en precisión intermedia.

Figura 6. Histogramas de frecuencias para determinación de conductividad para precisión intermedia del Estándar 1

a) Análisis de conductividad



b) Porcentaje de recuperación de conductividad

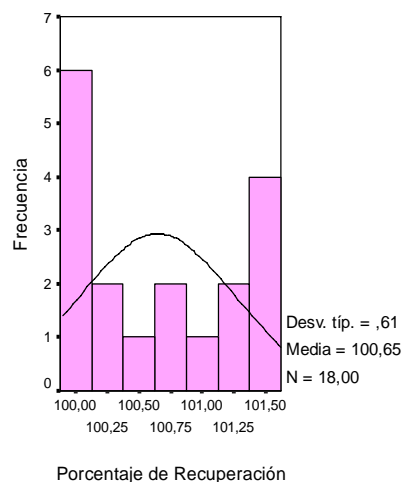
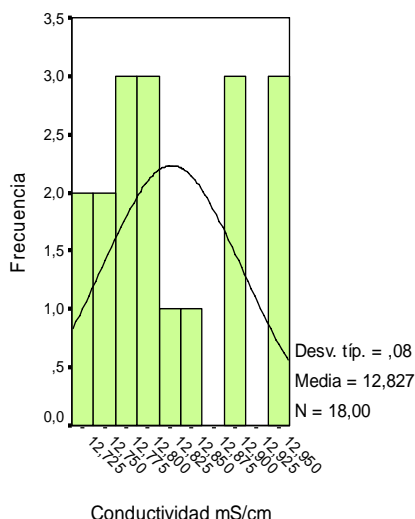
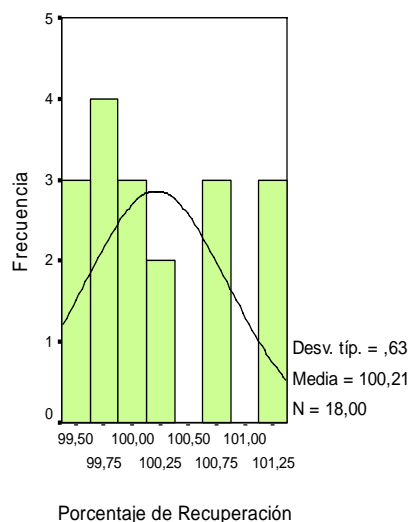


Figura 7. Histogramas de frecuencias para determinación de conductividad para precisión intermedia del Estándar 2

a) Análisis de conductividad



b) Porcentaje de recuperación de conductividad



Se observa que para el estándar 1 (Figura 6) la mayoría de los datos se encuentran en los extremos del intervalo de valores, mientras que para el estándar 2 (Figura 7) los datos no presentan una tendencia específica.

La prueba de U de Mann Whitney (Tabla 27) corrobora que existen diferencias significativas entre las medianas, porque los valores de conductividad de los dos estándares son ampliamente diferentes.

Tabla 27. Prueba de U de Mann-Whitney conductividad para precisión intermedia

	Conductividad mS/cm
U de Mann-Whitney	,000
Sig. asintót. (bilateral)	,000

6.2.2 Exactitud en el análisis de conductividad Como el laboratorio ambiental no ha realizado ensayos de intercalibración para la determinación de conductividad, se evalúa la exactitud a través del porcentaje de recuperación obtenido para los dos estándares certificados de conductividad.

Tabla 28. Resultados de Conductividad MRC Merck, certipur

Valor nominal del estándar Merck (mS/cm)	Valor medio obtenido CRC (mS/cm)	Er (%)	% Recuperación promedio
1,410	1,419	0,64	100,43
12,80	12,83	0,23	
Desviación estándar (s)			0,64
Coeficiente de variación (CV%)			0,65

Er: Error relativo % Rec: Porcentaje de recuperación

La Tabla 28 evidencia que en general se obtiene apropiados valores para desviación estándar y coeficiente de variación para establecer que el método cumple con las condiciones de exactitud.

Tabla 29. Prueba t Porcentaje de recuperación conductividad del MRC

Valor de prueba = 100.43			
Porcentaje de Recuperación conductividad	t	gl	Sig. (bilateral)
	,000	35	1,000

Hipótesis nula: Aceptada

La prueba t (Tabla 29) muestra que no hay diferencia significativa entre los valores de porcentaje de recuperación aceptándose la hipótesis nula y permitiendo aplicar un porcentaje de recuperación promedio para toda la metodología.

6.2.3 Trazabilidad en las mediciones de conductividad En la Tabla 25 se observan los datos suministrados para el proceso de verificación de la trazabilidad de los resultados con el Material de Referencia Certificado (MRC) trazable a NIST y PTB de los dos estándares (1,41mS/cm y 12,8mS/cm). Se encuentra que comparando los datos de conductividad con el valor promedio de cada estándar (Tablas 30 y 31), se obtiene una significancia superior a 0.05 en ambos casos indicando que se acepta la hipótesis nula, confirmando lo expresado anteriormente con los datos de porcentaje de recuperación, mostrando la trazabilidad del método.

Tabla 30. Prueba t estándar de conductividad 1,41 mS/cm (teniendo en cuenta el promedio del MRC)

Valor de prueba = 1.42			
Conductividad mS/cm	t	gl	Sig. (bilateral)
	-,825	17	,421

Hipótesis nula: Aceptada

Tabla 31. Prueba t estándar de conductividad 12,8 mS/cm (teniendo en cuenta el promedio del MRC)

Conductividad mS/cm	Valor de prueba = 12.8			Hipótesis nula: Aceptada
	t	gl	Sig. (bilateral)	
	-,147	17	,885	

Las pruebas t (Tablas 30 y 31), indica que la hipótesis de que no existen diferencias significativas entre el valor obtenido y el valor nominal del MRC, es decir la hipótesis nula, se acepta para ambos casos.

6.2.4 Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de conductividad en agua

6.2.4.1 Incertidumbre tipo A para el análisis de conductividad en agua Con los datos de la validación de conductividad se determina el aporte de incertidumbre tipo A.

La estimación de la incertidumbre tipo A se realiza de la misma forma como se realizó en la determinación de pH a través de las ecuaciones 4 y 5.

$$u_A = u_t$$

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2}$$

Donde u_p es la incertidumbre de precisión de método y u_{MRC} es la incertidumbre asociada a los estándares de conductividad.

➤ **Incertidumbre de Precisión u_p :** Con los datos de Tabla 28 se determina la desviación estándar relativa promedio para calcular la incertidumbre de precisión empleando la ecuación 1.

$$u_p = \frac{DER}{\sqrt{n}}$$

Donde, n es el número de mediciones, es decir 36 ya que son 18 por cada estándar

$$u_p = \frac{0,65\%}{\sqrt{36}}$$

$$u_p = 0,11\%$$

➤ **Incertidumbre de Material de Referencia para conductividad u_{MRC} :** En la Tabla 32 se muestran los valores de incertidumbre reportada para el MRC de cada

estándar de conductividad y su respectivo valor en términos de coeficiente de variación y su aporte a la incertidumbre calculado de la misma forma que se realizó para la determinación de pH a través de la siguiente ecuación:

$$u_E = A / \sqrt{12}$$

Tabla 32. Incertidumbre de Estándares de conductividad, Merck Certipur

Estándar (mS/cm)	Incertidumbre estándar MRC(mS/cm)	<i>A</i>	<i>u_E</i>	DER(%) o CV(%) estándar MRC
1,41	0,02	0,04	0,01	0,71
12,8	0,2	0,4	0,12	0,94

Se calcula la incertidumbre que aporta el material de referencia certificado u_{MRC}

$$u_{MRC} = \sqrt{(0,71)^2 + (0,94)^2} = 1,18\%$$

Se reemplaza u_p y u_{MRC} en la ecuación 5

$$u_t = \sqrt{u_{MRC}^2 + u_p^2} = \sqrt{(1,18)^2 + (0,11)^2}$$

$$u_t = 1,18\%$$

En este caso el aporte de incertidumbre del material de referencia de conductividad es mayor al de la precisión del método, tanto así que al calcular u_t se obtiene el mismo valor de u_{MRC} , por lo tanto el aporte de incertidumbre de precisión resulta despreciable y se tiene que la incertidumbre debida a la trazabilidad del método está determinada por el material de referencia certificado.

Entonces,

$$u_A = u_t = 1,18\%$$

$$u_A = 1,18\%$$

6.2.4.2 Incertidumbre tipo B para el análisis conductividad en agua La determinación de la conductividad de la muestra se hace por lectura directa con el conductímetro, antes de analizar la muestra se realiza la respectiva calibración del equipo.

La Tabla 33 muestra el aporte de incertidumbre (obtenida a partir de certificados del estándar de 1,41mS/cm utilizado para la calibración y especificaciones del equipo) de los factores que intervienen en la calibración del conductímetro para encontrar el valor correspondiente a la incertidumbre instrumental (u_i), de igual

manera como se consideró para la determinación de pH, se establece como el único componente de la incertidumbre Tipo B.

Tabla 33. Incertidumbre tipo B para determinación de conductividad

Fuente de incertidumbre	Símbolo	DER(%) o CV(%)
Constante de celda	u_{kc}	0,43
Conductímetro	u_{cond}	0,14
Reactivos para calibración	u_{MRCc}	0,71

$$u_i = \sqrt{u_{kc}^2 + u_{cond}^2 + u_{MRCc}^2} \quad (\text{Ecuación 10})$$

$$u_i = \sqrt{(0,43)^2 + (0,14)^2 + (0,71)^2}$$

$$u_i = 0,84\%$$

Con base en las consideraciones descritas anteriormente, se reemplaza u_i en la ecuación 8 ($u_B = u_i$), obteniendo:

$$u_B = 0,84\%$$

6.2.5 Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de conductividad en agua El siguiente paso es calcular la incertidumbre combinada u_C como lo establece la ecuación 2 a partir de los aportes de incertidumbre tipo A y tipo B

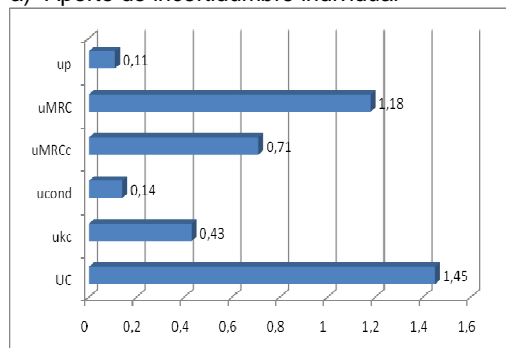
$$u_C = \sqrt{(u_A)^2 + (u_B)^2}$$

$$u_C = \sqrt{(1,18)^2 + (0,84)^2}$$

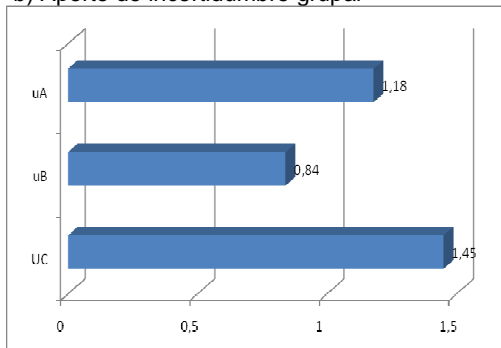
$$u_C = 1,45\%$$

Figura 8. Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de conductividad en el laboratorio ambiental

a) Aporte de incertidumbre individual



b) Aporte de incertidumbre grupal



La Figura 8 muestra que el MRC utilizado para determinar la precisión del método ofrece un mayor aporte a la incertidumbre en forma individual. Encontrándose que la incertidumbre tipo A es superior a la incertidumbre tipo B

Finalmente se calcula la incertidumbre expandida

$$U = u_c \times k$$

$$U = 1,45\% \times 2$$

$$U = 2,90\%$$

El reporte de la conductividad en un análisis de realizado en el laboratorio ambiental de la CRC se debe expresar como:

$$\text{Conductividad (mS/cm)} = \text{valor medido} \pm (\text{valor medido} \times 0,0290) \quad (\text{Ecuación 11})$$

Existe un 95,45% de seguridad de que el valor verdadero de conductividad de una muestra, esté dentro del intervalo dado por el valor obtenido al analizar la muestra y su incertidumbre.

6.3 DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

El límite de detección en el análisis de DBO₅ es 0,17mgO₂/L

El límite de cuantificación en el análisis de DBO₅ es 0,45mgO₂/L

Intervalo de trabajo: Es igual a la diferencia entre el máximo oxígeno disuelto inicial (7 a 9 mgO₂/L) y el mínimo oxígeno disuelto residual de 1mgO₂/L multiplicado por el factor de dilución.

La medida corresponde al oxígeno disuelto (OD) en una muestra de agua el primer y el quinto día de su incubación

El cálculo de la DBO₅ se da por la siguiente expresión:

$$DBO_5 = (COD_M - COD_{CS}) \cdot F \quad (\text{Ecuación 12})$$

COD_M : Consumo de OD de la muestra diluida (mg/L)

COD_{CS} : Consumo de OD del control de semilla (mg/L)

F : Factor de dilución de la muestra.

6.3.1 Evaluación de los datos provenientes de la validación de la DBO En la Tabla 34 se presentan los resultados de la demanda bioquímica de oxígeno empleando un estándar de la mezcla 1:1 de glucosa (150mg/L) y ácido glutámico (150mg/L), para evaluar la precisión de los análisis bajo las mismas condiciones a través de mediciones sucesivas.

Tabla 34. Resultados de DBO - Precisión en términos de la repetibilidad

Ensayo	DBO Estándar Glucosa – Ác. Glutámico (mgO ₂ /L)
1	193
2	199
3	206
4	206
5	215
6	206
Promedio	204
Desviación estándar	7,5
Coeficiente de variación (%)	3,7

Estos valores permiten establecer la precisión del método desde la repetibilidad debido a que la determinación de la DBO siendo un bioensayo en el que intervienen diversos factores, el rango aceptable para estos dos parámetros de precisión (s y CV%) es más amplio, encontrándose %CV muy bajos (<5%).

La Tabla 35 muestra los resultados de la DBO del estándar de glucosa-ácido glutámico y su porcentaje de recuperación en condiciones intermedias de trabajo.

El porcentaje de recuperación promedio de la demanda bioquímica de oxígeno es de 87,23(%) este valor no se aproxima al 100% sin embargo se debe tener en cuenta que existen numerosos factores que afectan la prueba de la DBO por lo que el control de glucosa-ácido glutámico está proyectado como un punto de referencia para la evaluación de la calidad del agua de dilución, la efectividad de la semilla, y la técnica analítica. Según el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* a través de estudios multilaboratorios de las determinaciones de la DBO en muestras sintéticas con glucosa y ácido glutámico en proporción 1:1 para el estándar primario de 300 mg/L, el promedio de DBO fue de 198 mg/L con una desviación estándar de 30,5 y coeficiente de variación 15,15% siendo utilizada como límite de control.

Por lo tanto se tiene que la DBO medida y el porcentaje de recuperación obtenido en el laboratorio ambiental de la CRC se encuentran dentro del intervalo aceptado para este parámetro.

Las desviaciones estándar y coeficientes de variación que se observan en la Tabla 35 son bajos por lo que permiten reconocer que el método empleado para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (método Winkler) es el adecuado pues tiene condiciones de precisión apropiadas.

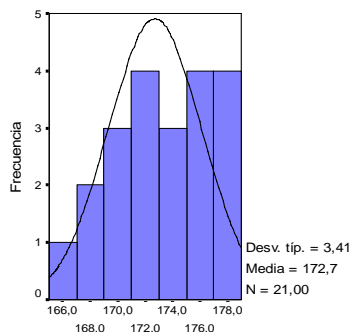
Tabla 35. Resultados de la DBO - Precisión intermedia

Ensayo	DBO (mgO ₂ /L)	Porcentaje de recuperación
	Estándar Glucosa- Ác. Glutámico	DBO (%) Estándar Glucosa- Ác. Glutámico
Día 1	175	88,38
Día 1	173	87,37
Día 1	177	89,39
Día 2	173	87,37
Día 2	170	85,86
Día 2	168	84,85
Día 3	166	83,84
Día 3	171	86,36
Día 3	168	84,85
Día 4	172	86,87
Día 4	175	88,38
Día 4	177	89,39
Día 5	174	87,88
Día 5	170	85,86
Día 5	176	88,89
Día 6	171	86,36
Día 6	172	86,87
Día 6	169	85,35
Día 7	176	88,89
Día 7	177	89,39
Día 7	177	89,39
Promedio	173	87,23
Desviación estándar	3,4	1,72
Coeficiente de variación (%)	2,0	1,97

La Figura 9 representa la distribución de los datos de la DBO del estándar de glucosa-ácido glutámico y el porcentaje de recuperación en la evaluación de la precisión intermedia.

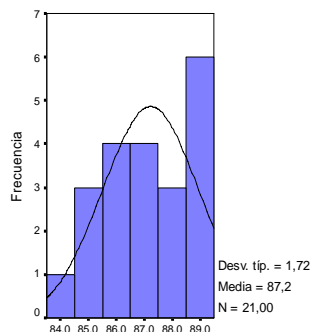
Figura 9. Histogramas de frecuencias para determinación de la DBO para precisión intermedia del Estándar glucosa-ácido glutámico

a) Análisis de DBO₅



Demanda Bioquímica de Oxígeno (mgO₂/L)

b) Porcentaje de recuperación de DBO₅



Porcentaje de Recuperación DBO₅(%)

Se observa en la Figura 9 los datos de la DBO₅ presentan mayor frecuencia hacia los valores altos, probablemente por la variabilidad en los microorganismos presentes en el inóculo.

La Tabla 36 muestra los resultados obtenidos de la BDO₅ del agua de dilución empleada (sin inóculo) con el objeto de verificar su calidad y la limpieza de los materiales, para ello se utiliza una porción de la misma y se lleva simultáneamente con las muestras a través de todo el procedimiento.

Tabla 36. Resultados de la DBO₅ del Agua de Dilución

Ensayo	Consumo de Oxígeno(mgO ₂ /L)	
	Blanco	
1	0,02	
2	0,10	
3	0,02	
4	0,02	
5	0,02	
6	0,09	
7	0,02	
8	0,04	
9	0,09	
10	0,10	
11	0,06	
12	0,03	
13	0,04	
14	0,10	
15	0,06	
Promedio	0,05	
Desviación estándar (s)	0,03	

Para considerar que el agua de dilución cumple con los requerimientos de calidad debe presentar un consumo de oxígeno disuelto (OD) menor de 0,2 mg/L (preferiblemente no mayor de 0,1 mg/L). La Tabla 36 indica un consumo promedio para el agua de dilución de 0,05mgO₂/L, el agua empleada para las diluciones en la determinación de la DBO cumple con las características adecuadas para ello debido a que el consumo de oxígeno disuelto máximo es de 0,1mg/L.

6.3.2 Pruebas de intercalibración para la DBO₅ En la Tabla 37 se presentan los datos con los que se evalúa la exactitud a través de los resultados de las pruebas interlaboratorios con *Kimberly Clark Corporation* (KCC). Se observa un error relativo inferior al 15% y coeficiente de variación menor al 10%, valores aceptables para este bioensayo.

Tabla 37. Resultados DBO₅ interlaboratorios KCC- CRC

Muestra	KCC	CRC	Er (%)	% Rec.
1	64	62	3	96,9
2	92	99	8	107,6
3	68	77	13	113,2
4	47	49	4	104,3
5	93	95	2	102,2
6	48	50	4	104,2
7	63	54	14	85,7
8	75	82	9	109,3
9	59	61	3	103,4
10	95	104	9	109,5
11	34	32	6	94,1
12	27	28	4	103,7
13	57	65	14	114,0
14	70	64	9	91,4
15	57	52	9	91,2
16	30	27	10	90,0
17	49	45	8	91,8
18	99	85	14	85,9
19	43	46	7	107,0
20	86	82	5	95,3
Promedio				100,0
Desviación estándar (s)				8,9
CV(%)				8,9

KCC: valor de referencia
CRC: valor reportado

Er: Error relativo
% Rec: Porcentaje de recuperación

La prueba t (Tabla 38) confirma que los porcentajes de recuperación no presentan diferencias significativas.

Tabla 38. Prueba t Porcentaje de recuperación DBO (teniendo en cuenta en promedio)

	Valor de prueba = 100			Hipótesis nula: Aceptada
	t	gl	Sig. (bilateral)	
Porcentaje de recuperación DBO (%)	,018	19	,985	

Al comparar los resultados obtenidos en el Laboratorio Ambiental con los reportados por KCC (Tabla 39), no se presentan diferencias significativas entre los valores, indicando una exactitud adecuada para la prueba de la DBO₅.

Tabla 39. Prueba t para muestras relacionadas DBO (KCC/CRC)

Par 1	Diferencias relacionadas	t	gl	Sig.	Hipótesis nula: Aceptada
				(bilateral)	
	DBO KCC - DBO CRC	-,108	19	,915	

6.3.3 Trazabilidad en las mediciones de la DBO₅ Al no contar con datos obtenidos del análisis de un estándar certificado (MRC), se evalúan los datos del estándar de glucosa-ácido glutámico (reactivos Merck) preparado en el laboratorio. Se utilizan los datos de precisión de la repetibilidad (Tabla 34) y no los de precisión intermedia que para cada día de análisis utiliza un estándar preparado e inóculo distintos.

La Tabla 40 muestra el resultado de la prueba t en la que se toma como valor de prueba el establecido para la mezcla empleada (198 ± 30 mgO₂/L), la hipótesis nula adoptada es que no existen diferencias significativas entre el valor establecido de la DBO y el valor determinado en el laboratorio ambiental de la CRC.

Tabla 40. Prueba t para la DBO₅ al 95% de confianza

Demanda Bioquímica de Oxígeno (mgO ₂ /L)	Valor de prueba = 198			Hipótesis nula: Aceptada
	T	gl	Sig. (bilateral)	
	2,023	5	,099	

La prueba de la Tabla 40 indica una significancia mayor a 0.05, se acepta la hipótesis de que no existen diferencias significativas entre el valor obtenido y el valor establecido para el estándar preparado. Sin embargo esto solo se toma como un indicativo o referencia pues no prueba la trazabilidad del método, para ello es necesario que el resultado se relacione con referencias especificadas de estándares nacionales o internacionales.

6.3.4 Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en agua

6.3.4.1 Incertidumbre tipo A para el análisis de la DBO en agua En el análisis de la demanda bioquímica de oxígeno la incertidumbre tipo A (u_A) se estima por medio de los datos obtenidos en la evaluación de la precisión intermedia del método.

$$u_A = u_p \quad (\text{Ecuación 13})$$

➤ **Incertidumbre de Precisión u_p** : Se estima empleando la ecuación 1 y los datos de la Tabla 35.

$$u_p = \frac{DER}{\sqrt{n}}$$

Donde, n es el número de mediciones

$$u_p = \frac{1,97\%}{\sqrt{21}}$$

$$u_p = 0,43\%$$

Se reemplaza el valor de u_p en la ecuación 13 quedando así calculado el aporte de la incertidumbre tipo A.

$$u_A = u_p = 0,43\%$$

$$u_A = 0,43\%$$

6.3.4.2 Incertidumbre tipo B para el análisis de la DBO en agua En la determinación general de la incertidumbre se tiene:

➤ **Determinación de la incertidumbre asociada al agua de dilución (u_{ad})**

Por cada litro de agua dilución preparada se agrega 1ml de: tampón fosfato (solución 1), solución de $MgSO_4$ (solución 2), solución de $FeCl_3$ (solución 3) y solución de $CaCl_2$ (solución 4).

a) Incertidumbre en la medición del instrumento de pesaje u_{mn} (para los nutrientes) Según el certificado de calibración Varsolix para la balanza 92SM-202A Precisa la incertidumbre al pesar en la balanza se calcula por medio de la Ecuación 14

$$u_{mr}(mg) = u_0 + b(m_i) \quad \text{(Ecuación 14)}$$

Donde, u_{mr} es la incertidumbre estándar en la masa del reactivo, $u_0 = 0,104083$, $b = 0,001024$ y m_i es la cantidad de reactivo que se pesa.

Para calcular u_{mn} se tiene:

$$u_{mn}(mg) = u_0 + b(m_i)$$

Donde, u_{mr} es la incertidumbre estándar en la masa del nutriente.

Se asume que la incertidumbre de la balanza presenta una distribución rectangular.

La Tabla 41 presenta los valores calculados para la incertidumbre en la pesada de los reactivos con los que se prepara el agua de dilución.

Tabla 41. Incertidumbre en la pesada de los reactivos para el agua de dilución

Solución	Reactivo	m_i (g)	u_{mn} (g)	A (g)	u_r (g)	CV (%)	u_{mi} (%)
1	KH ₂ PO ₄	8,5	1,1E ⁻⁴	2,2E ⁻⁴	6,35E ⁻⁵	7,47E ⁻⁴	0,0038
	K ₂ HPO ₄	21,75	1,3E ⁻⁴	2,6E ⁻⁴	7,51E ⁻⁵	3,45E ⁻⁴	
	Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	33,4	1,4E ⁻⁴	2,8E ⁻⁴	8,08E ⁻⁵	2,42E ⁻⁴	
	NH ₄ Cl	1,7	1,1E ⁻⁴	2,2E ⁻⁴	6,35E ⁻⁵	3,74E ⁻³	
2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	22,5	1,3E ⁻⁴	2,6E ⁻⁴	7,51E ⁻⁵	3,34E ⁻⁴	3,34E ⁻⁴
3	CaCl ₂	27,5	1,3E ⁻⁴	2,6E ⁻⁴	7,51E ⁻⁵	2,73E ⁻⁴	2,73E ⁻⁴
4	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,25	1,0E ⁻⁴	2,0E ⁻⁴	5,77E ⁻⁵	0,023	0,023

u_r = incertidumbre estándar de la masa del reactivo

u_{mi} = incertidumbre estándar de la masa del reactivo en porcentaje

Se toma como u_{mn} el mayor valor obtenido de u_{mi} correspondiente a 0,023%

b) Incertidumbre asociada a la pureza de los reactivos para preparar los nutrientes del agua de dilución (u_{pr}):

Tolerancia del fabricante: $\pm 0,5\%$ ($A = 1\%$)

Distribución: rectangular

Se determina primero la incertidumbre estándar de la pureza de los reactivos (u_{ep})

$$u_{ep} = \frac{A}{\sqrt{12}} = \frac{1\%_{\text{pureza}}}{\sqrt{12}} = 0,29\%_{\text{pureza}}$$

Los reactivos empleados en general tienen una pureza mínima del 99%, este valor se utiliza para el cálculo del aporte de incertidumbre en términos de coeficiente de variación encontrando un u_{pr} valor de 0,29%

c) Incertidumbre asociada al balón aforado de 1000mL u_b : En los instrumentos volumétricos es más probable que el valor verdadero esté más cerca del valor nominal que de los extremos, para calcular la incertidumbre típica se asume que las lecturas siguen una distribución triangular isósceles y su incertidumbre se estima a través de la ecuación 15:

$$u = \frac{A}{\sqrt{24}} \quad (\text{Ecuación 15})$$

En este caso:

Tolerancia por calibración del fabricante(a 20C): $\pm 0,4\text{mL}$, $A=0,8\text{mL}$.

$$u_{eb} = \frac{0,8\text{mL}}{\sqrt{24}} = 0,16\text{mL}$$

El valor nominal del volumen del balón aforado es 1000mL, obteniendo $u_b = 0,016\%$

d) Incertidumbre asociada a la pipeta para agregar 1mL de los reactivos
 u_{pip} : El fabricante declara que el volumen que mide la pipeta (aforada) es $1\text{mL} \pm 0,01\text{mL}$, para este tipo de material volumétrico se asume una distribución triangular isósceles con $A = 0,02$ y se calcula la desviación estándar u_{epip}

$$u_{epip} = \frac{A}{\sqrt{24}} = \frac{0,02\text{mL}}{\sqrt{24}} = 0,004\text{mL}$$

El valor nominal del volumen que mide la pipeta es 1mL, el valor de $u_{pip} = 0,4\%$

e) Incertidumbre debida a los nutrientes del agua de dilución (u_{nt})

Con los valores obtenidos de u_m , u_{pr} , u_b y u_{pip} por medio de la ley de propagación de errores se determina el valor de aporte de incertidumbre asociada a cada solución o nutriente preparado u_{ni} , luego se combinan para determinar el aporte total u_{nt}

$$u_{ni} = \sqrt{(u_m)^2 + (u_{pr})^2 + (u_b)^2 + (u_{pip})^2} \quad (\text{Ecuación 15})$$

Se calcula para cada solución preparada y adicionada con la respectiva pipeta

$$u_{n1} = \sqrt{(0,023)^2 + (0,29)^2 + (0,016)^2 + (0,4)^2} = 0,49\%$$

$$u_{n2} = \sqrt{(3,34E^{-4})^2 + (0,29)^2 + (0,016)^2 + (0,4)^2} = 0,49\%$$

$$u_{n3} = \sqrt{(2,73E^{-4})^2 + (0,29)^2 + (0,016)^2 + (0,4)^2} = 0,49\%$$

$$u_{n4} = \sqrt{(0,023)^2 + (0,29)^2 + (0,016)^2 + (0,4)^2} = 0,49\%$$

Se obtiene que el aporte a la incertidumbre de u_m , y u_b es despreciable comparado con el total que se obtiene de la suma de cuadrados de u_{pip} y u_b que determina el valor de u_{ni} , y se calcula la incertidumbre total en los nutrientes (u_{nt})

$$u_{nt} = \sqrt{(u_{n1})^2 + (u_{n2})^2 + (u_{n3})^2 + (u_{n4})^2} \quad (\text{Ecuación 16})$$

$$u_{nt} = \sqrt{(0,49)^2 + (0,49)^2 + (0,49)^2 + (0,49)^2}$$

$$u_{nt} = 0,98\%$$

Para estimar la incertidumbre debida al agua de dilución (u_{ad}) se considera la igualdad $u_{ad} = u_{nt}$ pues se garantiza la oxigenación del agua y se ha verificado la calidad del agua utilizada.

El aporte a la incertidumbre total en el análisis de la BDO del agua de dilución u_{ad} es 0,98%

➤ **Incertidumbre asociada a la pipeta con que se adiciona el inóculo (u_{hs})**

Se utiliza un Handy Step (Brand) con punta de 25mL, según el fabricante cuando se emplea específicamente esta punta se tiene un coeficiente de variación(CV) de 0,4% para el caso de este equipo se considera una distribución rectangular ($A=0,8\%$). La cantidad de inóculo que se adiciona para la incubación es 2mL.

$$u_{hs} = \frac{0,8\%}{\sqrt{12}} = 0,23\%$$

➤ **Incertidumbre asociada a la lectura de OD con el Oxímetro (u_{ox})** La Tabla 42 muestra el aporte de incertidumbre reportado por el fabricante y el cálculo de la incertidumbre del oxímetro asumiendo una que su distribución es rectangular.

Tabla 42. Incertidumbre en la lectura con el Oxímetro

Fuente de incertidumbre	CV(%)	u (%)
sonda de oxímetro (sonda stirrox G)	0,30%	0,17
oxímetro calibrado mg/L O2	0,50%	0,29
oxímetro calibrado % Sat	0,50%	0,29
oxímetro calibrado mbar (Pparcial)	0,50%	0,29
oxímetro calibrado T compensación	2,00%	1,15
Incertidumbre combinada del oxímetro (u_{cox})		1,27

Este valor calculado es el mismo para el estándar de chequeo, verificación de la calidad del agua de dilución, control de semilla y las muestras en general. Como el oxímetro se calibra el primer y quinto día del análisis pues a la lectura del OD se realiza dos veces, el aporte a la incertidumbre se debe contar 2 veces.

$$u_{ox} = 2(u_{cox}) \tag{Ecuación 17}$$

$$u_{ox} = 2(1,27) = 2,54\%$$

➤ **Incertidumbre asociada al Factor de dilución (u_{fd})**

El factor de dilución es

$$F = V_f / V_a \tag{Ecuación 18}$$

Donde, V_f es el volumen fijo de 300mL que es la capacidad de la botella de la DBO y V_a es el volumen de la alícuota de la muestra.

El V_a varía dependiendo de las características propias de la muestra en estudio, según la cantidad que se tome de la muestra se puede medir con transfer pipetas (volúmenes bajos), pipetas (volúmenes medios) y probetas (volúmenes altos).

Para la verificación de la calidad del agua de dilución $F = 1$, en el ensayo para el control de semilla $V_a = 2mL$ (volumen de inóculo) y en el chequeo con glucosa y ácido glutámico $V_a = 6mL$ (volumen de estándar).

La Tabla 43 presenta los aportes de incertidumbre en la toma del volumen de la alícuota con las diluciones empleadas más frecuentes.

Tabla 43. Incertidumbre en la medida del volumen de alícuota

Alícuota (mL)	Material	Capacidad (mL)	$A(\%)$	Distribución	$u_{va}(\%)$
0,1	Transfer pipeta	0,25	0,18	rectangular	0,05
0,5	Transfer pipeta	5	0,20	rectangular	0,06
1	Transfer pipeta	5	0,20	rectangular	0,06
5	Transfer pipeta	5	0,20	rectangular	0,06
10	Pipeta	10	1,6	triangular isósceles	0,33
25	Probeta	25	1,6	triangular isósceles	0,33
50	Probeta	100	3,0	triangular isósceles	0,61
100	Probeta	100	1,5	triangular isósceles	0,31
250	Probeta	250	0,64	triangular isósceles	0,13

u_{va} Incertidumbre en el volumen de alícuota

En la Tabla 43 se observa que u_{va} alcanza un máximo de 0,61%, éste es el valor que se toma como u_{fd} con el fin de abarcar todo el rango de los posibles valores que incertidumbre debida al volumen de la alícuota pueda tomar. Por lo tanto la incertidumbre u_{fd} es 0,61%.

➤ **Incertidumbre asociada a la incubación (u_{inc})** Las muestras se ponen en la incubadora Medilow a 20°C por 5 días.

El fabricante indica que un coeficiente de variación (CV) de 1,25%, se considera una distribución de incertidumbre rectangular y $A = 2,5\%$

$$u_{inc} = \frac{A}{\sqrt{12}} = \frac{2,5\%}{\sqrt{12}} = 0,72\%$$

El cálculo de la DBO (como lo muestra la Ecuación 12) depende del consumo de OD de la muestra, del consumo de OD del control de semilla y del factor de dilución

$$DBO_5 = (COD_M - COD_{CS}) \cdot F$$

La verificación de la calidad del agua de dilución y el chequeo con glucosa - ácido glutámico no determina el valor de la DBO, pero son el mecanismo de control que indica condiciones de trabajo adecuadas, lo cual repercute en el resultado del análisis.

➤ **Incertidumbre asociada a la verificación del agua de dilución (u_{vad})** El procedimiento para la verificación del agua de dilución es únicamente leer su OD inicial y el OD final (después de 5 días), por lo anterior el aporte de u_{vad} es el mismo que el de la incertidumbre asociada a la lectura del OD con el oxímetro u_{ox} . Este aporte no se considera en la estimación de la incertidumbre como se explicó anteriormente, además sería como dar una sobreestimación del aporte de incertidumbre.

➤ **Incertidumbre asociada al chequeo con glucosa-ácido glutámico (u_{cgg})** Se deben calcular las fuentes de incertidumbre en el ensayo de chequeo (aportes de incertidumbre no calculados anteriormente), pues se tiene la consideración de que el estándar de glucosa-ácido glutámico debe presentar una demanda bioquímica de oxígeno de $198 \pm 30 \text{mgO}_2/\text{L}$ (de lo contrario se debe revisar el método pues el valor obtenido indica error).

➤ **Incertidumbre en la medición del instrumento de pesaje u_{mc}** (para el estándar de chequeo de glucosa- ácido glutámico) Se pesan los reactivos en la misma balanza en que se pesan los reactivos para preparar el agua de dilución, de igual forma se utiliza la Ecuación 14 para el cálculo de incertidumbre.

$$u_{mr}(mg) = u_0 + b(m_i)$$

Donde, u_{mr} es la incertidumbre en la masa del reactivo, $u_0 = 0,104083$, $b = 0,001024$ y m_i es la cantidad de reactivo

La Tabla 44 muestra el cálculo del aporte de incertidumbre en la pesada de glucosa y ácido glutámico asumiendo una distribución

Tabla 44. Incertidumbre en la pesada de los reactivos del estándar de chequeo

Reactivo	m_i (g)	u_{mr} (g)	A (g)	u_r (g)	u_m (%)
Glucosa	0,15	$1,0\text{E}^{-4}$	$2,0\text{E}^{-4}$	$5,77\text{E}-05$	0,038
Ác. Glutámico	0,15	$1,0\text{E}^{-4}$	$2,0\text{E}^{-4}$	$5,77\text{E}-05$	0,038
Incertidumbre combinada en la pesada del estándar = u_{mc}					0,054

u_r = incertidumbre estándar de en la masa del reactivo

u_{mi} = incertidumbre estándar de en la masa del reactivo en porcentaje

➤ **Incertidumbre asociada a la pureza de los reactivos del estándar de chequeo u_{prc} :**

Tolerancia del fabricante: $\pm 0,5\%$ ($A = 1$)

Distribución: rectangular

Se determina primero la incertidumbre estándar de la pureza de los reactivos (u_{epc})

$$u_{epc} = \sqrt{\left(\frac{A_{glu\ cos\ a}}{\sqrt{12}}\right)^2 + \left(\frac{A_{ác.\ glutámico}}{\sqrt{12}}\right)^2} = \sqrt{\left(\frac{1\%_{pureza}}{\sqrt{12}}\right)^2 + \left(\frac{1\%_{pureza}}{\sqrt{12}}\right)^2} = 0,41\%_{pureza}$$

Los reactivos empleados tienen una pureza del 99%, el valor de u_{prc} es 0.41%.

➤ **Incertidumbre asociada al balón aforado u_b :** el aporte de incertidumbre del balón aforado de 1000mL ya se determinó en el cálculo de incertidumbre debida al agua de dilución $u_b = 0,016\%$

➤ **Incertidumbre asociada a la pipeta (graduada) para agregar el estándar (u_{pip}):** El fabricante indica que la pipeta con capacidad para medir 10mL, tiene una tolerancia de 0,08mL. La distribución es triangular isósceles y $A = 0,16mL$

$$u_{epip} = \frac{0,16mL}{\sqrt{24}} = 0,033mL$$

La cantidad de estándar de glucosa-ácido glutámico que se que se adiciona es 6mL por lo tanto:

$$u_{pip} = \frac{0.033mL}{6mL} \times 100 = 0.55\%$$

Cálculo de la incertidumbre en el chequeo con estándar de glucosa-ácido glutámico:

$$u_{cgg} = \sqrt{(u_{mc})^2 + (u_{prc})^2 + (u_b)^2 + (u_{pip})^2} \quad \text{(Ecuación 19)}$$

$$u_{cgg} = \sqrt{(0,054)^2 + (0,41)^2 + (0,016)^2 + (0,55)^2}$$

$$u_{cgg} = 0,69\%$$

Se observa que los valores de u_{mc} y u_b son despreciables comparados u_{cgg} prácticamente determinado por u_{prc} y u_{pip}

Se tienen los aportes de incertidumbre de los diferentes factores en la prueba de la DBO, se calcula el aporte de incertidumbre Tipo B a través de la combinación de las incertidumbres calculadas.

$$u_B = \sqrt{(u_{ad})^2 + (u_{hs})^2 + (u_{ox})^2 + (u_{fd})^2 + (u_{inc})^2 + (u_{egg})^2}$$

$$u_B = \sqrt{(0,98)^2 + (0,23)^2 + (2,54)^2 + (0,61)^2 + (0,72)^2 + (0,69)^2}$$

$$u_B = 2,97\%$$

6.3.5 Cálculo de incertidumbre final para el análisis de la demanda bioquímica de oxígeno en agua

Se determina el valor de la incertidumbre combinada u_C

$$u_C = \sqrt{(u_A)^2 + (u_B)^2}$$

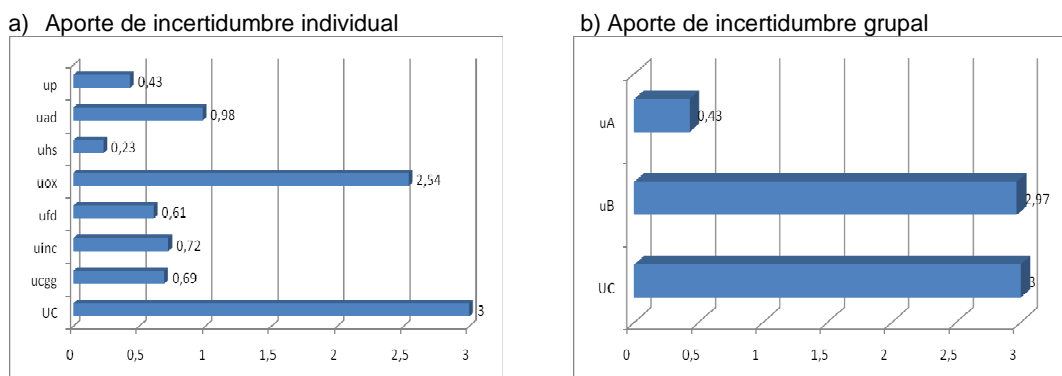
$$u_C = \sqrt{(0,43)^2 + (2,97)^2}$$

$$u_C = 3,00\%$$

En la Figura 10 se observa que el principal aporte a la incertidumbre en la determinación de la DBO es la lectura con el oxímetro, esto es debido a que en el equipo tiene varios parámetros de los que depende su calibración: pendiente(s), concentración de oxígeno(mg/L), saturación de oxígeno(%), presión parcial(mbar) y temperatura(°C).

El aporte de incertidumbre tipo B comprende una gran cantidad de fuentes de incertidumbre, lo que se ve reflejado en la grafica, pues es prácticamente la totalidad de la incertidumbre combinada u_C que cuenta con un leve incremento por efecto de u_A .

Figura 10. Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de la DBO₅ en el laboratorio ambiental



Se expresa la incertidumbre expandida U con un factor de cobertura $k=2$

$$U = u_c \times k$$

$$U = 3,00\% \times 2$$

$$U = 6,00\%$$

Finalmente, para el análisis de la demanda bioquímica de oxígeno realizado en el laboratorio ambiental de la CRC reportar el resultado como:

$$\text{DBO}_5 \text{ (mgO}_2\text{/L)} = \text{valor obtenido} \pm (\text{valor obtenido} \times 0,060) \quad (\text{Ecuación 20})$$

Resultado emitido aproximadamente con un 95% de confianza de que el valor verdadero de la muestra analizada se encuentre dentro del intervalo dado por el valor de la DBO obtenido y su incertidumbre.

6.4 ANÁLISIS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) EN AGUAS

Para esta técnica no se calculó el límite de detección y el límite de cuantificación, puesto que se realiza a través del **test Merck en cubetas** (Aprobado por la USEPA para aguas residuales).

El rango de trabajo es de 4mgO₂/L a 10000mgO₂/L. Los intervalos de medida típicos especificados por el proveedor son:

- 4 – 40 (mgO₂/L)
- 10-150 (mgO₂/L)
- 100-1500 (mgO₂/L)
- 500-10000 (mgO₂/L)

La DQO (demanda química de oxígeno) indica la cantidad de oxígeno procedente de sustancias oxidables contenidas en 1L de agua que bajo las condiciones de trabajo reaccionan con dicromato potásico. Se determina fotométricamente la concentración de los iones Cr₂O₇²⁻ (amarillos) no consumidos.

6.4.1 Evaluación de los datos provenientes de la validación de la DQO Para evaluar la precisión del método se prepararon los estándares de DQO con Hidrogenoftalato de potasio (MRC: 99,95% ± 0,05%).

La Tabla 45 presenta los resultados en el proceso de validación de la DQO con que se evalúa la precisión de la repetibilidad del método, se utiliza un estándar en cada uno de los intervalos de medida del método.

Tabla 45. Resultados de la DQO - Precisión en términos de repetibilidad

Ensayo	Rango de DQO			
	4 -40	10-150	100-1500	500-10000
	Valor Estándar (mgO ₂ /L)			
	10	100	500	5000
1	10,6	93	516	4977
2	10,4	101	490	4968
3	9,3	100	499	4968
4	11	108	499	4977
5	9,4	98	499	5070
6	10,6	90	498	5040
Promedio	10,2	98,3	500	5000
Desviación estándar	0,70	6,35	8,52	43,83
Coefficiente de variación (%)	6,85	6,45	1,70	0,88

Se observa en la Tabla 45 coeficientes de variación que son menores a 10%, obteniendo valores más bajos para este indicativo de precisión a medida que se realiza el análisis en los rangos más altos del método. Se obtiene un aumento en la desviación estándar proporcional al valor del estándar utilizado.

Debido a que la mayoría de resultados se ajustan a la distribución normal, se aplican pruebas paramétricas.

El análisis de varianza presentado en la Tabla 46 (sig. ,000) indica que existen diferencias significativas entre medias.

Tabla 46. ANOVA de DQO- Precisión de la repetibilidad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	104373089,145	3	34791029,715	68401,350	,000
Intra-grupos	10172,615	20	508,631		
Total	104383261,760	23			

Tabla 47. Prueba de Duncan de DQO - Precisión de repetibilidad

Estándar DQO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
10 mg/L	6	10,217			
100 mg/L	6		98,333		
500 mg/L	6			500,167	
5000 mg/L	6				5000,000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000.

La Tabla 47 muestra diferencia entre las medias de los estándares, siendo significativamente mayor la de 5000mgO₂/L

Se realiza el estudio de los resultados de precisión intermedia en la determinación de la demanda química de oxígeno (Tabla 48)

Tabla 48. Resultados de DQO - Precisión intermedia

Ensayo	Rango de DQO			
	4 -40	10-150	100-1500	500-10000
	Valor Estándar (mgO ₂ /L)			
	10	100	500	5000
Día 1	9,6	134	488	4974
Día 1	10,1	133	484	4986
Día 1	9,8	131	482	4990
Día 2	11,9	79	483	5180
Día 2	11,1	82	474	5155
Día 2	11,7	75	477	5161
Día 3	9,7	88	535	4890
Día 3	9,1	91	540	4899
Día 3	9,4	96	538	4912
Día 4	9,7	101	501	4694
Día 4	10,1	98	508	4743
Día 4	9,3	94	516	4808
Día 5	12,4	79	471	5042
Día 5	12,5	80	476	5075
Día 5	12,2	79	479	5164
Día 6	8,5	85	504	5022
Día 6	8,5	81	497	5052
Día 6	8,6	90	491	5117
Día 7	11,5	93	480	5153
Día 7	11,2	97	485	5165
Día 7	10,7	102	484	5145
Promedio	10,4	94,7	495	5016
Desviación estándar (s)	1,31	17,76	21,34	146,23
Coefficiente de variación (%)	12,68	18,76	4,31	2,92

Se observan CV(%) y s altos para los estándares de 10 mgO₂/L y 100mgO₂/L, mientras que los dos estándares superiores los CV son bajos.

La precisión intermedia del método se verifica con los datos del porcentaje de recuperación de los resultados de la DQO para los cuatro estándares. En la Tabla 49 se observa el mismo comportamiento para estándares bajos mayor desviación estándar y coeficientes de variación en los porcentajes de recuperación que los estándares altos

Para la demanda química de oxígeno se utiliza la siguiente denominación:

Estándar 1: 10 (mgO₂/L) Rango de 4 - 40 (mgO₂/L)

Estándar 2: 100 (mgO₂/L) Rango de 10 - 150 (mgO₂/L)

Estándar 3: 500 (mgO₂/L) Rango de 100 - 1500 (mgO₂/L)

Estándar 4: 5000 (mgO₂/L) Rango de 500 - 10000 (mgO₂/L)

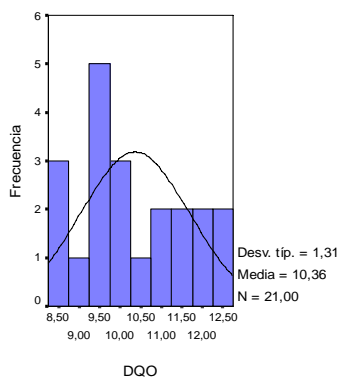
Tabla 49. Resultados de Porcentaje de recuperación DQO

Ensayo	Estándar			
	1	2	3	4
	Porcentaje de Recuperación (%)			
Día 1	96,0	134,0	97,6	99,5
Día 1	101,0	133,0	96,8	99,7
Día 1	98,0	131,0	96,4	99,8
Día 2	119,0	79,0	96,6	103,6
Día 2	111,0	82,0	94,8	103,1
Día 2	117,0	75,0	95,4	103,2
Día 3	97,0	88,0	107,0	97,8
Día 3	91,0	91,0	108,0	98,0
Día 3	94,0	96,0	107,6	98,2
Día 4	97,0	101,0	100,2	93,9
Día 4	101,0	98,0	101,6	94,9
Día 4	93,0	94,0	103,2	96,2
Día 5	124,0	79,0	94,2	100,8
Día 5	125,0	80,0	95,2	101,5
Día 5	122,0	79,0	95,8	103,3
Día 6	85,0	85,0	100,8	100,4
Día 6	85,0	81,0	99,4	101,0
Día 6	86,0	90,0	98,2	102,3
Día 7	115,0	93,0	96,0	103,1
Día 7	112,0	97,0	97,0	103,3
Día 7	107,0	102,0	96,8	102,9
Promedio	103,6	94,7	99,0	100,3
Desviación estándar	13,14	17,76	4,27	2,92
Coeficiente de variación (%)	12,7	18,8	4,31	2,92

Las Figuras 11 a 14 representan la distribución de los datos de precisión intermedia de los cuatro estándares de la DQO.

Figura 11. Histogramas de frecuencias para determinación de la DQO para precisión intermedia del Estándar 1

a) Análisis de DQO



b) Porcentaje de recuperación de DQO

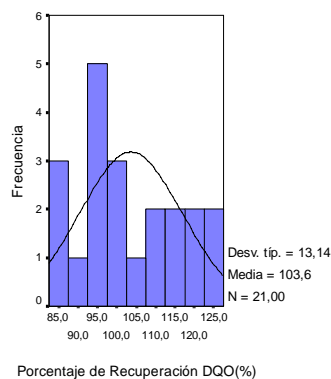
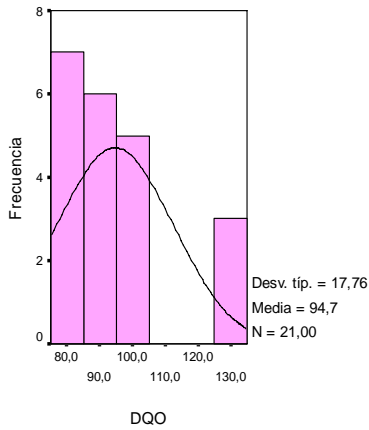


Figura 12. Histogramas de frecuencias para determinación de la DQO para precisión intermedia del Estándar 2

a) Análisis de DQO



b) Porcentaje de recuperación de DQO

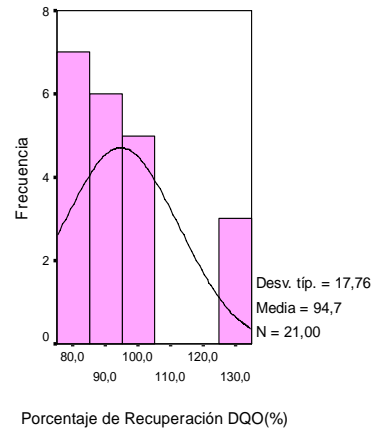
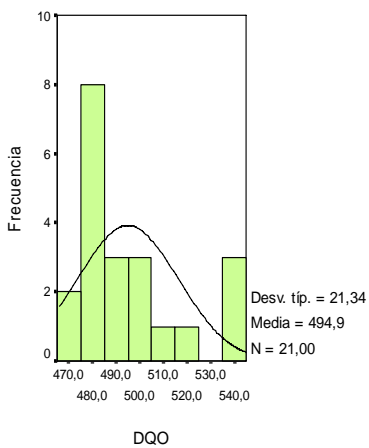
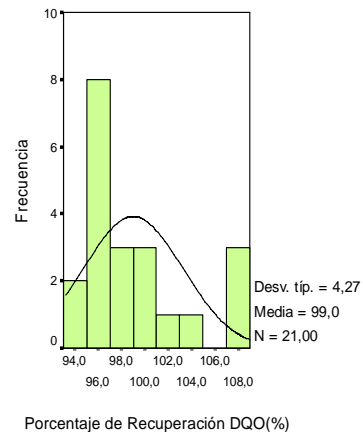


Figura 13. Histogramas de frecuencias para determinación de la DQO para precisión intermedia del Estándar 3

a) Análisis de DQO



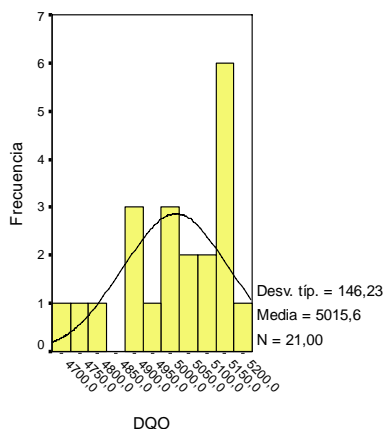
b) Porcentaje de recuperación de DQO



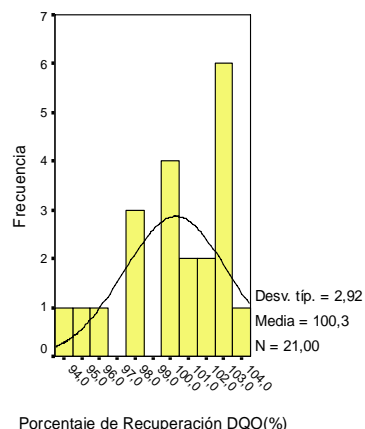
Las Figuras 11 a 13 presentan mayor frecuencia de datos en los valores bajos del rango, al contrario de lo que se presenta en la determinación de la DQO para el estándar más alto en el cual se presenta una inclinación hacia el extremo superior del rango de mediciones.

Figura 14. Histogramas de frecuencias para determinación de la DQO para precisión intermedia del Estándar 4

a) Análisis de DQO



b) Porcentaje de recuperación de DQO



La prueba de Kruskal Wallis (Tabla 50) evidencia que existen diferencias significativas entre las medianas de los datos de precisión intermedia para los estándares de DQO

Tabla 50. Prueba de Kruskal Wallis para la DQO- Precisión intermedia

Estadísticos de contraste(a,b)	
DQO	
gl	3
Sig. asintót.	,000

a Prueba de Kruskal-Wallis
b Variable de agrupación: Estándar

La prueba de Tukey (Tabla 51) muestra cuatro grupos diferentes correspondientes a los estándares de cada uno de los rangos del método de la DQO con diferencias entre las medianas siendo significativamente mayor la del estándar de 5000mgO₂/L

Tabla 51. Prueba de Tukey para la DQO - Precisión intermedia

Estándar	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
10mg/L	21	10,362			
100mg/L	21		94,667		
500mg/L	21			494,905	
5000mg/L	21				5015,571
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 21,000.

Se realiza las pruebas de Kruskal Wallis y de Tukey (Tablas 52 y 53 respectivamente) a los datos obtenidos para el porcentaje de recuperación en la DQO.

Tabla 52. Prueba de Kruskal Wallis para la DQO- Porcentaje Recuperación

Estadísticos de contraste(a,b)	
Porcentaje de Recuperación DQO(%)	
gl	3
Sig. asintót.	,008

a Prueba de Kruskal-Wallis
b Variable de agrupación: Estándar

Tabla 53. Prueba de Tukey para la DQO- Porcentaje Recuperación

Estándar	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
100mg/L	21	94,667
500mg/L	21	98,981
5000mg/L	21	100,310
10mg/L	21	103,619
Sig.		,059

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 21,000.

En la prueba de Kruskal Wallis (Tabla 52) se presentan diferencias significativas entre las medianas de los cuatro grupos de porcentaje de recuperación de la DQO, se observa que la prueba de Tukey (Tabla 53) realizada para encontrar entre cuales grupos de datos se presentan dichas diferencias indican lo contrario, las medianas de los cuatro grupos juntos (sig. 0,059), por lo tanto se establece un porcentaje de recuperación promedio de 99,4%

Se encontró para el porcentaje de recuperación de la DQO en la mayoría de los casos coeficientes de variación aceptables y el promedio de los porcentajes de recuperación es cercano al 100% quedando rectificadas la precisión del método.

6.4.2 Pruebas de intercalibración para DQO Se evalúa la exactitud del método de la DQO con los datos de los ejercicios de intercalibración con *Kimberly Clark Corporation* (KCC) presentados en la Tabla 54.

Tabla 54. Resultados de DQO interlaboratorios KCC- CRC

Muestra	KCC	CRC	Er (%)	% Rec.
1	118	120	2	101,7
2	65	67	3	103,1
3	127	122	4	96,1
4	60	58	3	96,7
5	45	41	9	91,1
6	50	46	8	92,0
7	33	33	0	100,0
8	96	93	3	96,9
9	29	32	10	110,3
10	96	98	2	102,1
11	33	36	9	109,1
Promedio				99,9
Desviación estándar (s)				6,2
CV(%)				6,2

KCC: valor de referencia
CRC: valor reportado

Er: Error relativo
% Rec: Porcentaje de recuperación

En las pruebas de intercalibración se obtiene un alto porcentaje de recuperación (99,9%) para la DQO y desviación estándar y CV lo suficientemente bajos como para establecer que la determinación de la DQO empleando Test en cubetas Merck es exacto. Lo anterior es confirmado con las pruebas de las Tablas 55 y 56 en las que es evidente que no existen diferencias significativas entre los porcentajes de recuperación de la DQO y el promedio, ni tampoco entre el valor reportado por KCC y el obtenido en la CRC.

Tabla 55. Prueba t Porcentaje de recuperación DQO (teniendo en cuenta en promedio)

	Valor de prueba = 99.9			Hipótesis nula: Aceptada
	T	gl	Sig. (bilateral)	
Porcentaje de recuperación DQO (%)	,005	10	,996	

Tabla 56. Prueba t para muestras relacionadas DQO (KCC/CRC)

Par 1	Diferencias relacionadas DQO KCC - DQO CRC	t	gl	Sig.	Hipótesis nula: Aceptada
				(bilateral)	
		,582	10	,574	

6.4.3 Trazabilidad en las mediciones de la DQO La trazabilidad del método se estudia a través del análisis de un estándar de DQO (Tabla 57). Se emplea material de referencia certificado VHG Labs.

Especificaciones: Valor nominal 77mg/L y desviación estándar 6,19mg/L.

Tabla 57. Contraste de significación para MRC VHG Labs para DQO

Ensayo	Estándar 77mgO ₂ /L	Porcentaje de recuperación (%)
1	73	94,8
2	78	101,3
3	71	92,2
4	76	98,7
5	74	96,1
6	76	98,7
Promedio	74,7	97,0
Desviación estándar	2,50	3,25
Coefficiente de variación (%)	3,35	3,35

En la Tabla 58 se encuentran los resultados de la prueba de significancia, para esta prueba se adopta como Hipótesis nula que no existen diferencias significativas entre el valor obtenido y el del MRC (VHG labs). Se comprueba con la prueba t (Tabla 59) que no existe diferencia significativa entre el valor reportado por el proveedor y el obtenido en el Laboratorio Ambiental, por lo tanto se considera el método trazable.

Tabla 58. Prueba t para DQO al 95% de confianza

Valor de prueba = 77				
Estándar DQO mgO ₂ /L	T	gl	Sig. (bilateral)	Hipótesis nula: Aceptada
	-2,283	5	,071	

Tabla 59. Prueba t para una muestra (estándar de DQO VHG Labs)

Valor de prueba = 74.7				
	t	gl	Sig. (bilateral)	Hipótesis nula: Aceptada
DQO	-,033	5	,975	

En referencia a los porcentajes de recuperación la prueba t (Tabla 60) muestra que tampoco existe diferencia significativa entre los diferentes valores .

Tabla 60. Prueba t porcentaje de recuperación DQO MRC

Valor de prueba = 97.0				
Porcentaje de recuperación DQO	t	gl	Sig. (bilateral)	Hipótesis nula: Aceptada
	-,025	5	,981	

6.4.4 Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de la demanda química de oxígeno en agua

6.4.4.1 Incertidumbre tipo A para el análisis de la DQO en agua Para calcular la incertidumbre tipo A de la DQO se utilizan al igual que para pH y conductividad las ecuaciones 2 y 3, sin embargo se debe aclarar, que los datos con los que se calcula el aporte de la precisión son de estándares diferentes al estándar con el que se evaluó la trazabilidad del método, es decir u_p corresponde a la incertidumbre de precisión del método (obtenida a partir de los datos de porcentaje de recuperación intermedia de la Tabla 49) y no es calculada con los datos del material VHG Labs que es menor.

$$u_A = u_t$$
$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2}$$

Donde u_p es la incertidumbre de precisión de método y u_{MRC} es la incertidumbre asociada al material VHG Labs.

➤ **Incertidumbre de Precisión u_p :** los datos de la Tabla 61 muestran la información de precisión intermedia del método

Tabla 61. Coeficiente de Variación de Precisión Intermedia para la DQO

Estándar	% Recuperación	CV (%) o DER(%)
1	103,6	12,7
2	94,7	18,8
3	99,0	4,31
4	100,3	2,92
Promedio	99,4	9,68

Teniendo en cuenta que cada estándar pertenece a un rango diferente de lectura de la DQO, se calcula un coeficiente de variación para cada rango. Por esta razón no se promedian, sino que se toma el mayor valor CV=18,8% para calcular la incertidumbre

$$u_p = \frac{DER}{\sqrt{n}}$$

Donde, n= 84 (número de mediciones)

$$u_p = \frac{18,8\%}{\sqrt{84}}$$

$$u_p = 2,05\%$$

➤ **Incertidumbre de Material de Referencia para la DQO u_{MRC}** : la distribución de la incertidumbre en el MRC se considera uniforme o rectangular, en base a las especificaciones del fabricante (valor nominal =77mg/L y s=6.19mg/L) se tiene: CV=8,04%, por lo tanto $A = 16,08\%$

$$u_{MRC} = A / \sqrt{12} = 16,08\% / \sqrt{12} = 4,64\%$$

Reemplazando u_p y u_{MRC}

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2} = \sqrt{(2,05\%)^2 + (4,64\%)^2}$$

$$u_t = 5,07\%$$

Así queda calculada la incertidumbre tipo A

$$u_A = u_t = 5,07\%$$

$$u_A = 5,07\%$$

6.4.4.2 Incertidumbre tipo B para el análisis de la DQO en agua El procedimiento para el análisis de la DQO empleando el Test en cubetas Merck es relativamente sencillo, comienza con la preparación de la solución para el test (en cada uno de los rangos) a la cual se le adiciona la muestra, seguido por una digestión y finalmente una lectura fotométrica en el SQ 118. En este orden se realiza la determinación del aporte de incertidumbre tipo B para la DQO.

➤ **Incertidumbre debida a la preparación de los reactivos del test en celdas de reacción (u_{prt})**: se cuenta con los certificados de análisis Merck de las soluciones con las que realiza el test, sin embargo por confidencialidad la empresa no da especificaciones sino que indica la conformidad del reactivo.

En la Tabla 62 se observan las cantidades que se deben adicionar de cada reactivo para los diferentes rangos del análisis.

Tabla 62. Reactivos y cantidades empleadas en el test en cubetas para DQO

Rango (mg/L)	Código Solución A	Código Solución B	VA (mL)	VB (mL)
4 - 40	14538	14681	0.3	2.85
10 - 150	14538	14682	0.3	2.85
100 - 1500	14538	14539	0.3	2.3
500 - 10000	14679	14680	2.2	1.8

VA: Volumen de solución A, VB: Volumen de solución B,

La incertidumbre debida a la preparación de los reactivos se calcula a partir de la incertidumbre en la medición del volumen de los mismos (u_{vr}) (Tabla 63) para los cuatro rangos en que se determina la demanda química de oxígeno, $u_{prt} = u_{vr}$ se calcula la incertidumbre asociada a la pipeta con la que se prepara el reactivo para la digestión. La solución A en los rangos que se emplean 0,3mL se adiciona con la transferpipeta de capacidad 0,25mL y la solución A en el rango 500 – 10000mg/L se adiciona con la transferpipeta de capacidad 5mL. La solución B se adiciona en todos los casos con la transferpipeta de capacidad 5mL.

Los aportes de incertidumbre en la medición con las transferpipetas se calcularon en la estimación de las fuentes de incertidumbre de la DBO...véase sección 6.3.2.2...

La incertidumbre en la medición con la transferpipeta de 0,25mL es 0,05% y la medición con transferpipeta de 5mL tiene un 0,06% de aporte a la incertidumbre, dichos valores se combinan y se obtiene la incertidumbre en el volumen de los reactivos u_{vr} para cada rango, considerando una distribución rectangular.

Tabla 63. u_{vr} para cada rango de medida de la DQO

Rango(mg/L)	u_{VA} (%)	u_{VB} (%)	u_{vr} (%)
4 - 40	0,05	0,06	0,078
10 - 150	0,05	0,06	0,078
100 - 1500	0,05	0,06	0,078
500 - 10000	0,06	0,06	0,085

En la Tabla 63 se observa que el mayor valor de u_{vr} es de 0,085% (para el rango 500-10000mg/L), se considera este el valor de u_{prt} en general.

Por lo tanto $u_{prt} = 0,085\%$

➤ **Incertidumbre asociada a la pipeta con que se adiciona la muestra (u_{hs})**

El volumen de muestra utilizado para la DQO en los rangos 4-40, 10-150 y 100-1500 mg/L es de 3mL, para el rango de 500-10000 mg/L es 1mL. La muestra se adiciona empleando el Handy Step (Brand) con punta de 25mL, el cálculo del aporte de incertidumbre en las mediciones con este instrumento se realizó anteriormente ... véase la sección 6.3.2.2 ...

$$u_{hs} = 0,23\%$$

➤ **Incertidumbre asociada al proceso de digestión u_d :** Las muestras en la

celda de reacción se ponen en el termorreactor a 148°C por 2 horas.

Con los datos del fabricante se tiene CV de 1,35%, se considera una distribución de incertidumbre rectangular y $A = 2,7\%$

$$u_d = \frac{A}{\sqrt{12}} = \frac{2,7\%}{\sqrt{12}} = 0,78\%$$

➤ **Incertidumbre asociada al instrumento fotométrico u_f** : El fotómetro SQ 118 tiene una precisión de 0,50% y exactitud de 1%, la combinación de estos factores representa una incertidumbre estándar de 1,12%, Se determina el valor de u_f partiendo de que el instrumento presenta una distribución de incertidumbre uniforme y $A = 2,24\%$

$$u_f = \frac{A}{\sqrt{12}} = \frac{2,24\%}{\sqrt{12}} = 0,65\%$$

➤ **Incertidumbre asociada al método empleado (Test en cubetas) u_{tc}** : La Tabla 64 muestra los coeficientes de variación del procedimiento para los test Spectroquant en cada rango de la DQO, esta información se encuentra en los datos característicos de la calidad del test Merck empleado.

Tabla 64. u_{tc} del test Merck en cubetas

Rango(mg/L)	CV (%)	A(%)	u_{tc} (‰)
4 – 40	1,4	2,8	0,81
10 – 150	1,4	2,8	0,81
100 – 1500	0,7	1,4	0,40
500 – 10000	0,6	1,2	0,35

El valor más alto de la incertidumbre del método se obtiene en los rangos 4-40 mgO₂/L y 10-150mg/L donde $u_{etc} = 0,81\%$ éste se toma como el aporte a la incertidumbre del método en general, por lo tanto:

$$u_{tc} = 0,81\%$$

Se aplica la ley de propagación de errores a todos los aportes a la incertidumbre tipo B y se determina u_B

$$u_B = \sqrt{(u_{pr})^2 + (u_{hs})^2 + (u_d)^2 + (u_f)^2 + (u_{tc})^2} \quad (\text{Ecuación 21})$$

$$u_B = \sqrt{(0,085)^2 + (0,23)^2 + (0,78)^2 + (0,65)^2 + (0,81)^2}$$

$$u_B = 1,32\%$$

6.4.5 Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de la DQO en agua

u_C es calculada a partir de la combinación de las incertidumbres u_A y u_B

$$u_C = \sqrt{(u_A)^2 + (u_B)^2}$$

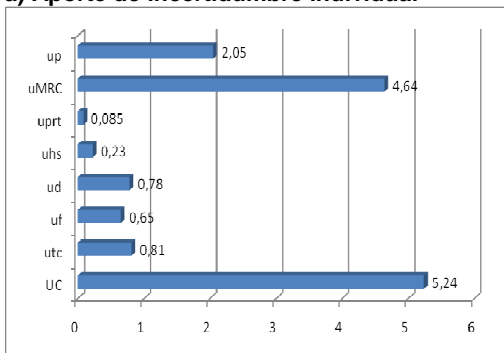
$$u_C = \sqrt{(5,07)^2 + (1,32)^2}$$

$$u_C = 5,24\%$$

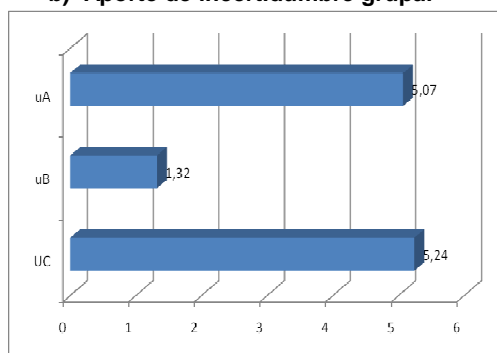
En la figura 15 se muestra la contribución de las fuentes de incertidumbre en la DQO a la incertidumbre combinada; en forma individual la incertidumbre del MRC es la mayor siendo determinante para que la incertidumbre tipo A sea superior a la tipo B.

Figura 15. Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de DQO en el laboratorio ambiental

a) Aporte de incertidumbre individual



b) Aporte de incertidumbre grupal



La incertidumbre expandida U con un factor de cobertura $k=2$ se determina a continuación:

$$U = u_C \times k$$

$$U = 5,24\% \times 2$$

$$U = 10,48\%$$

Por lo tanto el resultado de la DQO realizada en el laboratorio ambiental se reporta:

$$\text{DQO (mg/L)} = \text{valor obtenido} \pm (\text{valor obtenido} \times 0,1048) \quad (\text{Ecuación 22})$$

El resultado se emite con un 95,45% de confianza.

6.5 ANÁLISIS DE SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)

El límite de detección es 0,1mg, este valor corresponde a la precisión de la balanza Precisa 92SM-202A utilizada en el análisis de SST.

El límite de cuantificación es de 10 mg/L

El método es aplicable a aguas potables, superficiales, salinas, residuales domésticas e industriales en un rango de 10 a 20000mg/L.

Los sólidos suspendidos totales corresponden a la cantidad de material retenido después de pasar un determinado volumen de muestra a través de filtros de fibra de vidrio (previamente pesados) con ayuda de una bomba de vacío. Posteriormente se seca el filtro a 105 °C y se determina el peso del residuo por diferencia de pesos.

El cálculo de los SST se realiza utilizando la ecuación:

$$SST(mg / L) = \frac{(A - B) \times 1000}{V_m} \quad (\text{Ecuación 23})$$

Donde: A = peso del filtro + residuo seco (mg), B = peso del filtro (mg) y V_m = volumen de muestra (mL)

6.5.1 Evaluación de los datos provenientes de la validación de SST La precisión del método para determinar los SST en una muestra de agua se evalúa inicialmente con los datos de precisión de la repetibilidad que se presentan en la Tabla 65. Para tres estándares de caolín preparados en el laboratorio ambiental.

Tabla 65. Resultados de SST - Precisión de la repetibilidad

Ensayo	Valor Estándar Caolín(mg/L)	
	100	500
1	95,0	455
2	94,4	452
3	92,2	465
4	95,5	490
5	95,6	490
6	94,4	475
Promedio	94,52	471
Desviación estándar	1,25	16,7
Coefficiente de variación (%)	1,32	3,54

Se observan desviaciones estándar bajas y coeficientes de variación muy bajos (< 5%) para ambos patrones que indican la precisión del método desde la repetibilidad.

El análisis de varianza de la Tabla 66 (sig. ,000) presenta diferencias significativas entre medias como es de esperarse, debido a que son dos estándares con valores muy diferentes.

Tabla 66. ANOVA de SST- Precisión de la repetibilidad

Suspendidos Totales(mg/L)	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	425595,668	1	425595,668	3043,008	,000
Intra-grupos	1398,602	10	139,860		
Total	426994,269	11			

Se muestran a continuación los resultados de los análisis de precisión intermedia (Tabla 67) obtenidos al analizar un estándar de caolín preparado en el laboratorio ambiental, junto con el porcentaje de recuperación.

Tabla 67. Resultados SST y Porcentaje de recuperación-Precisión intermedia

Ensayo	Estándar Caolín 100mg/L	Porcentaje de Recuperación (%)
Día 1	100	100
Día 1	99,4	99,4
Día 1	100	100
Día 2	91,4	91,4
Día 2	92,9	92,9
Día 2	93,9	93,9
Día 3	94,4	94,4
Día 3	92,2	92,2
Día 3	95,4	95,4
Día 4	91,3	91,3
Día 4	91,8	91,8
Día 4	91,2	91,2
Día 5	91,0	91,0
Día 5	91,0	91,0
Día 5	91,1	91,1
Día 6	91,8	91,8
Día 6	92,8	92,8
Día 6	95,2	95,2
Día 7	91,9	91,9
Día 7	91,1	91,1
Día 7	91,3	91,3
Promedio	93,4	93,4
Desviación estándar	3,0	3,0
Coefficiente de variación (%)	3,22	3,22

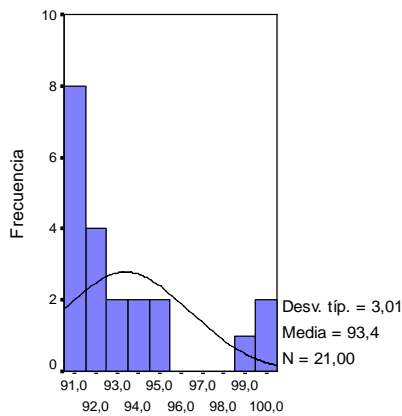
Se observan valores comprendidos dentro de los límites apropiados (desviación estándar 3,0 mg/L y coeficiente de variación 3,22% para el valor de sólidos

suspendidos y el porcentaje de recuperación) para garantizar la precisión del método.

Se presenta la distribución de los datos de sólidos suspendidos totales y porcentaje de recuperación de precisión intermedia de 100mg/L en la Figura 16, mostrando que la mayoría de los valores están comprendido en el rango bajo a medio

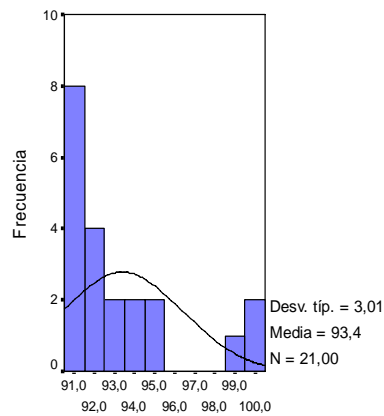
Figura 16. Histogramas de frecuencias para la determinación de SST en precisión intermedia

a) Análisis de SST



Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)

b) Porcentaje de recuperación de SST



Porcentaje de Recuperación SST (%)

6.5.2 Pruebas de intercalibración para SST La Tabla 68 presenta los datos de intercalibración con *Kimberly Clark Corporation* (KCC) en la determinación de SST.

Tabla 68. Resultados de SST interlaboratorios KCC- CRC

Muestra	KCC	CRC	Er (%)	% Rec.
1	75	76	1	101,3
2	88	84	5	95,5
3	59	55	7	93,2
4	67	66	1	98,5
5	38	41	8	107,9
6	32	29	9	90,6
7	40	45	13	112,5
8	94	93	1	98,9
9	75	75	0	100,0
10	36	36	0	100,0
11	65	65	0	100,0
12	51	52	2	102,0
13	21	22	5	104,8
14	61	66	8	108,2
15	67	71	6	106,0
16	147	150	2	102,0
17	87	95	9	109,5

Continuación Tabla 68.

18	38	38	0	100,0
19	78	84	8	107,7
20	105	112	7	106,7
21	46	45	2	97,8
22	21	23	10	109,5
23	82	82	0	100,0
24	52	48	8	92,3
25	38	39	3	102,6
Promedio				101,9
S				5,7
CV (%)				5,6

KCC: valor de referencia
CRC: valor reportado

Er: Error relativo
% Rec: Porcentaje de recuperación

La Tabla 69 indica el resultado de la prueba t considerando el promedio del porcentaje de recuperación obtenido del estándar de caolín

Tabla 69. Prueba t Porcentaje de recuperación SST intercalibración (teniendo en cuenta en promedio)

Porcentaje de recuperación SST (%)	Valor de prueba = 101.9			Hipótesis nula: Aceptada
	T	gl	Sig. (bilateral)	
	-,009	24	,993	

Se observa que la significancia es superior a 0.05 por lo tanto se acepta la hipótesis nula demostrando que se puede aplicar un porcentaje de recuperación promedio para la metodología, de 101.9%. Por lo tanto, el método de análisis empleado para la determinación de SST se considera exacto, esta afirmación se corrobora con los datos de la Tabla 70 en donde se observan los resultados de comparación entre los valores de SST de las muestras de KCC y los correspondientes a los obtenidos en el análisis de la CRC, demostrando igualmente que no existe diferencia significativa entre dichos valores

Tabla 70. Prueba t para muestras relacionadas SST (KCC/CRC)

Par 1	Diferencias relacionadas SST KCC – SST CRC	t	gl	Sig.	Hipótesis nula: Aceptada
				(bilateral)	
		-1,738	24	,095	

6.5.3 Trazabilidad en las mediciones de SST Para la verificación de la trazabilidad del método se empleo material de referencia certificado VHG Labs para SST. Los resultados se muestran en la Tabla 71.

Especificaciones: Valor nominal 41,02mg/L y desviación estándar 3,19mg/L.

Tabla 71. Contraste de significación para MRC VHG Labs para SST

Ensayo	Estándar 41,02mg/L	Porcentaje de recuperación (%)
1	41,3	100,7
2	38,7	94,3
3	45,3	110,4
4	51,3	125,1
5	44,0	107,3
Promedio	44,1	107,6
Desviación estándar	4,75	11,6
Coeficiente de variación (%)	10,8	10,8

Es notorio que existe un dato muy alejado de los otros, el de 51.3mg/L, por lo tanto, utilizando el criterio empleado para evitar que el promedio se vea afectado por valores muy alejados, mediante la fórmula:

$$\bar{X} \pm 2s' , \text{ donde } s' = \frac{s}{\sqrt{n-1}}$$

Se encuentra que el rango está comprendido entre 39.47 y 48.87mg/L, por lo tanto se descarta el punto mencionado, obteniendo los datos mostrados en la Tabla 72

Tabla 72. Contraste de significación para MRC VHG Labs para SST (verificado)

Ensayo	Estándar 41,02mg/L	Porcentaje de recuperación (%)
1	41,3	100,7
2	38,7	94,3
3	45,3	110,4
4	44,0	107,3
Promedio	42,3	103,2
Desviación estándar	2,94	7,2
Coeficiente de variación (%)	6,94	7,0

Como se aprecia en la Tabla 72 se obtienen valores de coeficientes de variación inferiores al 7% y valores bajos de desviación estándar tanto para los valores de SST como para los porcentajes de recuperación.

La prueba de trazabilidad (Tabla 73) muestra que no existen diferencias significativas entre los valores de SST obtenidos en la medida de la CRC y el valor nominal del estándar (Sig.>0.05) con lo que se verifica la trazabilidad.

Tabla 73. Prueba t para SST del MRC al 95% de confianza (en función del valor nominal del estándar)

Valor de prueba = 41.02			
	t	gl	Sig. (bilateral)
Sólidos Suspendidos Totales mg/L	,889	3	,439

Hipótesis Nula: Aceptada

La prueba t realizada con el valor promedio (Tabla 74) de SST arroja el mismo resultado

Tabla 74. Prueba t de SST para el MRC (teniendo en cuenta el promedio)

Valor de prueba = 42.33			
	T	gl	Sig. (bilateral)
Sólidos Suspendidos Totales mg/L	-,003	3	,997

Hipótesis Nula: Aceptada

En referencia a los porcentajes de recuperación, la prueba t (Tabla 75) muestra que tampoco existe diferencia significativa entre los diferentes valores y el valor promedio confirmando así la confiabilidad del método

Tabla 75. Prueba t para porcentaje de recuperación SST del MRC

Valor de prueba = 103.17			
	t	Gl	Sig. (bilateral)
Porcentaje de recuperación SST MRC (%)	,001	3	,999

Hipótesis Nula: Aceptada

6.5.4 Estimación de las fuentes de incertidumbre en la determinación de los sólidos suspendidos totales en agua

6.5.4.1 Incertidumbre tipo A para el análisis de SST en agua El cálculo de la incertidumbre tipo A se realiza a través de las ecuaciones 4 y 5, la incertidumbre se calcula con los datos del estándar VHG Labs para evaluar la trazabilidad del método.

$$u_A = u_t$$

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2}$$

Donde u_p es la incertidumbre de precisión de método al analizar el MRC y u_{MRC} es la incertidumbre asociada al material VHG Labs.

➤ **Incertidumbre de Precisión u_p :** En la evaluación de la precisión intermedia del método se obtuvo un coeficiente de variación de 3.22% como se observa en la Tabla 67

$$u_p = \frac{DER}{\sqrt{n}}$$

donde, n es 21

$$u_p = \frac{3.22\%}{\sqrt{21}}$$

$$u_p = 0.70\%$$

➤ **Incertidumbre de Material de Referencia para SST u_{MRC} :** según el fabricante del estándar de SST el valor nominal es 41,02mg/L y la desviación estándar 3,19mg/L, por lo tanto el coeficiente de variación es de 7,78% y $A = 15,56\%$ (La distribución de incertidumbre es uniforme)

$$u_{MRC} = A / \sqrt{12} = 15,56\% / \sqrt{12} = 4,49\%$$

Reemplazando u_p y u_{MRC} en la ecuación 5

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_{MRC}^2} = \sqrt{(0,70\%)^2 + (4,49\%)^2}$$

$$u_t = 4,54\%$$

Así queda calculada la incertidumbre tipo A

$$u_A = u_t = 4,54\%$$

$$u_A = 4,54\%$$

6.5.4.2 Incertidumbre tipo B para el análisis de SST en agua El análisis de SST consiste en pasar una alícuota de la muestra de agua empleando succión al vacío por un crisol Gooch con el filtro (previamente pesado estabilizado por duplicado), luego se seca por 1 hora, se coloca en desecador (media hora) y se pesa (también por duplicado a partir del secado). No se considera el aporte de incertidumbre del desecador y la sílica gel, ni tampoco la del cronómetro

➤ **Incertidumbre en el total de las pesadas (u_{pT}):** para estimar la incertidumbre en la pesada con la balanza Precisa 92SM-202A se debe tener en cuenta las especificaciones sobre la resolución y linealidad que informa el fabricante. También se debe contar con la calibración de la misma.

- La resolución de la balanza es 0,1mg ($A=0,1mg$) y se considera que la incertidumbre en la resolución (u_{rb}) es distribución rectangular

$$u_{rb} = A/\sqrt{12} = 0,1mg/\sqrt{12} = 0,029mg$$

En cuanto a la linealidad el fabricante indica que el máximo error de pesada es $\pm 0,2mg$. La distribución de la incertidumbre en la linealidad (u_l) es uniforme y $A = 0,4mg$.

$$u_l = 0,4mg/\sqrt{12} = 0,12mg$$

Se determina la incertidumbre estándar en la pesada con la balanza (u_{epb}):

$$u_{epb} = \sqrt{(u_{rb})^2 + (u_l)^2} \quad (\text{Ecuación 24})$$

$$u_{epb} = \sqrt{(0,029)^2 + (0,12)^2} = 0,12mg$$

Los crisoles utilizados en el laboratorio ambiental de la CRC tienen pesos que se encuentran entre los 18 y 22 gramos aproximadamente, para expresar la incertidumbre en la pesada con la balanza (u_{pb}) en términos de porcentaje, se realiza el cálculo al pesar una masa patrón certificada Metter Toledo de 20g.

$$u_{pb} = \frac{1,2E^{-4}g}{20g} \times 100 = 0,0006\%$$

- Calculando la incertidumbre en la pesada como se realizó en la DBO5 a través de la ecuación: $u_m(mg) = u_0 + b(m_i)$...véase sección 6.3.4.2... Para una masa de 20g: $u_m = 0,12mg$ en porcentaje corresponde a un 0,35%

Como ya se mencionó el crisol vacío y el crisol con el filtro luego de pasada la muestra de agua se pesan dos veces y se saca en ambos casos un promedio del peso obtenido con los cuales se aplica la fórmula para determinar los SST.

El valor de u_{pb} se combina con el de u_m se multiplica por 4 ya que es el número de pesadas que se realizan en total calculando así u_{pT}

$$u_{pi} = \sqrt{(0,0006)^2 + (0,35)^2} = 0,35\%$$

$$u_{pT} = \sqrt{4(0,35\%)^2} = 0,70\%$$

➤ **Incertidumbre en la verificación de calibración de la balanza (u_{vc}):** Se realiza empleando masa patrón certificada Mettler Toledo de 20g, con una

desviación estándar de $\pm 0,048\text{mg}$, el coeficiente de variación es $0,00024\%$, $A = 0,00048\%$ la distribución es uniforme y se calcula la incertidumbre debida a la masa patrón u_{mp} .

$$u_{mp} = 0,00048\% / \sqrt{12} = 0,00014\%$$

En este proceso también tiene su aporte la incertidumbre en la pesada que corresponde al valor previamente calculado de $u_{pi} = 0,35\%$.

Se calcula u_{vc}

$$u_{vc} = \sqrt{(u_{mp})^2 + (u_{pi})^2} \quad (\text{Ecuación 25})$$

$$u_{vc} = \sqrt{(0,00014)^2 + (0,35)^2} = 0,35\%$$

➤ **Incertidumbre en el volumen de la muestra u_v** , el volumen de muestra que se pasa por el crisol depende de la carga de sólidos que contiene la misma, pues esto determina la cantidad de agua necesaria para saturar el filtro.

En la sección 6.3.2.2 se determinó el aporte incertidumbre en la medición de diferentes volúmenes con diversos materiales volumétricos y se tiene el valor máximo de $0,61\%$ como valor general de u_v

➤ **Incertidumbre asociada al proceso de secado u_s** , el horno utilizado para el proceso de secado es un horno DIES con desviación estándar de $\pm 1^\circ\text{C}$ a la temperatura de secado (105°C), el coeficiente de variación es $0,95\%$, $A = 1,9\%$ y la distribución se considera rectangular.

$$u_s = 1,9\% / \sqrt{12} = 0,55\%$$

Se aplica la ley de propagación de errores a todos los aportes a la incertidumbre tipo B y se determina u_B

$$u_B = \sqrt{(u_{pr})^2 + (u_{vc})^2 + (u_v)^2 + (u_s)^2} \quad (\text{Ecuación 26})$$

$$u_B = \sqrt{(0,70)^2 + (0,35)^2 + (0,61)^2 + (0,55)^2}$$

$$u_B = 1,13\%$$

6.5.5 Cálculo de la incertidumbre final para el análisis de SST en agua Se calcula u_C a partir de la combinación u_A y u_B

$$u_C = \sqrt{(u_A)^2 + (u_B)^2}$$

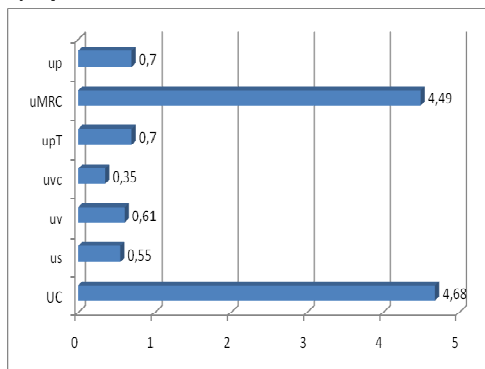
$$u_C = \sqrt{(4,54)^2 + (1,13)^2}$$

$$u_C = 4,68\%$$

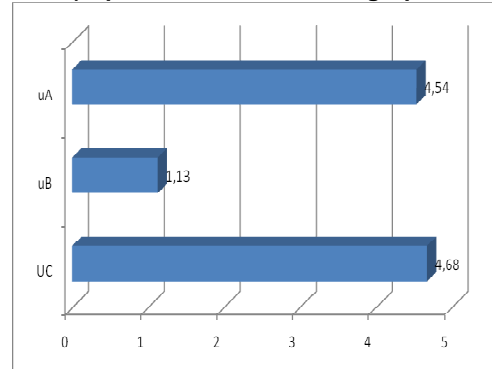
En la Figura 17 se observa que la fuente de incertidumbre de mayor aporte a la incertidumbre combinada en SST es u_{MRC}

Figura 17. Contribución de las fuentes de incertidumbre a la incertidumbre total o combinada u_C del análisis de SST en el laboratorio ambiental

a) Aporte de incertidumbre individual



b) Aporte de incertidumbre grupal



La incertidumbre expandida U con un factor de cobertura $k=2$ se determina a continuación:

$$U = u_C \times k$$

$$U = 4,68\% \times 2$$

$$U = 9,36\%$$

Por lo tanto el resultado de la SST realizada en el laboratorio ambiental con un 95,45% de confianza se reporta:

$$\text{SST (mg/L)} = \text{valor obtenido} \pm (\text{valor obtenido} \times 0,0936) \quad (\text{Ecuación 27})$$

7. CONCLUSIONES

- Las fuentes de incertidumbre para la determinación de pH fueron la precisión del método, el MRC, trazabilidad, precisión del pH-metro, calibración del pH-metro y los reactivos para la calibración sin considerarse significativo el aporte de la incertidumbre de la precisión del pH-metro.
- Las fuentes de incertidumbre para la determinación de conductividad fueron la precisión del método, el MRC, trazabilidad, constante de celda, conductímetro, reactivos para calibración, el aporte de la incertidumbre de precisión del método es en magnitud despreciable.
- Las fuentes de incertidumbre encontradas para la determinación de la DBO₅ son la precisión del método, nutrientes del agua de dilución, instrumento de pesaje, pureza de los reactivos, material de vidrio (balón aforado y pipeta), oxímetro, factor de dilución, incubación, verificación de la calidad del agua de dilución y el chequeo con glucosa-ácido glutámico. La incertidumbre en el pesado y en el balón aforado utilizado para prepara las diferentes soluciones se consideran despreciables.
- En la determinación de la DQO empleando el test en cubetas Merck se identificaron las siguientes fuentes de incertidumbre: precisión del método, el MRC, trazabilidad, preparación de los reactivos de celdas de reacción, medición con pipeta, proceso de digestión, el instrumento fotométrico y el test en cubetas.
- Para el análisis de SST las fuentes de incertidumbre localizadas son la precisión del método, el MRC, trazabilidad, pesada, verificación de calibración de la balanza, volumen de la muestra y proceso de secado.
- La incertidumbre global para el análisis de pH, conductividad, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno y sólidos suspendidos totales es 1,1%, 2,90%, 6,00%, 10,48% y 9,36% respectivamente. A la determinación de pH le corresponde el menor valor de incertidumbre, mientras que la de mayor incertidumbre es la DQO.
- Se obtuvo el valor de incertidumbre asociada en los análisis de pH, conductividad, DBO₅, DQO y SST en el Laboratorio Ambiental de la CRC, como parte indispensable en el proceso de acreditación del laboratorio.
- Los métodos empleados para las determinaciones de pH, conductividad, DBO₅, DQO y SST en el Laboratorio Ambiental de la CRC son precisos porque presentan desviación estándar y coeficientes de variación adecuados, exactos porque los valores obtenidos en las pruebas de intercalibración concuerdan con los valores reportados por *Kimberly Clark Corporation* y también se consideran

trazables porque cada parámetro (con excepción de la DBO₅) se evaluó empleando material de referencia certificado (MRC) obteniendo resultados apropiados.

➤ Con el tratamiento estadístico realizado en este trabajo y las diferentes pruebas de estimación de la incertidumbre y ley de propagación de errores, aplicados a los resultados de cada parámetro, se demuestra la confiabilidad de cada uno de los métodos utilizados en el Laboratorio Ambiental de la CRC en las medidas de pH, conductividad, DBO₅, DQO y SST expresadas con una incertidumbre expandida.

➤ El sistema de calidad implementado hasta el momento para dar cumplimiento a los requisitos técnicos y de gestión con sus respectivos soportes documentales existentes en el laboratorio de la CRC permitió estimar la incertidumbre tipo B en los parámetros priorizados para acreditación.

➤ Con los tratamientos matemáticos y estadísticos realizados a las diferentes determinaciones objeto de este estudio se contribuye al proceso de acreditación bajo la norma ISO 17025 que adelanta la CRC.

➤ En el marco de la pasantía, se apoyó el proceso de acreditación formando parte activa del comité de calidad del laboratorio, a través del cual se elaboraron y/o modificaron documentos del sistema de calidad, como el manual de calidad, políticas, instructivos y procedimientos contemplados tanto en los requisitos de técnicos como en los requisitos de gestión en cuanto a organización, sistema de gestión, control de documentos, revisión de los pedidos ofertas y contratos, compras de servicios y suministros, servicio al cliente, quejas, acciones correctivas y se participó de capacitaciones tendientes a fortalecer e implementar de mejor manera el sistema de calidad del laboratorio.

RECOMENDACIONES

- Es importante realizar la estimación de la incertidumbre tipo A para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno a través de un material de referencia certificado, con el objeto de obtener la incertidumbre tipo en la trazabilidad.
- Es conveniente utilizar material de referencia certificado dentro de los diferentes procesos de medición del laboratorio para ser utilizado como un medio de comparación.
- Continuar el registro documental de los certificados de análisis y de calibración de equipos, reactivos y materiales utilizados en el laboratorio que sirven para determinar la incertidumbre de las mediciones.
- Cada vez que cambie alguna de las condiciones de las metodologías en este documento, cambia también el valor de la incertidumbre y se debe realizar una nueva estimación teniendo en cuenta la distribución de probabilidades como un proceso de normalización de la incertidumbre, la ley de propagación de errores y la forma de expresar el resultado con su incertidumbre expandida.

BIBLIOGRAFÍA

BEDREGAL, P. Procedimiento para la Determinación de la Incertidumbre de la medición en análisis por Activación Neutrónica, Método Ksubcero Departamento de Química – IPEN. Lima- Perú. 2006. p. 60-65.

CÁRDENAS, J. Manual de Calidad de Aguas para Estudiantes. Bogotá. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Facultad de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

CISNEROS, W. Prevalidación de Métodos Analíticos para la Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Sulfatos Y Nitratos en Aguas Superficiales en el Laboratorio Ambiental de la CRC. Universidad del Cauca. Popayán. 2005. p.1-42.

EATON, A. et al. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health. 19th ed. 1995. p 4.136-4.137, 4.85-4.86, 5.1-5.12

Fuentes, X. Guía para estimar la incertidumbre de medida en ciencias de laboratorio clínico. México: Bioquímica. Vol. 27, Nro. 4. 2002. p 113-121.

GARCÍA, F. Determinación de la incertidumbre de medida en laboratorios de ensayo de materiales de la construcción. Chile: RNM. 2005. p 1-5. <http://www.metrologia.cl/noticias/articulos/incertidumbreensayosconstruccion.act>. (Acceso: 14, noviembre, 2008)

Health Protection Agency (2005). Uncertainty of Measurement in Testing. National Standard Method. QSOP 4. issue 5. http://www.htt://www.hpa-stdardmethods.org.uk/pdf_sops.asp

HARRIS, D. Análisis Químico Cuantitativo.3ed. México. Grupo Editorial Iberoamérica. 1992. p. 35*62, 495-566.

IDEAM. Programa de Físicoquímica Ambiental. Protocolo estandarización de métodos analíticos. Bogotá, 1999. 10p.

IDEAM. Programa de Físicoquímica Ambiental. Guía para el aseguramiento de calidad. Bogotá, 2001.

Laboratorio Ambiental CRC. Protocolo para Análisis de pH en Agua. 2008

Laboratorio Ambiental CRC. Protocolo para Análisis de conductividad en Agua. 2008

Laboratorio Ambiental CRC. Protocolo para Análisis de Demanda Bioquímica de Oxígeno en Agua. 2008

Laboratorio Ambiental CRC. Protocolo para Análisis de Demanda Química de Oxígeno en Agua. 2008

Laboratorio Ambiental CRC. Protocolo para Análisis de Sólidos Suspendidos Totales en Agua. 2008

MILLER, J: C. And MILLER J.N. Estadística para Química Analítica. 3^a ed. Addison-Wesley Iberoamerican, S.A: Estados Unidos. 1993 p

SKOOG, D.A. Análisis instrumental. 4ed. Madrid – España. Editorial Mc Graw –Hill 1994.

WOLFGANG, A. Guía para Estimar la Incertidumbre de Medición. Centro Nacional de Metrología. México. 2004. p. 1-27

ANEXOS

Anexo A Pruebas de normalidad de pH

Tabla 1. Prueba de normalidad pH para precisión de la repetibilidad

Estándar Merck Certipur		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
pH	4,01	,814	6	,078
	7,00	,709	6	,008
	10,00	,701	6	,006

Tabla 2. Prueba de normalidad pH para precisión intermedia

Estándar Merck Certipur		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
pH	4,01	,896	21	,029
	7,00	,888	21	,021
	10,00	,857	21	,006

Tabla 3. Prueba de normalidad Porcentaje de Recuperación pH

Estándar Merck Certipur		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Recuperación	4,01	,896	21	,029
	7,00	,890	21	,022
	10,00	,857	21	,006

Anexo B Pruebas de normalidad de conductividad

Tabla 1. Prueba de normalidad de conductividad para precisión de la repetibilidad

Estándar Merck conductividad		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Conductividad mS/cm	1,41mS/cm	,955	6	,783
	12,8	,844	6	,141

Tabla 2. Prueba de normalidad conductividad para precisión intermedia

Estándar Merck Conductividad		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Conductividad mS/cm	1,41mS/cm	,808	18	,002
	12,8mS/cm	,912	18	,094

Tabla 3. Prueba de normalidad Porcentaje de Recuperación conductividad

Estándar Merck Conductividad		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Recuperación	1,41mS/cm	,807	18	,002
	12,8mS/cm	,912	18	,093

ANEXO C Pruebas de normalidad de la Demanda Bioquímica de Oxígeno

Tabla 1. Prueba de normalidad de DBO para precisión de la repetibilidad

Estándar Glucosa - Ácido Glutámico		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mgO ₂ /L)	198 +/- 30 mgO ₂ /L	,931	6	,586

Tabla 2. Prueba de normalidad de DBO para precisión intermedia

Estándar glucosa -glutámico		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mgO ₂ /L)	198 +/- 30 mgO ₂ /L	,936	21	,181

Tabla 3. Prueba de normalidad de DBO para porcentaje de recuperación

Estándar glucosa -glutámico		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Recuperación DBO (%)	198 +/- 30	,936	21	,180

Tabla 4. Prueba de normalidad de DBO para el Blanco

Blanco (agua de dilución)		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mgO ₂ /L)	blanco	,821	15	,007

Anexo D Pruebas de normalidad de la demanda química de oxígeno (DQO)

Tabla 1. Prueba de normalidad de DQO para precisión de la repetibilidad

Estándar DQO		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
DQO	10 mg/L	,856	6	,175
	100 mg/L	,973	6	,911
	500 mg/L	,796	6	,054
	5000 mg/L	,766	6	,029

Tabla 2. Prueba de normalidad de DQO para precisión intermedia

Estándar		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
DQO	10mg/L	,933	21	,156
	100mg/L	,817	21	,001
	500mg/L	,849	21	,004
	5000mg/L	,903	21	,041

Tabla 3. Prueba de normalidad de DQO –porcentaje de recuperación

Estándar		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Porcentaje de Recuperación DQO (%)	10mg/L	,933	21	,156
	100mg/L	,817	21	,001
	500mg/L	,849	21	,004
	5000mg/L	,905	21	,043

Anexo E Pruebas de normalidad de sólidos suspendidos totales (SST)

Tabla 1. Prueba de normalidad de SST para precisión de la repetibilidad

	Estándar SST	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Sólidos Suspendidos Totales	5 mg/L	,859	5	,223
	100 mg/L	,836	6	,120
	500 mg/L	,888	6	,307

Tabla 2. Prueba de normalidad de SST para precisión intermedia

	Estándar de SST	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Sólidos Suspendidos Totales	100mg/L	,756	21	,000

Tabla 3. Prueba de normalidad de SST–porcentaje de recuperación

	Estándar de Caolín	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Porcentaje de Recuperación SST (%)	100mg/L	,756	21	,000