

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y  
FLUORUROS POR LOS MÉTODOS ULTRAVIOLETA Y ELECTRODO SELECTIVO  
DE IONES RESPECTIVAMENTE EN AGUAS TRATADAS POR EL ACUEDUCTO  
DE POPAYÁN**

**DAVID RICO OLARTE**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
POPAYÁN, CAUCA  
2020**

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y  
FLUORUROS POR LOS MÉTODOS ULTRAVIOLETA Y ELECTRODO SELECTIVO  
DE IONES RESPECTIVAMENTE EN AGUAS TRATADAS POR EL ACUEDUCTO  
DE POPAYÁN**

**DAVID RICO OLARTE**

**Trabajo de grado, requisito Académico para optar al título de Químico**

**Director:**

**Ph.D. RICARDO BENÍTEZ BENÍTEZ**

**PROFESOR TITULAR**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN**

**POPAYÁN, CAUCA**

**2020**

Nota de aceptación

---

---

---

---

---

Director \_\_\_\_\_

Ph.D. Ricardo Benítez Benítez

Jurado \_\_\_\_\_

Ph.D. Rodrigo Andrés Sarria Villa

Jurado \_\_\_\_\_

M.Sc. Ayda Marcela Erazo Arcos

Popayán, 30 de Junio de 2020

## Dedicatoria

Dedicado a mi Dios y a mi familia por ayudarme, apoyarme, darme la fuerza y el ánimo cuando más lo necesitaba, a creer a en mí y en mis capacidades. Por ser el motor que me daba fortaleza cada mañana y recordarme que no estaba solo en ningún momento. A mi novia por ser la mujer idónea quien siempre ha tenido una palabra de aliento para mi vida cada vez que la he necesitado y por siempre estar ahí, en las buenas y en las malas.

## Agradecimientos

Ha sido un largo camino, en donde he conocido y compartido con innumerables personas que me han colaborado en este proceso de formación excepcional.

Inicialmente agradezco a mi familia, por siempre estar presente y apoyar este objetivo de vida que no termina, es solo un escalón en el largo sendero del aprendizaje y de la comprensión de los fenómenos naturales y de las leyes que rigen el comportamiento del universo.

Agradezco profundamente a mi Alma Mater por ser el epicentro de todas estas vivencias y a todos los maestros del departamento de química por formarme e instruirme en el maravilloso mundo de la ciencia, además de apoyarme y confiar en la exitosa culminación de esta etapa.

Un especial sentimiento de alegría invade el ser al recordar a todos los compañeros que han compartido anécdotas durante estos últimos años, los cuales no serán enlistados pero que saben que las acciones son más importantes que las palabras y que siempre tendrán un lugar en mi mente.

Agradezco al acueducto de Popayán por haber apoyado este proyecto y abrir las puertas de su planta y de su laboratorio para dar vía libre a los objetivos desarrollados.

Por ultimo citar unos pasajes de la biblia los cuales me ha ayudado y dado ánimo en momentos de soledad y desánimo “Todo lo puede en Cristo que me fortalece”, “los que aman al Señor nuestro Dios todas las cosas les serán para bien” y “En el mundo tendrán aflicciones, pero confiad, Yo he vencido al mundo”.

## LISTADO DE TABLAS

TABLA 1. REACTIVOS PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS.....	14
TABLA 2. EQUIPOS PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS.....	15
TABLA 3. ACTIVIDADES PARA ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B Y SM 4500 F <sup>-</sup> , C.....	16
TABLA 4. PATRONES PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	18
TABLA 5. DEFINICIÓN DE PATRONES DE CONTROL PARA ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	19
TABLA 6. PREPARACIÓN DE MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO PARA ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	20
TABLA 7. PATRONES PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C.....	22
TABLA 8. DEFINICIÓN DE PATRONES DE CONTROL PARA ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C.....	22
TABLA 9. PREPARACIÓN DE MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO PARA ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C.....	24
TABLA 10. RESULTADOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	26
TABLA 11. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	27
TABLA 12. RESULTADOS PARA BLANCOS Y PATRONES CON CONCENTRACIÓN EQUIVALENTE AL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	28
TABLA 13. RESULTADOS DE G PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS EN BLANCOS Y LCM PARA EL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	28
TABLA 14. PARÁMETROS ESTADÍSTICAS OBTENIDAS PARA LOS BLANCOS Y LOS LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	29
TABLA 15. RESULTADOS PARA PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS ADICIONADAS DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B.....	30

TABLA 16. RESULTADOS DE G PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS, PARA UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95% .....	31
TABLA 17. PARÁMETROS ESTADÍSTICAS OBTENIDAS PARA LOS PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS ADICIONADAS DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B .....	32
TABLA 18. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO BAJO. ....	33
TABLA 19. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA PATRONES RANGO ALTO.....	34
TABLA 20. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA PATRÓN ESTÁNDAR DILUIDO.....	34
TABLA 21. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL.....	35
TABLA 22. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (NRA).....	35
TABLA 23. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (NRB).....	36
TABLA 24. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO BAJO RB .....	37
TABLA 25. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO ALTO RA .....	38
TABLA 26. RESULTADOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C.....	40
TABLA 27. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	41
TABLA 28. RESULTADOS PARA BLANCOS Y PATRÓN CON CONCENTRACIÓN EQUIVALENTE AL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	42
TABLA 29. RESULTADOS DE G PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS EN BLANCOS Y LCM PARA EL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	43

TABLA 30. PARÁMETROS ESTADÍSTICAS OBTENIDAS PARA LOS BLANCOS Y LOS LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	43
TABLA 31. RESULTADOS PARA PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS ADICIONADAS DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	44
TABLA 32. RESULTADOS DE G PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS, PARA UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95%.....	45
TABLA 33. PARÁMETROS ESTADÍSTICAS OBTENIDAS PARA LOS PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS ADICIONADAS DEL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	46
TABLA 34. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO BAJO.....	48
TABLA 35. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO ALTO.....	48
TABLA 36. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE ESTÁNDAR DILUIDO.....	48
TABLA 37. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL.....	49
TABLA 38. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (NRA).....	50
TABLA 39. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA S <sup>2</sup> Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (NRB) .....	50
TABLA 40. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO BAJO RB .....	51
TABLA 41. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO ALTO RA .....	52



## LISTADO DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , B .....	26
GRÁFICA 2. CURVA DE CALIBRACIÓN RESULTANTE PARA EL MÉTODO SM 4500 F <sup>-</sup> , C .....	40

## LISTADO DE DIAGRAMAS

DIAGRAMA 1. FUENTES DE INCERTIDUMBRE CONSIDERADAS EN LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS POR UV-Vis SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> . B .....	37
--	----

## LISTADO DE ECUACIONES

EC. 1. LÍMITE DE DETECCIÓN.....	7
EC. 2. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.....	8
EC. 3. PROMEDIO.....	9
EC. 4. DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....	10
EC. 5. COEFICIENTE DE VARIACIÓN.....	10
EC. 6. PORCENTAJE DE ERROR.....	10
EC. 7. PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN.....	10
EC. 8. PROPAGACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	11
EC. 9. INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA.....	11
EC. 10. INCERTIDUMBRE EXPANDIDA.....	12

## **LISTADO DE ABREVIATURAS**

AAPSA: ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE POPAYÁN S.A

SM: ESTÁNDAR MÉTODOS

LD: LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

LQ: LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

S: DESVIACIÓN ESTÁNDAR

S<sup>2</sup>: VARIANZA

U: INCERTIDUMBRE

PRB: PATRÓN RANGO BAJO

PRA: PATRÓN RANGO ALTO

PED: PATRÓN ESTÁNDAR DILUIDO

MN: MUESTRA NATURAL

MT: MUESTRA POTABLE

MRD: MUESTRA RESIDUAL DOMÉSTICA

MRI: MUESTRA RESIDUAL INDUSTRIAL

NRA: NATURAL RANGO ALTO

NRB: NATURAL RANGO BAJO

APRA: AGUA POTABLE RANGO ALTO

APRB: AGUA POTABLE RANGO BAJO

RDRA: RESIDUAL DOMÉSTICA RANGO ALTO

RDRB: RESIDUAL DOMÉSTICA RANGO BAJO

RIRA: RESIDUAL INDUSTRIAL RANGO ALTO

RIRB: RESIDUAL INDUSTRIAL RANGO BAJO

UV-VIS: ULTRAVIOLETA - VISIBLE

ESI: ELECTRODO SELECTIVO IONES

## TABLA DE CONTENIDO

1. PROBLEMA CIENTÍFICO.....	2
2. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1. RECURSO HÍDRICO .....	3
2.2. NITRATOS Y FLUORUROS .....	4
2.3. LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS (AAPSA) .....	7
2.4. ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	7
2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	8
2.6. DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	11
3. OBJETIVOS .....	12
4. METODOLOGÍAS .....	14
4.1. REACTIVOS.....	14
4.2. EQUIPOS .....	145
4.3. MATERIALES.....	16
4.4. PLAN DE ESTANDARIZACIÓN .....	146
4.5. PROCEDIMIENTOS .....	147
4.6. RECOLECCION DE MUESTRA .....	24
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26
5.1. NITRATOS POR UV-Vis.....	26
5.2. FLUORUROS POR ESI .....	40
6. CONCLUSIONES.....	53
7. BIBLIOGRAFÍA .....	54
ANEXOS.....	55

## RESUMEN

El presente trabajo recopila los resultados del proceso de estandarización y validación (parcial) de dos métodos analíticos para análisis fisicoquímicos en muestras de agua superficial y residual para los iones (fluoruros y nitratos). El proceso científico se desarrolló de forma que cumpliera los lineamientos para el aseguramiento de la calidad de los métodos de ensayo establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 <sup>[1]</sup>.

Los métodos analíticos fueron seleccionados de acuerdo a las necesidades y alcance del laboratorio de aguas AAPSA (Acueducto y Alcantarillado de Popayán S.A.). Entidad privada especializada en el monitoreo, análisis fisicoquímico y microbiológico de cuerpos de agua y asesoramiento en acueductos veredales y afluentes de agua aptos para tratamiento y consumo humano.

Para cumplir el objetivo de la estandarización de los métodos analíticos establecidos, se seleccionaron métodos normalizados del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater <sup>[2]</sup>, esto con el fin de contar con información suficiente que permitiera tener un panorama claro de la calidad de los resultados. De acuerdo a esto se seleccionaron los métodos analíticos a implementar: SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B y SM 4500 F<sup>-</sup>, C., respectivamente para los análisis de nitratos por el método UV-Vis y fluoruros por ESI. Además, para complementar los requerimientos de la norma se desarrolló para cada método, un procedimiento de análisis y un plan de confirmación con el fin de que cualquier analista sea capaz de desarrollar la metodología implementada. También se emitieron informes de resultados de las confirmaciones analíticas, donde se destaca la estimación y cumplimiento de los parámetros estadísticos de aceptabilidad para los citados procedimientos analíticos. Entre estos están: el cálculo de la precisión en términos del porcentaje del coeficiente de variación de los resultados; la exactitud en forma de error relativo y la estimación de la incertidumbre del procedimiento. El proceso de validación conlleva hacer una confirmación interlaboratorio que por motivos de tiempo y costo no se alcanzó a culminar, pero que ya se encuentra en ese proceso, así como el último parámetro de la validación el cual es la robustez que también por motivos de tiempo y contrato no se culminó en el proceso de pasantía, pero que también se encuentra en proceso de término en el laboratorio AAPSA.

- **Palabras clave:** Exactitud, ESI, Espectroscopia UV-Vis, Estandarización, Validación, Incertidumbre, Fluoruros, Nitratos, Precisión, Reproducibilidad.

## 1. PROBLEMA CIENTÍFICO

La necesidad de contar con procedimientos analíticos para la cuantificación de iones y elementos presentes en el agua, es de vital importancia tanto como los análisis microbiológicos, ya que de ello radica que pueda ser potabilizada y consumida sin ninguna restricción o consecuencia. La contaminación fisicoquímica del agua genera enfermedades patógenas que causan incluso la muerte de seres humanos. En un informe realizado por la ONU (Organización de las Naciones Unidas), se indicó que los países subdesarrollados son los más afectados por las aguas contaminadas y los que presentan mayor porcentaje de mortalidad al año <sup>[3]</sup>. Las fuentes de flúor en el agua son las descargas de las industrias de aluminio, fosfatos, carbón, fertilizantes, cerámica, acero, petróleo, vidrio, semiconductores. También proviene de la incineración de residuos municipales como plásticos y textiles fluorados, o descomposición de  $\text{CaF}_2$  (difluoruro de calcio) en los lodos de desecho, por la formación de emisiones de ácido fluorhídrico. El consumo en concentraciones significativamente mayores a  $1,5 \text{ mg F} \cdot \text{L}^{-1}$  causa problemas de fluorosis dental y esquelética, desarrollando una mayor susceptibilidad a enfermedades renales y cáncer, así como afectación al desarrollo del cerebro humano, reduciendo el coeficiente intelectual de niños en edad escolar, entre otros efectos <sup>[4]</sup>. Los nitratos  $\text{NO}_3^-$  se encuentran principalmente, provenientes de diversas fuentes, pero en su mayoría por los desechos biológicos humanos y animales que alcanzan las fuentes hídricas. El consumo de agua contaminada con  $\text{NO}_3^-$  es sobre todo severa en infantes que podrían presentar anoxia celular producida por la fijación del nitrito en la hemoglobina (metahemoglobinemia), haciéndola incapaz de transportar y transferir oxígeno en la sangre, esta patología se conoce como síndrome del bebé azul <sup>[5]</sup>.

Es debido a esto que se hace indispensable garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos en métodos que se implementan para la determinación de diferentes analitos. Debido al desconocimiento y a la falta de políticas amigables con el medio ambiente todos o casi todos los desechos de uso agrícola e industrial de la zona del norte y oriente del departamento del Cauca, terminan generalmente disueltas en las aguas de escorrentía, las cuales se vierten sin control en ríos (Río Piedras, Palacé y Molino), afectando notablemente los ecosistemas en donde estas sustancias se concentran, generando desbalances tales como los procesos de eutrofización de cuerpos de agua y dificultando su potabilización para el consumo humano. Otro aspecto importante son las aguas residuales resultantes de diferentes procesos como el uso residencial e industrial, las cuales se vierten muchas veces

sin control en los diferentes afluentes llevando a una progresiva acumulación de sustancias contaminantes <sup>[6]</sup>.

El laboratorio (AAPSA) del acueducto de la ciudad de Popayán – Cauca, al encontrarse en proceso de acreditación y al no contar con metodologías analíticas validadas para la determinación de los métodos propuestos (nitratos por UV-Vis SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B y Fluoruros por ESI SM 4500 F<sup>-</sup>, C.), se propuso de forma colaborativa disponer las instalaciones para permitir ejecutar el proceso de estandarización de los métodos descritos. Ya que cuenta con todo el instrumental e inventario de sustancias químicas necesarias para el desarrollo analítico, se procedió al desarrollo e implementación de metodologías estándar de análisis fisicoquímico para lograr el objetivo de afianzar la empresa como una fuente de desarrollo en el suroccidente colombiano.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. RECURSO HÍDRICO**

El agua es la sustancia más abundante en la corteza terrestre con cerca del 70%, además es el componente principal de los organismos vivos. El agua permite el desarrollo de todas las reacciones químicas y bioquímicas necesarias para sustentar la vida.

El acceso a agua potable es un derecho fundamental de la humanidad reconocido oficialmente por la asamblea general de las naciones unidas mediante la resolución 64/292 del 28 de julio del 2010 <sup>[3]</sup>, de acuerdo a esta idea surge la necesidad de conocer las características fisicoquímicas y microbiológicas de los afluentes utilizados para consumo humano, así como también para la agricultura y la ganadería. Además, la necesidad de este conocimiento se extiende a las aguas residuales residenciales e industriales.

Para evaluar una muestra de agua es necesario hacerlo de acuerdo a parámetros físicos, químicos y biológicos, ya que el agua no se encuentra pura en estado natural. Ya sea por factores antropogénicos o naturales, lo cual hace indispensable el conocimiento de esta información para brindar una recomendación acertada sobre la calidad de un afluente.

La resolución 2115 del 22 de junio del 2007 señala características, aspectos de calidad y los máximos niveles permisibles de sustancias que afectan la potabilidad del agua destinada a consumo humano. La resolución 0631 del 17 de marzo de 2015 del Ministerio

de ambiente y desarrollo sostenible <sup>[6]</sup>, regula los parámetros y los valores límites permisibles de los vertimientos de aguas residuales a cuerpos de agua superficiales.

Para el desarrollo analítico se seleccionaron los métodos para la determinación de nitratos por UV-Vis y de fluoruros por ESI <sup>[1]</sup>.

Se desarrollaron estas metodologías debido a la falta de una metodología adecuada para el análisis y cuantificación de nitratos y fluoruros en el laboratorio fisicoquímico del acueducto de Popayán (AAPSA) ya que conocer la concentración de estos analitos es muy importante y más si se trata de agua para el consumo humano por los múltiples problemas de salud como fluorosis dental o anoxia por los nitratos, que se puede desarrollar si su concentración excede los límites permitidos. Estos valores son para nitratos de  $10 \text{ mg.L}^{-1} \text{ NO}_3^-$  y para fluoruros  $1 \text{ mg.L}^{-1} \text{ F}^-$ , para aguas potables y de consumo humano, según Normatividad Colombiana decreto 2115, 2010 <sup>[6]</sup>.

El nitrato se encuentra en aguas superficiales y residuales en altas concentraciones, debido a los vertimientos de residuos orgánicos que se degradan y aumentan la concentración de iones  $\text{NO}_3^-$ , además al haber concentraciones bacterianas estas se encargan de reducir los nitratos a nitritos y seguir con todo el ciclo correspondiente al ciclo del nitrógeno donde se clasifican en nitrógeno molecular  $\text{N}_2$ , amoniacal  $\text{NH}_3$ , óxido nitroso  $\text{N}_2\text{O}_3$  y óxido nítrico  $\text{N}_2\text{O}_5$ .

Los fluoruros son difundidos en los cuerpos de agua natural muchas veces de forma natural y en las últimas décadas varios países han optado por fluorar su agua para el consumo humano bajo la consigna de que es para el tratamiento de caries y que toda la población se vea beneficiada, pero esto ha creado gran polémica debido a que se viola el derecho de que se individualice la situación de cada persona y puede que esta práctica tenga consecuencias negativas en diferentes sujetos en particular, ya que se sabe científicamente que excesos en la ingesta de concentraciones de flúor que sobrepasan lo permitido producen serios problemas de salud como: la flúorosis dental grave, la flúorosis esquelética y los huesos debilitados <sup>[4]</sup>.

## **2.2. NITRATOS Y FLUORUROS**

El Nitrógeno es una especie inorgánica presente en concentraciones considerables en las aguas superficiales y residuales, este elemento se encuentra en diversas formas químicas, proveniente de diversas fuentes, pero en su mayoría por los desechos biológicos humanos

y animales que alcanzan las fuentes hídricas, entre estas se encuentran principalmente los nitratos  $\text{NO}_3^-$ , nitritos  $\text{NO}_2^-$ , nitrógeno molecular  $\text{N}_2$ , amoniacal  $\text{NH}_3$ , anhídrido nitroso  $\text{N}_2\text{O}_3$  y anhídrido nítrico  $\text{N}_2\text{O}_5$  intercambiables unos con otros y relacionadas entre sí. El proceso de nitrificación transforma bicarbonatos en ácido carbónico con lo cual reduce la alcalinidad y el pH del agua. Los nitratos formados en exceso pueden ser transportados por percolación a las aguas subterráneas. Los nitratos descargados en los cuerpos de agua pueden oxidar la materia orgánica produciendo  $\text{N}_2$  y  $\text{CO}_2$  y disminuyendo así la demanda química de oxígeno (DBO) del agua [7].

Existen varios métodos para el análisis de nitratos entre ellos el procedimiento de Rodier por UV-Vis y también el método de electrodo selectivo de iones. El método de análisis de nitratos es un método espectrofotométrico y cuantifica en función de la concentración de nitratos que absorben a una longitud de onda de 220 nm; a la absorbancia obtenida se le resta 2 veces la absorbancia a longitud de onda a 275 nm, la cual absorbe la materia orgánica y posibles interferentes, el resultado de esa resta es la cantidad de nitratos reales; debido a la susceptibilidad de los nitratos las mediciones se deben hacer lo más rápido posible posterior al muestreo, para evitar errores generados por la oxidación del analito, ya que después de 48 horas de hacer el muestreo se debe preservar y es lo que no se desea porque esto altera la concentración de nitratos debido a la naturaleza del preservante ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), y hace que se oxiden los nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) presentes a nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) [2].

Posteriormente se da la filtración a través de una membrana con un diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , esto es muy importante para separar la fracción de materia orgánica y residuos de gran tamaño que generen interferencia en la medición. La selección del método de análisis se basó en las necesidades del laboratorio para dar cumplimiento a sus objetivos de calidad y a las necesidades de los análisis de rutina, además de la disponibilidad de materiales y reactivos en el laboratorio AAPSA, de acuerdo a esto se seleccionó el método espectrofotométrico UV-Vis (SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B); en este método los nitratos presentes absorben a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 220 nm, donde su concentración es proporcional a la cantidad de luz absorbida o transmitida [2].

Una concentración de fluoruro de aproximadamente 1,0  $\text{mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$  en el agua potable reduce efectivamente la caries dental sin efectos nocivos para la salud. El fluoruro puede estar presente naturalmente en el agua o puede agregarse en cantidades controladas. La fluorosis puede ocurrir cuando el nivel de fluoruro excede los límites recomendados. En casos raros, la concentración de fluoruro natural puede acercarse a 10  $\text{mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$ ; tales



aguas deben ser tratadas y desfluoruradas. La determinación precisa del fluoruro ha aumentado en importancia con el crecimiento de la práctica de la fluoración de los suministros de agua como medida de salud pública. El mantenimiento de una concentración óptima de flúor es esencial para mantener la efectividad y la seguridad del procedimiento de fluoración <sup>[4]</sup>.

La selección del método de análisis en la determinación de fluoruro se basó en las necesidades del laboratorio para dar cumplimiento a sus objetivos de calidad y a las necesidades de los análisis de rutina, además de la disponibilidad de materiales y reactivos en el laboratorio AAPSA, de acuerdo a esto se seleccionó el método electrométrico ESI (SM 4500 F<sup>-</sup>, C); en este método los fluoruros presentes se dejan libres mientras los otros iones y posibles interferentes se ven apantallados por la acción del ajustador de fuerza iónica utilizado para realizar las lecturas con el electrodo selectivo.

El electrodo de fluoruro mide la actividad iónica del flúor en solución en lugar de la concentración. La actividad de los iones fluoruro depende de la concentración de la fuerza iónica total y del pH, y de las especies que forman complejos de flúor. La adición de un tampón apropiado proporciona un fondo de fuerza iónica casi uniforme, ajusta el pH y divide los complejos de modo que, en efecto, el electrodo mide la concentración <sup>[2]</sup>.

El principio por el cual el electrodo de fluoruro funciona es mediante un sensor selectivo de iones. El elemento clave en el electrodo de fluoruro es el cristal de fluoruro de lantano dopado mediante láser, a través del cual se establece un potencial con soluciones de fluoruro de diferentes concentraciones. El cristal entra en contacto con la solución de muestra en una cara y una solución de referencia interna en la otra <sup>[2]</sup>.

Notación esquemática de la composición del ESI:

Ag | AgCl, Cl<sup>-</sup> (0.3M), F<sup>-</sup> (0.001M) | LaF<sub>3</sub> || Solución de prueba | Electrodo de referencia

El electrodo de fluoruro se puede usar con un electrodo de referencia de calomelano estándar y casi cualquier medidor de pH moderno que tenga una escala de milivoltios expandida. Los electrodos de Calomel contienen mercurio metálico disuelto; por lo cual no se recomienda. El electrodo empleado marca HACH utilizado, cuenta con una sonda en

estado sólido, que no utiliza solución interna y es muy sencilla de manipular debido a que solo utiliza el ajustador buffer de fuerza iónica, además de que posee una mayor vida útil.

Es bastante importante la climatización de las muestras a la temperatura ambiente del laboratorio (20 – 22°C), ya que si sus temperaturas son muy diferentes las lecturas tenderán a un amplio rango de variación. El color y la materia orgánica no afectan notablemente las mediciones, por lo tanto, su remoción por filtración de membrana no siempre es necesaria, sin embargo, nunca está de más para generar mediciones más exactas y reproducibles.

### **2.3. LABORATORIO DE ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS DEL ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE POPAYÁN S.A. E.S.P (AAPSA)**

El laboratorio APSAA de la empresa acueducto y alcantarillado de Popayán, la cual es de las más importantes de la de ciudad por su alto aporte a la misma ya que proporciona agua con muy buenos estándares en cuanto al tratamiento y manejo de los recursos hídricos para poder optimizarlos para el consumo humano.

El acueducto como empresa pública se ha esmerado para prestar el mejor servicio en cuanto a al tratamiento y potabilización del agua para la ciudad y sectores aledaños, es por esto que surge la necesidad de que una entidad pública y responsable de la comunidad, tenga completa capacidad en su laboratorio de realizar análisis fisicoquímicos completos acerca de la calidad del agua que potabiliza, del recurso hídrico de la región como quebradas y afluentes de agua, así como también de las aguas residuales generadas en la misma zona.

Para tal fin la empresa implementa técnicas analíticas normalizadas con el fin de lograr acreditarlas bajo los requerimientos del sistema de gestión de calidad necesarios para cumplir los lineamientos de la norma ISO/IEC 17025:2017 <sup>[1]</sup>.

### **2.4. ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS**

De acuerdo con la información recolectada acerca de los procesos de estandarización de métodos analíticos, se planificó la estrategia a seguir para implementar y verificar los métodos analíticos seleccionados. Parte fundamental es adecuar el procedimiento del método a las condiciones del laboratorio, donde se dan a conocer todas las características,

materiales a usar, reactivos necesarios y metodología a desarrollar para la correcta reproducción del método.

Se estableció la señal del límite de detección como se encuentra estipulado en el “Instructivo de confirmación y validación de métodos del acueducto de Popayán” [8].

$$Ld = X_{prom} + (t \times s) \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde t es la t de Student para el número de grados de libertad 9; ( $t = 2,82$ ) y s es la desviación estándar de la señal de los blancos, y  $X_{prom}$  es el promedio de las señales [8].

La señal del límite de cuantificación  $Lq$  del método, está calculado, como dos veces la desviación estándar de la señal correspondiente a los blancos.

$$Lq = 2 \times Ld \quad (\text{Ec. 2})$$

De tal forma que se lograra distinguirlo correctamente de la señal producida por los blancos. Después de establecer la curva de calibración de los métodos que así lo requieren se procede a verificarlo de forma analítica, esto preparando series de 10 patrones de concentración equivalente los cuales para ser aceptados deben cumplir con los atributos estadísticos establecidos para la verificación de la precisión y la exactitud de los resultados. En caso de no lograrse una buena reproducibilidad de los resultados, se debía fijar un nuevo límite con concentración más alta y proceder a verificar de forma analítica los resultados obtenidos después de elaborar una nueva curva de calibración [8].

Para el método espectrofotométrico de nitratos se plantea la elaboración de una curva de calibración, ya que es un elemento fundamental para la interpolación de los resultados a obtener y posterior cuantificación de los mismos, la preparación de esta se planteó con mínimo 5 puntos preparados con concentraciones ascendentes de analito, esta resultante del promedio de 6 series de patrones, con el fin de lograr la máxima repetibilidad y reproducibilidad. Se establece como aceptable una curva de calibración, si su coeficiente de determinación  $r^2$  es mayor a 0,995, ya que esto muestra que alrededor del 99,5 % de la variación de los resultados es explicada por el modelo de regresión lineal y se ajusta a la ley de Beer [9].

## 2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson al 95% del límite de confianza, además la desviación estándar de la pendiente y del intercepto con el eje Y, a la curva de calibración promedio obtenida para cada método para verificar la correlación entre las variables aleatorias y determinar el cumplimiento de la ley de Beer-Lambert. Además para cada conjunto de datos obtenidos en la estandarización de los tres métodos propuestos, se calculó el promedio ( $\bar{X}$ ), la desviación estándar (s), el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) y el error relativo de las mediciones incluyendo patrones, muestras y muestras adicionales. Esto permite estimar la precisión y la exactitud de los resultados; solo se calculó el porcentaje de error a los patrones de concentración conocida. Además, se estableció el porcentaje de recuperación del analito en las muestras fortificadas para los dos métodos <sup>[9]</sup>. Se verificó la presencia de datos anómalos atribuibles a errores aleatorios no controlados o a errores sistemáticos, los cuales pueden afectar la calidad de los atributos estadísticos aplicando una prueba de contraste de Grubbs <sup>[10]</sup>.

La repetibilidad se calcula mediante los resultados del análisis estadístico, se agruparon los datos en rachas debido a que fueron realizados en cortos periodos de tiempo. Además, se debe tener en cuenta que el propósito de la estandarización es lograr establecer un protocolo que cumpla con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17025:2017 <sup>[1]</sup>.

La reproducibilidad se evalúa, realizando un análisis de las varianzas de un factor y se compararon mediante una prueba de contraste F de una cola con un nivel de confianza de  $P = 0,05$ ; en donde se considera que los resultados se comportan de manera normal, esto con el propósito de verificar la hipótesis nula  $H_0$ : La varianza de los resultados obtenidos entre analistas no es significativamente superior de la varianza obtenida por los resultados entre analistas. Este procedimiento se aplicó a la determinación para ambos métodos, ya que fueron implementados entre 2 analistas.

La incertidumbre se estimó a partir de los componentes individuales que aportan a la incertidumbre de forma aleatoria <sup>[10]</sup>. Se destacan los atributos estadísticos obtenidos y el cumplimiento de estos en un informe final.

Se establecieron los criterios de aceptabilidad para los resultados obtenidos en los procesos de confirmación, la finalidad de estos criterios es evaluar los atributos estadísticos relacionados con la precisión y la exactitud de cada grupo de muestras <sup>[11]</sup>. La precisión se estimó determinando el porcentaje del coeficiente de variación de las muestras, para esto

inicialmente se determinó el promedio y la desviación estándar de cada grupo de muestras así:

Para el cálculo del promedio:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{X=1}^n X}{n} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde  $\bar{X}$  es el promedio de un conjunto de datos, calculado como la sumatoria de los datos que componen cada grupo de muestras, dividido entre el número de muestras analizadas para cada grupo.

La desviación estándar se calculó así:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{X=1}^n (X_i - X_m)^2}{n-1}} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde  $X_i$  corresponde al valor individual de cada dato en cada grupo de muestras y  $X_m$  corresponde al valor promedio para ese grupo de muestras. La expresión  $n-1$  se refiere a los grados de libertad del conjunto de muestras.

Con estos datos se calculó el porcentaje del coeficiente de variación (% CV), así:

$$\% \text{ CV} = \frac{\text{Desviación estándar}}{|\text{promedio}|} \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

La estimación de la exactitud se realizó calculando el error relativo (% E) a los grupos de patrones, así:

$$\% \text{ E} = \frac{|X_P - X_V|}{X_V} \times 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde  $X_P$  corresponde al valor promedio del grupo de patrones y  $X_V$  corresponde al valor real del patrón analizado.

Otra estimación de la exactitud para la determinación de ambos métodos, es mediante el cálculo del porcentaje de recuperación del analito en muestras fortificadas o adicionadas con el analito específico para cada método. Estos ensayos permiten analizar la especificidad del método por el analito en muestras reales con gran cantidad de interferencias presentes, se calculó así:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{|X_A - X_m|}{X_v} \times 100 \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde  $X_A$  corresponde a la concentración promedio de analito de las muestras adicionadas con el analito y  $X_m$  corresponde a la concentración promedio de analito presente en las muestras, esto dividido entre la concentración de analito adicionado a las muestras para fortificarlas, denotado como  $X_v$ .

Los criterios de aceptabilidad para cada parámetro estadístico en los diferentes métodos analíticos implementados, fueron fijados por el laboratorio de acuerdo con las necesidades y al alcance del proceso de acreditación, la precisión y exactitud para los métodos ambos métodos fueron fijadas en un 10% en términos de porcentaje de coeficiente de variación y porcentaje de error relativo respectivamente [8]. El porcentaje de recuperación de analito aceptable para las muestras adicionadas en los métodos se fijó entre el 95 y el 105% [10].

## 2.6. DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

La incertidumbre es considerada como: “Un parámetro asociado al resultado de una medida que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando” [12].

El proceso de análisis proporciona una determinación del mensurando, generalmente se considera que dicho análisis es la mejor estimación, siempre y cuando se cumplan los criterios de aceptabilidad por parte de los resultados; las fuentes de incertidumbre provenientes de efectos aleatorios y sistemáticos aportan al grado de dispersión de los resultados [8].

Para cada método analítico se evalúan las diferentes fuentes de incertidumbre que más afectan la reproducibilidad y la veracidad de los resultados, siguiendo la ley de propagación de la incertidumbre.

$$Y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) \quad (\text{Ec. 8})$$

Cada fuente de incertidumbre (por dilución, por medición en el equipo, por el volumen de la alícuota de análisis, entre otras) se tratan por separado y es evaluada en forma de desviación estándar, la cual se denomina incertidumbre estándar relativa [10].

La incertidumbre total de cada método analítico se expresa como la incertidumbre estándar combinada (Ver Ec. 9), la cual es una desviación estándar estimada como la raíz cuadrada de la varianza total obtenida por combinación de las incertidumbres estándar relativas de todas las fuentes de incertidumbre evaluadas:

$$U_c(Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 U^2(x_i)} \quad (\text{Ec. 9})$$

La forma final de representación de la incertidumbre se realiza en forma de incertidumbre expandida (U), la cual proporciona un intervalo en el que se considera que se encuentra el valor de la concentración del mensurando. La incertidumbre (Ver Ec. 10) expandida se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada para las diferentes fuentes de incertidumbre por un factor de cobertura (K), que depende del nivel de confianza esperado para el método y esto por el valor de concentración real ( $X_v$ ) para el patrón con el que se evalúa la incertidumbre.

$$U = U_c \times K \times X_v \quad (\text{Ec.10})$$

La validación de estos métodos, se decidió por parte del acueducto de Popayán y el laboratorio AAPSA, que se realizaría previo a su proceso de certificación ante el IDEAM y el programa PICCAP del Instituto nacional de salud, ya que como el proceso conllevaba mucho más tiempo y el tiempo de contrato de trabajo ya caducaba y por seguridad solo personal contratado puede hacer uso de las instalaciones en el laboratorio, por tal motivo el proceso de validación quedo pendiente. Lo que se debía hacer para ese proceso era llevar a cabo los análisis de robustez y posterior verificado interlaboratorios, pero ambos son procesos muy demorados que conllevarían varios meses e incluso un año para terminar, por tal motivo el acueducto de Popayán decidió pausar el proceso y quedo satisfecho con mi trabajo.

### 3. OBJETIVO GENERAL

Estandarizar y Validar las técnicas analíticas para la determinación de nitratos por espectroscopia UV-Vis (SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B) y fluoruros por ESI (SM 4500 F<sup>-</sup>, C) en las matrices de agua natural, potable, residual doméstica y residual industrial, que son evaluadas por el laboratorio AAPSA.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estandarizar los métodos con las condiciones óptimas dentro del laboratorio, e implementándolos para que las mediciones de los analitos en las matrices de aguas sean aceptables, además, que los rangos de trabajo para cada método estén bien definidos.
- ✓ Estandarizar las condiciones de cada parámetro (Ld, Lq, precisión, exactitud, incertidumbre, precisión intermedia) a utilizarse en los procedimientos analíticos y asegurar resultados confiables y reproducibles, que sean aptos para cumplir con la estandarización del método.
- ✓ Validar los métodos para nitratos y fluoruros los cuales deben cumplir con la puesta a punta de un protocolo, procedimientos analíticos y la evaluación de los ensayos del laboratorio AAPSA. Así como la certificación del AAPSA, por el cumplimiento del trabajo y de sus requerimientos como laboratorio.



## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. REACTIVOS

TABLA 1. REACTIVOS PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS NITRATOS Y FLUORUROS

REACTIVO	MARCA	USO*
Solución Estándar de Fluoruros 1000 mg.L <sup>-1</sup> (ppm)	Merk Millipore	F
Ácido Acético glacial CH <sub>3</sub> COOH	Merk Millipore	F
Ácido 1,2-ciclohexilendiaminotetraacético (CDTA)	Merk Millipore	F
Cloruro de sodio (NaCl)	Merk Millipore	F
Hidróxido de sodio (NaOH)	Merk Millipore	F
Solución Estándar de Nitratos 1000 mg.L <sup>-1</sup> (ppm)	Merk Millipore	N
HCl 1 N	Merk Millipore	N
Solución HCl 1:1	Merk Millipore	N,F

F: Fluoruros, N: Nitratos.

#### 4.1.1. Determinación de nitratos por UV-Vis:

- **Solución Estándar de nitratos de 100 mg.L<sup>-1</sup>:** Se tomaron 10 mL de solución estándar de 1000 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> y se diluyen en un balón de 100 mL.
- **Solución de ácido clorhídrico 1N (HCl):** Se preparó una solución de una cantidad acorde al número de análisis realizado previamente teniendo en cuenta que por cada muestra de 50 mL se adiciona 1 mL de HCl, con el fin de eliminar la materia orgánica que pueda estar presente en la muestra. Se recomienda que el ácido tomado se encuentre en buenas condiciones ya que una pequeña contaminación produce lecturas alteradas por efecto de posibles interferentes que cambian las lecturas del blanco, estándares y muestras.

#### 4.1.2. Determinación de fluoruros por ESI:

- **Solución Estándar de fluoruros de 100 mg.L<sup>-1</sup>:** Se toman 10 mL de solución estándar de 1000 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> y se diluyen en un balón de 100 mL.
- **Solución ISA (Ionic Strength Adjuster):** Se prepara colocando aproximadamente 500 mL de agua desionizada en un vaso de precipitado de 1L (1000 mL), agregar 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloruro de sodio y 4,0 g de ácido 1,2-ciclohexilendiaminotetraacético (CDTA). Agitar muy bien para disolver con ayuda de

un agitador magnético, luego se introdujo el electrodo de pH y se agregó lentamente NaOH 6N (aproximadamente 125 mL) con agitación continúa, hasta que el pH se encontró entre 5,3 y 5,5. Luego se transfirió a un balón aforado de 1 L y se aforó con agua desionizada.

#### 4.2. EQUIPOS

**TABLA 2. EQUIPOS PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS NITRATOS Y FLUORUROS.**

<b>EQUIPO</b>	<b>MARCA</b>	<b>USO*</b>
Campana de extracción de gases	E & Q	N
Espectrofotómetro UV-Vis	HACH (DR 6000)	N
Balanza Analítica	PRECISA (LS 220 <sup>a</sup> )	N;F
Potenciómetro	Thermo Orion Star (A112)	F
Bomba de vacío	Rocket	F,N
Medidor portable multiparametro	HACH (HQ40d)	F
Sonda para Fluoruros	HACH (IntelliCAL™ ISE F121)	F
Plancha de agitación	HEIDOLPH	F
Transferpipeta de 1 - 10 mL	Brand	F,N
Micropipeta de 0,1 - 1 mL	Brand	F,N
Micropipeta de 10 – 100 µL	Brand	F,N
Micropipeta de 5 µL	Brand	F,N

**F: Fluoruros, N: Nitratos.**

#### 4.3. MATERIALES

- Matrices aforados de 25, 50, 100 y 1000 mL.
- Vasos de precipitado de 100, 500 y 1000 mL.
- Probetas de 100 mL
- Puntas para transferpipeta de 10 mL
- Puntas para micropipeta de 1 mL
- Equipo de filtración
- Filtros de acetato de celulosa, diámetro de poro 0,45 µm.
- Espátula
- Celda de cuarzo de 10 mm
- Frasco lavador

#### 4.4. PLAN DE ESTANDARIACIÓN

El proceso de estandarización para la determinación de nitratos por UV-Vis y fluoruros por ESI se realizó entre 2 personas; el analista químico encargado del laboratorio fisicoquímico del acueducto y el químico pasante con el fin de obtener la mayor reproducibilidad y en diferentes días para evaluar la repetibilidad, el cronograma se distribuyó de tal forma que se lograra el máximo rendimiento y no se sobrepasaran los tiempos límites de preservación de muestras. En la Tabla 3 se muestra la programación a ejecutar para el cumplimiento de los objetivos propuestos <sup>[1]</sup>.

**TABLA 3. ACTIVIDADES PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B Y SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
Montaje de blancos	Se realizó la lectura de 10 blancos con agua desionizada, sometidos al procedimiento de análisis establecido para cada método. A partir de esta información se establecen los límites críticos de detección y cuantificación de manera estadística.
Curvas de calibración	Se prepararon 6 curvas de calibración en un periodo de tres días, una diaria, mañana y tarde por cada analista. Y una última curva por el segundo analista para determinar la precisión intermedia
Verificación de límite de cuantificación de forma analítica	Se prepararon patrones de concentración equivalente al límite de cuantificación estadístico, verificar si cumple criterios de aceptabilidad. A partir de esta información se establece la concentración de los patrones de control de rango bajo, alto y estándar diluido.
Medición de muestras natural y potable, patrones de control y muestras adicionadas	Se prepararon patrones de rango alto (RA) y rango bajo (RB), muestras (M) y muestras adicionadas en un rango alto (MRA) y bajo (MRB) por duplicado, por dos días consecutivos para un total de 16 mediciones de cada tipo de muestra.
Medición de muestras residuales, patrones de control y muestras adicionadas	Se prepararon patrones de rango alto (RA) y bajo (RB), muestras y muestras adicionadas en un rango alto (MRA) y bajo (MRB) por duplicado, por dos días consecutivos para un total de 16 mediciones de cada tipo de muestra.
Análisis estadístico	Determinación de criterios de aceptabilidad, rechazo de datos atípicos, determinación de la incertidumbre de la medición.
Emisión de informe	Elaboración de informe de resultados demostrando el cumplimiento de los criterios de aceptabilidad del método.

## **4.5. PROCEDIMIENTOS**

### **4.5.1. DETERMINACIÓN DE NITRATOS POR UV-Vis:**

Se lavó el material con ácido clorhídrico 0,1 N para evitar interferencia por contaminación cruzada.

Para las celdas de cuarzo se recomienda un buen lavado inicial con agua desionizada (mínimo 5 veces) antes de usar, luego para las mediciones purgar (mínimo 3 veces) con la solución a medir.

La primera etapa es eliminar el color y la turbidez filtrando las muestras a través de un filtro con un diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ .

Para el análisis de las cuatro matrices de agua (natural, potable, residual doméstica y residual industrial), se realizó el mismo procedimiento independiente de la matriz. A 50 ml de muestra ya filtrada se adiciono 1 mL de solución de HCl 1N con el fin de eliminar interferencias.

Se determinó nitratos a una longitud de onda de 220 nm y también se midió su absorbancia a 275 nm en esta última para determinar la interferencia debida a la materia orgánica remanente. Posteriormente se hace la diferencia entre la absorbancia obtenida a 220 nm y dos veces la obtenida a 275 nm, con esto se obtuvo la absorbancia corregida la cual se registra en los resultados.

Nota:

En caso que una muestra se saliera del rango de trabajo, se diluyó de forma tal que el resultado se encontrara en el rango lineal de la curva de calibración.

#### **4.5.1.1. PREPARACIÓN DE BLANCOS**

Siguiendo el procedimiento de análisis para el método SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B; se prepararon 10 blancos (Bk) durante dos días diferentes por 2 analistas; el primer analista preparó 2 blancos por triplicado el día uno y el segundo analista realizó 2 blancos por duplicado el segundo día, los resultados se almacenan en los formatos de captura de datos apropiados para tal método.

A partir de estos resultados se obtuvo un valor estadístico para el límite de detección determinado por la Ecuación 1 con la que se determinó el límite de cuantificación de la ecuación 2.

#### 4.5.1.2. PREPARACIÓN DE CURVAS DE CALIBRACIÓN

Se analizaron 6 curva de calibración de 5 patrones durante tres días, cada analista preparó una. A partir de estándar de nitratos de 1000 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>, se preparó una solución madre de 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> que por dilución se obtuvieron los patrones de la curva los puntos de la curva como se indica en la Tabla 4. El rango de trabajo se acordó de acuerdo a las necesidades y alcance del laboratorio para cumplir con los requerimientos de las normas para vertimientos de aguas naturales que no debe sobrepasar los 10 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> y para aguas residuales los 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. L<sup>-1</sup>, así como para la normatividad correspondiente al recurso hídrico destinado para consumo humano. Además, se estableció el límite superior de trabajo en 10 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> debido a la posible pérdida de linealidad a mayores concentraciones y posibles interferencias que limiten el correcto desarrollo del método.

**TABLA 4. PATRONES PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B.**

CONCENTRACIÓN A PREPARAR (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup> )	VOLUMEN ALÍCUOTA (mL)	VOLUMEN FINAL ALÍCUOTA (mL)	CONCENTRACIÓN DE PARTIDA (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup> )
0,50	0,50 ± 0,01	100 ± 0,06	100 ± 0,3
1,00	1,0 ± 0,02	100 ± 0,06	100 ± 0,3
3,00	3,0 ± 0,05	100 ± 0,06	100 ± 0,3
7,00	7,0 ± 0,18	100 ± 0,06	100 ± 0,3
10,0	10,0 ± 0,34	100 ± 0,06	100 ± 0,3

#### 4.5.1.3. VERIFICACIÓN ANALÍTICA DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Se estableció como límite de cuantificación y límite inferior del rango de trabajo para la determinación de nitratos un valor de 0,5 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> debido al cálculo pre establecido en la sección 3.4. Se procedió a verificarlo analíticamente, un analista preparó 2 soluciones por triplicado el primer día y 2 soluciones por duplicado el segundo día para un total de 10 repeticiones en dos días consecutivos.

El patrón se preparó a partir de la solución madre de  $100 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  por dilución de 0,5 mL de esta, llevada a un volumen final de 100 mL. Estas alícuotas se sometieron al procedimiento de análisis del método SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B.

#### 4.5.1.4. MEDICIÓN DE PATRONES DE CONTROL

A partir del rango de trabajo se definieron los patrones de control de la siguiente manera:

TABLA 5. DEFINICIÓN DE PATRONES DE CONTROL PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODO SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B.

PATRÓN DE CONTROL	DEFINICIÓN	CONCENTRACIÓN
Rango bajo (RB)	Aproximadamente 30 % del rango de trabajo	$3,00 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$
Rango Alto (RM)	Aproximadamente el 70% del rango de trabajo	$7,00 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$
Estándar Diluido (ED)	Límite superior de curva x 10	$100,0 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$

Los patrones se prepararon y se midieron junto con las muestras de agua natural, potable, residuales y las muestras adicionadas para cada tipo de matriz, con el fin de evitar variaciones en la naturaleza de las muestras y cambios en las incertidumbres de varios parámetros.

#### 4.5.1.5. MEDICIÓN DE MUESTRAS: NATURAL, POTABLE Y RESIDUALES

Las muestras de agua natural, potable y residuales se recolectaron el mismo día y se trasladaron al laboratorio donde se almacenaron bajo refrigeración entre  $0 - 4^\circ\text{C}$ , antes de ser analizadas se climatizan a la temperatura del laboratorio  $20 - 21^\circ\text{C}$ , se pasan a través de un filtro de acetato de celulosa de  $0,45 \mu\text{m}$  con el fin de retener partículas sólidas y coloidales que afectan el color y la turbiedad de la muestra <sup>[2]</sup>.

Se realizaron 16 mediciones, por el equipo de UV-Vis, para cada una de las matrices. Para evaluar la repetibilidad y reproducibilidad se analizaron en dos días consecutivos por 2 analistas manteniéndose en los valores permisibles de almacenamiento, para este método se usan 48 horas.

Fue necesario hacer dilución en las muestras de agua residual industrial debido a que la concentración de analito sobrepasó el rango de trabajo de la curva de calibración.

#### 4.5.1.6. MUESTRAS FORTIFICADAS

Se fortificaron muestras de las cuatro matrices de agua con un patrón de rango alto (PRA) de concentración ( $7 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ) y con un patrón de rango bajo (PRB) de concentración ( $3 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ), el proceso consistió en adicionar patrón y aforar con la muestra, el volumen de patrón no debe exceder el 5% del volumen final para lograr evaluar los efectos de la matriz. Se usaron los volúmenes de patrón descritos en la Tabla 6, y se usó muestra filtrada para aforar a 100 mL.

TABLA 6. PREPARACIÓN DE MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODO SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B.

MUESTRA ADICIONADA	CONCENTRACIÓN A LLEVAR $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$	CONCENTRACIÓN DE PARTIDA $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$	VOLUMEN ALÍCUOTA mL
MRA NATURAL	7,00	$100 \pm 0,06$	$5,70 \pm 0,017$
MRB NATURAL	3,00	$100 \pm 0,06$	$1,70 \pm 0,017$
MRA TRATADA	7,00	$100 \pm 0,06$	$5,50 \pm 0,017$
MRB TRATADA	3,00	$100 \pm 0,06$	$1,50 \pm 0,017$
MRA RESIDUAL DOMES	7,00	$100 \pm 0,06$	$6,10 \pm 0,017$
MRB RESIDUAL DOMES	3,00	$100 \pm 0,06$	$2,10 \pm 0,017$
MRA RESIDUAL IND	7,00	$100 \pm 0,06$	$4,30 \pm 0,017$
MRB RESIDUAL IND	3,00	$100 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,017$

#### 4.5.2. DETERMINACION DE FLUORUROS POR ESI

Se lavó el material con jabón neutro y abundante agua, se purgó con agua desionizada para evitar interferencias por contaminación cruzada.

Antes de cada medición y posteriormente a cada una de ellas, se lavó el electrodo con agua desionizada y posteriormente se realizó su debido secado.

Para el análisis de las muestras, se realizó el mismo procedimiento independiente de la matriz. Si la muestra se encuentra muy turbia o con gran cantidad de materia orgánica disuelta se recomienda filtrar con un tamaño de poro de  $0,45 \mu\text{m}$ . Aunque la muestra dura por 28 días sin necesidad de tratamiento previo se recomienda realizar los análisis lo antes posible y en caso de conservar a  $4^\circ\text{C}$  por uno o varios días, dejar que la muestra se climatice por 2 o 3 horas según sea su volumen ya que esto genera cambios significativos en la medición [2].

Antes de realizar cualquier medición se debe calibrar el equipo con sus respectivos estándares, los cuales vienen preparados con la solución ajustadora de iones (SAI); la calibración se hizo de la siguiente forma:

En vasos de precipitados de 100 mL, agregar 10 mL de solución ajustadora de fuerza iónica (ISA) y 10 mL de estándar provisto por el equipo. Llevar los estándares y las muestras a la misma temperatura, (Temperatura del laboratorio 20 – 22°C). El volumen total de 20 mL es suficiente para sumergir los electrodos y permitir el funcionamiento de la barra de agitación magnética sin inconvenientes.

Se sumergió el electrodo en cada una de las soluciones de estándares de fluoruro previamente preparadas; calibre mientras está en funcionamiento el agitador magnético. Evite agitar antes de sumergir los electrodos porque el aire atrapado alrededor del cristal puede producir lecturas erróneas o fluctuaciones. Deje que los electrodos permanezcan en la solución hasta que la lectura sea constante y el equipo pida el siguiente estándar de calibración (0,5, 1,0 y 2,0 mg.L<sup>-1</sup>). Retire el electrodo, enjuáguelo con agua desionizada y séquelo entre las lecturas teniendo cuidado de no rayar el electrodo ni secarlo muy duro en el lente. Después de la calibración repita las mediciones en la misma forma con las muestras a analizar.

Cada 5 a 10 muestras se verificó la calibración del equipo, midiendo un estándar de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> F<sup>-</sup>, si el valor es muy alejado se repite la calibración con los tres estándares.

#### **4.5.2.1. PREPARACIÓN DE BLANCOS**

Siguiendo el procedimiento de análisis para el método SM 4500 F<sup>-</sup>, C.; se prepararon por 2 analistas, 10 blancos (Bk) durante tres días diferentes; los primeros dos días cada analista preparó un blanco por duplicado cada día, el tercer día solo midió un analista por duplicado. Los resultados se almacenan en los formatos de captura de datos apropiados para tal método (Anexos 1).

#### **4.5.2.2. PREPARACIÓN DE CURVAS DE CALIBRACIÓN**

Se analizaron 6 curvas de calibración de 5 patrones y un blanco durante tres días, cada analista preparó una por día. A partir de un estándar de fluoruros de 1000 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>, se preparó una solución madre de 10 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> que por dilución se obtuvieron los patrones de la curva como se indica en la Tabla 7. El rango de trabajo se acordó de acuerdo a las necesidades y alcance del laboratorio para cumplir con los requerimientos de las normas



para vertimientos de aguas naturales y residuales, así como para la normatividad correspondiente al recurso hídrico destinado para consumo humano. Además, se estableció el límite superior de trabajo en  $2,0 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$ , ya que el límite permitido para los fluoruros en agua potable es de  $1 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$ .

**TABLA 7. PATRONES PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

<b>CONCENTRACIÓN A PREPARAR (mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>VOLUMEN ALÍCUOTA</b>	<b>VOLUMEN FINAL ALÍCUOTA (mL)</b>	<b>CONCENTRACIÓN DE PARTIDA (mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>)</b>
0,03	$30 \pm 0,3 \text{ } \mu\text{L}$	$10 \pm 0,08$	$10 \pm 0,25$
0,10	$100 \pm 0,9 \text{ } \mu\text{L}$	$10 \pm 0,08$	$10 \pm 0,25$
0,70	$700 \pm 0,20 \text{ } \mu\text{L}$	$10 \pm 0,08$	$10 \pm 0,25$
1,30	$1,30 \pm 0,25 \text{ mL}$	$10 \pm 0,08$	$10 \pm 0,25$
2,00	$2,0 \pm 0,30 \text{ mL}$	$10 \pm 0,08$	$10 \pm 0,25$

#### **4.5.2.3. VERIFICACIÓN ANALÍTICA DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN**

Se estableció como límite de cuantificación y límite inferior del rango de trabajo para la determinación de fluoruros por electrodo selectivo de iones un valor de  $0,03 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$ , el límite máximo permisible para aguas potables de fluoruro es de  $1,0 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$ , se procedió a verificar el límite inferior de forma analítica como se mencionó anteriormente (Ver apartado 4.6.2.1).

El patrón se preparó a partir de la solución madre de  $10 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$  por dilución de  $0,15 \text{ mL}$  de esta, llevada a un volumen final de  $100 \text{ mL}$ . Estas alícuotas se sometieron al procedimiento de análisis del método SM 4500 F<sup>-</sup>, C.

#### **4.5.2.4. MEDICIÓN DE PATRONES DE CONTROL**

Los patrones se prepararon de la siguiente manera:

**TABLA 8. DEFINICIÓN DE PATRONES DE CONTROL PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

<b>PATRÓN DE CONTROL</b>	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>CONCENTRACIÓN</b>
Rango bajo (RB)	Aproximadamente 30 % del rango de trabajo	$0,60 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$
Rango Alto (RM)	Aproximadamente el 70% del rango de trabajo	$1,40 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$
Estándar Diluido (ED)	Límite superior de curva x 5	$10,0 \text{ mg F}^- \cdot \text{L}^{-1}$

Los patrones se prepararon y se midieron en conjunto junto a las muestras de agua natural, potable, residuales (domestica e industrial) y las muestras adicionadas para cada tipo de matriz. Con el fin de evitar variaciones en la naturaleza de las muestras y cambios en las incertidumbres de varios parámetros.

#### **4.5.2.5. MEDICIÓN DE MUESTRAS NATURAL, POTABLE Y RESIDUALES**

Las muestras de agua natural, potable y residuales se recolectaron el mismo día y se trasladaron al laboratorio donde se almacenaron bajo refrigeración 0 - 4°C, antes de ser analizada la muestra se climatizan a la temperatura del laboratorio 20 - 21°C, se pasan a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,45 µm con el fin de retener partículas sólidas y coloidales que afectan el color y la turbiedad de la muestra. Aunque se observó que no hay inconvenientes ni fluctuaciones en la lectura con la muestra sin filtrar, se decidió filtrarla por el cuidado del equipo ya que las aguas residuales domésticas e industriales son matrices muy complejas.

Se realizaron 16 mediciones por el equipo de ESI, para cada una de las matrices. Para evaluar la repetibilidad y reproducibilidad se analizaron en tres días consecutivos por 2 analistas manteniéndose en los valores permisibles de almacenamiento, para este método las muestras pueden durar hasta 28 días <sup>[2]</sup>.

No fue necesario realizar dilución en ninguna de las matrices de agua, debido a que la concentración de analito fue baja, incluso en las matrices residuales donde se esperaban mayores concentraciones.

#### **4.5.2.6. MUESTRAS FORTIFICADAS**

Se fortificaron muestras de las cuatro matrices de agua con un patrón de rango alto (PRA) de concentración (1,4 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>) y con un patrón de rango bajo (PRB) de concentración de (0,6 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>), se prepararon adicionando patrón y aforando con la muestra para cada matriz, el volumen de patrón no debe exceder el 5% del volumen final para lograr evaluar los efectos de la matriz. Se usaron los volúmenes de patrón descritos en la Tabla 9, y se usó muestra filtrada para aforar a 50 mL.

**TABLA 9. PREPARACIÓN DE MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO PARA ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODO SM 4500 F<sub>2</sub> C.**

<b>MUESTRA ADICIONADA</b>	<b>CONCENTRACIÓN A LLEVAR mg F.L<sup>-1</sup></b>	<b>CONCENTRACIÓN DE PARTIDA mg F.L<sup>-1</sup></b>	<b>VOLUMEN DE ALÍCUOTA mL</b>
<b>MRA</b> NATURAL	1,40	100 ± 0,08	1,35 ± 0,017
<b>MRB</b> NATURAL	0,60	100 ± 0,08	0,55 ± 0,017
<b>MRA</b> TRATADA	1,40	100 ± 0,08	1,35 ± 0,017
<b>MRB</b> TRATADA	0,60	100 ± 0,08	0,55 ± 0,017
<b>MRA</b> RESIDUAL DOMES	1,40	100 ± 0,08	1,30 ± 0,017
<b>MRB</b> RESIDUAL DOMES	0,60	100 ± 0,08	0,50 ± 0,017
<b>MRA</b> RESIDUAL IND	1,40	100 ± 0,08	1,30 ± 0,017
<b>MRB</b> RESIDUAL IND	0,60	100 ± 0,08	0,50 ± 0,017

#### **4.6. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

Las muestras para las dos metodologías se tomaron de acuerdo a lo especificado en los procedimientos de muestreo establecidos por el laboratorio APSAA, se almacenaron siguiendo el protocolo del Standard Methods for Analysis of Water and Wastewater <sup>[2]</sup> en la sección SM 1060 C.

Las matrices de agua natural, potable y residuales, se muestrearon en la ciudad de Popayán, en el departamento del Cauca. La muestra de agua natural y potable se tomó en la misma planta de tratamiento en el sector del “tablazo”, en la cual se utiliza como fuente hídrica el río piedras cuyas coordenadas son: 2°28`36.641`` N, 76°34`41,3`` O., ubicado en la vereda quintana del municipio de Popayán, Cauca.

Las muestras residuales se tomaron en dos lugares, el primero fue en el vertimiento de agua residual doméstica donde hace presencia el acueducto y alcantarillado de Popayán, este desemboca en el río Cauca sin tratamiento alguno, las coordenadas del vertimiento son: 2°27`47.282`` N, 76°35`22.482`` O., ubicado sobre la vía panamericana dentro de la ciudad de Popayán. El segundo lugar fue en una estación de servicio de autos, en la cual se toma la muestra de agua residual industrial que se produce en el lavado de autos, y desemboca en el alcantarillado de la ciudad, las coordenadas del lugar son: 2°27`23.868`` N, 76°35`30.489`` O. Ubicada en el barrio los hoyos de la ciudad de Popayán, Cauca.

Se tomó una muestra representativa de 25 L mediante el método de muestreo puntual. Las muestras se mantuvieron refrigeradas a temperaturas inferiores a los 4°C con el fin de

garantizar la preservación del analito. Se analizaron antes de completar el tiempo máximo de almacenamiento recomendado de 48 horas <sup>[2]</sup>.

Las muestras no se tomaron al mismo tiempo, debido a la capacidad del laboratorio y a la necesidad de evaluar la reproducibilidad durante la mayor cantidad de días posibles, sin afectar la integridad del analito a cuantificar. Para el desarrollo de cada método se tomó una muestra diferente en el mismo sitio de muestreo es decir para analizar nitratos se hizo un primer muestreo y para fluoruros uno posterior.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. DETERMINACION DE NITRATOS POR UV-Vis

#### 5.1.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

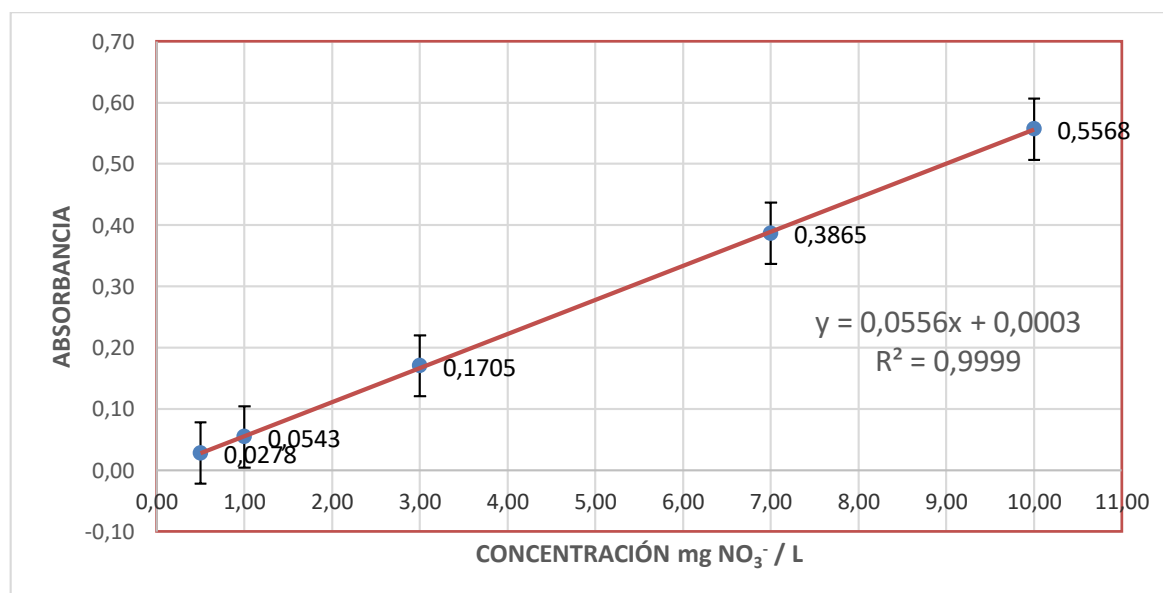
Durante los dos días de medición de curvas de calibración se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 10, donde se muestran las absorbancias de cada serie de patrones seleccionados para la elaboración de la curva de calibración, además la absorbancia promedio de todas las mediciones.

TABLA 10. RESULTADOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B

PATRONES mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5	CURVA 6	PROMEDIO ABSORBANCIAS
0,50	0,028	0,029	0,027	0,028	0,027	0,028	0,0278 ± 0,0008
1,00	0,055	0,055	0,054	0,055	0,054	0,053	0,0543 ± 0,0008
3,00	0,170	0,169	0,171	0,169	0,172	0,172	0,1705 ± 0,0014
7,00	0,388	0,387	0,387	0,386	0,386	0,385	0,3865 ± 0,0010
10,0	0,557	0,556	0,555	0,559	0,556	0,558	0,5568 ± 0,0015

La curva de calibración resultante es:

GRÁFICA 1. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B



De la curva de calibración de la gráfica 1 se obtuvieron como parámetros de análisis la pendiente de la recta, el intercepto con el eje Y, además el coeficiente de correlación, estos se muestran en la Tabla 11. Se destaca que la curva presenta un coeficiente de correlación mayor a 0,995, lo cual permite aceptar esta curva de calibración <sup>[10]</sup>, con la cual se obtendrán los resultados de los grupos de muestras por interpolación.

**TABLA 11. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B.**

PARÁMETROS	VALOR
Pendiente	0,0556
Intercepto con eje Y	0,0003
Coeficiente de determinación	0,9999
Desviación estándar pendiente	3,86 E - 04
Límite de confianza pendiente	0,0556 ± 0,0012
Desviación estándar Intercepto	2,18 E -03
Límite de confianza Intercepto	0,0003 ± 0,0069

### 5.1.2. BLANCOS Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Se calculó inicialmente la señal de los límites de detección Ld y Lq de forma teórica, para esto se usó la señal de los blancos como se muestran en la Tabla 12 junto con la verificación de forma analítica del límite de cuantificación establecido por el laboratorio. Se usó la t Student para 9 grados de libertad (2,262) al 95%, X<sub>prom</sub> es el promedio de las señales de los blancos y s es la desviación estándar de la señal de los blancos, por lo tanto, se estableció el límite de detección, así como se encuentra estipulado en el “Instructivo de confirmación y validación de métodos del acueducto de popayan” <sup>[8]</sup>:

$$Ld = X_{prom} + (t \times s)$$

$$Ld = 0,1920 + (2,262 \times 0,0147)$$

$$Ld = 0,225$$

La señal del límite de cuantificación se decide tomarlo como dos veces el límite de detección del método <sup>[8]</sup>. Se calculó de la siguiente manera:

$$Lq = 2 \times Ld$$

$$Lq = 2 \times 0.234$$

$$Lq = 0,45$$

De acuerdo a los resultados de pre estandarización estos valores ya se encuentran en concentración de miligramo de nitrato por litro ( $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ), el Lq se redondea por lo cual el primer punto para el rango de trabajo será  $0,5 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ; es por eso que teniendo en cuenta los límites máximos permisibles de las normas para aguas naturales, tratadas de  $10 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  y residuales de  $100 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  con base en la información obtenida se considera que es un buen punto de inicio para el límite inferior en el rango de trabajo.

**TABLA 12. RESULTADOS PARA BLANCOS Y PATRONES CON CONCENTRACIÓN EQUIVALENTE AL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B.**

ENSAYO	SEÑAL DE BLANCOS (ABS)	BLANCOS $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$	SEÑAL DE Lq (ABS)	Lq $0,5 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$	Ld $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$
1	0,011	0,192	0,029	0,516	0,226
2	0,012	0,210	0,030	0,534	0,244
3	0,011	0,192	0,028	0,498	0,226
4	0,012	0,210	0,027	0,480	0,244
5	0,010	0,174	0,029	0,516	0,208
6	0,011	0,192	0,029	0,516	0,226
7	0,010	0,174	0,028	0,498	0,226
8	0,011	0,192	0,028	0,498	0,244
9	0,012	0,210	0,030	0,534	0,208
10	0,010	0,174	0,028	0,498	0,244

A partir de los resultados obtenidos para los blancos y Lq, se realizó un análisis de precisión de los datos y se evaluó la presencia de datos sospechoso o anómalos dentro de los conjuntos, esto se hizo calculando el estadístico G, con el fin de aceptar o rechazar la hipótesis nula de que los datos sospechosos no son datos anómalos, así como se muestra en la Tabla 13, mediante el contraste de Grubbs.

**TABLA 13. RESULTADOS DE G ESTADÍSTICO PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS EN BLANCOS Y LCM PARA EL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B.**

ENSAYO	BLANCOS	Lq 0,5 mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>
1	1,89 E -15	0,41
2	1,22	1,45
3	1,89 E -15	0,62
4	1,22	1,66
5	1,22	0,41
6	1,89 E -15	0,41
7	1,22	0,62
8	1,89 E -15	0,62
9	1,22	1,45
10	1,22	0,62

No se destaca de estos resultados que G estadístico exceda el G crítico (para n = 10 al 95% de confianza G = 2,172), por lo tanto, la hipótesis de que los datos sospechosos no son anómalos se acepta <sup>[10]</sup>.

A partir de esta información se obtienen las magnitudes de las variables estadísticas destinados a la evaluación de la precisión y la exactitud como se muestra en la Tabla 14.

**TABLA 14. PARÁMETROS ESTADÍSTICAS OBTENIDAS PARA LOS BLANCOS Y LOS LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B.**

MAGNITUD ESTADÍSTICA	BLANCOS	Lq 0,5 mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>
$\hat{x}$	0,192	0,507
S	0,014	0,016
%CV	7,654	3,287
% Error	-	2,120

Estos resultados cumplen con los criterios de aceptabilidad para la evaluación de la precisión y la exactitud ya que los parámetros calculados como el %CV y el %Error se encuentra dentro de los rangos permitidos para el método y para el laboratorio también <sup>[8]</sup>.



### 5.1.3. PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS FORTIFICADAS

A continuación, se muestran en la Tabla 15, los resultados obtenidos por los 2 analistas, en la medición de patrones y muestras fortificadas en  $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ , los resultados se encuentran agrupados sin distinguir entre analistas. Las adiciones que se hacen para fortificar las muestras son a rango alto ( $7 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ) y rango bajo ( $3 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ )

**TABLA 15. RESULTADOS DE CONCENTRACIONES PARA PATRONES DE CONTROL Y MUESTRAS DEL MÉTODO SM 4500  $\text{NO}_3^-$ , B.**

ENSAYO	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA DOMES.	AGUA INDUS.
1	3,0919	7,0934	99,0640	1,5719	1,2482	4,6223	12,7158
2	3,0387	7,0574	98,9910	1,5441	1,3010	4,4775	12,2252
3	3,0926	6,9297	98,9909	1,5982	1,3279	4,4694	12,3831
4	2,9641	7,1639	99,8564	1,5996	1,3483	4,8564	12,3070
5	3,0538	7,0919	99,8564	1,5817	1,2944	4,4075	13,1149
6	3,0378	6,9856	100,036	1,6865	1,4162	4,2882	14,4684
7	3,0378	6,9658	99,3153	1,6504	1,4342	4,4684	14,3784
8	3,0919	7,0935	99,3153	1,6684	1,4882	5,1892	14,6486
9	2,9837	7,0757	99,6223	1,6538	1,4739	4,6718	14,4739
10	3,1465	7,0756	99,9820	1,6358	1,4379	4,9415	14,3840

ENSAYO	AGUA PRB	AGUA PRA	AGUA NRB	AGUA NRA	AGUA RDRB	AGUA RDRA	AGUA RIRB	AGUA RIRA
1	3,0468	7,0935	3,0288	7,0575	3,0827	7,0755	2,7589	7,0575
2	3,0577	7,0757	3,0881	7,0216	3,0577	7,1117	2,8003	6,9191
3	3,0757	7,0756	3,0577	7,0756	3,0881	7,0576	2,8414	6,8955
4	3,1077	7,0754	2,9641	7,0934	3,1077	7,1113	2,9102	6,9856
5	3,0538	7,0754	3,0538	7,0574	3,0897	7,0036	2,8743	6,9856
6	3,0378	6,9838	3,0378	6,9297	3,0919	7,1279	3,1639	6,9658
7	3,0919	6,9477	3,0378	6,9477	3,0919	7,1639	2,9477	7,0018
8	3,0919	6,8937	2,9658	6,9837	2,9837	7,0919	3,2360	6,9837
9	3,0387	6,9595	3,0027	6,9415	2,9847	6,9775	3,1465	6,9775
10	3,0926	6,9235	2,9847	6,9955	3,0206	7,0494	3,2005	6,9775

En la tabla 16 se muestran los resultados de la evaluación para la presencia de datos anómalos dentro de los conjuntos de resultados obtenidos, esto se hizo calculando el estadístico G con el fin de aceptar o rechazar la hipótesis nula de que los datos sospechosos no son datos anómalos.

**TABLA 16. RESULTADOS DE G ESTADÍSTICO PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS, PARA UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95 % LA G CRÍTICA PARA N = 10 ES 2,176.**

ENSAYO	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA DOMES.	AGUA INDUS.
1	0,698	0,565	1,053	1,013	1,543	0,061	0,760
2	0,279	0,058	1,228	1,610	0,911	0,578	1,230
3	0,711	1,738	1,228	0,448	0,589	0,607	1,079
4	1,648	1,557	0,848	0,418	0,344	0,777	1,152
5	0,001	0,544	0,848	0,802	0,990	0,829	0,378
6	0,295	0,952	1,278	1,449	0,469	1,256	0,918
7	0,295	1,230	0,450	0,674	0,685	0,611	0,832
8	0,698	0,566	0,450	1,060	1,332	1,967	1,090
9	1,288	0,316	0,286	0,747	1,161	0,117	0,923
10	1,700	0,314	1,149	0,360	0,729	1,081	0,837

ENSAYO	Agua PRB	Agua PRA	Agua NRB	Agua NRA	Agua RDRB	Agua RDRA	Agua RIRB	Agua RIRA
1	0,886	1,091	0,161	0,793	0,490	0,027	1,271	1,879
2	0,460	0,857	1,591	0,189	0,047	0,609	1,041	1,272
3	0,244	0,856	0,858	1,097	0,606	0,341	0,813	1,809
4	1,495	0,853	1,399	1,397	1,026	0,602	0,431	0,242
5	0,612	0,853	0,764	0,791	0,640	1,290	0,630	0,242
6	1,238	0,349	0,378	1,357	0,687	0,893	0,976	0,209
7	0,877	0,822	0,378	1,054	0,687	1,526	0,223	0,611
8	0,877	1,531	1,358	0,448	1,634	0,261	1,376	0,199
9	1,202	0,668	0,469	1,158	1,613	1,748	0,879	0,058
10	0,905	1,140	0,903	0,250	0,843	0,485	1,179	0,058

No se destaca de estos resultados que el estadístico G exceda el G crítico, por lo tanto, la hipótesis de que los datos sospechosos no son anómalos se acepta.

A partir de esta información se obtienen los parámetros estadísticos destinados para la evaluación de la precisión y la exactitud, estos se observan en la Tabla 17.

**TABLA 17. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS PARA LOS PATRONES, MUESTRAS DEL MÉTODO SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B.**

MAGNITUD ESTÁNDAR	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA R. DOMES.	AGUA R. INDUST.
$\hat{x}$	3,0540	7,0530	99,50	1,620	1,380	4,640	13,51
S	0,0545	0,0711	0,417	0,046	0,083	0,279	1,044
%CV	1,7836	1,0078	0,419	2,875	6,061	6,026	7,731
% Error	1,7960	0,7610	0,500	-	-	-	-

MAGNITUD ESTÁNDAR	AGUA PRB	AGUA PRA	AGUA NRB	AGUA NRA	AGUA RDRB	AGUA RDRA	AGUA RIRB	AGUA RIRA
$\hat{x}$	3,0690	7,0100	3,0220	7,0100	3,0600	7,0770	2,9880	6,9750
S	0,0256	0,0762	0,0415	0,0595	0,0466	0,0569	0,1803	0,0439
%CV	0,8334	1,0871	1,3721	0,8482	1,5230	0,8045	6,0338	0,6298
% Recup.	96,690	98,020	96,770	98,830	101,53	100,81	95,330	99,370

De la Tabla 17 se puede observar que todos los grupos de muestras cumplen con los criterios de aceptabilidad pre establecidos para la caracterización de la precisión y la exactitud del método. El %CV en todas las muestras no supera el 10% que es el rango máximo establecido de aceptabilidad [8]. Como se mostró en la sección 6.6.1.4, se utilizó un patrón diluido el cual es 10 veces más concentrado que el límite superior del rango de trabajo para nitratos (100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>) esto quiere decir que el método presenta buena respuesta a cantidades de nitratos superiores a las del rango de trabajo, cabe resaltar que para las muestras reales (natural, potable y residuales) no poseen %Error porque no hay un valor teórico para compararlas y las muestras adicionadas presentan un %Recuperación o recobro el cual debe estar entre 95 y 105% para que sea aceptable, ya este recobro es la cantidad de analito adicionada a una muestra para poder determinar la concentración real de esta, lo que permite concluir que el método es aceptable para los propósitos del laboratorio. Además, permite determinar que el método es repetible ya que no se encuentran diferencias significativas entre los resultados obtenidos de forma consecutiva.

#### 5.1.4. REPRODUCIBILIDAD

Para evaluar la reproducibilidad se realizó un análisis de varianzas; en este caso se calculó la varianza dentro de los resultados obtenidos por cada analista y la varianza entre los promedios de los resultados de cada analista.

Con estos valores se realizó una prueba de contraste F de una cola con un nivel de confianza del 95% para verificar la hipótesis nula  $H_0 =$  donde se considera que los resultados obtenidos por cada analista no difieren significativamente entre sí.

Se analizó por separado cada grupo de muestras, teniendo en cuenta que cada analista realizó 8 repeticiones en cada análisis, los resultados se muestran en las siguientes secciones:

##### 5.1.4.1. PATRONES DE CONTROL

A continuación, en las siguientes tablas se muestran los resultados del contraste F de varianza para una cola, para los patrones de rangos bajo, alto y estándar diluido respectivamente, seleccionados para el proceso de estandarización. El valor de F calculado ( $F_{cal}$ ) que indica el cociente de las varianzas  $S^2$ , siempre debe ser menor que el F teórico (245,9). Esta prueba demuestra si existe o no, diferencia significativa entre las mediciones de los dos analistas.

**TABLA 18. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO BAJO, EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	PRB 1	PRB 2	PRB 3	PRB 4	PRB 5	PRB 6	PRB 7	PRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	3,146	3,236	3,146	3,236	3,146	3,200	3,091	2,983	6,91 E- 03	0,755
2	2,800	2,841	2,910	3,037	3,053	3,033	2,965	3,002	9,15 E- 03	

**TABLA 19. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA PATRONES DE RANGO**

ALTO

ANALISTA	PRA 1	PRA 2	PRA 3	PRA 4	PRA 5	PRA 6	PRA 7	PRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	6,959	6,947	7,075	7,093	6,965	7,001	6,983	6,977	2,96 E- 03	0,528
2	7,049	7,003	7,127	7,163	7,003	7,163	7,091	6,977	5,60 E- 03	

**TABLA 20. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA PATRONES DE ESTÁNDAR**

DILUIDO.

ANALISTA	PED 1	PED 2	PED 3	PED 4	PED 5	PED 6	PED 7	PED 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	99,06	98,99	98,99	99,85	99,85	100,0	99,31	99,31	0,182	1,280
2	99,31	99,85	99,85	100,0	99,31	98,99	99,62	99,98	0,142	

Para obtener el valor del F teórico, cada analista realizó 8 análisis, es decir que los grados de libertad dentro de muestra para los resultados de cada analista son 7, sumando los grados de libertad de los 2 analistas se obtienen un total de 14 y los grados de libertad entre muestras es 1, porque se comparan los resultados de 2 analistas diferentes. Y como se pueden observar en las Tablas 18, 19 y 20 ningún resultado es mayor que el F teórico (245,9), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los analistas participantes del desarrollo analítico.

#### 5.1.4.2. MUESTRAS DE AGUA NATURAL, POTABLE Y RESIDUALES

A continuación, en la Tabla 21, se muestran los resultados del contraste F para las muestras de agua natural. Las tablas de agua potable, residual doméstica e industrial. (Anexos 3)

**TABLA 21. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL, EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	MN 1	MN 2	MN 3	MN 4	MN 5	MN 6	MN 7	MN 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,571	1,544	1,598	1,599	1,581	1,686	1,650	1,668	2,53 E- 03	1,643
2	1,668	1,599	1,581	1,57	1,650	1,668	1,653	1,635	1,54 E- 03	

Como se puede observar en la Tabla 21 ningún resultado de F calculado es mayor que el F teórico (245,9), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los analistas. Lo mismo se observó en las otras tres matrices, el F experimento es menor que el F teórico. (Anexos 3)

#### 5.1.4.3. MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO

A continuación, se muestran los resultados de las Tablas 22 y 23 para la muestra natural adicionada en rango alto y bajo respectivamente, seleccionados para el proceso de estandarización. Las tablas de agua potable, residual doméstica e industrial, adicionadas a rango alto y bajo. (Anexos 3)

**TABLA 22. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (NRA), EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	NRA 1	NRA 2	NRA 3	NRA 4	NRA 5	NRA 6	NRA 7	NRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	7,093	7,075	7,075	7,075	7,075	6,983	6,947	6,893	5,68 E- 03	1,093
2	6,959	6,947	7,075	7,093	6,947	6,893	7,075	6,923	6,21 E- 03	

**TABLA 23. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (NRB)**

ANALISTA	NRB 1	NRB 2	NRB 3	NRB 4	NRB 5	NRB 6	NRB 7	NRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	3,046	3,057	3,075	3,107	3,053	3,037	3,091	3,091	6,2 E- 04	1,161
2	3,053	3,091	3,075	3,037	3,091	3,107	3,038	3,926	7,2 E- 04	

Analizando los resultados de todas las muestras adicionadas, el F calculado no supera el F teórico para ninguno de los grupos de patrones de control (PRB, PRM y PED) muestras (MN, MT, MRD, MRI), y muestras adicionadas (NRA, NRB, TRA, TRB, RDRA, RDRB, RIRA, RIRB), (Anexos 3), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los dos analistas.

#### **5.1.5. DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO**

En el diagrama 1 se muestran las fuentes de incertidumbre consideradas en el análisis estadístico para la estimación de la incertidumbre del método analítico para la determinación de nitratos por UV-Vis<sup>[1]</sup>.

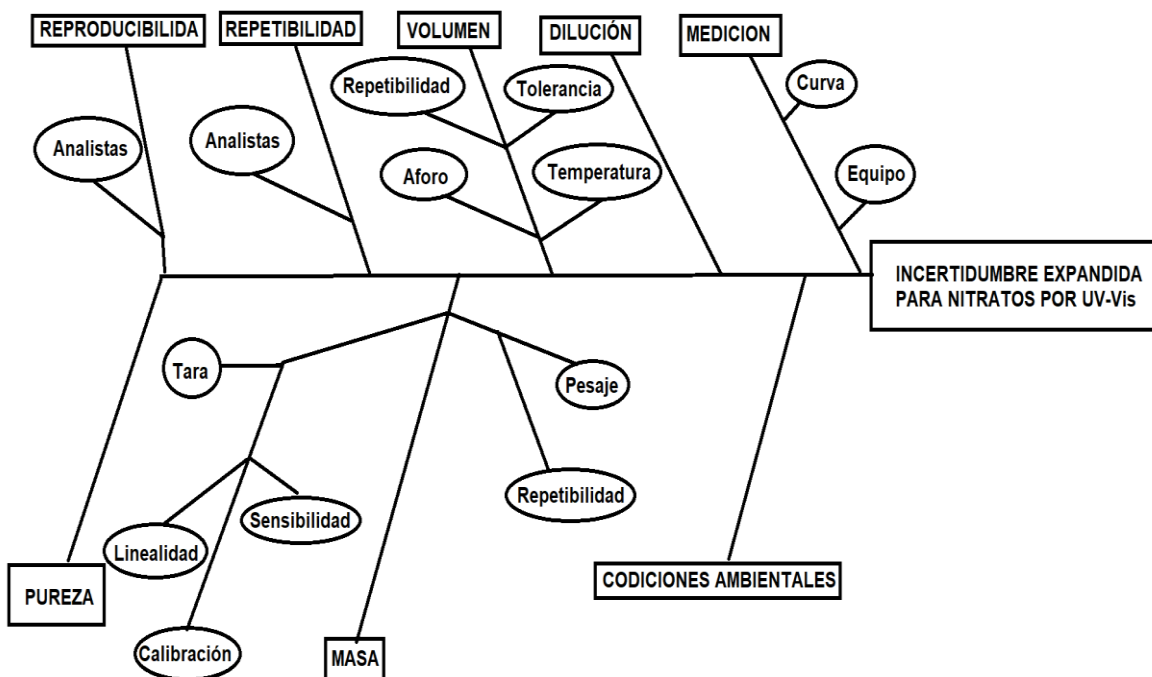
Debido a que toda medida analítica está sujeta a errores de tipo aleatorio y en ciertos casos sujeta a errores sistemáticos, es necesario cuantificar estas causas con el fin de determinar en qué valores se encuentra realmente la medida analítica.

Estas desviaciones provienen de diferentes fuentes como las diluciones, alícuota de análisis, la medición del espectrofotómetro entre otros que aportan en cierta medida a aumentar el sesgo de las mediciones.

La incertidumbre se expresa sobre una medida con un valor conocido establecido como el valor real, alrededor de este se sitúan los resultados de manera aleatoria. De acuerdo a esto se expresará la incertidumbre para los patrones de control de rango bajo y alto. Esta medida del sesgo en los resultados analíticos sirve para estimar la incertidumbre en los análisis de muestras: natural, potable y residual, ya que las fuentes de incertidumbre consideradas son las mismas.

El procedimiento para el cálculo de la incertidumbre se encuentra en el anexo 1, y los resultados se muestra en la Tabla 24. Las incertidumbres estándar relativas para cada fuente de incertidumbres son las que afecta la determinación de los patrones de rango bajo (RB) ya que a partir de estas incertidumbres se procede a calcular la incertidumbre estándar combinada.

**DIAGRAMA 1. FUENTE DE INCERTIDUMBRE CONSIDERADAS EN LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS POR UV-Vis. SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. B.**



**TABLA 24. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO BAJO RB.**

FUENTE DE INCERTIDUMBRE	INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en el espectrofotómetro	1,84E-02
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RB	2,03E-03
Incertidumbre aforo del estándar RB	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RB	3,55E-03
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RB	6,70E-03



De acuerdo con estos resultados, se calculó la incertidumbre estándar combinada como la raíz de la sumatoria de los cuadrados de las incertidumbres estándar relativas, así se obtiene el siguiente valor:

$$U_c = 6,4 E - 03$$

Debido a la poca representatividad de la incertidumbre combinada y para que la amplitud de este intervalo abarque todos los valores posibles del mensurando, se hace necesario aumentar la probabilidad teniendo en cuenta las características normales de la distribución de los datos evaluados; para un nivel de confianza del 95% el factor de cobertura K es igual a 2, además se multiplica por el valor del rango bajo que corresponde a 3,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> para obtener la incertidumbre estándar expandida, así:

$$U = 6,4 \times 10^{-3} \times 2 \times 3$$

$$U = 0,0384$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango bajo:

$$\frac{0,0384}{3,0} \times 100\% = 1,28\%$$

Los resultados se expresan como: 3,0 ± 0,0384 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>, para el método de nitratos por UV-Vis

De igual manera, en la Tabla 25 se muestra la incertidumbre para los resultados obtenidos con los patrones de control de rango alto:

**TABLA 25. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO BAJO RA.**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en el espectrofotómetro	7,98E-03
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RA	2,67E-03
Incertidumbre aforo del estándar RA	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RA	1,54E-03
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RA	2,96E-03

Se procede de igual forma a calcular la incertidumbre combinada total para los patrones de control de rango alto:

$$U_c = 2,62 \text{ E} - 03$$

Con este dato se calcula la incertidumbre expandida considerando un factor de cobertura igual a 2 para una distribución normal con un nivel de confianza del 95%, además se multiplica por el valor del rango alto que corresponde a  $7,0 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$

Se calcula la incertidumbre expandida así:

$$U = 2,62 \times 10^{-3} \times 2 \times 7$$

$$U = 0,03668$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto:

$$\frac{0,03668}{7,0} \times 100\% = 0,52 \%$$

Los resultados se expresan como:  $7,0 \pm 0,036 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . para el método de nitratos por UV-Vis.

En anexos 5 se encuentra una tabla que resume cada uno de los parámetro obtenidos en la estandarización de nitratos por UV.Vis.

## 5.2. FLUORUROS POR ELECTRODO SELECTIVO DE IONES (ESI)

### 5.2.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

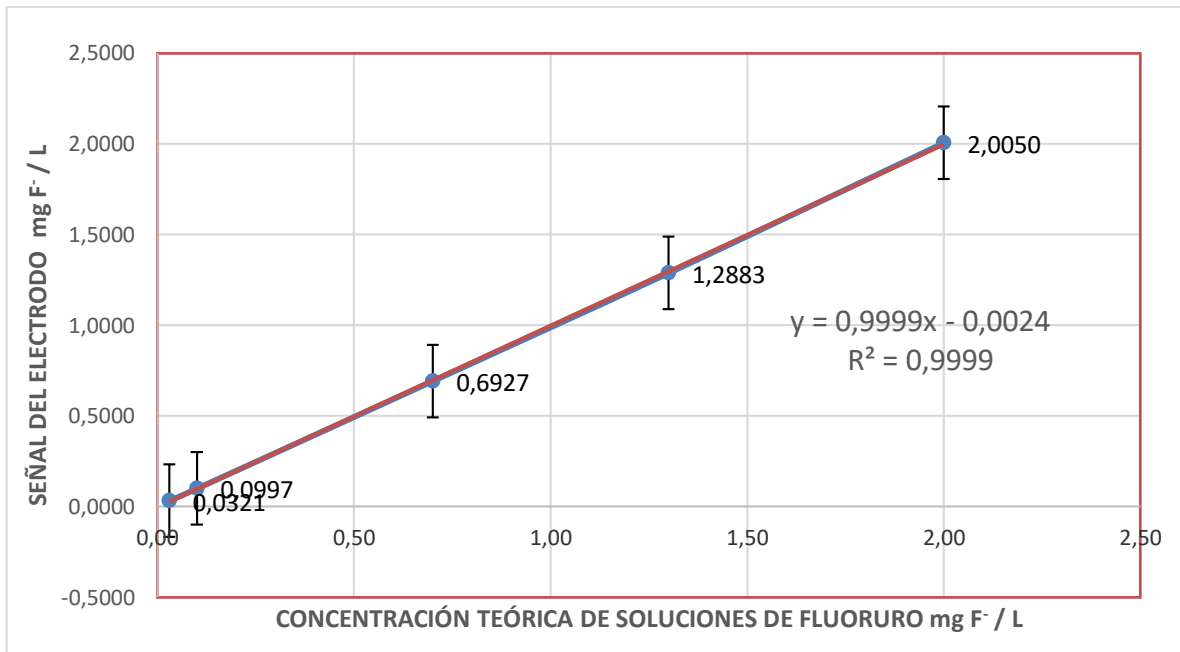
Durante los dos días de medición de curvas de calibración se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 26, donde se muestran las lecturas de cada serie de patrones seleccionados para la elaboración de la curva de calibración de fluoruros, además las lecturas promedio de todas las mediciones.

TABLA 26. RESULTADOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.

PATRONES mg F <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5	CURVA 6	PROMEDIO DE LECTURAS
0,03	0,032	0,032	0,032	0,033	0,032	0,032	0,032 ± 0,0003
0,10	0,100	0,099	0,099	0,100	0,101	0,100	0,100 ± 0,0007
0,70	0,683	0,687	0,680	0,695	0,709	0,702	0,693 ± 0,0114
1,30	1,290	1,280	1,290	1,290	1,280	1,300	1,288 ± 0,0075
2,00	2,010	1,990	2,010	2,000	1,990	2,000	2,000 ± 0,0089

La curva de calibración resultante es:

GRÁFICA 2. CURVA DE CALIBRACIÓN RESULTANTE PARA EL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.



De la gráfica 2 se obtuvieron como parámetros de análisis la pendiente de la recta, el intercepto con el eje Y, además el coeficiente de correlación, estos se muestran en la Tabla 27. Se destaca que la curva presenta un coeficiente de determinación de 0,9999 que es excelente, aunque teniendo en cuenta que se hace para confirmar las lecturas del electrodo con una solución de concentración conocida se consideran lecturas muy confiables, lo cual permite aceptar esta curva de calibración.

**TABLA 27. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

<b>PARÁMETROS</b>	<b>VALOR</b>
Pendiente	0,9999
Intercepto con eje Y	0,0024
Coeficiente de determinación	0,9999
Desviación estándar pendiente	3,82 E - 03
Límite de confianza pendiente	0,9978 ± 0,0121
Desviación estándar Intercepto	4,26 E - 03
Límite de confianza Intercepto	0,0016 ± 0,0013

### 5.2.2. BLANCOS Y LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN

Se calculó inicialmente la señal de los límites de detección y de cuantificación de forma teórica, para esto se usó la señal de los blancos como se muestran en la Tabla 28. Se usó la t Student para 9 grados de libertad (2,262) al 95%,  $X_{prom}$  es el promedio de las señales de los blancos y s es la desviación estándar de la señal de los blancos, por lo tanto, se estableció el límite de detección así “Instructivo de confirmación y validación de métodos del acueducto de Popayán” [8]:

$$Ld = X_{prom} + (t \times s)$$

$$Ld = 0,0125 + (2,262 \times 0,0002)$$

$$Ld = 0,017$$

La señal del límite de cuantificación se decide tomarlo como dos veces el límite de detección del método [8]. Se calculó de la siguiente manera:

$$Lq = 2 \times LDM$$

$$Lq = 2 \times 0.017$$

$$Lq = 0,034$$

De acuerdo a los resultados de la pre-estandarización se concluyó que el primer punto para el rango de trabajo será 0,03 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>; es por eso que teniendo en cuenta los límites máximos permisibles de las normas para agua potable y natural son de máximo 1,0 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>, con base en la información obtenida se considera que es un buen punto de inicio para el rango inferior en el límite de trabajo.

**TABLA 28. RESULTADOS PARA BLANCOS Y PATRÓN CON CONCENTRACIÓN EQUIVALENTE AL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

ENSAYO	SEÑAL DE BLANCOS POR ELECTRODO mg F <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	Lq mg F <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	SEÑAL DE PATRÓN POR ELECTRODO mg F <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>
1	0,0125	0,0340	0,0325
2	0,0124	0,0340	0,0311
3	0,0129	0,0340	0,0319
4	0,0123	0,0340	0,0324
5	0,0126	0,0340	0,0325
6	0,0127	0,0340	0,0317
7	0,0125	0,0340	0,0317
8	0,0122	0,0340	0,0325
9	0,0124	0,0340	0,0328
10	0,0123	0,0340	0,0324

A partir de los resultados obtenidos para los blancos y Lq, se realizó un análisis de precisión de los datos y se evaluó la presencia de datos sospechoso o anómalos dentro de los conjuntos, esto se hizo calculando el estadístico G, con el fin de aceptar o rechazar la hipótesis nula, de que los datos sospechosos no son datos anómalos, así como se muestra en la Tabla 29, mediante el contraste de Grubbs.

**TABLA 29. RESULTADOS DE G ESTADÍSTICO DE CADA ENSAYO PARA EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS EN BLANCOS Y LQ PARA EL MÉTODO SM 4500 F<sup>-</sup>, C.**

ENSAYO	BLANCOS	Lq 0,03 mg F <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>
1	0,095	0,666
2	0,381	1,998
3	2,002	0,476

4	0,858	0,476
5	0,572	0,666
6	1,049	0,856
7	0,095	0,856
8	1,335	0,666
9	0,381	1,237
10	0,858	0,476

En la tabla anterior no se destaca de estos resultados que el G estadístico calculado para cada ensayo exceda el G crítico (para n = 10 al 95% de confianza G = 2,172), por lo tanto, la hipótesis de que los datos sospechosos no son anómalos se acepta <sup>[10]</sup>.

A partir de esta información se obtienen las magnitudes estadísticas destinados a la evaluación de la precisión y la exactitud. Como se muestran en la Tabla 30.

**TABLA 30. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS OBTENIDAS PARA LOS BLANCOS Y LOS LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO SM 4500 F, C.**

<b>MAGNITUD ESTADÍSTICA</b>	<b>BLANCOS</b>	<b>Lq 0,03 mg F·L<sup>-1</sup></b>
$\hat{x}$	0,01250	0,03220
S	0,00021	0,00053
%CV	1,68	1,63
% Error	-	7,17

Estos resultados cumplen con los criterios de aceptabilidad para la evaluación de la precisión y la exactitud, ya que los parámetros calculados como el %CV y el %Error se encuentra dentro de los rangos permitidos para el método y para el laboratorio <sup>[2] [8]</sup>.

### **5.2.3. PATRONES, MUESTRAS Y MUESTRAS ADICIONADAS**

A continuación en la Tabla 31, se muestran los resultados obtenidos por los 2 analistas, en la estandarización con patrones y muestras reales en mg F·L<sup>-1</sup>, donde se encuentran agrupados los resultados de todas las muestras sin distinguir entre analistas. Las adiciones se hacen para fortificar las muestras a rango alto y rango bajo.

**TABLA 31. RESULTADOS DE MEDICIONES CON ELECTRODO PARA PATRONES Y MUESTRAS DEL MÉTODO SM  
4500 F<sup>-</sup>, C.**

ENSAYO	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA DOMES.	AGUA INDUS.
1	0,593	1,400	9,880	0,0498	0,0589	0,0864	0,1180
2	0,587	1,390	9,990	0,0496	0,0574	0,0852	0,0999
3	0,605	1,420	9,930	0,0510	0,0594	0,0893	0,1100
4	0,588	1,390	9,930	0,0511	0,0578	0,0898	0,1200
5	0,612	1,3900	9,950	0,0504	0,0602	0,0869	0,1120
6	0,605	1,410	9,900	0,0488	0,0609	0,0942	0,1110
7	0,585	1,410	9,990	0,0479	0,0601	0,0851	0,0995
8	0,579	1,420	9,950	0,0468	0,0559	0,0823	0,0993
9	0,583	1,410	9,980	0,0494	0,0591	0,0882	0,1090
10	0,606	1,410	9,900	0,0486	0,0612	0,0920	0,1090

ENSAYO	AGUA PRA	AGUA PRB	AGUA NRA	AGUA NRA	AGUA RDRA	AGUA RDRB	AGUA RIRA	AGUA RIRA
1	0,593	1,380	0,593	1,410	0,612	1,400	0,580	1,370
2	0,590	1,370	0,599	1,410	0,605	1,400	0,609	1,420
3	0,601	1,390	0,587	1,410	0,610	1,430	0,585	1,420
4	0,598	1,390	0,605	1,420	0,618	1,400	0,579	1,380
5	0,590	1,390	0,588	1,410	0,615	1,400	0,583	1,380
6	0,583	1,390	0,585	1,420	0,618	1,390	0,582	1,380
7	0,609	1,400	0,589	1,400	0,610	1,420	0,606	1,410
8	0,573	1,390	0,585	1,420	0,602	1,390	0,586	1,400
9	0,573	1,380	0,604	1,410	0,591	1,390	0,582	1,400
10	0,573	1,380	0,585	1,400	0,595	1,410	0,608	1,390

Se evaluó la presencia de datos anómalos dentro de los conjuntos de resultados, esto se hizo calculando el estadístico G con el fin de aceptar o rechazar la hipótesis nula de que los datos sospechosos no son datos anómalos, así como se muestra en la Tabla 32.

**TABLA 32. RESULTADOS DE G ESTADÍSTICO PARA CADA ENSAYO CON EL CONTRASTE DE GRUBBS DE DATOS SOSPECHOSOS, PARA UN NIVEL DE CONFIANZA DEL 95%; G CRÍTICA PARA N=10 ES 2,176.**

ENSAYO	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA DOMES.	AGUA INDUS.
1	0,112	0,424	1,532	0,338	0,114	0,437	1,260
2	0,626	1,273	1,277	0,191	1,018	0,777	1,211
3	0,918	1,273	0,255	1,221	0,187	0,386	0,168
4	0,541	1,273	0,255	1,295	0,777	0,528	1,534
5	1,519	1,273	0,255	0,780	0,669	0,295	0,441
6	0,918	0,424	1,022	0,397	1,090	1,775	0,305
7	0,798	0,424	1,277	1,060	0,608	0,805	1,266
8	1,313	1,273	0,255	1,869	1,921	1,600	1,293
9	0,970	0,424	1,022	0,044	0,006	0,074	0,031
10	1,004	0,424	1,022	0,544	1,271	1,151	0,031

ENSAYO	Agua PRB	Agua PRA	Agua NRB	Agua NRA	Agua RDRB	Agua RDRA	Agua RIRB	Agua RIRA
1	0,371	0,712	0,127	0,136	0,474	0,224	0,808	1,405
2	0,134	1,897	0,887	0,136	0,280	0,224	1,534	1,405
3	1,003	0,474	0,634	0,136	0,259	2,019	0,404	1,405
4	0,766	0,474	1,648	1,220	1,121	0,224	0,888	0,843
5	0,134	0,474	0,507	0,136	0,798	0,224	0,565	0,843
6	0,419	0,474	0,887	1,220	1,121	0,972	0,646	0,843
7	1,635	1,660	0,380	1,491	0,259	1,271	1,292	0,843
8	1,209	0,474	0,887	1,220	0,604	0,972	0,323	0,281
9	1,209	0,712	1,521	0,136	1,790	0,972	0,646	0,281
10	1,209	0,712	0,887	1,491	1,358	0,523	1,454	0,281

No se destaca de estos resultados que el estadístico G exceda el G crítico para  $n = 10$  es 2,176, por lo tanto, la hipótesis de que los datos sospechosos no son anómalos se acepta.

A partir de esta información se obtienen los parámetros estadísticos destinados a la evaluación de la precisión y la exactitud, estas se observan en la Tabla 33.



**TABLA 33. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS PARA LOS PATRONES, MUESTRAS DEL MÉTODO SM  
4500 F<sup>-</sup>, C.**

MAGNITUD ESTÁNDAR	PATRÓN BAJO	PATRÓN ALTO	PATRÓN DILUIDO	AGUA POTABLE	AGUA NATURAL	AGUA R. DOMES.	AGUA R. INDUST.
$\hat{x}$	0,594	1,405	9,940	0,0493	0,0590	0,0879	0,1087
S	0,011	0,011	0,039	0,0014	0,0017	0,0035	0,0073
%CV	1,961	0,839	0,394	2,7550	2,8100	4,0090	6,7320
% Error	0,950	0,357	0,600	-	-	-	-

MAGNITUD ESTÁNDAR	AGUA PRB	AGUA PRA	AGUA NRB	AGUA NRA	AGUA RDRB	AGUA RDRA	AGUA RIRB	AGUA RIRA
$\hat{x}$	0,588	1,386	0,592	1,411	0,607	1,403	0,590	1,395
S	0,012	0,008	0,007	0,007	0,009	0,013	0,012	0,017
%CV	2,150	0,610	1,330	0,470	1,530	0,950	2,100	1,280
% Recup.	97,99	99,01	96,89	100,2	103,9	101,1	96,25	98,94

De la Tabla 33 se puede observar que todos los grupos de muestras cumplen con los criterios de aceptabilidad preestablecidos (repetibilidad y reproducibilidad); para la caracterización de la precisión y la exactitud del método. El %CV en todas las muestras no supera el 10% que es el rango máximo establecido de aceptabilidad <sup>[8]</sup>. Como se mostró en la sección 4.5.1.4, se utilizó un patrón diluido el cual es 5 veces más concentrado que el límite superior del rango de trabajo para fluoruros (10 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>) esto quiere decir que el método presenta buena respuesta a cantidades de fluoruro superiores a las del rango de trabajo, cabe resaltar que para las muestras reales (natural, potable y residuales) no poseen %Error porque no hay un valor teórico para compararlas y las muestras adicionadas presentan un %Recuperación el cual debe estar entre 95 y 105% para que sea aceptable <sup>[8]</sup>, ya que este recobro es la cantidad de analito adicionada a una muestra para poder determinar la concentración real de esta. De acuerdo a esto se permite concluir que el método es aceptable para los propósitos del laboratorio. Además, permite determinar que el método es repetible ya que no se encuentran diferencias significativas entre los resultados obtenidos de forma consecutiva debido a que ningún dato en el contraste de Grubbs está por encima del G crítico (2,176).

#### 5.2.4. REPRODUCIBILIDAD

Para evaluar la reproducibilidad se realizó un análisis de varianzas; en este caso se calculó la varianza dentro de los resultados obtenidos por cada analista y la varianza entre los promedios de los resultados de cada analista.

Con estos valores se realizó una prueba de contraste F de una cola con un nivel de confianza del 95% para verificar la hipótesis nula  $H_0 =$  donde se considera que los resultados obtenidos por cada analista no difieren significativamente entre sí. Porque se desea conocer si los resultados varían de un analista a otro. Se analizó por separado cada grupo de muestras, teniendo en cuenta que cada analista realizó 8 repeticiones en cada análisis. A continuación, se presentan los resultados obtenidos:

##### 5.2.4.1. PATRONES DE CONTROL

A continuación, en las siguientes tablas se muestran los resultados del contraste F de varianza para una cola, para los patrones de rangos bajo, alto y estándar diluido respectivamente, seleccionados para el proceso de estandarización. El valor de F calculado ( $F_{cal}$ ) que indica el cociente de las varianzas  $S^2$ , debe ser menor que el F teórico (245,9). Esta prueba demuestra si existe o no, diferencia significativa entre las mediciones de los dos analistas.

**TABLA 34. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO BAJO (PRB), EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	PRB 1	PRB 2	PRB 3	PRB 4	PRB 5	PRB 6	PRB 7	PRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,593	0,590	0,601	0,605	0,588	0,585	0,609	0,585	8,69 E-05	2,198
2	0,585	0,604	0,585	0,615	0,618	0,610	0,606	0,586	1,91 E-04	

**TABLA 35. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LOS PATRONES DE RANGO ALTO (PRA)**

ANALISTA	PRA 1	PRA 2	PRA 3	PRA 4	PRA 5	PRA 6	PRA 7	PRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,39	1,39	1,40	1,42	1,41	1,42	1,39	1,42	2,0 E-04	1,14
2	1,42	1,41	1,40	1,40	1,39	1,42	1,42	1,38	2,29 E-04	

**TABLA 36. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA EL ESTÁNDAR DILUIDO (PED)**

ANALISTA	PED 1	PED 2	PED 3	PED 4	PED 5	PED 6	PED 7	PED 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	9,88	9,99	9,93	9,93	9,95	9,90	9,99	9,95	1,51 E-03	1,66
2	9,93	9,94	9,95	9,98	9,99	9,95	9,98	9,90	9,07 E-04	

Para obtener el valor del F teórico, cada analista realizó 8 análisis, es decir que los grados de libertad dentro de muestra para los resultados de cada analista son 7, sumando los grados de libertad de los 2 analistas se obtienen un total de 14 y los grados de libertad entre muestras es 1, porque se comparan los resultados de 2 analistas diferentes. Como se pueden observar en los resultados de las anteriores tablas ningún resultado de F calculado es mayor que el F teórico (245.9), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los analistas participantes del desarrollo analítico.

#### 5.2.4.2. MUESTRAS DE AGUA NATURAL, POTABLE Y RESIDUAL

A continuación, en la tabla 37, se muestran los resultados del contraste F para las muestras de agua natural. Las tablas de agua tratada, residual doméstica e industrial, (Anexos 4).

**TABLA 37. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL (MN), EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	MN 1	MN 2	MN 3	MN 4	MN 5	MN 6	MN 7	MN 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,049	0,049	0,051	0,051	0,050	0,048	0,047	0,047	1,66 E-06	1,010
2	0,050	0,051	0,050	0,048	0,047	0,047	0,049	0,048	1,64 E-06	

Como se puede observar en la Tabla 37 ningún resultado de F calculado es mayor que el F teórico (245.9), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los analistas. Lo mismo se observó en las otras tres matrices, el F experimental es menor que el F teórico. (Anexos 4)

#### 5.2.4.3. MUESTRAS ADICIONADAS CON ANALITO

A continuación, se muestran en las Tablas 38 y 39, los resultados para la muestra natural adicionada en rango alto y bajo respectivamente, seleccionados para el proceso de estandarización. Las tablas de agua potable, residual doméstica e industrial, adicionadas a rango alto y bajo (Anexos 4).

**TABLA 38. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (NRA), EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$**

ANALISTA	NRA 1	NRA 2	NRA 3	NRA 4	NRA 5	NRA 6	NRA 7	NRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,38	1,37	1,39	1,39	1,39	1,39	1,40	1,39	7,86 E-05	2,08
2	1,39	1,38	1,39	1,37	1,40	1,41	1,38	1,38	1,64 E-04	

**TABLA 39. RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA NATURAL ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (NRB)**

ANALISTA	NRB 1	NRB 2	NRB 3	NRB 4	NRB 5	NRB 6	NRB 7	NRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,593	0,590	0,601	0,598	0,590	0,583	0,609	0,583	8,03 E-05	1,148
2	0,604	0,599	0,596	0,583	0,609	0,583	0,593	0,587	9,22 E-05	

Los resultados muestran que el F calculado no supera el F teórico para ninguno de los grupos de patrones de control (PRB, PRM y PED) muestras (MN, MT, MRD, MRI), y muestras adicionadas (NRA, NRB, TRA, TRB, RDRA, RDRB, RIRA, RIRB), por lo tanto, se acepta la hipótesis de que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los dos analistas.

### 5.2.5. DETERMINACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO

Se expresó la incertidumbre para los patrones de control de rango bajo y alto. Esta medida del sesgo en los resultados analíticos sirve para estimar la incertidumbre en los análisis de muestras superficiales y residuales ya que las fuentes de incertidumbre consideradas son las mismas.

El procedimiento para el cálculo de la incertidumbre se encuentra en anexos 2, y los resultados se muestran en la Tabla 40. Las incertidumbres estándar relativas para cada fuente de incertidumbre, son las que afecta la determinación de los patrones de rango bajo (RB) ya que a partir de estas incertidumbres se procede a calcular la incertidumbre estándar combinada.

**TABLA 40. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO BAJO RB. MÉTODO DE FLUORUROS**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en la sonda	1,94E-02
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RB	4,82E-02
Incertidumbre aforo del estándar RB	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RB	6,40E-06
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RB	6,46E-03

Incertidumbre estándar combinada total:

$$U_c = 1,79 \text{ E} - 02$$

Con este dato se calculó la incertidumbre expandida considerando un factor de cobertura igual a 2 para una distribución normal con un nivel de confianza del 95%, además se multiplica por el valor del rango bajo que corresponde a 0,6 mg F·L<sup>-1</sup>:

$$U = 1,79 \times 10^{-2} \times 2 \times 0,6$$

$$U = 0,02148$$

Porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango bajo:

$$\frac{0,02148}{0,6} \times 100\% = 3,58 \%$$

Los resultados se expresan como: 0,6000 ± 0,0215 mg F·L<sup>-1</sup>. para el método de fluoruros ESI.

De igual manera en la Tabla 41 se calculó la incertidumbre para los resultados obtenidos con los patrones de control de rango alto (RA):

**TABLA 41. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS PATRONES DE RANGO ALTO RA. MÉTODO DE FLUORUROS**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTANDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en la sonda	8,24E-03
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RA	2,66E-03
Incertidumbre aforo del estándar RA	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RA	1,42E-05
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RA	2,87E-03

Incertidumbre estándar combinada total como la raíz de la sumatoria de los cuadrados de las incertidumbres estándar relativas, de acuerdo a esto se obtiene el siguiente valor:

$$U_c = 2,85 \text{ E} - 03$$

Con este dato se calcula la incertidumbre expandida considerando un factor de cobertura igual a 2 para una distribución normal con un nivel de confianza del 95%, además se multiplica por el valor del rango alto que corresponde a 1,4 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>:

$$U = 2,85 \times 10^{-3} \times 2 \times 1,4$$

$$U = 0,0079$$

Porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto:

$$\frac{0,0079}{1,4} \times 100\% = 0,57 \%$$

Los resultados se expresan como: 1,4000 ± 0,0079 mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>. para el método de fluoruros por ESI.

En anexos 6 se encuentra una tabla que resume cada uno de los parámetros obtenidos en la estandarización de Fluoruros por ESI.

## 6. CONCLUSIONES

De acuerdo con lo propuesto en los objetivos de este documento se cumplió con el proceso de estandarización de los métodos “Nitratos por espectrofotometría UV-Vis (SM 4500 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. B.) y Fluoruros por ESI (SM 4500 F<sup>-</sup>.C.), seleccionados en el libro “**Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**” en los tiempos propuestos para llevar a cabo un buen proceso de pre-estandarización, repetible y reproducible; esto queda demostrado por la estimación y cumplimiento de los atributos estadísticos seleccionados para la evaluación del desempeño de los métodos analíticos.

Se realizó la estimación de los parámetros estadísticos (Ld, Lq, precisión, exactitud, incertidumbre, precisión intermedia) a utilizarse en los procedimientos analíticos, se aseguró resultados confiables y reproducibles, que son aptos para cumplir con la estandarización y validación para cada método.

El objetivo de validar de estos métodos, se decidió por parte del acueducto de Popayán y el laboratorio AAPSA, que se realizaría previo a su proceso de certificación ante el IDEAM y el programa PICCAP del Instituto Nacional de Salud, ya que como el proceso conllevaba mucho más tiempo y el tiempo de contrato de trabajo ya caducaba y por seguridad solo personal contratado puede hacer uso de las instalaciones en el laboratorio, por tal motivo el proceso de validación quedó pendiente ya que los análisis de robustez y posterior verificado interlaboratorio, son ambos procesos muy demorados.

El trabajo realizado en el laboratorio AAPSA del acueducto de Popayán concluyó de manera satisfactoria como parte del trabajo de grado en la modalidad de pasantía, y se cumplieron con los objetivos propuestos por ellos para la estandarización de los métodos, en la implementación del sistema de gestión de calidad que satisfaga los requerimientos de la norma NTC-ISO/IEC 17025 del 2017, esto con el fin de ser posteriormente usados para la acreditación de alta calidad del laboratorio en análisis de aguas superficiales y residuales.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Norma Técnica Colombiana NTC ISO/IEC 17025:2017. Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- [2]. Rice, E., Baird, R., Eaton, A., & Clesceri, L. (2017). **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater** (23<sup>rd</sup> ed., pp. (4-85 – 4-87, 4-122 – 4-125)). Washington, D.C, American Public Health Assn.
- [3]. United Nations Official Document. (2010). **The human right to water and sanitation** Retrieved from [http://www.un.org/ga/search/view\\_doc.asp?symbol=A/RES/64/292&Lang=S](http://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/64/292&Lang=S) [Accessed 25 Nov. 2019]
- [4]. World health organization, (2019). **Inadequate or excess fluoride: a major public health concern.** Retrieved from <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329484/WHO-CED-PHE-EPE-19.4.5-eng.pdf>. [Accessed 20 Nov. 2019]
- [5]. BRENES, Ruby, CADENA, Arturo, & RUIZ-GUERRERO, Rosario. (2011). **Monitoreo de la concentración de nitrato en el acuífero del Valle de Puebla.** *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(4), 313-321.
- [6]. Normatividad Colombiana decreto 21-15 2010, Resolución 21-15 22 Junio de 2007. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. [https://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/normativa/Res\\_2115\\_de\\_2007.pdf](https://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/normativa/Res_2115_de_2007.pdf). [Accessed 20 Nov. 2019]
- [7]. Almeida, M, M. (2016). **Validación de métodos analíticos para la determinación de nitratos, nitritos, ortofosfatos y nitrógeno amoniacal en aguas, en el laboratorio de siana Ltda.** (tesis de pregrado). Universidad Santo Tomas, Bucaramanga, Colombia.
- [8]. Bernal. J; (2019). Instructivo de confirmación y validación de métodos analíticos. (Adaptado de M-S-LC-I038 Ideam), AAPSA, Popayán, Colombia.
- [9]. Harris, D.C., (2003). **Análisis Químico Cuantitativo** (6<sup>ra</sup> ed., Pp. 62 – 75) Mexico DF, México, Editorial Reverte.
- [10]. Miller, J., Miller, J., Maté J, C., & Izquierdo Hornillos, R. (2008). **Estadística y quimiometría para química analítica** (4<sup>th</sup> ed., pp. 51-62). Madrid: Pearson Prentice-Hall.
- [11]. Skoog, D., West, D., Holler, F., Crouch S., (2005) **Fundamentos de química analítica** (8<sup>th</sup> Ed., pp. 112-129; 145-156) Mexico DF, Mexico, Editorial Thomson.
- [12]. Ellison, S., & Williams, A. (2012). Cuantificación de la incertidumbre en medidas analíticas. Retrieved from [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012\\_P1\\_ES.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1_ES.pdf). [Accedido 03 Nov. 2019].
- [13]. Hsu, K., & Chen, C. (2010). **The effect of calibration equations on the uncertainty of UV-Vis spectrophotometric measurements.** *Measurement*, 43 (10), 1525-1531.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### INCERTIDUMBRE NITRATOS POR UV-Vis

##### Incertidumbre por la preparación de la solución estándar

En este caso se considera la incertidumbre asociada a la dilución para la preparación de la solución patrón de 100 mg  $\text{NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ; se estima mediante el cálculo de las incertidumbres estándar asociadas a: La tolerancia reportada para el balón volumétrico de 100 mL con un valor de 0,08, esta fuente se denominará ( $U_T$ ). La incertidumbre estándar debido al aforo en el balón ( $U_A$ ), en donde es necesario considerar el factor de expansión térmica del agua como componente mayoritario de la solución ( $0,000207 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ), se considera despreciable la dilatación térmica del vidrio de borosilicato. Además, el rango de temperatura medido en el laboratorio, se estableció en un intervalo de 3  $^\circ\text{C}$ .

Para ambos casos las distribuciones de probabilidad se consideran dentro de los límites de una distribución rectangular, por lo tanto se usa un factor de  $\sqrt{3}$ . La incertidumbre asociada a la desviación estándar ( $U_S$ ) reportada en el certificado de calibración tiene un valor de 0,0676.

De esta forma:

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,0462$$

Y:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,000207}{\sqrt{3}} = 0,0358$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada como:

$$U_{c1} = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Reemplazando obtenemos:

$$U_{c1} = \sqrt{(0,0462)^2 + (0,0358)^2 + (0,0676)^2} = 0,0893$$

Se calcula la incertidumbre estándar relativa ( $IER_1$ ) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c1}$ ) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_1 = \frac{0,0893}{100} = 8,93 \times 10^{-4}$$

### **Incertidumbre de patrones de control**

Esta etapa toma a consideración los siguientes aportes a la incertidumbre de la medición:

- Incertidumbre del espectrofotómetro para los patrones de control.
- Incertidumbre en la medición de la alícuota de análisis.
- Incertidumbre en la medida de la alícuota para preparar los patrones de control.
- Incertidumbre en el aforo de los patrones de control.
- Incertidumbre en la reproducibilidad de los resultados para los patrones de control.

### **Incertidumbre del espectrofotómetro para los patrones de control**

La incertidumbre proviene de la resolución del espectrofotómetro, la cual es reportada por el fabricante, tiene un valor de  $\pm 0,0054$  Abs

La incertidumbre se ve reflejada en la aleatoriedad de los resultados de las absorbancias obtenidas para los patrones de control de rango bajo y alto. Los resultados se muestran en la Tabla 1:

**TABLA 1. VALORES DE ABSORBANCIAS OBTENIDAS PARA LOS PATRONES DE CONTROL.**

<b>Absorbancias RB</b>	<b>Absorbancias RA</b>
0,166	0,393
0,167	0,391
0,168	0,391
0,168	0,393
0,168	0,391
0,172	0,390
0,169	0,390
0,171	0,389
0,169	0,387
0,171	0,389
<b>Promedio ABS RB</b>	<b>Promedio ABS RA</b>
0,169	0,391

Se consideró como fuente de incertidumbre la repetibilidad de los resultados obtenidos en las mediciones realizadas en el espectrofotómetro.

Se determinó la incertidumbre combinada para la resolución del espectrofotómetro usado para las medidas analíticas de los patrones de control de rango bajo y alto respectivamente ( $U_{C2}$  y  $U_{C3}$ ), considerando una distribución de tipo rectangular.

A partir de esta información se calcula la incertidumbre estándar relativa para cada patrón de control ( $IER_2$  y  $IER_3$ ) respectivamente, teniendo en cuenta el promedio de las absorbancias obtenido para cada conjunto de datos.

Ahora se calcula la incertidumbre estándar para la resolución del equipo, teniendo en cuenta que  $U_{C2} = U_{C3}$ , debido a que la incertidumbre estándar depende solo de las características del equipo y no de los resultados obtenidos con el:

$$U_{R2 y 3} = \frac{0,0054}{\sqrt{3}} = 3,12 \times 10^{-3}$$

De aquí se calcula la incertidumbre estándar relativa de las medidas analíticas realizadas con el espectrofotómetro para los patrones de control de rango bajo, como el cociente entre la U (incertidumbre) resolución y el promedio de absorbancias ( $IER_2$ ):

$$IER_2 = \frac{3,12 \times 10^{-3}}{0,169} = 1,846 \times 10^{-2}$$

De igual manera se procede a calcular la incertidumbre estándar relativa para las medidas espectrofotométricas de los patrones de control de rango alto ( $IER_3$ )

$$IER_3 = \frac{3,12 \times 10^{-3}}{0,391} = 7,98 \times 10^{-3}$$

### **Incetidumbre en la medición de la alícuota de análisis**

Se consideran las mismas fuentes que para la preparación de la solución estándar; Las alícuotas de análisis se prepararon en balones volumétricos de 100 mL; para calcular la incertidumbre estándar relativa de la alícuota de análisis ( $IER_4$ ) se toman los datos del certificado de calibración del material referente a la tolerancia con un valor de 0,08 y la desviación estándar ( $U_s$ ) igual a  $\pm 0,0103$  mL

De esta forma la incertidumbre estándar para la tolerancia  $U_T$  se calcula como:

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,04619$$

La incertidumbre estándar para el aforo del balón de 100 mL  $U_A$ , se calcula como:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,000207}{\sqrt{3}} = 0,0358$$

Ahora calculamos la incertidumbre estándar combinada como:

$$U_{c4} = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Reemplazando obtenemos:

$$U_{c4} = \sqrt{(0,04619)^2 + (0,0358)^2 + (0,0103)^2} = 0,0593$$

Calculamos la incertidumbre estándar relativa de la alícuota de análisis (**IER<sub>4</sub>**) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c4}$ ) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_4 = \frac{0,0593}{100} = 5,93 \times 10^{-4}$$

### **Incertidumbre en la medida de la alícuota para preparar los patrones de control**

Se calculan las incertidumbres combinadas (**U<sub>c5</sub>** y **U<sub>c6</sub>**) para las alícuotas tomadas para la preparación de los estándares de control bajo y alto respectivamente así:

$$U_c = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Ya que las alícuotas para los rangos bajo y alto son números decimales, las alícuotas se tomaron con una transferpipeta con puntas de polipropileno con capacidad de 10 mL las cuales poseen un factor de expansión térmica igual a  $0,00018 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ . Las fuentes de incertidumbre son los valores de resolución del instrumento de medida que es  $\pm 0,01 \text{ mL}$  para la transferpipeta, para obtener la incertidumbre estándar de la resolución (**U<sub>R</sub>**), consideramos una distribución de tipo rectangular.

Además, se determina la incertidumbre estándar de la alícuota usada para preparar los patrones de rango bajo y alto (**U<sub>A</sub>**); donde las fuentes de incertidumbre aportantes son el volumen de la alícuota de análisis para la preparación de los patrones de control, el rango de temperaturas manejadas en el laboratorio establecido en  $3 \text{ } ^\circ\text{C}$  y la dilatación térmica del polipropileno, el factor de expansión térmica de este material es  $0,00018 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ . Se considera una distribución de probabilidad rectangular debido a la posibilidad de valores extremos.

Ya que estos instrumentos volumétricos no especificaban la desviación estándar, se realizaron 7 mediciones de un volumen de agua hasta la máxima capacidad, al dividir la desviación estándar entre el número de medidas se calcula la incertidumbre debida a la

repetibilidad de los instrumentos de medición de volumen (**Us**); los resultados para la transferpipeta se muestran en la Tabla 2.

**TABLA 2. RESULTADOS PARA LA VERIFICACIÓN DE LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA TRANSFERPIPETA DE 10 mL.**

Volumen nominal (mL)	Temperatura (°C)	Peso reportado (g)	Densidad (g/mL)	Volumen calculado (mL)	Desviación estándar S
10	20	10,052	0,998	10,070	0,0468
10	20	10,009	0,998	10,027	
10	20	10,006	0,998	10,025	
10	21	9,999	0,998	10,019	
10	22	9,998	0,997	10,020	
10	21	9,975	0,998	9,995	
10	20	9,899	0,998	9,917	

Se procede a calcular las incertidumbres estándar provenientes de las 3 fuentes de incertidumbre citadas inicialmente para la preparación del rango bajo:

Se muestra inicialmente la determinación de la incertidumbre estándar para la resolución de la transferpipeta (**UR**):

$$U_R = \frac{0,01}{\sqrt{3}} = 5,77 \times 10^{-3}$$

Posteriormente se calcula la incertidumbre debida a la alícuota de análisis (**UA**):

$$U_A = \frac{3 \times 3 \times 0,00018}{\sqrt{3}} = 9,353 \times 10^{-4}$$

Seguido calculamos la incertidumbre aportada por la desviación estándar del instrumento (Tabla 2) (**Us**):

$$U_S = \frac{0,0468}{\sqrt{7}} = 1,769 \times 10^{-2}$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c5}$ ) para la alícuota de solución patrón de  $100 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  necesarios para preparar el patrón de control de rango bajo (**RB**).

$$U_{c5} = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

$$U_{c5} = \sqrt{(5,77 \times 10^{-3})^2 + (9,353 \times 10^{-4})^2 + (1,769 \times 10^{-3})^2}$$

$$U_{c5} = 6,1071 \times 10^{-3}$$

A partir de  $U_{c5}$  se calcula la incertidumbre estándar relativa debida a la alícuota para la preparación del patrón de control **RB**:

$$IER_5 = \frac{6,1071 \times 10^{-3}}{3,0} = 2,0357 \times 10^{-3}$$

De igual forma se procede a calcular la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c6}$ ) para la alícuota necesaria para preparar el patrón de control de rango alto **RA**.

Se calcula la incertidumbre estándar aportada por la resolución de la transferpipeta:

$$U_R = \frac{0,01}{\sqrt{3}} = 5,77 \times 10^{-3}$$

Ahora se calcula la incertidumbre debida a la alícuota ( $U_A$ ):

$$U_A = \frac{7 \times 3 \times 0,00018}{\sqrt{3}} = 2,18 \times 10^{-3}$$

Seguido se calcula la incertidumbre aportada por la desviación estándar del instrumento (Tabla 2) ( $U_S$ ):

$$U_S = \frac{0,0468}{\sqrt{7}} = 1,769 \times 10^{-2}$$

Ahora se estima la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c9}$ ) para la alícuota de solución patrón de  $100 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  necesarios para preparar el patrón de control de rango alto (**RA**):

$$U_{c6} = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

$$U_{c6} = \sqrt{(5,77 \times 10^{-3})^2 + (2,18 \times 10^{-3})^2 + (1,769 \times 10^{-2})^2}$$

$$U_{c6} = 1,873 \times 10^{-2}$$

A partir de  $U_{c6}$  se calcula la incertidumbre estándar relativa debida a la alícuota para la preparación del patrón de control **RA**:

$$IER_6 = \frac{1,89 \times 10^{-2}}{7,0} = 2,676 \times 10^{-3}$$

### **Incertidumbre en el aforo de los patrones de control**

Debido a que todos los patrones se prepararon en balones aforados de 100 mL, la incertidumbre para los patrones de control **RB** y **RA** es la misma.

Se calcula la incertidumbre combinada ( $U_{c7}$  y  $U_{c8}$ ) considerando las contribuciones aportadas por la tolerancia (0,08) y la desviación estándar ( $U_s=0,0103$ ) del material reportado por el fabricante; además de la incertidumbre aportada por el aforo del balón volumétrico:

$$U_c = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

La incertidumbre aportada por la tolerancia ( $U_T$ ) se calcula considerando una distribución de probabilidad de tipo rectangular porque es uniforme y continuo.

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,0462$$

La incertidumbre estándar para el aforo del balón de 100 mL ( $U_A$ ), se calcula como:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,00021}{\sqrt{3}} = 0,036$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada, teniendo en cuenta que  $U_{c7} = U_{c8}$ :

$$U_{c7} = \sqrt{(0,0462)^2 + (0,036)^2 + (0,0103)^2}$$

$$U_{c7} = 0,0595$$

Se determina la incertidumbre estándar relativa para el aforo de los patrones de control (**IER<sub>7</sub>** y **IER<sub>8</sub>**) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c7}$ ) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_{7y8} = \frac{0,0595}{100} = 5,95 \times 10^{-4}$$



### **Incertidumbre en la reproducibilidad de los resultados para los patrones de control**

Los resultados, al estar sometidos a los efectos aleatorios presentes en todo método analítico, presentan un grado de dispersión apreciable, este efecto es estimado por la determinación de la desviación estándar de las mediciones de los patrones de control. Estos resultados para los patrones de control de rango bajo y alto se muestran en la Tabla 3.

**TABLA 3. RESULTADOS DE NITRATOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR OBTENIDOS PARA LOS PATRONES DE CONTROL.**

<b>PATRONES RANGO BAJO 3,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup></b>	<b>PATRONES RANGO ALTO 7,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup></b>
2,979	7,071
3,001	7,032
3,015	7,026
3,022	7,066
3,017	7,030
3,082	7,001
3,042	7,015
3,069	6,988
3,043	6,964
3,074	6,986
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	
0,033	0,0344

Se determina la incertidumbre estándar aportada por la desviación para los patrones de rango bajo (**U<sub>s</sub>**) considerando una distribución normal:

$$U_s = \frac{0,0337}{\sqrt{10}} = 0,01066$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada para la desviación estándar de los patrones de control de rango bajo (**U<sub>c9</sub>**)

$$U_{c9} = \sqrt{(U_s)^2}$$
$$U_{c9} = \sqrt{(0,01066)^2} = 0,01066$$

De esta manera se procede a calcular la incertidumbre estándar relativa para la desviación de los patrones de control de rango bajo ( $IER_9$ )

$$IER_9 = \frac{0,01066}{3,0} = 3,55 \times 10^{-3}$$

Se procede de igual forma con los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto, se inicia calculando la incertidumbre estándar ( $U_s$ ):

$$U_s = \frac{0,0344}{\sqrt{10}} = 0,01088$$

Ahora se calcula la incertidumbre combinada ( $U_{c10}$ ), para los patrones de rango alto:

$$U_{c10} = \sqrt{(0,0108)^2} = 0,0108$$

Se finaliza determinando la incertidumbre estándar relativa para la repetibilidad de los patrones de control de rango alto ( $IER_{10}$ ):

$$IER_{10} = \frac{0,0108}{7,0} = 1,543 \times 10^{-3}$$

### **Incertidumbre de la curva de calibración**

La incertidumbre de la curva de calibración se calcula con la siguiente ecuación:

$$U_c = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - C)^2}{S_x}}$$

Donde S es la desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal y m es la pendiente de la recta, p es el número de réplicas para cada punto evaluado, n corresponde al número de patrones empleados multiplicados por el número de repeticiones.  $C_0$  es la concentración promedio del patrón en estudio, C es el promedio de las concentraciones de los patrones con los que se elabora la curva de calibración y  $S_x$  es la suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas.

La desviación estándar residual se obtiene como:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n A_j + (b+m.C_j)^2}{n-2}}$$

Donde  $A_j$  son las  $j$ -ésimas absorbancias de los estándares,  $b$  el intercepto de la recta,  $m$  la pendiente,  $C_j$  corresponde a la concentración de los  $j$ -ésimos patrones usados para preparar la curva y  $n$  el número total de datos para la elaboración de la misma.

La suma de los cuadrados de los residuales de las concentraciones se obtiene así:

$$S_x = \sum_{j=1}^n (C_j - C)^2$$

De esta forma obtenemos  $U_{c11}$  y  $U_{c12}$  como las incertidumbres combinadas para la reproducibilidad de la curva de calibración elaborada:

$$U_{c11} = \frac{2,47 \times 10^{-3}}{0,0556} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{30} + \frac{(3,035 - 4,30)^2}{400,855}}$$

$$U_{c11} = 2,01 \times 10^{-2}$$

Calculamos  $IER_{11}$  así:

$$IER_{11} = \frac{2,01 \times 10^{-2}}{3,0} = 6,7 \times 10^{-3}$$

Procedemos de igual forma para  $U_{c12}$ , así:

$$U_{c12} = \frac{2,47 \times 10^{-3}}{0,0556} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{30} + \frac{(7,0182 - 4,3)^2}{400,855}}$$

$$U_{c12} = 2,07 \times 10^{-2}$$

Calculamos  $IER_{12}$  así:

$$IER_{12} = \frac{2,07 \times 10^{-2}}{7,0} = 2,96 \times 10^{-3}$$

**TABLA 4. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA EL PATRÓN DE CONTROL DE RANGO BAJO. MÉTODO DE NITRATOS POR UV-VIS.**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en el espectrofotómetro	1,84E-02
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RB	2,03E-03
Incertidumbre aforo del estándar RB	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RB	3,55E-03
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RB	6,70E-03

Se calcula la incertidumbre combinada total como:

$$U_c = \sqrt{\sum_{j=1}^n (IER_j)^2}$$

$$U_c = 6,4 \text{ E} - 03$$

Se calcula la incertidumbre expandida así:

$$U = 6,4 \times 10^{-3} \times 2 \times 3$$

$$U = 0,0384$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango bajo:

$$\frac{0,0384}{3,0} \times 100\% = 1,28\%$$

Los resultados se expresan como:  $3,0000 \pm 0,0384 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . para el método de nitratos por UV-Vis.

**TABLA 5. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA EL PATRÓN DE CONTROL DE RANGO ALTO. MÉTODO DE NITRATOS POR UV-VIS**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en el espectrofotómetro	7,98E-03
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RA	2,67E-03
Incertidumbre aforo del estándar RA	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RA	1,54E-03
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RA	2,96E-03

Se procede de igual forma a calcular la incertidumbre combinada total para los patrones de control de rango alto:

$$U_c = 2,62 \text{ E} - 03$$

Se calcula la incertidumbre expandida así:

$$U = 2,62 \times 10^{-3} \times 2 \times 7$$

$$U = 0,03668$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto:

$$\frac{3,668 \times 10^{-2}}{7,0} \times 100\% = 0,52 \%$$

Los resultados se expresan como:  $7,000 \pm 0,036 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . para el método de nitratos por UV-Vis.

## ANEXOS 2

### INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO DE FLUORUROS POR ESI.

#### Incertidumbre de dilución para solución patrón

En este caso se considera la incertidumbre asociada a la dilución para la preparación de la solución patrón de 100 mg F·L<sup>-1</sup>; se estima mediante el cálculo de las incertidumbres estándar asociadas a: La tolerancia reportada para el balón volumétrico de 100 mL con un valor de 0,08, esta fuente se denominará (**U<sub>T</sub>**). La incertidumbre estándar debido al aforo en el balón (**U<sub>A</sub>**), en donde es necesario considerar el factor de expansión térmica del agua como componente mayoritario de la solución (0,000207 °C<sup>-1</sup>), se considera despreciable la dilatación térmica del vidrio de borosilicato. Además, el rango de temperatura medido en el laboratorio, se estableció en un intervalo de 3 °C.

Para ambos casos las distribuciones de probabilidad se consideran dentro de los límites de una distribución rectangular, por lo tanto se usa un factor de  $\sqrt{3}$ . La incertidumbre asociada a la desviación estándar (**U<sub>S</sub>**) reportada en el certificado de calibración tiene un valor de 0,0676.

De esta forma:

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,0462$$

Y:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,000207}{\sqrt{3}} = 0,0358$$

Ahora calculamos la incertidumbre estándar combinada como:

$$U_{c1} = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Reemplazando obtenemos:

$$U_{c1} = \sqrt{(0,0462)^2 + (0,0358)^2 + (0,0676)^2} = 0,0893$$

Calculamos la incertidumbre estándar relativa (**IER<sub>1</sub>**) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada (**U<sub>c1</sub>**) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_1 = \frac{0,0893}{100} = 8,93 \times 10^{-4}$$

## **Incertidumbre de patrones de control**

Esta etapa toma a consideración los siguientes aportes a la incertidumbre de la medición:

- Incertidumbre de la sonda para los patrones de control.
- Incertidumbre en la medición de la alícuota de análisis.
- Incertidumbre en la medida de la alícuota para preparar los patrones de control.
- Incertidumbre en el aforo de los patrones de control.
- Incertidumbre en la reproducibilidad de los resultados para los patrones de control.

## **Incertidumbre de la sonda para los patrones de control**

La incertidumbre proviene de la resolución de la sonda para medir los fluoruros, la cual es reportada por el fabricante, con un valor igual a 0,02.

La incertidumbre se ve reflejada en la aleatoriedad de los resultados de las lecturas obtenidas para los patrones de control de rango bajo y alto. Los resultados se muestran en la Tabla 1:

**TABLA 1. VALORES DE LECTURAS OBTENIDAS PARA LOS PATRONES DE CONTROL DE FLUORUROS.**

<b>LECTURAS mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> RB</b>	<b>LECTURAS mg F<sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> RA</b>
0,598	1,410
0,605	1,400
0,604	1,410
0,595	1,390
0,589	1,400
0,585	1,390
0,593	1,380
0,598	1,410
0,593	1,400
0,599	1,430
<b>Promedio Lecturas RB</b>	<b>Promedio Lecturas RA</b>
0,596	1,400

Se considera como fuente de incertidumbre la repetibilidad de los resultados obtenidos en las mediciones realizadas por la sonda de fluoruros.

Se determina la incertidumbre combinada para la resolución de la sonda usado para las medidas analíticas de los patrones de control de rango bajo y alto respectivamente ( $U_{C2}$  y  $U_{C3}$ ), considerando una distribución de tipo rectangular.

A partir de esta información se calcula la incertidumbre estándar relativa para cada patrón de control ( $IER_2$  y  $IER_3$ ) respectivamente, teniendo en cuenta el promedio de las lecturas obtenido para cada conjunto de datos.

Ahora se calcula la incertidumbre estándar para la resolución del equipo, teniendo en cuenta que  $U_{C2} = U_{C3}$ , debido a que la incertidumbre estándar depende solo de las características del equipo y no de los resultados obtenidos con el:

$$U_{R2y3} = \frac{0,02}{\sqrt{3}} = 1,155 \times 10^{-2}$$

De aquí se calcula la incertidumbre estándar relativa de las medidas analíticas realizadas con la sonda para los patrones de control de rango bajo como el cociente entre la  $U$  resolución y el promedio de lecturas ( $IER_2$ ):

$$IER_2 = \frac{1,155 \times 10^{-2}}{0,595} = 1,94 \times 10^{-2}$$

De igual manera se procede a calcular la incertidumbre estándar relativa para las medidas por electrodo selectivo de los patrones de control de rango alto ( $IER_3$ ).

$$IER_3 = \frac{1,155 \times 10^{-2}}{1,402} = 8,238 \times 10^{-3}$$

### **Incertidumbre en la medición de la alícuota de análisis**

Se consideran las mismas fuentes que para la preparación de la solución estándar; Las alícuotas de análisis se prepararon en balones volumétricos de 100 mL; para calcular la incertidumbre estándar relativa de la alícuota de análisis ( $IER_4$ ) se toman los datos del certificado de calibración del material referente a la tolerancia con un valor de 0,08 y la desviación estándar ( $U_s$ ) igual a  $\pm 0,0103$  mL.

De esta forma la incertidumbre estándar para la tolerancia  $U_T$  se calcula como:

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,04619$$



La incertidumbre estándar para el aforo del balón de 100 mL  $U_A$ , se calcula como:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,000207}{\sqrt{3}} = 0,0358$$

Ahora calculamos la incertidumbre estándar combinada como:

$$U_{c4} = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Reemplazando obtenemos:

$$U_{c4} = \sqrt{(0,04619)^2 + (0,0358)^2 + (0,0103)^2} = 0,0593$$

Calculamos la incertidumbre estándar relativa de la alícuota de análisis ( $IER_4$ ) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c4}$ ) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_4 = \frac{0,0593}{100} = 5,93 \times 10^{-4}$$

#### **Incertidumbre en la medida de la alícuota para preparar los patrones de control**

Se calculan las incertidumbres combinadas ( $U_{c5}$  y  $U_{c6}$ ) para las alícuotas tomadas para la preparación de los estándares de control bajo y alto respectivamente así:

$$U_c = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

Ya que las alícuotas para los rangos bajo y alto son números decimales, las alícuotas se tomaron con una micropipeta y una transferpipeta con puntas de polipropileno con capacidad de 1 y 10 mL respectivamente con un factor de expansión térmica igual a 0,00018 °C. Las fuentes de incertidumbre son los valores de resolución de los dos instrumentos de medida que son 0,05 y 0,01 para la micropipeta y la transferpipeta respectivamente, para obtener la incertidumbre estándar de la resolución ( $U_R$ ), consideramos una distribución de tipo rectangular ya que es una distribución normal y continua de datos.

Además, se determina la incertidumbre estándar de la alícuota usada para preparar los patrones de rango bajo y alto ( $U_A$ ); donde las fuentes de incertidumbre aportantes son el volumen de la alícuota de análisis para la preparación de los patrones de control, el rango de temperaturas manejadas en el laboratorio establecido en 3 °C y la dilatación térmica del polipropileno, el factor de expansión térmica de este material es 0,00018 °C<sup>-1</sup>. Se considera una distribución de probabilidad rectangular debido a la posibilidad de valores extremos [6].

Ya que estos instrumentos volumétricos (micropipeta y transferpipeta) no especificaban la desviación estándar, se realizaron 7 mediciones de un volumen de agua hasta la máxima capacidad, al dividir la desviación estándar entre el número de medidas se calcula la incertidumbre debida a la repetibilidad de los instrumentos de medición de volumen (**Us**); los resultados para la micropipeta y transferpipeta se muestran en las tablas 2 y 3 respectivamente

**TABLA 2. RESULTADOS PARA LA VERIFICACIÓN DE LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA MICROPIPETA DE 1000  $\mu\text{L}$**

<b>Volumen nominal (mL)</b>	<b>Temperatura (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>	<b>Peso reportado (g)</b>	<b>Densidad (<math>\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volumen calculado (mL)</b>	<b>Desviación Estándar S</b>
1,00	19	0,998	0,997	1,002	0,0024
1,00	20	0,991	0,997	0,998	
1,00	20	1,002	0,997	1,003	
1,00	20	1,000	0,997	1,002	
1,00	19	1,002	0,996	1,005	
1,00	20	1,005	0,996	1,004	
1,00	21	1,002	0,996	1,006	

**TABLA 3. RESULTADOS PARA LA VERIFICACIÓN DE LA DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA TRANSFERPIPETA DE 10 mL.**

<b>Volumen nominal (mL)</b>	<b>Temperatura (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>	<b>Peso reportado (g)</b>	<b>Densidad (<math>\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}</math>)</b>	<b>Volumen calculado (mL)</b>	<b>Desviación Estándar S</b>
10	20	10,052	0,998	10,070	0,0468
10	20	10,009	0,998	10,027	
10	20	10,006	0,998	10,025	
10	21	9,999	0,998	10,019	
10	22	9,998	0,997	10,020	
10	21	9,975	0,998	9,995	
10	20	9,899	0,998	9,917	

Se procede a calcular las incertidumbres estándar provenientes de las 3 fuentes de incertidumbre citadas inicialmente para la preparación del rango bajo:

Se muestra inicialmente la determinación de la incertidumbre estándar para la resolución de la micropipeta ( $U_R$ ):

$$U_R = \frac{0,05}{\sqrt{3}} = 2,89 \times 10^{-2}$$

Posteriormente se calcula la incertidumbre debida a la alícuota de análisis tomada con la micropipeta ( $U_A$ ):

$$U_A = \frac{0,6 \times 3 \times 0,00018}{\sqrt{3}} = 1,87 \times 10^{-4}$$

Seguido calculamos la incertidumbre aportada por la desviación estándar del instrumento (Tabla 2) ( $U_S$ ):

$$U_S = \frac{0,00248}{\sqrt{7}} = 9,37 \times 10^{-4}$$

Ahora calculamos la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c5}$ ) para la alícuota de solución patrón de  $100 \text{ mg F} \cdot \text{L}^{-1}$  necesarios para preparar el patrón de control de rango bajo (**RB**).

$$U_{c5} = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$
$$U_{c5} = \sqrt{(2,89 \times 10^{-2})^2 + (1,87 \times 10^{-4})^2 + (9,37 \times 10^{-4})^2}$$
$$U_{c5} = 2,891 \times 10^{-2}$$

A partir de  $U_{c5}$  se calcula la incertidumbre estándar relativa debida a la alícuota para la preparación del patrón de control **RB**:

$$IER_5 = \frac{2,891 \times 10^{-2}}{0,6} = 0,0482$$

De igual forma se procede a calcular la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c6}$ ) para la alícuota necesaria para preparar el patrón de control de rango alto **RA**.

Se calcula la incertidumbre estándar aportada por la resolución de la transferpipeta:

$$U_R = \frac{0,01}{\sqrt{3}} = 5,77 \times 10^{-3}$$

Ahora se calcula la incertidumbre debida a la alícuota de análisis tomada con la transferpipeta ( $U_A$ ):

$$U_A = \frac{1,6 \times 3 \times 0,00018}{\sqrt{3}} = 4,98 \times 10^{-4}$$

Seguido se calcula la incertidumbre aportada por la desviación estándar del instrumento (Tabla 4) ( $U_S$ ):

$$U_S = \frac{0,0468}{\sqrt{7}} = 1,769 \times 10^{-2}$$

Ahora se estima la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c6}$ ) para la alícuota de solución patrón de 100 mg F·L<sup>-1</sup> necesarios para preparar el patrón de control de rango alto (**RA**):

$$U_{c6} = \sqrt{(U_R)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

$$U_{c6} = \sqrt{(5,77 \times 10^{-3})^2 + (4,98 \times 10^{-4})^2 + (1,769 \times 10^{-2})^2}$$

$$U_{c6} = 1,861 \times 10^{-2}$$

A partir de  $U_{c6}$  se calcula la incertidumbre estándar relativa debida a la alícuota para la preparación del patrón de control **RA**:

$$IER_6 = \frac{1,861 \times 10^{-2}}{7,0} = 2,658 \times 10^{-3}$$

### **Incertidumbre en el aforo de los patrones de control**

Debido a que todos los patrones se prepararon en balones aforados de 100 mL, la incertidumbre para los patrones de control **RB** y **RA** es la misma.

Se calcula la incertidumbre combinada ( $U_{c7}$  y  $U_{c8}$ ) considerando las contribuciones aportadas por la tolerancia (0,08) y la desviación estándar ( $U_s = 0,0103$ ) del material reportado por el fabricante; además de la incertidumbre aportada por el aforo del balón volumétrico:

$$U_c = \sqrt{(U_T)^2 + (U_A)^2 + (U_S)^2}$$

La incertidumbre aportada por la tolerancia ( $U_T$ ) se calcula considerando una distribución de probabilidad de tipo rectangular

$$U_T = \frac{0,08}{\sqrt{3}} = 0,0462$$

La incertidumbre estándar para el aforo del balón de 100 mL ( $U_A$ ), se calcula como:

$$U_A = \frac{100 \times 3 \times 0,00021}{\sqrt{3}} = 0,036$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada, teniendo en cuenta que  $U_{C7} = U_{C8}$ :

$$U_{c7} = \sqrt{(0,0462)^2 + (0,036)^2 + (0,0103)^2}$$

$$U_{c7} = 0,0595$$

Se determina la incertidumbre estándar relativa para el aforo de los patrones de control ( $IER_7$  y  $IER_8$ ) como el cociente entre la incertidumbre estándar combinada ( $U_{c7}$ ) y el volumen del balón volumétrico

$$IER_{7 \text{ y } 8} = \frac{0,0595}{100} = 5,95 \times 10^{-4}$$

#### **Incertidumbre en la reproducibilidad de los resultados para los patrones de control.**

Los resultados, al estar sometidos a los efectos aleatorios presentes en todo método analítico, presentan un grado de dispersión apreciable, este efecto es estimado por la determinación de la desviación estándar de las mediciones de los patrones de control. Estos resultados para rango bajo y alto se muestran en la Tabla 4.

**TABLA 4. RESULTADOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR OBTENIDOS PARA LOS PATRONES DE CONTROL DEL MÉTODO DE FLUORUROS.**

<b>PATRONES RANGO BAJO 0,6 mg F·L<sup>-2</sup></b>	<b>PATRONES RANGO ALTO 1,4 mg F·L<sup>-2</sup></b>
0,598	1,410
0,605	1,400
0,604	1,410
0,595	1,390
0,589	1,400
0,585	1,390
0,593	1,380
0,598	1,410
0,593	1,400
0,599	1,430
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>	
0,0062	0,0140

Se determina la incertidumbre estándar aportada por la desviación para los patrones de rango bajo ( $U_s$ ) considerando una distribución normal:

$$U_s = \frac{0,0062}{\sqrt{10}} = 1,96 \times 10^{-3}$$

Ahora se calcula la incertidumbre estándar combinada para la desviación de los patrones de control de rango bajo ( $U_{c9}$ )

$$U_{c9} = \sqrt{(U_s)^2}$$

$$U_{c9} = \sqrt{(1,96 \times 10^{-3})^2} = 3,842 \times 10^{-6}$$

De esta manera se procede a calcular la incertidumbre relativa para la desviación estándar de los patrones de control de rango bajo ( $IER_9$ )

$$IER_9 = \frac{3,842 \times 10^{-6}}{0,6} = 6,4 \times 10^{-6}$$

Se procede de igual forma con los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto, se inicia calculando la incertidumbre estándar ( $U_s$ ):

$$U_s = \frac{0,0141}{\sqrt{10}} = 4,46 \times 10^{-3}$$

Ahora se calcula la incertidumbre combinada ( $U_{c10}$ ), para los patrones de rango alto:

$$U_{c10} = \sqrt{(4,46 \times 10^{-3})^2} = 1,989 \times 10^{-5}$$

Se finaliza determinando la incertidumbre estándar relativa para la repetibilidad de los patrones de control de rango alto ( $IER_{10}$ ):

$$IER_{10} = \frac{1,989 \times 10^{-5}}{1,4} = 1,42 \times 10^{-5}$$

### **Incertidumbre de la curva de calibración**

Se calculó igual que nitratos por UV-Vis página 65. (Anexos)

De esta forma obtenemos  $U_{c11}$  y  $U_{c12}$  como las incertidumbres combinadas para la reproducibilidad de la curva de calibración elaborada:

$$U_{c11} = \frac{8,58 \times 10^{-3}}{0,9978} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{30} + \frac{(0,594 - 0,826)^2}{16,679}}$$

$$U_{c11} = 3,876 \times 10^{-3}$$

Calculamos  $IER_{11}$  así:

$$IER_{11} = \frac{3,876 \times 10^{-3}}{0,6} = 6,46 \times 10^{-3}$$

Procedemos de igual forma para  $U_{c12}$ , así:

$$U_{c12} = \frac{8,58 \times 10^{-3}}{0,9978} \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{30} + \frac{(1,398 - 0,826)^2}{16,679}}$$

$$U_{c12} = 4,03 \times 10^{-3}$$

Calculamos  $IER_{12}$  así:

$$IER_{12} = \frac{4,03 \times 10^{-3}}{1,4} = 2,878 \times 10^{-3}$$

**TABLA 6. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA EL PATRÓN DE CONTROL DE RANGO BAJO PARA EL MÉTODO DE FLUORUROS POR ESI.**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en la sonda	1,94E-02
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RB	4,82E-02
Incertidumbre aforo del estándar RB	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RB	6,40E-06
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RB	6,46E-03

Se calcula la incertidumbre combinada total como:

$$U_c = \sqrt{\sum_{j=1}^n (IER_j)^2}$$

$$U_c = 1,79 \text{ E} - 02$$

Se calcula la incertidumbre expandida así:

$$U = 1,79 \times 10^{-2} \times 2 \times 0,6$$

$$U = 0,02148$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango bajo:

$$\frac{0,02148}{0,6} \times 100\% = 3,58 \%$$

Los resultados se expresan como:  $0.6000 \pm 0,0215 \text{ mg F} \cdot \text{L}^{-1}$ , para el método de fluoruros por ESI.



**TABLA 7. INCERTIDUMBRES ESTÁNDAR RELATIVAS PARA EL PATRÓN DE CONTROL DE RANGO ALTO.  
MÉTODO DE FLUORUROS POR ESI**

<b>FUENTE DE INCERTIDUMBRE</b>	<b>INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR RELATIVA</b>
Incertidumbre dilución para solución patrón	8,93E-04
Incertidumbre mediciones en la sonda	8,24E-03
Incertidumbre de la alícuota de análisis	5,93E-04
Incertidumbre alícuota para preparar RA	2,66E-03
Incertidumbre aforo del estándar RA	5,95E-04
Incertidumbre reproducibilidad mediciones RA	1,42E-05
Incertidumbre de curva de calibración para determinación de los RA	2,87E-03

Se procede de igual forma a calcular la incertidumbre combinada total para los patrones de control de rango alto:

$$U_c = 2,85 \times 10^{-3}$$

Se calcula la incertidumbre expandida así:

$$U = 2,85 \times 10^{-3} \times 2 \times 1,4$$

$$U = 7,98 \times 10^{-3}$$

Con esto estimamos el porcentaje de incertidumbre en los resultados obtenidos para los patrones de control de rango alto:

$$\frac{7,98 \times 10^{-3}}{1,4} \times 100\% = 0,57 \%$$

Los resultados se expresan como:  $1,4000 \pm 0,0079 \text{ mg F} \cdot \text{L}^{-1}$ , para el método de fluoruros por ESI.

### ANEXOS 3

#### TABLAS DE RESULTADOS PARA EL F CALCULADO EN EL MÉTODO DE NITRATOS POR UV-Vis

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA POTABLE,  
EL F TEÓRICO PARA UNA PRUEBA DE UNA COLA ES  $F_{14,1} = 245.9$

ANALISTA	MP 1	MP 2	MP 3	MP 4	MP 5	MP 6	MP 7	MP 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,248	1,301	1,327	1,348	1,294	1,416	1,434	1,488	6,64 E- 03	1,131
2	1,294	1,416	1,294	1,348	1,434	1,473	1,488	1,437	5,87 E- 03	

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL  
DOMESTICA (MRD)

ANALISTA	MRD 1	MRD 2	MRD 3	MRD 4	MRD 5	MRD 6	MRD 7	MRD 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	8,622	8,477	8,469	8,856	8,407	8,288	8,468	9,189	8,53 E- 02	1,127
2	8,407	8,856	8,469	8,468	8,288	9,189	8,941	8,671	9,61 E- 02	

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL  
INDUSTRIAL (MRI)

ANALISTA	MRI 1	MRI 2	MRI 3	MRI 4	MRI 5	MRI 6	MRI 7	MRI 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	12,71	12,22	12,38	12,30	13,11	14,46	14,37	14,64	1,100	12,48
2	13,11	12,30	12,71	14,37	14,46	14,64	14,47	14,38	0,881	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA POTABLE  
ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (APRA)**

ANALISTA	APRA 1	APRA 2	APRA 3	APRA 4	APRA 5	APRA 6	APRA 7	APRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	7,057	7,021	7,075	7,093	7,057	6,929	6,947	6,983	3,71 E- 03	1,279
2	6,941	6,983	7,057	6,929	7,075	6,983	6,941	6,995	2,9 E- 03	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA POTABLE  
ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (APRB)**

ANALISTA	APRB 1	APRB 2	APRB 3	APRB 4	APRB 5	APRB 6	APRB 7	APRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	3,028	3,088	3,057	2,964	3,053	3,037	3,037	2,965	1,90 E- 03	1,532
2	2,984	2,964	3,037	3,053	3,037	3,053	3,033	2,984	1,24 E- 03	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL  
DOMESTICA ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (RDRA)**

ANALISTA	RDRA 1	RDRA 2	RDRA 3	RDRA 4	RDRA 5	RDRA 6	RDRA 7	RDRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	7,075	7,111	7,057	7,111	7,003	7,127	7,163	7,091	2,35 E- 03	1,736
2	7,057	7,049	7,003	7,127	7,163	7,003	7,049	6,977	4,08 E- 03	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL DOMESTICA CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (RDRB)**

<b>ANALISTA</b>	<b>RDRB 1</b>	<b>RDRB 2</b>	<b>RDRB 3</b>	<b>RDRB 4</b>	<b>RDRB 5</b>	<b>RDRB 6</b>	<b>RDRB 7</b>	<b>RDRB 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	3,082	3,057	3,088	3,107	3,089	3,091	3,091	2,983	1,53 E- 03	1,725
2	3,091	3,089	3,107	3,088	3,020	2,983	2,984	3,020	2,64 E- 03	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIA CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (RIRA)**

<b>ANALISTA</b>	<b>RIRA 1</b>	<b>RIRA 2</b>	<b>RIRA 3</b>	<b>RIRA 4</b>	<b>RIRA 5</b>	<b>RIRA 6</b>	<b>RIRA 7</b>	<b>RIRA 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	7,057	7,021	7,075	7,094	7,057	6,929	6,947	6,983	2,48 E- 03	2,156
2	6,977	7,001	6,985	6,965	7,001	6,983	6,977	6,895	1,15 E- 03	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (RIRB)**

<b>ANALISTA</b>	<b>RIRB 1</b>	<b>RIRB 2</b>	<b>RIRB 3</b>	<b>RIRB 4</b>	<b>RIRB 5</b>	<b>RIRB 6</b>	<b>RIRB 7</b>	<b>RIRB 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	2,758	2,800	2,841	2,910	2,874	3,163	2,947	3,236	2,93 E- 02	1,131
2	2,841	3,163	2,874	2,910	3,146	3,236	3,146	3,200	2,59 E- 03	

## ANEXOS 4

### TABLAS DE RESULTADOS PARA EL F CALCULADO EN EL MÉTODO DE FLUORUROS POR ESI

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA TRATADA (MT)

ANALISTA	MT 1	MT 2	MT 3	MT 4	MT 5	MT 6	MT 7	MT 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,058	0,058	0,059	0,057	0,060	0,060	0,060	0,057	1,30 E-06	2,127
2	0,059	0,058	0,060	0,060	0,060	0,059	0,059	0,061	6,11 E-07	

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL DOMESTICA (MRD)

ANALISTA	MRD 1	MRD 2	MRD 3	MRD 4	MRD 5	MRD 6	MRD 7	MRD 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,086	0,087	0,089	0,089	0,088	0,090	0,088	0,086	2,30 E-06	1,643
2	0,089	0,089	0,087	0,088	0,087	0,087	0,088	0,090	1,40 E-06	

RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL (MRI)

ANALISTA	MRI 1	MRI 2	MRI 3	MRI 4	MRI 5	MRI 6	MRI 7	MRI 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,104	0,099	0,109	0,112	0,103	0,101	0,099	0,099	2,23 E-05	1,087
2	0,099	0,099	0,107	0,110	0,099	0,099	0,109	0,105	2,05 E-05	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA TRATADA  
ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (TRA)**

ANALISTA	TRA 1	TRA 2	TRA 3	TRA 4	TRA 5	TRA 6	TRA 7	TRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,41	1,41	1,41	1,42	1,41	1,42	1,40	1,42	5,00 E-05	1,392
2	1,40	1,41	1,41	1,42	1,41	1,40	1,42	1,40	6,96 E-05	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA TRATADA  
ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (TRB)**

ANALISTA	TRB 1	TRB 2	TRB 3	TRB 4	TRB 5	TRB 6	TRB 7	TRB 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	0,593	0,599	0,587	0,605	0,588	0,585	0,589	0,585	5,20 E-05	1,092
2	0,598	0,605	0,604	0,595	0,589	0,585	0,593	0,598	4,76 E-05	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL  
DOMESTICA ADICIONADAS CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (RDRA).**

ANALISTA	RDRA 1	RDRA 2	RDRA 3	RDRA 4	RDRA 5	RDRA 6	RDRA 7	RDRA 8	Varianza $S^2$	$F_{cal}$
1	1,40	1,40	1,43	1,40	1,40	1,39	1,42	1,39	1,98 E-04	1,559
2	1,41	1,40	1,41	1,39	1,40	1,39	1,38	1,41	1,27 E-04	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL DOMESTICA CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (RDRB).**

<b>ANALISTA</b>	<b>RDRB 1</b>	<b>RDRB 2</b>	<b>RDRB 3</b>	<b>RDRB 4</b>	<b>RDRB 5</b>	<b>RDRB 6</b>	<b>RDRB 7</b>	<b>RDRB 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	0,612	0,605	0,610	0,608	0,615	0,609	0,610	0,602	1,61 E-05	2,832
2	0,611	0,608	0,615	0,608	0,610	0,609	0,598	0,595	4,56 E-05	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIA CON EL PATRÓN DE RANGO ALTO (RIRA).**

<b>ANALISTA</b>	<b>RIRA 1</b>	<b>RIRA 2</b>	<b>RIRA 3</b>	<b>RIRA 4</b>	<b>RIRA 5</b>	<b>RIRA 6</b>	<b>RIRA 7</b>	<b>RIRA 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	1,37	1,42	1,42	1,38	1,38	1,38	1,41	1,40	4,00 E-04	3,15
2	1,39	1,40	1,41	1,39	1,41	1,42	1,40	1,39	1,27 E-04	

**RESULTADOS POR ANALISTA DE VARIANZA  $S^2$  Y F CALCULADO PARA LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL CON EL PATRÓN DE RANGO BAJO (RIRB).**

<b>ANALISTA</b>	<b>RIRB 1</b>	<b>RIRB 2</b>	<b>RIRB 3</b>	<b>RIRB 4</b>	<b>RIRB 5</b>	<b>RIRB 6</b>	<b>RIRB 7</b>	<b>RIRB 8</b>	<b>Varianza <math>S^2</math></b>	<b>F<sub>cal</sub></b>
1	0,580	0,609	0,585	0,579	0,583	0,582	0,606	0,586	1,40 E-04	1,171
2	0,595	0,599	0,593	0,592	0,601	0,596	0,597	0,604	1,64 E-05	

**ANEXOS 5**

**TABLA DE RESULTADOS DE ESTANDARIZACION PARA EL MÉTODO DE NITRATOS POR UV-Vis.**

PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LDI	0,02418	mg/L	NA
LDM ESTIMADO	0,23074		
LDM REAL	0,23606		
LCM	0,50000		
NIVEL 1 DE LA CURVA PROMEDIO	0,50		
NIVEL 2 DE LA CURVA PROMEDIO	1,00		
NIVEL 3 DE LA CURVA PROMEDIO	3,00		
NIVEL 4 DE LA CURVA PROMEDIO	7,00		
NIVEL 5 DE LA CURVA PROMEDIO	10,00		
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0,5 - 10,0		
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	0,5 - 100,0	Con dilución de estandar	
<i>ESTANDAR DILUIDO</i>	100,0000	mg/L	Estandar diluido Ed
<i>CV ESTANDAR DILUIDO</i>	0,4190	%	
<i>% RECUPERACIÓN ESTANDAR DILUIDO</i>	99,50	%	
R <sup>2</sup> CURVA DE LA CURVA PROMEDIO	0,9999	NA	NA
PENDIENTE DE LA CURVA PROMEDIO	0,0556		
INTERCEPTO CON EJE Y DE LA CURVA PROMEDIO	0,0003		
<i>PATRÓN DE CONTROL</i>	4,00	mg/L	Estandar Medio Em
<i>CV PATRÓN DE CONTROL</i>	0,77	%	
PRECISIÓN EN TRMINOS DE % CV	2,875	%	NATURAL
	6,061		POTABLE
	6,026		RESIDUAL DOMESTICA
	7,731		RESIDUAL INDUSTRIAL
	0,8334		Agua NRB
	1,087		Agua NRA
	1,372		Agua PRB
	0,848		Agua PRA
	1,523		Agua RDRB
	0,804		Agua RDRA
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	6,034	%	Agua RIRB
	0,630		Agua RIRA
	96,695		Agua NRB
	98,024		Agua NRA
	96,771		Agua PRB
	98,831		Agua PRA
	101,525		Agua RDRB
	100,806		Agua RDRA
95,328	Agua RIRB		
99,371	Agua RIRA		



**ANEXOS 6**

**TABLA DE RESULTADOS DE ESTANDARIZACION PARA EL MÉTODO DE FLUORUROS POR ESI**

PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
<i>LDI</i>	0,00052	mg/L	NA
<i>LDM ESTIMADO</i>	0,00495		
<i>LDM REAL</i>	0,01307		
<i>LCM</i>	0,03215		
<i>NIVEL 1 DE LA CURVA PROMEDIO</i>	0,03		
<i>NIVEL 2 DE LA CURVA PROMEDIO</i>	0,10		
<i>NIVEL 3 DE LA CURVA PROMEDIO</i>	0,70		
<i>NIVEL 4 DE LA CURVA PROMEDIO</i>	1,30		
<i>NIVEL 5 DE LA CURVA PROMEDIO</i>	2,00		
<i>RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)</i>	0,03 - 2,00	mg/L	Rango Lineal
<i>INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO</i>	0,03 - 10.,0		Con dilucion de estandar
<i>ESTANDAR DILUIDO</i>	100,0000	mg/L	Estandar diluido Ed
<i>CV ESTANDAR DILUIDO</i>	0,3940	%	
<i>% RECUPERACIÓN ESTANDAR DILUIDO</i>	99,40	%	
<i>R<sup>2</sup> CURVA DE LA CURVA PROMEDIO</i>	0,9999	NA	NA
<i>PENDIENTE DE LA CURVA PROMEDIO</i>	0,9999		
<i>INTERCEPTO CON EJE Y DE LA CURVA PROMEDIO</i>	-0,0024		
<i>PATRÓN DE CONTROL</i>	0,80	mg/L	Estandar Medio Em
<i>CV PATRÓN DE CONTROL</i>	0,49	%	
<i>PRECISIÓN EN TERMINOS DE % CV</i>	2,755	%	NATURAL
	2,81		POTABLE
	4,009		RESIDUAL DOMESTICA
	6,732		RESIDUAL INDUSTRIAL
	2,15		Agua NRB
	0,61		Agua NRA
	1,33		Agua PRB
	0,47		Agua PRA
	1,53		Agua RDRB
	0,95		Agua RDRA
	2,1		Agua RIRB
	1,28		Agua RIRA
<i>EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE PORCENTAJE DE RECUPERACION</i>	97,99	Agua NRB	
	99,01	Agua NRA	
	96,89	Agua PRB	
	100,23	Agua PRA	
	103,93	Agua RDRB	
	101,16	Agua RDRA	
	96,25	Agua RIRB	
	98,94	Agua RIRA	