# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES

TESIS DE GRADUACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

"MAGÍSTER EN MANEJO INTEGRAL DE LABORATORIOS DE DESARROLLO"

# "ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN AGUAS SUPERFICIALES DEL RÍO DAULE Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE ANIONES EN AGUA POR CROMATOGRAFÍA IÓNICA"

AUTOR:

ING. DOLORES AUGUSTA JIMÉNEZ SÁNCHEZ

Guayaquil – Ecuador

2013

# AGRADECIMIENTO

A Dios, mi sustento, fortaleza y apoyo incondicional.

A mi familia, esposo e hijos, quienes son el motor diario de mi vida y la razón de vivir, trabajar, estudiar, cumplir metas y propósitos.

Al M.Sc. Justo Huayamave, tutor del presente proyecto, además fue quien permitió realizar los ensayos en su laboratorio y no ha escatimado ayuda alguna, gracias infinitas.

A la Dra. Olga González, su colaboración y ayuda han sido fundamentales en el desarrollo del presente trabajo.

A Luis Enrique, Ivonne, Ángel, a todos quienes de una u otra manera colaboraron para la culminación del presente proyecto.

Gracias.

# DEDICATORIA

A mi esposo, hijos, madre y hermanos.

## DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este tipo de Proyecto de Graduación, me corresponde exclusivamente; el patrimonio intelectual del mismo, corresponde exclusivamente a la **Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales** de la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

**Michael Guillermo Rendón Morán**

## TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ph.D. FRANCISCO VERA ALCÍVAR
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ph.D. OLGA GONZÁLES SÁNCHEZ
DIRECTOR DE LA TESIS

M.Sc. CAROLA RESABALA ZAMBRANO
VOCAL DEL TRIBUNAL

## RESUMEN

El río Daule es la fuente de agua para aproximadamente 3 millones de personas, desde el cantón Pichincha en la Provincia de Manabí hasta el cantón Guayaquil en la Provincia del Guayas. La calidad de sus aguas se ve influenciada por las descargas agrícolas, domésticas, naturales e industriales que se realizan a lo largo de su recorrido.

Entre los parámetros usados para determinar la calidad del agua se encuentran los aniones que determinan el balance iónico del cuerpo acuático de una región.

Este trabajo exhibe las actividades para la validación del método de ensayo "Cuantificación de Aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$y $SO_4^{2-}$ por cromatografía iónica para una matriz de agua de río", lo que ha dado como resultado un método estandarizado y validado.

Con el objetivo de estimar los aportes de los iones $Cl^-$ (cloruro), $NO_2^-$ (nitrito), $NO_3^-$ (nitrato), $PO_4^{3-}$ (fosfato) y $SO_4^{2-}$ (sulfato), se presentan adicionalmente las actividades como toma de muestra en las 6 estaciones del río Daule, en la represa Daule – Peripa y en el sector Pichincha, el análisis de las muestras corrido en el equipo de cromatografía iónica Metrohm 883 y el análisis estadístico de sus resultados a un nivel de confianza del 95 %.

Se realizan comparaciones estadísticas entre las muestras tomadas en las distintas estaciones y puntos de muestreo, para saber si existe diferencia significativa en los aportes del cauce y adicionalmente se compara con los valores dados por las normas ambientales del TULSMA (Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente).

Se observa que existe diferencia significativa de los aniones, entre un día y otro, en la represa Daule-Peripa, Pichincha y sector Puente Lucía; mientras que no existe diferencia significativa entre las 6 estaciones seleccionadas en Puente Lucía. Adicionalmente se observa que hay diferencia significativa frente a los valores de TULSMA, los mismos que son mayores a los contenidos en las muestras de agua del río Daule.



*Palabras clave: aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$,* $PO_4^{3-}$, $SO_4^{2-}$, *Validación, Cromatografía iónica*. Río Daule.

## ÍNDICE GENERAL


| | | Pág. |
|---|---|---|
| ÍNDICE GENERAL | | VII |
| ÍNDICE DE TABLAS | | XI |
| ÍNDICE DE GRÁFICAS | | XIV |
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES | | XV |
| INTRODUCCIÓN | | XVI |
| **CAPÍTULO 1** | | |
| **GENERALIDADES** | | |
| 1.1 | Cromatografía | 1 |
| 1.2 | Historia e importancia de la cromatografía iónica. | 3 |
| 1.3 | Intercambio Iónico | 4 |
| 1.4 | Nutrientes | 9 |
| 1.5 | Investigaciones realizadas sobre monitoreo de ríos | 13 |
| 1.6 | Río Daule | 16 |
| 1.7 | Validación de Métodos | 18 |
| **CAPITULO 2** | | |
| **PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE VALIDACIÓN DE MÉTODO** | | |
| 2.1 | Objetivo | 35 |
| 2.2 | Alcance | 35 |
| 2.3 | Justificación del Método | 35 |
| 2.4 | Responsabilidades | 36 |
| 2.5 | Cualificación y funcionamiento de los equipos y reactivos | 36 |
| 2.6 | Procedimiento de análisis | 38 |
| 2.7 | Toma de muestra experimental | 42 |
| 2.8 | Cálculos | 43 |
| **CAPÍTULO 3** | | |
| **METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DEL AGUA DEL RÍO DAULE** | | |
| 3.1 | Determinación de los puntos de muestreo | 44 |
| 3.2 | Toma de muestras | 46 |
| 3.3 | Preparación de muestras en el laboratorio | 47 |
| 3.4 | Análisis diversos | 47 |
| **CAPÍTULO 4** | | |
| **RESULTADOS** | | |
| 4.1 | Resultados de pruebas para Validación | 48 |
| 4.2 | Resultados de análisis realizados en muestras de agua del río Daule | 95 |
| 4.3 | Análisis estadístico de muestras de agua del río Daule | 98 |
| 4.4 | Análisis de muestras tomadas en la represa Daule – | 123 |

Peripa y en puntos como Pichincha y Puente Lucía
4.5 Prueba estadística “t” de student 128
4.6 Comparación de las muestras de agua de río versus los valores establecidos en la normativa ambiental TULSMA. 132
4.7 Resultados de Análisis de pH 132
4.8 Resultados de Análisis de Conductividad 133
4.9 Análisis de resultados 133

**CONCLUSIONES** 137

**RECOMENDACIONES** 141

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**ANEXOS**

## ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| **ANOVA** | Análisis de varianza |
| **CEPE** | Comisión económica para Europa |
| **CI** | Cromatografía Iónica |
| **%CV** | Coeficiente de variación o variación relativa |
| **$Cl^-$** | Cloruro |
| **DS** | Difiere significativamente |
| **FAO** | Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura |
| **F** | Prueba Fisher |
| **INAMHI** | Instituto Nacional de Mineralogía e Hidrología |
| **INEN** | Instituto Ecuatoriano de Normalización |
| **LC** | Límite de cuantificación |
| **LD** | Límite de detección |
| **Lo** | Intercepto |
| **m** | Pendiente |
| **$mgl^{-1}$** | Miligramos por litro |
| **NDS** | No difiere significativamente |
| **$NO_2^-$** | Nitrito |
| **$NO_3^-$** | Nitrato |
| **p** | Probabilidad |
| **pH** | Potencial de hidrógeno |
| **PNUD** | Programa para el desarrollo de las Naciones Unidas |
| **$PO_4^{3-}$** | Fosfato |
| **ppm** | Partes por millón |
| **$R^2$** | Coeficiente de determinación |
| **r** | Coeficiente de correlación |
| **S** | Desviación estándar |
| **$SO_4^{2-}$** | Sulfato |
| **t** | De prueba t de student |
| **tcrít.** | t crítico, valor de tabla |
| **texp.** | t experimental o calculada |
| **TULSMA** | Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente. |
| **µS/cm** | Micro siemens por centímetro |
| **UNESCO** | Organización de las Naciones Unidas para la Educación |
| **UNEP** | Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente. PNUMA |
| **Λ** | Conductividad equivalente |

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de habitantes de los sectores de las riberas del río Daule (INEC, 2013)..... XIX
Tabla 2 . Historia de la cromatografía iónica (Eith et al., 2001) .....4
Tabla 3. Valores referenciales de aniones (OMS, 2006).....11
Tabla 4. Valores referenciales de otros organismos para el nivel máximo de ingesta (Ryczel, 2006 ) .....12
Tabla 5. Límites máximos permisibles para agua de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional, Aniones (TULSMA,2003).....16
Tabla 6. Información guía de selección de características de rendimiento de ensayos .....22
Tabla 7. Responsabilidades de las actividades de validación .....36
Tabla 8. Concentración de estándares en mezcla de ensayo .....39
Tabla 9. Volúmenes en ml añadidos a partir de la mezcla de estándares.....40
Tabla 10. Estándares con concentración conocida de aniones (ppm).....40
Tabla 11. Estaciones de muestreo en sector Puente Lucía .....45
Tabla 12. Tiempo de retención y resolución de los aniones de estudio.....49
Tabla 13. Ecuación de la recta y coeficiente de correlación.....50
Tabla 14. Resultados de concentración del ión $Cl^-$ en la mezcla de estándares .....50
Tabla 15. Resumen de estadísticos, por mínimos cuadrados, $Cl^-$.....52
Tabla 16. Límites de m y Lo, $Cl^-$ .....55
Tabla 17. Región de confianza de la recta de calibración de $Cl^-$.....56
Tabla 18. Concentración de $NO_2^-$, en la mezcla de estándares .....57
Tabla 19. Resumen de estadísticos, mínimo cuadrados, $NO_2^-$ .....58
Tabla 20. Límites de m y Lo, para $NO_2^-$.....59
Tabla 21. Región de confianza de la calibración.....59
Tabla 22. Concentraciones de Ion $NO_3^-$,en mezcla de estándares .....60
Tabla 23. Resumen de estadísticos, mínimos cuadrados, $NO_3^-$ .....62
Tabla 24. Límites de m y Lo, para $NO_3^-$.....62
Tabla 25. Región de confianza de la calibración, $NO_3^-$ .....63
Tabla 26. Resultados de concentración de ión $PO_4^{3-}$, en la mezcla de estándares.....64
Tabla 27. Resumen de estadísticos, por mínimos cuadrados, $PO_4^{3-}$ .....65
Tabla 28. Límites de m y Lo, para $PO_4^{3-}$ .....66
Tabla 29. Región de confianza de la calibración.....66
Tabla 30. Resultados de concentración de ión $SO_4^{2-}$, en la mezcla de estándares.....67

Tabla 31. Resumen de estadísticos, cuadrados mínimos, $SO_4^{2-}$ ..... 69
Tabla 32. Límites de m y Lo, $SO_4^{2-}$ ..... 69
Tabla 33. Región de confianza de la recta de calibración, $SO_4^{2-}$ ..... 69
Tabla 34. Tabla de residuales de $NO_2^-$, $PO_4^{3-}$, $NO_3^-$ ..... 71
Tabla 35. Residuales de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$ ..... 71
Tabla 36. Resultados del test de Cochran ..... 73
Tabla 37. Valores del coeficiente de variación del factor de respuesta ..... 73
Tabla 38. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 4.5 y 2.5 pm ..... 74
Tabla 39. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 10 y 5 ppm ..... 75
Tabla 40. % CV de los aniones para análisis de repetibilidad ..... 76
Tabla 41. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 10 y 5 (ppm) ..... 77
Tabla 42. Concentraciones para análisis de precisión intermedia ..... 77
Tabla 43. % CV de los aniones para precisión intermedia ..... 78
Tabla 44. Resultado de concentraciones, repetibilidad del método ..... 78
Tabla 45. Resultados de análisis de repetibilidad del método ..... 79
Tabla 46. Resultados de análisis de muestras estándar con 1 ppm de aniones ..... 80
Tabla 47. Resultados de análisis de muestras con 2 ppm de cada anión ..... 81
Tabla 48. Resultados de análisis de muestras con 1.8 ppm de $Cl^-$, 2 de $SO_4^{2-}$ y 1 ppm de $NO_2^-$, 1 ppm de $NO_3^-$ y 1 ppm de $PO_4^{3-}$ ..... 81
Tabla 49. Resultados de análisis con muestras 1,8 ppm de $Cl^-$, 2 de $SO_4^{2-}$ y 1 ppm de $NO_2^-$, 1 ppm de $NO_3^-$ y 1 ppm de $PO_4^{3-}$ ..... 82
Tabla 50. Soluciones con 3.6 ppm $Cl^-$, 2 ppm de $NO_2^-$, 2 ppm de $NO_3^-$, 2 ppm de $PO_4^{3-}$ y 4 ppm de $SO_4^{2-}$ ..... 82
Tabla 51. Resultados de análisis de muestras con 7.5 ppm de Cl; 7.6 ppm de $SO_4^{2-}$ y 3.8 ppm de $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$ ..... 83
Tabla 52. Soluciones con 13 ppm de $Cl^-$, 7.5 ppm $NO_2^-$, 7.5 ppm $NO_3^-$, 7.5 ppm $PO_4^{3-}$ y 15 ppm $SO_4^{2-}$ ..... 84
Tabla 53. Resumen de resultados del porcentaje de recuperación ..... 85
Tabla 54. Concentraciones del estándar primario Multi-anión ..... 86
Tabla 55. Resultados de análisis de muestras de agua del río Daule ..... 87
Tabla 56. Adiciones 1 a la muestra control ..... 87
Tabla 57. Adiciones 2 a la muestra control ..... 88
Tabla 58. Resumen del porcentaje de recuperación ..... 89
Tabla 59. Límites de detección y de cuantificación ..... 89
Tabla 60. Límites de cuantificación ..... 90
Tabla 61. Valores del límite mínimo de detección LD ..... 91
Tabla 62. Valores del tiempo de retención ..... 91
Tabla 63. Número de platos teóricos ..... 92
Tabla 64. Valores de asimetría T ..... 92
Tabla 65. Concentraciones de estándar al inicio y fin de trabajo ..... 93
Tabla 66. Concentración de $Cl^-$ en el río Daule, sector Puente Lucía ..... 94
Tabla 67. Concentración de $PO_4^{3-}$ en el río Daule, sector Puente Lucía ..... 94
Tabla 68. Concentración de $SO_4^{2-}$ en el río Daule, sector Puente Lucía ..... 95
Tabla 69. Concentración de $NO_3^-$ en el río Daule, sector Puente Lucía ..... 95
Tabla 70. Concentración de aniones en la represa Daule - Peripa ..... 96
Tabla 71. Concentración de aniones, sector Pichincha ..... 96

Tabla 72. Concentración de aniones, sector Puente Lucía ..... 97
Tabla 73. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1, D2 y A. ..... 98
Tabla 74. ANOVA para ion $Cl^-$, entre días en A ..... 98
Tabla 75. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1 y D2 en B ..... 99
Tabla 76. ANOVA para ión Cl, entre días en B ..... 100
Tabla 77. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1 en A y B ..... 101
Tabla 78. ANOVA para ión Cl, en un mismo día D1, en A y B ..... 101
Tabla 79. Concentraciones de ión $Cl^-$ en D2 en A y B ..... 102
Tabla 80. Anova para ión $Cl^-$, en un mismo día D2, en A y B..... 103
Tabla 81. Concentraciones de ion $NO_3^-$ en D1 y D2 en A..... 104
Tabla 82. ANOVA para ion $NO_3^-$, entre días en A..... 104
Tabla 83. Concentraciones de ion $NO3^-$ (ppm) en estaciones D1 y D2 agua arriba (B) ..... 105
Tabla 84. ANOVA para ión NO3 , entre días, en B ..... 106
Tabla 85. Concentración de ion $NO3^-$ (ppm), en día D1 en estaciones A y B ..... 107
Tabla 86. ANOVA para ion $NO_3^-$, en D1 en A y B ..... 107
Tabla 87. Concentraciónde ion $NO_3^-$ (ppm), en día D2, en estaciones A y B..... 108
Tabla 88. ANOVA para ión $NO_3^-$ , en D2 en A y B ..... 109
Tabla 89. Concentraciones de ion $PO_4^{3-}$(ppm), en estacionesD1 y D2 agua arriba (A) ..... 110
Tabla 90. ANOVA para ion$PO_4^{3-}$ en D1 y D2 en A ..... 110
Tabla 91. Concentraciones de ion $PO_4^{3-}$ (ppm), en estacionesD1 y D2 agua arriba (B ) ..... 111
Tabla 92. ANOVA para ion $PO_4^{3-}$ en D1 y D2 en B..... 112
Tabla 93. Concentración de $PO_4^{3-}$(ppm), en día D1, en ambas estacionesA y B ..113
Tabla 94. ANOVA para ión $PO43^-$entre A y B, en D1 ..... 113
Tabla 95. Concentraciónde $PO_4^{3-}$ (ppm), en día D2, en ambas estaciones A y B .114
Tabla 96. ANOVA para ion $PO_4^{3-}$ en A y B en D2..... 115
Tabla 97. Concentración de $SO4^{2-}$(ppm), en D1 y D2 en estaciones (A) agua arriba ..... 116
Tabla 98. ANOVA para de ión $SO_4^{2-}$,entre días D1 y D2 en estación A..... 116
Tabla 99. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$ en D1 y D2 en B..... 117
Tabla 100. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$ entre día D1 y D2 en estación B..... 118
Tabla 101. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$en A y B en D1 ..... 119
Tabla 102. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$entre estaciones A y B en día D1 ..... 119
Tabla 103. Concentraciones de ión $SO_4^{2-}$ en D2 en A y B ..... 120
Tabla 104. ANOVA para ión $SO_4^{2-}$ en D2 entre las estaciones A y B..... 121
Tabla 105. Concentraciones de ión $Cl^-$ en A,B y represa..... 122
Tabla 106. ANOVA para ión $Cl^-$ entre A,B y represa..... 123
Tabla 107. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$en las estaciones y represa..... 124
Tabla 108. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$entre estaciones y represa ..... 124
Tabla 109. Concentraciones de ion $Cl^-$, Represa, Pichincha y Puente Lucía..... 125
Tabla 110. Prueba t, $Cl^-$, Represa vs Pichincha..... 127
Tabla 111. Prueba t, $Cl^-$, Represa versus Puente Lucía ..... 127
Tabla 112. Concentración de ion $SO_4^{2-}$, Represa, Pichincha y Puente Lucía ..... 128
Tabla 113. Prueba t, $SO_4^{2-}$, Represa vs Pichincha ..... 128

Tabla 114. Prueba t, $SO_4^{2-}$, Represa versus Puente Lucía ..... 129
Tabla 115. Concentraciones de iones frente a normativa ..... 130
Tabla 116. Valores de pH de las estaciones muestreadas durante los dos días ... 130
Tabla 117. Valores de conductividad de las estaciones muestreadas durante los dos días ..... 131
Tabla 118. Resumen de validación del método ..... 132
Tabla 119. Comparación de valores de prueba F, $Cl^-$ ..... 133
Tabla 120. Comparación de valores de prueba F, $NO_3^-$ ..... 134
Tabla 121. Comparación de valores de prueba F, $PO_4^{3-}$ ..... 134
Tabla 122. Comparación de valores de prueba F, $SO_4^{2-}$ ..... 134
Tabla 123. Valores F, de estaciones incluyendo represa Daule ..... 135

# ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Recta de calibración, ion $Cl^-$, a través del programa Magic Net.....51
Gráfica 2. Representación gráfica de recta de calibración para $Cl^-$, usando el programa Excel.....52
Gráfica 3. Región de confianza para $Cl^-$ .....56
Gráfica 4. Recta de calibración de $NO_2^-$ .....57
Gráfica 5. Recta de calibración para ión $NO_2^-$, a través del programa Excel.....58
Gráfica 6. Región de confianza de $NO_2^-$ .....60
Gráfica 7. Recta de calibración de $NO_3^-$, programa Magic Net .....61
Gráfica 8. Recta de calibración para ion $NO_3^-$, programa Excel.....61
Gráfica 9. Región de confianza de la recta de calibración, $NO_3^-$.....63
Gráfica 10. Recta de calibración del ión $PO_4^{3-}$ .....64
Gráfica 11. Recta de calibración para ión$PO_4^{3-}$ .....65
Gráfica 12. Recta de región de confianza, $PO_4^{3-}$ .....67
Gráfica 13. Recta de calibración del ion $SO_4^{2-}$.....68
Gráfica 14. Recta de calibración de ión $SO_4^{2-}$ .....68
Gráfica 15. Región de confianza de la recta de calibración, $SO_4^{2-}$.....70
Gráfica 16. Residuales de $NO_2^-$, $PO_4^{3-}$ y $NO_3^-$.....72
Gráfica 17. Residuales de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$.....73
Gráfica 18. Precipitación diaria, Guayaquil, marzo 2012 .....134
Gráfica 19. Acumulado de precipitaciones Guayaquil, Agosto 2012 .....135

# ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Diagrama esquemático que muestra los procesos en cromatografía iónica ..... 5
Ilustración 2. Componentes del cromatógrafo iónico ..... 7
Ilustración 3. Concentración de $NO_2^-$ más $NO_3^-$ en $mg.l^{-1}$ en agua superficial y seleccionado por región. ..... 10
Ilustración 4. Recorrido del río Daule, desde represa hasta Guayaquil ..... 16
Ilustración 5. Embalse de la represa Daule Peripa ..... 17
Ilustración 6. Rango de linealidad, representación gráfica ..... 25
Ilustración 7. Descripción del pico cromatográfico ..... 34
Ilustración 8. Estaciones de muestreo ..... 44

# INTRODUCCIÓN

El agua dulce es un recurso finito y vital para el hombre, es el recurso clave para el desarrollo sostenible (ONU, 2013). Tal es su importancia que organismos a nivel mundial trabajan para su cuidado, protección y repartición equitativa como la Organización de las Naciones (ONU), Programa de desarrollo de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Organización de las Naciones Unidas para la Educación (UNESCO), Comisión Económica para Europa (CEPE), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), Programa de las Naciones Unidas para Asentamientos Humanos (UN-HABITAT) y otras.

Este importante e imprescindible recurso de una gran parte de la población del Ecuador incluyendo la ciudad de Guayaquil está ubicado en el ámbito del Ecosistema Guayas (EG), ecosistema de especiales connotaciones donde habita el 42 % de la población nacional y se asientan 16 de las ciudades del Ecuador con más de 50 000 habitantes (Montaño, 2010). En este sentido el presente proyecto se se propone caracterizar el entorno del río Daule, específicamente en el tramo de sus aguas comprendido entre la represa Daule-Peripa y la ciudad de Guayaquil, atravesando las poblaciones de Balzar, Colimes, Palestina, Santa Lucía, Daule y Nobol.

Generalmente, el agua de los ríos, es usada para esparcimiento, regadío, industria y para el consumo humano al ser potabilizada previamente; sin embargo, descargas industriales, tóxicas, domésticas, enriquecimiento de nutrientes causan degradación de la calidad de agua (Palacios y Burgos, 2009; Rodríguez , 2002; Helmer, 1994). De esta manera, las descargas industriales sin tratamiento, falta de recolección de residuos sólidos, aplicación indiscriminada de fertilizantes y plaguicidas afectan a la Cuenca del río Guayas (Montaño, 2008) de la cual forma parte el río Daule.

Entre las especies químicas que sirven para advertir de un posible deterioro del agua, a corto o largo plazo están los aniones, entre ellos: cloruros ($Cl^-$), nitritos ($NO_2^-$), nitratos ($NO_3^-$), fosfatos ($PO_4^{3-}$) y sulfatos ($SO_4^{2-}$), cuya presencia en cantidades superiores a lo permitido podrían causar daño a la población y al medio ambiente.

Para la determinación de estas substancias a través de una metodología apropiada como es la cromatografía iónica, fue necesario efectuar la estandarización de un método y su validación a través de rectas de calibración, ensayos de repetibilidad, repetibilidad media, repetibilidad instrumental, adecuabilidad del sistema y pruebas de recuperación con un material de referencia certificado (MRC), esto con el propósito de obtener un método seguro y resultados confiables que muestren información real de las aguas del río Daule.

La aplicación de este método validado fue realizado en las muestras de agua tomadas en las diferentes estaciones seleccionadas en el río Daule, represa Daule–Peripa y sector Pichincha.

**Problema**

El agua se contamina a través de la atmósfera al punto que ciertos contaminantes han sido observados en el hielo y nieve del Ártico y Antártica (Helmer y Meybeck, 1996). Entre tales contaminantes se incluyen metales pesados, PCBs, pesticidas (AMAP, 1997) y a través del suelo, el agua dulce se contamina por la descarga de aguas residuales domésticas, industriales y ciertas actividades agrícolas y ganaderas, por el uso de pesticidas y de fertilizantes (Helmer y Meybeck, 1996; Ryczel, 2006). En los ecosistemas agua-suelo el deterioro es debido a salinización, enriquecimiento de nitratos, contaminación de pesticidas y erosión (Helmer, 1994).

La presencia de ciertas substancias químicas en el agua restringe su uso. De esta manera, la alcalinidad, salinidad, $Cl^-$, $SO_4^{2-}$, $NO_2^-$ y $NO_3^-$ se incluyen dentro de las normativas que regulan el uso del agua. El Codex Alimentarius a través de la Norma Codex para las aguas minerales naturales (Codex 108, 1981) establece los límites de determinadas substancias químicas que podrían afectar a la salud de la población. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) presenta información completa sobre leyes y normas referente a la calidad de distintos tipos de agua y al mantenimiento de su calidad (EPA, 2012).

En el Ecuador el Ministerio del Ambiente a través del Decreto Ejecutivo No. 3516. RO/Suplemento 2 de 31 de marzo de 2003 se crea el Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la prevención y Control de la contaminación ambiental, a través del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA). Este cuerpo legal establece las normas generales nacionales aplicables a la prevención y control de la contaminación ambiental, los impactos de las actividades económicas, los límites permisibles de emisión, descargas, vertidos al ambiente y los criterios de calidad de agua, aire y suelo (TULSMA, 2003). En este texto, se establecen los límites permisibles de diferentes sustancias, para el agua destinada a consumo humano previamente potabilizada.

Entre las substancias químicas a analizar está el $Cl^-$ que le comunican al agua un sabor desagradable y además puede ser corrosivo; los $SO_4^{2-}$ que contribuyen a la salinidad y su presencia en alta concentración tiene efecto laxante; el $NO_3^-$ que podría indicar oxidación de la materia orgánica por bacterias, fertilizantes residuales y $NO_2^-$ cuya presencia hace que el agua no se pueda potabilizar por el riesgo de causar la inutilización de la hemoglobina en la sangre, en especial en los infantes (Helmer y Meybeck, 1996; Helmer R., 1994).

El agua del río Daule se usa para consumo humano, riego, uso doméstico, pecuario y para recreación; sin embargo se observa que poblaciones que se encuentran en sus riberas descargan en su cauce basura, desechos industriales, domésticos y aguas servidas sin tratamiento previo, lo que de seguro afecta a la calidad de la misma. Como consecuencia se ha evidenciado, bajos niveles de oxígeno (Universidad Agraria, 2009), presencia de aniones como sulfatos ($SO_4^{2-}$), nitratos ($NO_3^-$), fosfatos ($PO_4^{3-}$) y número de coliformes fecales superior a lo establecido en el TULSMA libro VI Anexo I Tabla 1 (Proaño, 2011).

La situación del río Daule lejos de ser ideal, a la fecha 04-04-2012, solamente 50 de 200 empresas catastradas, es decir el 25 % tienen licencia ambiental. Y solamente 7 de estas 200 relacionadas directamente al río, tienen una certificación ecológica que garantiza su cuidado y conservación. Por ello la necesidad de regularizar y aplicar correctos planes de manejo de desechos sólidos y afluentes industriales (Ecuador inmediato, 2012).

Según lo expuesto, es necesario conocer la carga de aniones presentes en el río Daule, en especial en el sector donde se iniciará la potabilización, y esto a través de un método validado que demuestre confianza y seguridad de los resultados.

## Hipótesis

Tomando como referencia los niveles establecidos en la normativa TULSMA libro VI Anexo 1, el contenido de aniones en el río Daule no es significativamente diferente de lo permitido para agua de consumo humano y uso doméstico previo a ser potabilizada.

## Objetivos

### General

Estimar el aporte de aniones cloruros ($Cl^-$), nitritos ($NO_2^-$), nitratos ($NO_3^-$), fosfatos ($PO_4^{3-}$) y sulfatos ($SO_4^{2-}$) en el río Daule, sector Puente Lucía, en 6 estaciones seleccionadas y en la represa Daule–Peripa, a través de un método validado por cromatografía iónica.

### Específicos

1. Elaborar un procedimiento estandarizado para la determinación de los aniones cloruro ($Cl^-$), nitrito ($NO_2^-$), nitrato ($NO_3^-$), fosfato ($PO_4^{3-}$) y sulfato ($SO_4^{2-}$) por cromatografía iónica.

2. Validar el método de análisis de iones por cromatografía iónica de: cloruro ($Cl^-$), nitrito ($NO_2^-$), nitrato ($NO_3^-$), fosfato ($PO_4^{3-}$) y sulfato ($SO_4^{2-}$) para la matriz agua de río.

3. Analizar el contenido de los aniones cloruro ($Cl^-$), nitrito ($NO_2^-$), nitrato ($NO_3^-$), fosfato ($PO_4^{3-}$) y sulfato ($SO_4^{2-}$) en función de la normativa vigente.

4. Comparar la carga aniones aguas arriba y aguas abajo del sector La Toma.

## Justificación

El planteamiento de programas de mejora inicia con el conocimiento de las condiciones actuales o la determinación de línea base, por ello un programa de gestión de calidad de agua requiere información de la calidad de agua existente, de

la influencia de las actividades del ser humano, los criterios del agua presente y de los usos planificados (Helmer y Meybeck, 1996).

El río Daule, es una de las fuentes más importantes de suministro de agua para alrededor de 3 000 000 de habitantes, esto es el 18 % de habitantes del Ecuador, ubicados en los sectores que se encuentran en el cantón Pichincha en Manabí, Balzar, Colimes, Palestina, Santa Lucía, Daule, Nobol y Guayaquil en el Guayas (Tabla 1).

Los valores citados en la Tabla 1, corresponde al año 2010, con un total de 14 483 499 habitantes y para el día 13 de enero de 2013 de acuerdo al censo, la población fue de 15 406 979 (INEC, 2011). Al hacer una proyección, los habitantes de las riberas del río Daule serían aproximadamente 2 822 618.

Tabla 1. Número de habitantes de los sectores de las riberas del río Daule (INEC, 2013)

| Sector | Población (hab.) |
|---|---|
| Pichincha | 30 244 |
| Balzar | 53937 |
| Colimes | 23423 |
| Palestina | 16065 |
| Santa Lucía | 38923 |
| Daule | 120326 |
| Nobol | 19600 |
| Guayaquil | 2350915 |
| Total | 2 653 433 |

Considerando la Norma ISO 17025: 2005, el Organismo de Acreditación Ecuatoriano, a fecha julio de 2010, 29 laboratorios están acreditados para análisis de agua y suelos, 27 de los cuales lo hacen en matriz de aguas naturales y residuales. Los ensayos acreditados varían, estos sean por volumetría, cromatografía de gases, cromatografía líquida, absorción atómica, plasma acoplado inductivamente y por espectrofotometría.

Estas técnicas permiten determinar cloruros, hidrocarburos, hidrocarburos aromáticos, metales, cationes y aniones. Existen varios métodos convencionales colorimétricos, electrométricos o titrimétricos para determinar aniones individuales; sin embargo, solamente la cromatografía iónica provee una técnica instrumental sencilla que puede ser usada por su rapidez y medida secuencial (Standar Methods, 2005).

La técnica generalizada para el análisis de aniones se observa que es la espectrofotometría, y los aniones analizados más comunes son: $NO_3^-$, $NO_2^-$, $SO_4^{2-}$ y $Cl^-$. Esta técnica es una herramienta muy útil, usada para el análisis cuantitativo de nutrientes o de aniones, sin embargo, tiene sus propias limitaciones como es la aplicación de la Ley de Beer, la misma que aplica solamente para substancias diluidas; mientras que para substancias concentradas mayores a 0.01M o con

substancias concentradas de otro analito se altera la absortividad y por lo tanto se ocasiona desviaciones a la ley de Beer (Jackson et al., 2001; Skoog y West, 1985).

Por ejemplo para $NO_3^-$ la medición por espectrofotometría ultravioleta es hasta 11 mg N/L según el Standars Methods (2005) y de acuerdo a la reglamentación TULSMA para agua de consumo humano previo a la potabilización es de 10 $N\text{-}NO_3$ $mg.L^{-1}$ cómo valor máximo, encontrándose en el límite superior de la cuantificación, además TULSMA establece el uso de métodos a través de cromatografía iónica ya que la misma elimina la necesidad de usar reactivos peligrosos y distingue eficazmente entre los haluros ($B^-$, $Cl^-$ y $F^-$) y los iones con oxígeno ($S0_3^{2-}$, $SO_4^{2-}$, $NO_2^-$ y $NO_3^-$) (Standar Methods, 2005) y posee la ventaja de determinar en cantidades desde partes por billón (ppb) y ser amigable con el medio ambiente.

Al ser el río Daule la única fuente de suministro de agua para potabilización destinada a la ciudad de Guayaquil, es necesario conocer y evaluar su calidad a través de métodos específicos, rápidos, exactos y confiables para obtener una línea base de información para monitoreo periódico del mismo, cuidado de salud de la población, actualización de normativas y otros, con el objeto de evitar mayores problemas suscitados por contaminación, eutrofización o cambios en el ecosistema.

# CAPÍTULO 1

# GENERALIDADES

## 1.1 Cromatografía

Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) la cromatografía es un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre una fase estacionaria y una fase móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un gel, o un líquido adherido químicamente o inmovilizado sobre un sólido. La fase móvil constituye el fluido que penetra a lo largo del lecho estacionario, en una dirección determinada y puede ser líquido, gas o un fluido supercrítico (IUPAC, 1995).

La cromatografía fue inventada y denominada por el botánico Michael Tswett a principios del siglo XX, al utilizar la técnica para separar diferentes pigmentos vegetales, lo cual consistió en pasar la solución que los contenía a través de una columna de vidrio empacada con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas sobre la columna, lo que justifica el nombre griego que eligió para el método *chroma* que significa “color” y *graphein* que significa “escribir” (Skoog et al., 2008).

Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada UIPAC 1995 se tiene la siguiente clasificación de la cromatografía:

### 1.1.1 Clasificación de la cromatografía

#### 1.1.1.1 Métodos principales

Según el proceso de desarrollo se clasifica en:

Cromatografía frontal.- Es un procedimiento en el cual la muestra líquida o gaseosa, se introduce de forma continua dentro del lecho cromatográfico, sin la necesidad de usar alguna fase móvil adicional.

Cromatografía de desplazamiento.- Es un procedimiento en el que la fase móvil contiene un compuesto desplazante, que está más fuertemente retenido que los

componentes de la muestra a analizar. A medida que la fase móvil pasa a través de la columna, desplaza la mezcla que al mismo tiempo se separa parcialmente.

Cromatografía de elución.- Es un procedimiento por el cual la fase móvil pasa continuamente a través de un lecho cromatográfico, separando sus componentes en zonas.

#### 1.1.1.2 Clasificación según la configuración del lecho cromatográfico

Cromatografía en columna.- Es una técnica de separación en la que el lecho estacionario está dentro de un tubo, a través del cual la fase móvil se fuerza a pasar por presión (Skoog et al., 2008).

Cromatografía en plano.- Es una técnica de separación en la que la fase estacionaria es un plano o está sobre un plano, que puede ser un papel utilizado como tal, o impregnado con una substancia a modo de lecho estacionario o bien una capa de partículas sólidas que recubren un soporte, como por ejemplo una placa de vidrio (cromatografía en capa fina, TLC). La fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad (Skoog et al., 2008).

#### 1.1.1.3 Clasificación según el estado físico de la fase móvil

Las técnicas cromatográficas se clasifican a menudo indicando el estado físico de las dos fases utilizadas. Según esta clasificación se utilizan las siguientes expresiones:

Cromatografía de gases (GC).- Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un gas y se usa una columna capilar o empacada.

Cromatografía de líquidos (LC).- Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un líquido y se puede realizar tanto en columna como en plano.

La cromatografía líquida que utiliza partículas muy pequeñas y presiones de entrada relativamente altas, se denomina cromatografía líquida de alta eficacia o alta presión con el acrónimo HPLC.

Cromatografía de fluidos súper crítico (SFC).- Es una técnica de separación en la que la fase móvil es un fluido ligeramente por encima de su temperatura y presión críticas.

#### 1.1.1.4 Clasificación según el mecanismo de separación

Cromatografía de adsorción.- La separación se basa fundamentalmente en las distintas afinidades de adsorción de los componentes de la muestra hacia la superficie de un sólido activo (IUPAC, 1995).

Cromatografía de reparto.-La separación se basa fundamentalmente en las diferencias de solubilidad de los componentes de la muestra en la fase estacionaria o en las diferencias de solubilidad de los componentes en la fase móvil y en la fase estacionaria (IUPAC, 1995).

Cromatografía de intercambio iónico.- La separación se basa fundamentalmente en la distinta susceptibilidad para el intercambio de iones de los componentes de la muestra (IUPAC, 1995), y se refiere al proceso que permite la separación de iones y moléculas polares según su carga.

Cromatografía de exclusión.- La separación se basa fundamentalmente en efectos de exclusión, tales como diferencias en el tamaño de las moléculas y /o en su forma o en su carga.

Cromatografía de afinidad.- Esta expresión caracteriza a una particular variante de la cromatografía, en la que se utiliza para la separación una interacción biológica específica entre el analito y la fase.

## 1.2 Historia e importancia de la cromatografía iónica

La cromatografía iónica (CI) aplica a cualquier método moderno para la separación cromatográfica de iones.

A mediados de los años 30 se inventaron las resinas de intercambio iónico y se utilizó las separaciones de intercambio iónico o aniónico. Luego en 1935 y 1950 el conocimiento acerca del intercambio de iones y sus aplicaciones fueron ampliados por el "Manhattan Project" (Metrohm, 2010). En los 70 la CI revoluciona al demostrarse que las mezclas de aniones o de cationes se podían separar en columnas para HPLC rellenas con resinas de intercambio aniónico o de intercambio iónico y en 1975 la compañía Dow Chemical Company idea una técnica de supresión del eluyente haciendo posible la detección de los iones eluidos por conductividad (Skoog et al., 2008).

La CI puede ser usada en la determinación de grandes proteínas, pequeños nucleótidos y aminoácidos; sin embargo, es dominante en la determinación de aniones, donde su mayor campo de aplicación es la investigación de sistemas acuosos, en agua de bebida (Jackson et al., 2001), para el análisis de especies de elementos en elementos aniónicos o complejos y el tercer campo más grande de aplicación es el análisis de ultra trazas en procesos químicos ultra puros requeridos en la industria de semiconductores (Eith et al., 2001).

Las aplicaciones se podrían dividir por segmentos (Passos, 2011):

- Aguas: potable, ríos, lluvia, mar, agua ultra pura. Efluentes industriales y aguas residuales.
- Petroquímico: Ácidos orgánicos, aniones, cationes y aminas, cianuro y sulfuro, fenoles
- Bebidas: Leche, vino, vodka, cerveza, agua mineral, jugos
- Alimentos: chocolates, extractos vegetales, mayonesa
- Productos farmacéuticos: micronutrientes, solución de hemodiálisis
- Concentrados: peróxido de hidrógenos 30 %, hidróxido de sodio 50 %, ácido clorhídrico 18 $mol.L^{-1}$
- Disolvente orgánico polar: alcohol etílico, isopropílico, acetona
- Fertilizantes y aditivos
- Papel y celulosa

.

En la Tabla 2 se puede observar el avance de la CI a lo largo del tiempo.

Tabla 2 . Historia de la cromatografía iónica (Eith et al., 2001)

| Año | Avance | Protagonista | Tipo |
|---|---|---|---|
| 1850 | El suelo como intercambiador de Iones para $Mg^{2+}$, $Ca^{2+}$ y $NH^{4+}$ | Thomson & Way | LC |
| 1935 | Polímeros de condensación sulfonados y aminados (fenol/formaldehido) | Adams, Holmes | |
| 1942 | Resinas sulfonadas PS/DVB como intercambiador de catión (Manhattan Project) | dÁlelio | |
| 1947 | Resinas Aminadas PS/DVB como intercambiador de anión | McBurney | |
| 1953 | Cromatografía de exclusión de Ion | Wheaton, Baumann | |
| 1957 | Intercambiadores micro porosos de iones | Corte, Meyer, Kunin et al. | |
| 1959 | Principios Básicos Teóricos | Helfferich | |
| 1967-70 | Intercambiadores Peculiares de iones | Horvath, Kirkland | |
| 1975 | Cromatografía de intercambio iónico con detector de conductividad usando un “stripper” | Small, Stevens, Baumann | HPLC |
| 1979 | Detección de conductividad sin un “stripper” | Gjerde, Fritz, Schmuckler | |
| 1976 -80 | Cromatografía de par iónico | Waters, Bidlingmeier, Hovath et al. | |

El avance actual ha permitido incrementar las aplicaciones debido al desarrollo de columnas y capacidad de inyección de mayor cantidad de muestra (Jackson, 2000). Además se aplica a sistemas orgánicos y bioquímicos, como fármacos y sus metabolitos, sueros y conservadores, mezclas de vitaminas, azúcares y preparaciones farmacéuticas (Skoog et al., 2008).

## 1.3 Intercambio iónico

La cromatografía de intercambio iónico está basada en una reacción química estequiométrica entre iones de una solución y una substancia sólida llamada cambiadora de iones, que normalmente lleva grupos funcionales los cuales pueden fijar iones como resultado de fuerzas electrostáticas y a la vez ceder otros. En teoría, los iones con la misma carga pueden ser intercambiados reversiblemente y completamente entre las dos fases hasta llegar a una condición de equilibrio, dependiendo de la afinidad de los iones participantes con los grupos funcionales de la fase estacionaria (Eith et al., 2001).

Este intercambio sólo puede realizarse entre iones de la misma carga es decir, positivo con positivo y negativo con negativo. En la cromatografía de intercambio catiónico, se retiene cationes cargados positivamente debido a que la fase estacionaria se encuentra cargada negativamente ($SO_3^-$); mientras que en la cromatografía de intercambio aniónico, se retiene aniones ya que se usa grupos funcionales cargados positivamente ($N^+R_4$, $N^+R_3$).Es decir, para separar aniones se utiliza fases estacionarias con cargas positivas que se encontrará unida a algún anión encargado de mantener la electro neutralidad, el mismo que será desplazado por el analito de ensayo para el establecimiento del equilibrio.

En la Ilustración 1, se observa los procesos cromatográficos de intercambio iónico. A la izquierda el intercambio catiónico y a la derecha el intercambio aniónico. La fase estacionaria muestra en la superficie grupos funcionales iónicos que interactúan con iones de carga opuesta.

Para la cromatografía aniónica, el proceso consiste en que los analitos $A^-$ y $B^-$ de la muestra se desplacen brevemente por los iones del eluente $E^-$ y se retengan en la resina antes de que sean intercambiados por el ion eluyente (Eith et al., 2001).

$$\text{Resina - } N^+R_3E^- + A^- \rightleftharpoons \text{resina - } N^+R_3A^- + E^-$$

$$\text{Resina - } N^+R_3E^- + B^- \rightleftharpoons \text{resina - } N^+R_3B^- + E^-$$

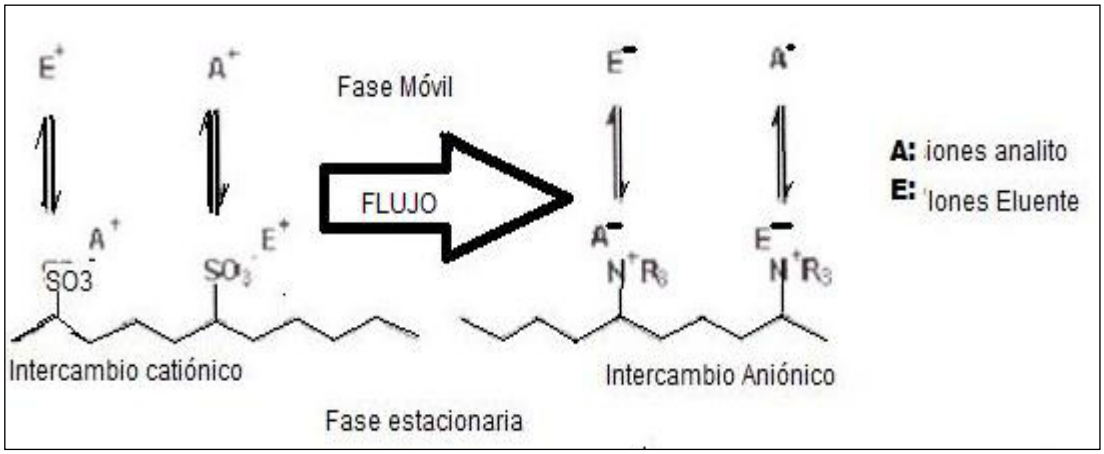



Ilustración 1. Diagrama esquemático que muestra los procesos en cromatografía iónica (Eith et al., 2001).

El intercambio iónico se efectúa en una cantidad equivalente estequiométricamente por iones del mismo signo.

$$\underline{2R^+Cl^-} + \underline{Na_2SO_4} \longrightarrow \underline{R^+_2SO_4^{2-}} + \underline{2\,Na^+Cl^-}$$

Fase sólida solución ⟵ fase sólida solución

Las columnas para CI poseen resinas de intercambio iónico más pequeñas en tamaño y tienen una menor capacidad que las columnas antiguas, lo cual significa que tienen mayor número de paltos teóricos, por ello las separaciones de iones son muy buenas a pesar de que los iones tienen tiempos de retención muy parecidos.

Un sistema de cromatografía iónica adecuado debería poseer (Fritz y Gjerde, 2000):

- Una columna de intercambio iónico o catiónico con el mayor número de platos teóricos.
- Un eluente adecuado para separar razonablemente los tiempos de retención de los iones.
- Un sistema eluente que alcance el equilibrio rápidamente.
- Condiciones de elución adecuadas, es decir tiempos de retención ni tan cortos ni tan largos.
- Eluente y resina compatibles con el detector.

Los componentes de un CI expuestos en la Ilustración 2 son los siguientes:

Eluente: Constituye el agua adicionada con sales o solventes orgánicos o acomplejantes y sirve para transportar los analitos. Según el uso puede ser:

Aniones: Agua, ácido ftálico, hidróxido de sodio, hidrácido de potasio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y ácido sulfúrico.

Cationes: Ácido nítrico, ácido dipicolínico, ácido cítrico, ácido oxálico, etileno diamina

Bomba: Envía la fase móvil al sistema con alta presión a un mínimo de ruido posible.

Inyector: Es el dispositivo capaz de introducir un volumen controlado de los analitos al sistema.

Pre columna: Evita que la columna sea contaminada. Puede ser del mismo material de la columna o de otro diferente. Es llamada también guarda columna.

Columna: Es la fase estacionaria, promueve la separación de los iones. Posee diferente tamaño de partícula desde 2 hasta 10 µm. Puede ser resina polimérica, sílica gel modificada, sales inorgánicas, vidrio entre otros.

Supresor: Aumenta la sensibilidad del equipo reduciendo la conductividad del eluente.

Supresor Químico: Es usado para supresión química durante el análisis de aniones, la cual se basa en el uso de sales de ácidos débilmente disociables como eluyentes. En la cromatografía iónica con supresión, los aniones se transforman en sus formas ácidas, muy conductoras; en el eluyente de carbonato-bicarbonato, los aniones se transforman en ácido carbónico, cuya conductividad es baja. Se mide la conductividad de las formas ácidas separadas y se identifican comparando sus tiempos de retención con los de los correspondientes patrones (OMS, 2006).

Por ejemplo el $NaHCO_3$ usado en cromatografía aniónica como eluyente, se pueden eliminar por intercambio catiónico en una reacción post-columna, de acuerdo a la ecuación:

$$Na + HCO_3^- \xrightarrow[-Na^+]{+H^+} H_2CO_3$$

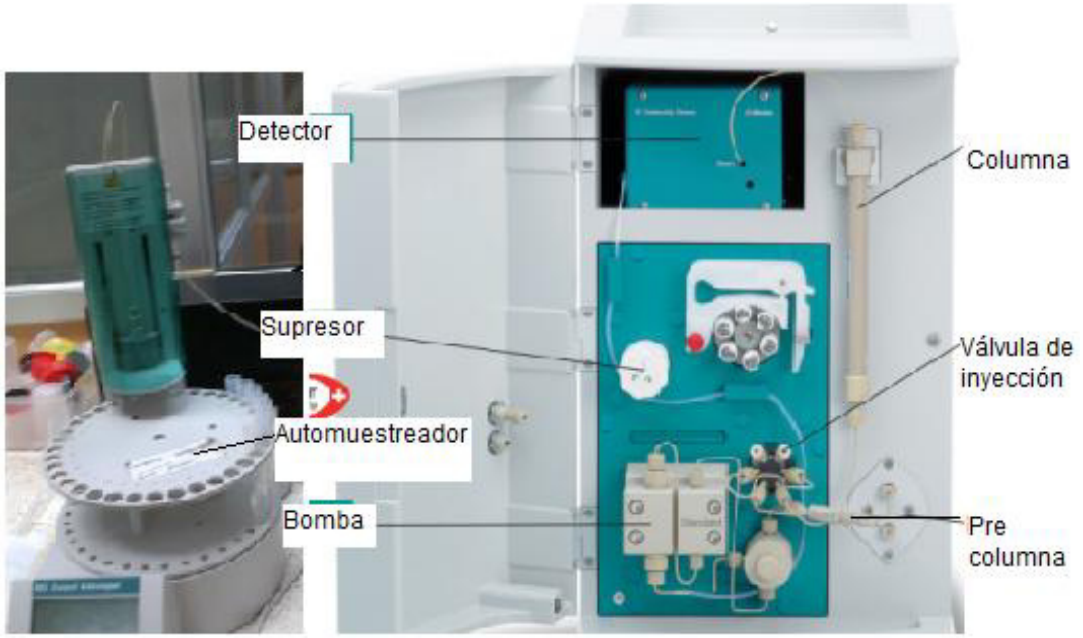



Ilustración 2. Componentes del cromatógrafo iónico

El ácido carbónico formado como resultado del intercambio catiónico se disocia muy débilmente, por lo que aporta poca conductividad. En cambio, los iones de la muestra sufren la reacción correspondiente, por ejemplo para el $Cl^-$ se observa:

$$Na + Cl^- \xrightarrow[-Na^+]{+H^+} HCl^-$$

El proceso de supresión convierte el NaCl al correspondiente ácido fuerte, el cual tiene una mayor conductividad que la sal original (Schafer et al., 2003).

$$R\text{-}SO_3^-H^+ + Na^+ + HCO_3^- \rightleftharpoons R\text{-}SO_3^-Na^+ + H_2O + CO_2 \quad (1)$$

$$R\text{-}SO_3^-H^+ + Na^+ + Cl^- \rightleftharpoons R\text{-}SO_3^-Na^+ + H^+ + Cl^- \quad (2)$$

El principio de la supresión química es presentado en las ecuaciones anteriores. Siguiendo con el $NaHCO_3$ como eluente y el $Cl^-$ como analito, la supresión es llevada a cabo con un ácido fuerte con $H^+$- forma de intercambiador catión. El eluente es neutralizado en la ecuación (1), ya que los iones de sodio son reemplazados por protones. Esto hace que la conductividad del eluente baje drásticamente pero el ión $Cl^-$ en sí mismo no es alterado, y el contra ión $Na^+$ es intercambiado por $H^+$ el cual tiene una conductividad mayor, conforme a la ecuación (2). Para la regeneración de las membranas de los supresores es necesario un lavado periódico con un ácido diluido tal como el ácido sulfúrico (Eith et al., 2001; Schafer et al., 2003).

Supresor de $CO_2$: Se usa para mejorar los límites de detección y para remover el $CO_2$ del flujo del eluente antes de la detección.

Detector: Es el dispositivo que sirve para registrar la presencia de un compuesto presente en el eluyente. Los principales detectores para CI son: de conductividad, amperométrico y UV-Vis (Eith et al., 2001).

Un detector de conductividad consiste en una celda de detección, un medidor de la lectura y los dispositivos electrónicos para la medición de la conductancia (Fritz y Gjerde, 2000).

La conductimetría o medición de la conductividad, es la habilidad de las soluciones electrolíticas en un campo eléctrico aplicado entre dos electrodos de transportar corriente eléctrica debidoa la migración de los iones (Schafer et al., 2003).

La relación entre el voltaje aplicado U y la corriente eléctrica es dada por la Ley de Ohm:

$$R = \frac{U}{I}$$

U = Voltaje
I = Corriente

La conductividad k es determinada técnicamnete como el recíproco de la Resistencia R,la cual es producida por un líquido entre dos electrodos con área A a una distancia L

$$k = L / (A.R)$$

La conductividad equivalente Λ de una solución puede ser determinada como:

$$\Lambda = k/C$$

C = Concentración en z $mol.L^{-1}$, y z corresponde a la carga del ión.

De acuerdo a la ley Kohlraush, la conductividad de una solución diluida es proporcional a la suma de las conductividades de todos los iones multiplicados por sus concentraciones.

$$k = \frac{\Sigma \Lambda i Ci}{1000}$$

k = Conductividad ($S.cm^{-1}$)
Λ = Límite de conductividad o conductividad equivalente ($S.cm^2\ mol^{-1}$)
C = Concentración ($mol.L^{-1}$) (Eith, 2001).

El detector amperométrico es usado para la mayoría de los compuestos que son fácilmente reducidos u oxidados. En éste detector un cierto potencial es aplicado entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia (Eith et al., 2001). El análisis amperométrico consiste en la medida de la intensidad de corriente generada en la reacción de reducción u oxidación de un analito al aplicar un potencial eléctrico adecuado (ITC, 2010).

El detector UV/VIS es usado para la detección de substancias orgánicas las cuales contienen grupos cromóforos capaces de absorber radiación en el rango UV o en el

VIS. El eluente no deberá absorber en las longitudes de onda seleccionadas. Este tipo de detector es selectivo y por ello substancias que tienen una absorción limitada en una particular longitud de onda pueden ser determinados indirectamente (Eith., 2001).

## 1.4 Nutrientes

Para el desarrollo vegetal se consideran esenciales 16 nutrientes, los cuales son considerados como ésta forma, cuando:

- Su ausencia reduce drásticamente el crecimiento
- Su ausencia produce síntomas visuales
- Los síntomas son superables con el suministro del nutrimento.

Entre los nutrientes mencionados están: entre los elementos mayores se encuentra C, H, O, N, K, P entre los medios están Ca, Mg y S y en los oligoelementos están Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl y Ni.

Para los animales el B y el Mo no resultan esenciales mientras que sí lo son el Na y el Co.

Los nutrimentos tienen formas químicas particulares de absorción como las catiónicas del N, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu y Fe y aniónicas como del N, P, S, B y Cl (Bertsch, 1998).

La presencia de cantidades excesivas de ciertos nutrientes provocan diversos problemas tales como toxicidad en las plantas y eutofización en ríos, lagos (Fontúrbel, 2005) y otros cuerpos de agua (Aranda, 2004).

### 1.4.1 Cloruro ($Cl^-$)

Los cloruros están ampliamente distribuidos en la naturaleza en forma de sales de sodio (NaCl), de potasio (KCl) y calcio ($CaCl_2$) (WHO, 2003). Éste es lixiviado desde las rocas al suelo y agua por erosión; es altamente móvil y es transportado hasta las cuencas u océanos. El cloruro presente en el agua de consumo procede de fuentes naturales, aguas residuales, vertidos industriales, escorrentía urbana con sal de deshielo e intrusiones salinas (WHO, 2011; OMS, 2006: WHO, 2003).

El sabor del ion $Cl^-$ en agua depende del cation asociado, siendo perceptible en excesos de 250 $mg.L^{-1}$, la guía para agua de consumo no propone ningún valor de referencia basado en efectos sobre la salud para el $Cl^-$ en el agua de consumo; sin embargo toma el valor de 250 $mg.L^{-1}$como normativa de cumplimiento para agua de consumo (WHO, 2011).

La toxicidad de $Cl^-$ en seres humanos no se ha evidenciado, excepto en la alteración del metabolismo del NaCl. El consumo de $Cl^-$ para un adulto es de aproximadamente 1 g de sal por persona y por día, para jóvenes de hasta 18 años se sugiere una ingesta de 45 $mg.día^{-1}$. La toxicidad del $Cl^-$ estaría asociada con el catión unido (OMS, 2006; WHO, 2011; 2003).

### 1.4.2 Nitratos ($NO_3^-$) y Nitritos ($NO_2^-$)

El $NO_3^-$ y el $NO_2^-$ son iones de origen natural que forman parte del ciclo del nitrógeno ($N_2$), formados por la oxidación del amoniaco ($NH_3$) proveniente de la descomposición de los desechos orgánicos con N (Palacios y América, 1997).

El uso de fertilizantes nitrogenados, la disposición de excretas, la disposición de desechos municipales e industriales y el uso de aditivos alimentarios son las actividades del hombre más importantes como fuentes ambientales de contaminación de $NO_3^-$ y de $NO_2^-$ (Ryczel, 2006).

En el Ecuador se usan para las faenas agrícolas fertilizantes como urea u otros con contenidos de fuentes de N, P y K, los mismos que contaminan (Matamoros, 2004) el suelo y la presencia de éstos en las aguas subterráneas limita los usos del agua (Leanza et al., 2005).

Las excretas de los animales es otra fuente importante de contaminación, las cuales se transformaran en $NO_3^-$ y contaminarían las aguas superficiales y profundas de las zonas ganaderas, avícolas, porcinas (Ryczel, 2006).

Fuente de contaminación son además las descargas de desechos municipales e industriales, los lodos de las plantas de tratamiento, las filtraciones de las lagunas de estabilización y el uso de combustibles fósiles (Ryczel, 2006), que incrementarán el contenido de $NO_3^-$ en el suelo, en aguas subterráneas o en los ríos en donde se descargan.

Las aguas de abastecimiento público son contaminadas por $NO_3^-$ debido a la contaminación de las aguas naturales con compuestos nitrogenados (Ryczel, 2006). Las condiciones anaerobias pueden favorecer la formación y persistencia del $NO_2^-$. La cloraminación podría ocasionar la formación de $NO_2^-$ en el sistema de distribución si no se controla debidamente la formación de cloramina. La nitrificación en los sistemas de distribución puede aumentar la concentración de $NO_2^-$ que suele ser de 0.2 a 1.5 $mg.L^{-1}$ (OMS, 2006).

La presencia de $NO_3^-$ en agua superficial es a nivel mundial, y se observa en la Ilustración 3 publicado por UNEP, que Europa tiene la mayor concentración de $NO_3^-$ con un incremento anual importante.

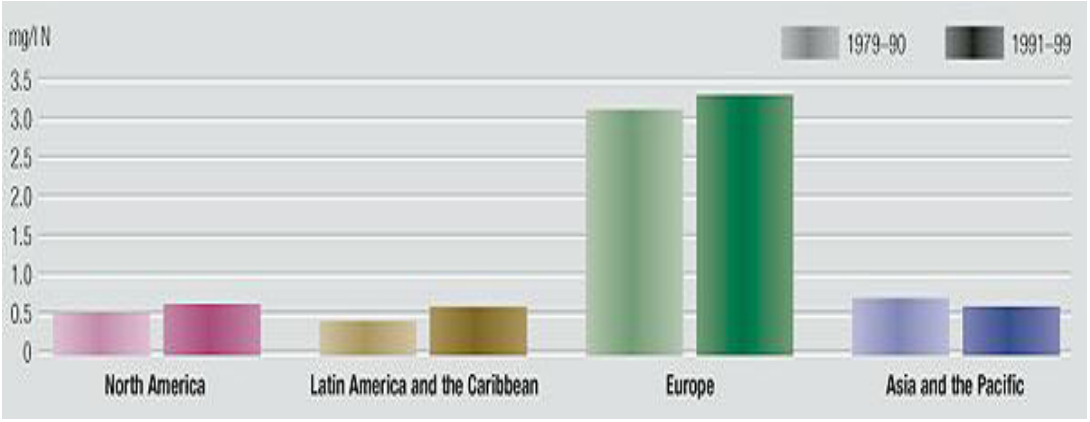



Ilustración 3. Concentración de $NO_2^-$ más $NO_3^-$ en $mg.l^{-1}$ en agua superficial y seleccionado por región (UNEP/GEMS, 2004)

La preocupación sobre el control de consumo de $NO_3^-$ es de gran importancia, observándose publicaciones, hojas informativas sobre éste producto y advertencias (DOH, 2004). El Organismo Mundial para la Salud, publica valores referenciales para el control de consumo de $NO_3^-$ y $NO_2^-$ lo cual se ve en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores referenciales de aniones (OMS, 2006)

| | |
|---|---|
| Valor de referencia $NO_3^-$ | 50 $mg.L^{-1}$para proteger a los lactantes alimentados con biberón contra la metahemoglobinemia (exposición a corto plazo). |
| Valor de referencia $NO_2^-$ | 3 $mg.L^{-1}$para la metahemoglobinemia en lactantes (exposición a corto plazo). |
| Valor de referencia provisional $NO_2^-$ | 0.2 $mg.L^{-1}$ (provisional)( exposición prolongada)<br>La presencia de nitritos en sistemas de distribución como consecuencia del uso de cloramina será intermitente, y las exposiciones medias a lo largo del tiempo no deben exceder. |
| Valor de referencia para el $NO_3^-$ y el $NO_2^-$ en conjunto | La suma de los cocientes entre la concentración de cada uno y su valor de referencia no debe ser mayor que 1. |
| Presencia | $NO_3^-$ en aguas de consumo de aguas superficiales no superan los 10 $mg.L^{-1}$, en agua de pozo superan con frecuencia los 50 $mg.L^{-1}$; las concentraciones de $NO_2^-$ suelen ser menores, inferiores a unos pocos miligramos por litro. |
| Método de cálculo del Valor de referencia | $NO_3^-$ (lactantes alimentados con biberón): en estudios epidemiológicos no se describió metahemoglobinemia en lactantes en zonas en las que el agua de consumo contenía siempre menor de 50 $mg.L^{-1}$ de $NO_3^-$.<br>$NO_2^-$ (lactantes alimentados con biberón): el nitrito es 10 veces más potente que el $NO_3^-$ (en molaridad) con respecto a la formación de metahemoglobina.<br>$NO_2^-$ (exposición prolongada): basado en la asignación al agua de consumo del 10% de la IDA propuesta por el JECFA de 0.06 $mg.kg^{-1}$ de peso corporal al día, correspondiente a las alteraciones morfológicas en las glándulas suprarrenales, el corazón y los pulmones inducidas por el $NO_2^-$ en estudios con animales de laboratorio |
| Límite de detección | 0.1 $mg.L^{-1}$ ($NO_3^-$) y 0.05 $mg.L^{-1}$ ($NO_2^-$) mediante cromatografía líquida; 0.01-1 $mg.L^{-1}$ ($NO_3^-$) mediante técnicas espectrométricas; 0.005-0.01 $mg.L^{-1}$ ($NO_2^-$) por un método de espectrometría de absorción molecular; 22 $pg.L^{-1}$ ($NO_3^-$) y 35 $pg.L^{-1}$ ($NO_2^-$) mediante cromatografía iónica |
| Concentración alcanzable mediante tratamiento | $NO_3^-$: la concentración debería poderse reducir hasta 5 $mg.L^{-1}$o menos mediante desnitrificación biológica (aguas superficiales) o intercambio de iones (aguas subterráneas).<br>$NO_2^-$: la concentración debería poderse reducir hasta 0.1 $mg.L^{-1}$ mediante cloración (para formar $NO_3^-$). |
| Observaciones Adicionales | Las concentraciones de $NO_2^-$ en los sistemas de distribución pueden ser más altas cuando se emplea la cloraminación (allí, se deberá monitorear la concentración de desinfectantes microorganismos presentes y $NO_2^-$), pero su presencia es casi siempre esporádica. La metahemoglobinemia es, por tanto, el riesgo más importante, y el valor de referencia que ofrezca protección contra la metahemoglobinemia será el más adecuado en tales circunstancias, teniendo en cuenta además la posible presencia de $NO_3^-$. |

Ciertos organismos según la Tabla 4, han determinado los valores referenciales para proteger a los grupos más vulnerables con respecto a la ingesta de $NO_3^-$ y $NO_2^-$, siendo el código alimentario Argentino que refiere los valores más bajos.

Tabla 4. Valores referenciales de otros organismos para el nivel máximo de ingesta (Ryczel, 2006)

| Organismo | $NO_3^-$ ($mg.L^{-1}$) | $NO_2^-$ ($mg.L^{-1}$) |
|---|---|---|
| Código Alimentario Argentino | Hasta 45 | 0.1 |
| OMS | Hasta un máximo de 50 | 3 |
| Agenda de protección Ambiental | 10 N ó 50 de $NO_3^-$ | 1 |
| Estado Español RD 140/2003 | Hasta 50 | 0.1 |

Los efectos debido a la toxicidad del $NO_3^-$ en humanos es atribuido principalmente a la reducción de éste en $NO_2^-$, el cual puede oxidar la hemoglobina en metahemoglobina, la misma que es incapaz de transportar el oxígeno a los tejidos y producir metahemoglobinemia, cianosis y a concentraciones altas asfixia.

Los infantes son los más afectados y presentan signos azulados alrededor de boca, manos y pies presentando el "síndrome del bebe azul". Estos niños podrían tener problemas al respirar, vómito, diarrea, en casos extremos letargo, incremento en la producción de saliva, pérdida de conciencia, convulsiones y muerte (WHO, 2011).

El $NO_2^-$ en dosis altas es un fuerte vasodilatador, por lo que puede ocasionar hipotensión y shock. Se podría desarrollar acidosis metabólica, disnea y taquipnea e inflamación del tracto respiratorio (Ryczel, 2006).

Otros efectos se han observado sobre la tiroides y más cuando existe deficiencia de yodo. También con respecto a la incidencia de bocio. Los mismos efectos no se han observado en otras investigaciones o no ha sido posible comprobar.

En Argentina-Rosario en septiembre de 2003 se observó la intoxicación con $NO_2Na$ (nitrito de sodio) en carne vacuna, cuyo paciente con mayor ingesta evolucionó con vómitos importantes, leve cianosis, hipotensión ortostática, depresión sensorial y midriasis y falleció a las 6 horas de la ingestión con colapso cardiovascular (Evangelista et al., 2006).

### 1.4.3 Sulfatos ($SO_4^{2-}$)

Los $SO_4^{2-}$, están presentes de forma natural en muchos minerales y se utilizan comercialmente, sobre todo en la industria química. Se liberan al agua desde residuos industriales y mediante precipitación desde la atmósfera; no obstante, las concentraciones más altas suelen encontrarse en aguas subterráneas y provienen de fuentes naturales. En general, la ingesta diaria media de $SO_4^{2-}$ procedente del agua de consumo, el aire y los alimentos es de aproximadamente 500 mg, siendo los alimentos la principal fuente. Sin embargo, en regiones cuyas aguas de consumo contienen concentraciones altas de $SO_4^{2-}$, el agua de consumo puede ser la principal fuente de ingesta (OMS, 2006).

Los datos existentes no permiten determinar la concentración de $SO_4^{2-}$ en el agua de consumo que probablemente ocasiona efectos adversos para la salud de las personas. Los datos de un estudio en lechones con una dieta líquida y estudios con agua de grifo en voluntarios muestran un efecto laxante con concentraciones de 1 000 a 1 200 $mg.L^{-1}$, pero sin aumento de la diarrea, la deshidratación o la pérdida de peso (OMS, 2006).

No se propone ningún valor de referencia basado en efectos sobre la salud para el $SO_4^{2-}$. No obstante, debido a los efectos gastrointestinales de la ingestión de agua de consumo con concentraciones altas de $SO_4^{2-}$, se recomienda notificar a las autoridades de salud las fuentes de agua de consumo en las que las concentraciones de $SO_4^{2-}$ rebasen los 500 $mg.L^{-1}$. La presencia de $SO_4^{2-}$ en el agua de consumo también puede producir un sabor apreciable y contribuir a la corrosión de los sistemas de distribución (OMS, 2006).

### 1.4.4 Fosfatos ($PO_4^{3-}$)

El fósforo (P), es un elemento necesario para la vida. Es altamente reactivo, por lo cual no se produce de forma natural como elemento libre, sino que está ligado a los fosfatos los cuales se presentan típicamente en rocas inorgánicas.

El P es uno de los tres principales nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas: nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). Usualmente los fertilizantes están etiquetados para la cantidad de NPK que contienen. La mayor parte del P es de roca de $PO_4^{3-}$. El $PO_4^{3-}$ crudo se utiliza actualmente en la agricultura ecológica, mientras que las formas químicamente tratadas como superfosfato o superfosfato triple y fosfatos de amonio se utilizan en la agricultura no orgánica.

El resultado de la agricultura va a los consumidores y a los animales, los cuales devuelven la mayor parte del fósforo. Sin embargo los fertilizantes que lo contiene son aplicados sin mayor cuidado, cuyos excesos van al mar o son dispersados (Dery y Anderson, 2007).

Los $PO_4^{3-}$ y $NO_3^-$ son los nutrientes más influyentes en el proceso de eutrofización cuyo enfoque de gestión para la reducción de la misma debe ser en la disminución de los aportes de P (Schindler et al., 2008). El P influye directamente en la producción de fitoplancton (Moreno et al., 2010) a pesar de la ausencia de N, por lo cual es un importante producto a ser controlado.

## 1.5 Investigaciones realizadas sobre monitoreo de ríos

La necesidad de conocer la calidad del agua y sus problemas es a nivel mundial y se observa por medio de trabajos realizados y publicaciones presentadas, en donde se nota que entre las substancias importantes indicadoras de contaminación están los iones.

En Colombia, Sierra et al. (2002), a través del monitoreo en aguas del río Bogotá manifiesta que se evidencian cambios a los largo del cauce del río en cuanto a azufre, turbidez, temperatura, demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), pH, alcalinidad, dureza, $Cl^-$, amonio ($NH_4^+$), $NO_2^-$, $NO_3^-$,

$PO_4^{3-}$, cromo VI (Cr VI), cobre (Cu) y concentración de oxígeno disuelto (OD), siendo éste último mayor al inicio del nacimiento del río y los demás menores.

A medida que el río pasa por poblados, éste se contamina con diversas substancias que son descargadas al río provenientes de industrias o de las descargas municipales (Sierra et al., 2002), un ejemplo de ello es en el sudeste asiático en Cambodia en donde alrededor de 3 000 empresas descargan sus desechos al río sin previo tratamiento (Moung, 2004).

En el río Santa Cruz (RSC), Sonora, México, se realizó un estudio de campo para evaluar los rasgos físicos y químicos de la columna de agua y sedimentos en cinco sitios en época de lluvia y seca, durante 2009. Los parámetros evaluados fueron: temperatura del agua, pH, conductividad eléctrica y los nutrientes ($NO_3^-$, $NO_2^-$, $SO_4^{2-}$ y $PO_4^{3-}$) en agua superficial y sedimento. Los parámetros físico-químicos evaluados, con excepción de los $NO_2^-$, fueron menores que lo recomendado en las normas Mexicanas correspondientes. Los resultados obtenidos evidenciaron el deterioro ocasionado al ecosistema debido a la presencia de desechos de ganado, actividad agrícola, sequía recurrente y prolongada, sobreexplotación del acuífero y demanda de mayor agua por la población (Solís et al., 2010).

En el Ecuador se ha monitoreado los principales ríos de la Cuenca del río Napo, en donde se concluyó que el $Cl^-$, $NO_3^-$, $SO_4^{2-}$, $Na^+$, $K^+$ y $Mg^{2+}$, por lo general están bajo el promedio mundial, y que los iones predominantes en las aguas de los principales afluentes de la cuenca del río Napo son el $Ca^{2+}$ y el $HCO_3^-$, indicando que predomina la familia bicarbonatada cálcica. Además analizaron pH, turbidez, conductividad y alcalinidad (Barba, 2004).

Las formas iónicas reactivas de nitrógeno inorgánico más comunes en los ecosistemas acuáticos son el $NH_4^+$, el $NO_2^-$y el $NO_3^-$, que pueden estar presentes de manera natural en el medio acuático como consecuencia de la deposición atmosférica, la escorrentía superficial y subterránea, la disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno (N), la descomposición biológica de la materia orgánica y la fijación de N por ciertos procariontes.

Sin embargo, las actividades humanas, el drenaje de residuos y suelos agrícolas ricos en fertilizantes que descargan en los ríos han alterado de manera significativa el ciclo global del nitrógeno y de otros elementos químicos, aumentando su disponibilidad en muchas regiones del planeta como consecuencia de fuentes puntuales y difusas de contaminación provocando acidificación de ríos y lagos con baja o reducida alcalinidad; la muerte y la descomposición de las algas agota el oxígeno, mata a los peces y animales que viven en el fondo, el síndrome de exceso de nutrientes, las algas nocivas, agua sucia, y las zonas muertas llamada eutrofización de las aguas (Carpenter, 2008) y con ello al desplazamiento de comunidades vegetales (Corstanje, 2007) y proliferación de algas tóxicas, anoxia y crecimiento de bacterias peligrosas especialmente para humanos (EPA, 2009; Torres y Palacios 2007) y toxicidad directa de los compuestos nitrogenados para los animales acuáticos. Además, la contaminación por nitrógeno inorgánico podría inducir efectos perjudiciales sobre la salud (Camargo y Alonso, 2006). Mientras que la ausencia de nutrientes ocasiona un desbalance de los mismos, ocasionando desnitrificación y erosión como se puede observar en el borde costero del Ecuador, en especial en el archipiélago de Jambelí en la provincia de El Oro (Montaño, 2010; Soledispa, 2003).

En el País, estudios relacionados como Distribución de $NO_3^-$ en aguas costeras por Trejos y Okuda, (Trejos y Okuda,1983), Caracterización de la calidad de Aguas en el río Atacames 2002 por Rodríguez (2003), Calidad Ambiental del Bloom Algal en área Urbana del Estero Salado por Torres y Palacios (Torres y Palacios, 2007) proveen datos de nutrientes evaluados por espectrofotometría y en éste último se observaron que los promedios para $NO_3^-$ (7.04 µg-at.$L^{-1}$), $NO_2^-$ (7.35 µg-at.$L^{-1}$) y $PO_4^{3-}$ (18.01 µg-atl.$L^{-1}$) fueron considerados como altos para ambientes marinos costeros, siendo la relación proporcional del $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y silicatos ($SiO_4^{4-}$), más alto en la ciudad de Guayaquil en el Puente 5 de Junio con $NO_3^-$:1; $PO_4^{3-}$: 10 y $SiO_4^{4-}$: 30.

En la actualidad el análisis y cuantificación de substancias o analitos se realiza en laboratorios acreditados que cumplan la norma ISO 17025:2005, la misma que en el punto 5.4.5.2 expresa la necesidad de validar los métodos de análisis.

EL Ministerio del ambiente a través de la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso Agua, en el Libro VI Anexo 1 del TULSMA manifiesta:

“La presente norma técnica ambiental es dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental y se somete a las disposiciones de éstos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional”.

La presente norma técnica determina o establece “Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado; los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos; y Métodos y procedimientos para determinar la presencia de contaminantes en el agua.”

Los parámetros estipulados en la Normativa vigente TULSMA libro VI Anexo 1 de acuerdo al presente estudio se indican en la Tabla 5.

Además TULSMA indica que para determinar los valores y concentraciones de los parámetros determinados en esta Norma Oficial Ecuatoriana, se deberán aplicar los métodos establecidos en el manual “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, en su más reciente edición. Además deberán considerarse las siguientes Normas del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN):

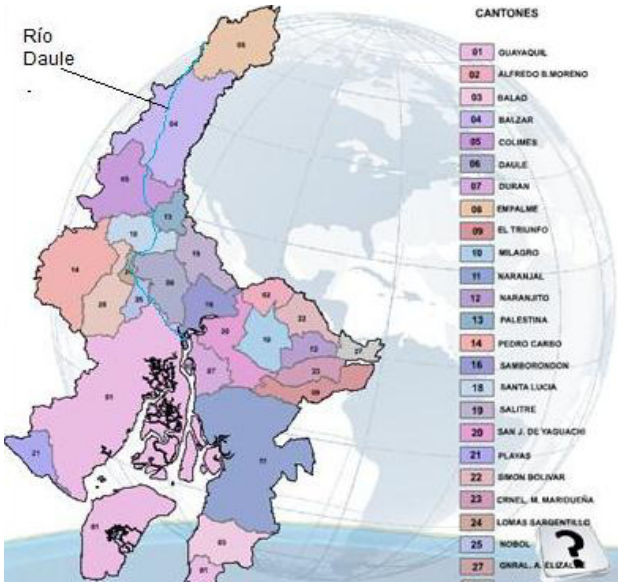
1. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:98. Agua: Calidad del agua, muestreo, manejo y conservación de muestras.

2. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176:98. Agua: Calidad del agua, muestreo, técnicas de muestreo.

Tabla 5. Límites máximos permisibles para agua de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional, Aniones (TULSMA, 2003)

| Parámetros | Expresado Como | Unidad | Límite Máximo Perm |
|---|---|---|---|
| Cloruro | $Cl^-$ | $mg.L^{-1}$ | 250 |
| Nitrato | $N\text{-}NO_3^-$ | $mg.L^{-1}$ | 10.0 |
| Nitrito | $N\text{-}NO_2^-$ | $mg.L^{-1}$ | 1.0 |
| Sulfatos | $SO_4^{2-}$ | $mg.L^{-1}$ | 400 |
| Fosfato | | | No indica |
| Potencial de hidrógeno | pH | | 6-9 |

## 1.6 Río Daule




El río Daule mide unos 250 – 300 km de largo (Stemper, 1993), es la fuente de agua potable de la ciudad de Guayaquil. Forma parte de la Cuenca del río Daule con aproximadamente una extensión de 11 576 $km^2$ y de la cuenca del río Guayas la cual tiene una extensión de 34 500 $km^2$ donde habita el 40 por ciento de la población total del país (CELEC, 2012) y cuyas aguas son fuente de supervivencia y motor de la economía de este país (Senagua, 2012).

Ilustración 4. Recorrido del río Daule, desde represa Daule–Peripa hasta Guayaquil (INEC, 2011)

Este río inicia su recorrido en la represa Daule -Peripa, la cual funciona desde Febrero de 1988, donde almacena el agua durante el invierno para descargarla durante el verano. La represa tiene 78 metros de altura sobre el lecho del río y una longitud de 250 metros en la corona. Fue construida cerca de un cañón facilitando la creación de un embalse con una capacidad de 6 000 millones de $m^3$ de agua y una superficie de 27 000 hectáreas y se alimenta en gran parte del 50 por ciento de agua que produce la subcuenca del río Daule (Hidronación, 2007).

El agua de la represa baña a las siguientes ciudades Pichincha, Balzar, Colimes, Palestina, Santa Lucía, Daule, Nobol y Guayaquil hasta desembocar en el mar.

Ilustración 5. Embalse de la represa Daule Peripa

Pichincha.- Cantón eminentemente agrícola y ganadero que pertenece a la provincia de Manabí; su cabecera cantonal es Pichincha, con un área de 1 076 $km^2$, con una población aproximada de 302 440 habitantes (INEC, 2011). La temperatura promedio está entre los 25 $^oC$, posee un clima sub-tropical seco y trópico húmedo (Prefectura Pichincha, 2012).

Balzar.- Su cabeza cantonal es San Jacinto de Balzar. Su temperatura promedio es de 26 $^oC$ y una precipitación anual entre 1 500 a 3 000 mm. La principal actividad es la agricultura con su principal producto el maíz, luego a arroz, frutas por temporada, y además existe una gran variedad de árboles como palo de balsa, palo de vaca, guachapelí, guayacán, laurel, caoba entre otros usados en carpintería (Prefecturadel Guayas, 2012).

Colimes.- Su temperatura promedio es de 25 °C y una precipitación anual promedio de 1 200 mm. Eminentemente agrícola con arroz, cacao, café, tabaco, bananas, fréjol y frutas tropicales como maracuyá, naranjas, mandarinas, papayas y otras. Además posee grandes zonas con ganado vacuno, porcino y aves de corral, y peces de río como sábalo, damas, bocachicos y cherres (Prefectura del Guayas, 2012a).

Palestina.- Su temperatura promedio es de 25 °C y su precipitación promedio anual es de 1 200 mm. Zona agrícola, ganadera y con extensas zonas de maderas finas como guayacán, laurel, teca y otras (Prefectura del Guayas, 2012b).

Santa Lucía.- Su temperatura promedio es de 25 °C y su precipitación anual está entre 500 a 2 500 mm. Altamente agrícola con productos como arroz, café, cacao, caña de azúcar, banano, yuca, maíz, frutas tropicales como mango, papaya, melón sandía, naranja, mandarinas. Además se encuentra ganado vacuno, porcino, caballar y actividades como apicultura (Prefectura del Guayas, 2012c).

Daule.- Su temperatura promedio es de 24 $^oC$ y una precipitación anual de 1 500 mm. Lugar agrícola y comercial, se usa el río Daule como la vía de comunicación más rápida y segura, usando canoas y balsas (Prefectura del Guayas, 2012d).

Nobol.- Su temperatura promedio es de 27 °C y su precipitación anual es de 500 a 1 000 mm. Se cultiva arroz, y gran variedad de frutas tropicales como mango, sandía, naranja, ciruelas (Prefectura del Guayas, 2012e).

Ciudad de Guayaquil.- Ciudad más habitada del Ecuador. Su temperatura promedio es de 25 °C, su precipitación anual es de 1 500 mm, observándose una temperatura promedio de 27.8 °C, una temperatura máxima de 32.9 °C, una temperatura mínima de 22.8 °C y con una precipitación mensual de 372.3 mm para el mes de marzo de 2012 (INAMHI, 2013). Guayaquil puerto principal del país es una ciudad de negocios. Bañada por los ríos Daule y Babahoyo cuya unión forma el río Guayas, considerado el más caudaloso de toda la costa sudamericana del Pacífico. En la zona rural sur se encuentra cacao, banano y frutas y en la zona rural oeste se encuentra un ecosistema árido (Prefectura del Guayas, 2012f).

## 1.7 Validación de métodos

El propósito de un análisis químico es obtener resultados consistentes, precisos y exactos en un nivel de confianza determinados, también, se podría decir que es para asegurar que las mediciones futuras estarán lo suficientemente cerca al valor verdadero desconocido de analito presente en la muestra (UNODC, 2010; González y Herrador, 2007).

El reporte de datos errados podría causar pérdida de credibilidad del laboratorio, pérdidas económicas, cierre de laboratorios o afectaciones para la salud de las personas en caso de referirse a productos especiales como virus, toxinas, pesticidas, diversas drogas, etc. (Ludwing, 1999; Aguirre y García, 2001), llegando incluso a millonarias demandas y/o problemas legales (Eurachem, 2005).

### 1.7.1 Definición

Validación es la confirmación por análisis y provisión de evidencias objetivas de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico propuesto (ISO/IEC 17025, 2005).

La utilización de un método validado ofrece seguridad y confianza en los resultados analíticos obtenidos, mejora la productividad debido a la disminución del número de fallos y repeticiones y permite cumplir las normas establecidas.

Toda validación implica unos requisitos previos (ICH-Q2A, 1995; Díaz, 2002) de:

- Buenas prácticas del laboratorio.
- Procedimiento analítico desarrollado, probado y documentado.
- Equipo calibrado.
- Personal formado y entrenado.

La preparación y ejecución de validación de un método contiene entre otros los siguientes pasos a seguir:

1.- Desarrollo de un protocolo de validación, procedimiento de validación o plan maestro de validación.- Con el propósito de establecer paso a paso la ejecución del

mismo y establecer roles y responsabilidades de todos los involucrados (AOAC, 2002).

2.- Definición de la aplicación, propósito y alcance del método.- Para identificar el analito que deberá ser detectado, en qué niveles de concentración, que tipo de matriz, qué interferencias se podrían presentar y si deberían ser identificadas y cuantificadas, qué tipo de regulaciones relacionadas existen, que tipo de resultados cualitativos o cuantitativos, cuán robusto debería ser el método, qué tipo de equipo se debería usar, etc.

3.- Definición de los parámetros de realización y los criterios de aceptación.- Deben ser definidos de acuerdo a la intención de uso del método. Si la determinación será cualitativa, no será necesario establecer límites de cuantificación o rectas de calibración.

4.- Definición de los experimentos de validación.

5.- Verificación relevante de las características de realización de los equipos.

6.- Materiales de cualificación como estándares y reactivos de acuerdo al análisis, cantidades exacta, estabilidad.

7.- Realización de ensayos de pre-validación.

8.- Ajuste de parámetros del método y criterios de aceptación si fuese necesario.

9.- Realización completa de experimentos de validación internos y externos.

10.- Desarrollo de procedimientos estandarizados para la ejecución del método en rutina de análisis.

11.- Definición de los criterios de revalidación.- Si una vez realizada la validación, se observa que alguno de los parámetros no cumple las especificaciones establecidas en el protocolo de validación, se debe documentar y modificar el método para mejorarlo (y volver a realizar la validación), o bien aceptar los resultados y ajustar el campo de aplicación del método.

12.- Definición de tipo y frecuencia de ensayos de test para control de calidad para chequeo de análisis de rutina.- Periódicamente se realiza el control de calidad de los resultados, ensayos de aptitud con el fin de asegurar que el método es conocido por los analistas y el proceso está dentro de control y se lo hace durante el análisis de muestras a ensayar.

13.- Experimentos de validación documentados y reporte de resultados en la validación.- La validación demostrará que tanto el método de análisis como su sistema analítico producen resultados según las exigencias establecidas. Toda validación debe presentar un protocolo de validación donde se recoge el objetivo, definición del sistema, identificación de los parámetros, el diseño del plan experimental y los criterios de aceptación. Debe ser específico, firmado y fechado por las personas responsables de la validación y aprobación. La realización y evaluación de los resultados en una validación deben tener la posibilidad de ser auditables. En los informes de validación se deberá incluir los resultados de las determinaciones de cada parámetro, hacer referencia al protocolo en el que se

escribe el procedimiento, referenciar la calibración y cualificación de instrumentos, discusión de resultados, conclusiones, etc., información que asistirá a la ejecución de nuevos proyectos (ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B, 1996;UNODC, 2010; EDQM, 2005; Aguirre 2001; Aubry et al., 2009). El reporte de resultados debería incluir lo siguiente:

1. Objetivo y alcance del método
2. Resumen de la metodología
3. Tipo de compuestos y matriz
4. Reactivos, estándares, muestras de control, detalles en la preparación.
5. Procedimientos para chequeo de calidad de estándares y químicos usados.
6. Precauciones de seguridad.
7. Un plan y procedimiento para implementación del método desarrollado para análisis de rutina.
8. Parámetros del método.
9. Parámetros críticos tomados desde ensayos de robustez.
10. Lista de equipos y su funcionamiento y requerimientos de realización por ejemplo dimensiones de celdas, línea base de ruido, columna, rango de temperatura, gráficos necesarios, etc.
11. Condiciones detalladas de cómo fue conducido el experimento incluyendo la preparación de la muestra. El reporte debe ser detallado lo suficiente para asegurar que éste pueda ser reproducido por un técnico competente con un equipo comparable.
12. Procedimientos estadísticos y cálculos representativos.
13. Procedimientos para control de calidad en rutina de análisis.
14. Gráficos representativos, cromatograma, rectas de calibración.
15. Datos de límites de aceptación del método.
16. Resultados de medición de incertidumbre esperada.
17. Criterio para revalidación.
18. Responsable quien desarrolló y validó el método.
19. Referencias.
20. Aprobación del método, con nombre, títulos fecha y firma de los responsables para la revisión y aprobación del procedimiento analítico (Ludwing, 1999; UNODC, 2010)

### 1.7.2 Principios básicos de la validación de método

La validación de un método inicia con la necesidad de asegurar que los resultados de un análisis sean los correctos y efectivamente correspondan a la muestra dada.

La validación de métodos se lleva a cabo una vez, y la revalidación se realiza si hay algún cambio en las condiciones generales de realización del método.

La validación sigue un procedimiento específico para determinar un analito determinado dentro de un rango de concentraciones y en una matriz específica, con personal competente y previamente calificado y capacitado.

En este procedimiento se detallan cada uno de los pasos a seguirse, los diferentes puntos a tomarse en cuenta, materiales, reactivos, el proceso en si del método y las consideraciones del mismo, de tal manera que no haya sorpresas o cambios durante la elaboración del mismo.

La validación del método está ligada al desarrollo del mismo, y es difícil establecer los límites de cada uno.

Cambios de reactivos, personal u otro son motivos para una revisión del desarrollo del método y cambios posibles.

Es necesario establecer responsabilidades y autoridades al inicio de la validación aunque van ligadas no son lo mismo (Bittel, 1991).

### 1.7.3 Proceso de validación

La validación de métodos emplea un conjunto de pruebas que verifican todas las hipótesis en las que se basa el método analítico, establecen y documentan las características de rendimiento de un método, demostrando así la competencia del personal y si dicho método es adecuado para un propósito analítico particular (Sadzawka et al., 2007).

Las características de rendimiento de los métodos analíticos son:

- Selectividad
- Linealidad y rango
- Precisión: Instrumental, media, de método
- Reproducibilidad
- Exactitud
- Sensibilidad
- Límite de detección
- Límite de cuantificación
- Prueba de adecuabilidad del sistema

Además de precisión, sensibilidad, selectividad, se deben evaluar ciertos parámetros del método analítico como tiempo, coste, tipo de equipo e instrumentación (AOAC, 2002). La estabilidad de la muestra se debe evaluar durante la fase de desarrollo del método, junto con la robustez, y ésta sirve para optimizar y ver los parámetros críticos antes de iniciar la validación, es decir determinar el grado de cambio que puede soportar el método sin modificarse el resultado. Posterior al estudio de robustez, se deben definir las características de idoneidad del sistema el mismo que debe realizarse cada día al inicio del análisis y durante éste a intervalos de tiempo, para comprobar su correcto funcionamiento. La puesta a punto del método, va desde los primeros estudios con patrones hasta la utilización del método con muestra real. La última fase del desarrollo analítico son las características de fiabilidad del método para su aplicación rutinaria, éstas demuestran la capacidad del método para mantener a lo largo del tiempo los parámetros de la validación (ICH-Q2A, 1995;ICH-Q2B, 1996; Aguirre y García, 2001; Asecal-Corpei-Instituto Nacional de Pesca, 2008)

La necesidad de determinar unas características u otras dependerán del tipo de ensayo (UNODC, 2010), pudiéndose resumir según la Tabla 6 de la guía ICH Q2A (1995; Aguirre, 2001).

Tabla 6. Información guía de selección de características de rendimiento de ensayos

| Tipo de procedimiento analítico. Características | Identificación | Pruebas para impurezas | | Ensayos; disolución (solamente medición); contenido/potencia |
|---|---|---|---|---|
| | | Cuantificación | Límite | |
| Exactitud | - | + | - | + |
| Precisión | | | | |
| Repetibilidad | - | + | - | + |
| Precisión intermedia | - | 1 | - | 1 |
| Especificidad[2] | + | + | + | + |
| Límite de detección | - | 3 | + | - |
| Límite de cuantificación | - | + | - | - |
| Linealidad | - | + | - | + |
| Rango | - | + | - | + |

Nota: - Significa que esa característica no es normalmente evaluada; + significa que esa característica es normalmente evaluada.

1. En caso donde la reproducibilidad haya sido realizado, precisión no es necesaria.
2. Ausencia de especificidad de un procedimiento analítico podría compensado por otro procedimiento analítico de soporte.
3. Podría ser necesario en algunos casos.

#### 1.7.3.1 Parámetros fundamentales en una validación analítica

**a. Selectividad o especificidad**

Se define la selectividad como la habilidad para evaluar inequívocamente un analito en presencia de otras substancias químicas que pudieran estar presentes en la muestra (ICH-Q2A, 1995), también se define como la capacidad de un método para determinar con exactitud y especificidad el analito de interés en presencia de otros componentes en una matriz de muestra bajo condiciones de prueba establecidas (Eurachem, 2005).

Es el primer parámetro dentro de la validación, ya que se debe conocer qué grado de respuesta del analito a analizar se obtiene sin interferencias de otro (ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B, 1996; EDQM, 2005; Aguirre y García, 2001; AOAC, 2002).

**Ámbito de aplicación**

Es uno de los parámetros más importantes dentro de la validación de un método

analítico. Consiste en establecer que la señal producida en la etapa de medición atribuida al analito, se debe únicamente a éste y no a la presencia de substancias químicas o físicamente similares que pudiesen estar coincidentemente (Eurachem, 2005).

**Objetivo del análisis**

El método debe ser capaz de diferenciar sin interferencias entre el analito, sustancias de composición similar y otros productos presentes en la muestra. En el control rutinario de una sustancia, es suficiente el comparar el analito con una sustancia de referencia.

**Determinación de selectividad**

Consiste en comparar una muestra con y sin el analito a estudio; o mediante la adición de interferencias conocidas. La elección de la concentración en la que se realiza el estudio podría ser la de trabajo para el analito y del límite máximo establecido para las interferencias (Aguirre y García, 2001; Eurachem, 2005).

**b. Linealidad y rango**

La linealidad es la capacidad del método analítico para proporcionar resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango previamente establecido (AOAC, 2002). Se pretende que la respuesta obtenida sea de tipo lineal, de este modo se obtendrá una mejor interpolación y una mejor interpretación (ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B, 1996). Las pruebas estadísticas relacionadas con la linealidad obligatoria son la ecuación de la recta de regresión, su representación gráfica, determinación del coeficiente de correlación “r”, caracterización de la varianza residual y análisis de varianza comprobando que se cumple la homogeneidad de varianzas y normalidad de residuales (ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B, 1996).

**Ámbito de aplicación**

Se recomienda estudiar la linealidad en todos los métodos analíticos cuantitativos. El rango de linealidad será el intervalo en el cual la señal del método sea proporcional a la concentración del analito.

**Determinación de la linealidad**

Se recomienda estudiar al menos 5 puntos de concentración dentro del rango de estudio. Siendo el número de repeticiones de cada muestra, dependiente de la precisión del sistema instrumental utilizado. Se inyectan al menos por triplicado y se determina la recta de regresión sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados.

Es conveniente comparar los resultados de la recta de regresión obtenida sobre el analito puro, con la correspondiente a analito mas matriz, la no correspondencia de

las rectas indica problemas por efecto de matriz y está relacionado con la exactitud del método en cuestión (Quattrocchi et al., 1992).

### Evaluación estadística

La linealidad es evaluada por la inspección visual de un conjunto de datos como una función de la concentración o contenido del analito y a través de la comprobación estadística, por ejemplo a través del cálculo de la regresión lineal por el método de los mínimos cuadrados (Ludwing, 1999).

### Ecuación de la recta:

En la recta de regresión $\boldsymbol{Y = mX + Lo}$

Dónde:

X = Concentración
Y = Respuesta
m = Valor de la pendiente
Lo = Término independiente

La pendiente **m** se relaciona con la sensibilidad del método y para evaluar la correlación de diferentes métodos (Quattrocchi et al., 1992) de forma que a mayor pendiente se tendrá una mayor respuesta frente a los cambios de la concentración del analito. **Lo** se determina para evaluar la proporcionalidad de la función analítica, es decir, que la recta pase por el origen y que cualquier desviación pueda adjudicarse únicamente a un error aleatorio.

### Rango de Linealidad

El rango de un método analítico es el intervalo entre el nivel más bajo y el más alto, inclusive, en los cuales el método tiene un nivel aceptable de precisión, exactitud y linealidad. El rango es normalmente expresado en las mismas unidades como de los resultados de los ensayos obtenidos por el método analítico (Ludwing, 1999).

La ilustración 6 muestra:

1. La relación de la concentración frente a la respuesta.

2. El límite mínimo de detección LD (LOD) o la mínima cantidad de analito que se puede detectar.

3. La relación señal-ruido S/N de la respuesta del analito.

4. El límite de cuantificación LC (LOQ) o la mínima cantidad de analito que se puede cuantificar.

5. El valor mínimo de señal-ruido S/N, su valor máximo de Coeficiente de Variación en porcentaje (CV %).

6. El rango de linealidad que empieza desde el LC (LOQ) hasta la pérdida de la respuesta lineal.

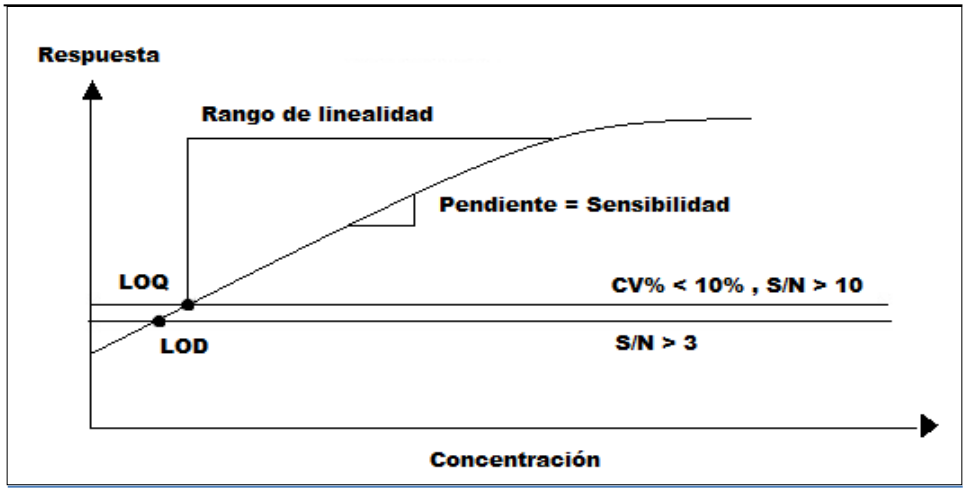



Ilustración 6. Rango de linealidad, representación gráfica (Díaz, 2002)

### Coeficiente de correlación r

El coeficiente de correlación r indica el grado de relación entre la variable X y la variable Y. Si es cercano a 1 significa que existe correlación y si es cercano a 0, indica la ausencia de relación lineal entre las variables. El valor recomendado para el coeficiente de correlación es ≥ 0.999, siendo en algunos casos ≥ 0.990.

Con el fin de observar la correlación entre las variables **x** y **y,** es necesario graficar físicamente la misma y observar si efectivamente ésta correlación se refiere a una relación lineal.

Además es necesario realizar una prueba estadística t para ver si el coeficiente de correlación es significativo. Se calcula el valor t y se compara con el valor tabulado de t de dos colas y (n-2) grados de libertad. La hipótesis nula (Ho), en este caso es que no existe correlación entre **x** y **y**; si $t_{cal.}$ o $t_{exp.}$ es mayor que t de tablas o $t_{crít.}$ la Ho se rechaza, es decir que sí existe una correlación significativa (Miller y Miller, 1993).

$$t = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

### Varianza residual constante

Se representan los valores observados frente a los valores estimados. La distribución de los puntos debería ser aleatoria y no reflejar ninguna tendencia.

$$Sy_{/x} = \sqrt{\frac{\Sigma(y_{obs} - y_{est})^2}{n-2}}$$

La ecuación utiliza los residuos de **y**, **y** observado – **y** estimado, donde los valores y estimados son los puntos sobre la recta de regresión calculada correspondientes a los valores individuales de **x** es decir, los valores de **y** "ajustados" (Miller y Miller, 1993).

### Prueba de homogeneidad de varianzas

Para poder realizar un análisis de varianza, se debe cumplir la homogeneidad de varianzas aplicando el test de Cochran, éste indica si el factor de concentración tiene alguna influencia en la variabilidad de los resultados. Si la homogeneidad de varianzas no se cumple, se puede corregir acortando uno de los extremos de mayor variabilidad del rango, cuando los márgenes de las especificaciones lo permitan. También se puede corregir planteando el análisis a otro nivel de concentraciones que favorezca en menor variabilidad (Aguirre y García, 2001).

### Prueba de linealidad

Se puede verificar la linealidad por medio de los coeficientes de variación de los factores de respuesta, los cuales expresan la relación entre la respuesta y la concentración. Es una expresión aproximada de la sensibilidad de calibrado (Aguirre y García, 2001).

### Prueba de ordenada en el origen o test de proporcionalidad

Permite evaluar si la recta pasa por el origen, determinando si la variable independiente es significativamente distinta de cero. Suele aceptarse que el valor de la ordenada sea ≤ 1 % de la respuesta del analito (Aguirre y García, 2001).

## c. Precisión

El término precisión expresa el grado de dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica a varias alícuotas de una muestra homogénea (Quattrocchi et al., 1992). A través de la precisión se busca conocer la variabilidad debido a errores y cuyas fuentes pueden ser analistas, instrumentos, reactivos, tiempo y entorno. La precisión engloba repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad (ICH-Q2A,1995; ICH-Q2B,1996; Eurachem, 2005)

### Ámbito de aplicación

Según la ICH-Q2B, el estudio de la precisión debe realizarse para la determinación cuantitativa de sustancias.

### Repetibilidad

La repetibilidad se expresa por el coeficiente de variación de una serie de medidas. Es la desviación más pequeña esperada, cuando ejecuta un solo analista, un equipo y en un periodo corto tiempo. Este parámetro se ve afectado por la concentración de analito, y de ser necesario debe analizarse su relación (Eurachem, 2005). Con la ecuación siguiente se puede calcular la desviación estándar (s) a cada concentración:

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

Posteriormente al cálculo de la desviación estándar, se debe calcular el coeficiente de variación CV % para caracterizar la repetibilidad.

$$CV\ \% = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

S = Desviación estándar
$\bar{X}$ = Media

### Repetibilidad instrumental

Estudia la variabilidad debida al instrumento, y se determina analizando repetidamente una misma muestra de forma consecutiva de 5 a 10 veces. Generalmente se estudia a partir de la concentración nominal o del estándar.

### Repetibilidad del método

Se efectúa sobre varias muestras, las mismas que han sido obtenidas desde una muestra homogénea, las cuales siguieron la misma metodología desde la preparación hasta la obtención de resultados por el mismo instrumento y por el mismo analista.

### Precisión intermedia

Se determina la variabilidad del método, efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, en un mismo laboratorio pero en condiciones operativas diferentes. Se debe considerar aquellas circunstancias en las que se pretende desarrollar el método. La precisión intermedia expresa las variaciones dentro del laboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferente instrumento, etc. (ICH-Q2B, 1996; Eurachem, 2005).

Un método en el cual se realice una precisión intermedia podría reflejar discrepancias en resultados obtenidos:

- Desde diferentes operadores
- Prácticas inconsistentes de trabajo del mismo operador
- De diferentes instrumentos
- Con estándares y reactivos de diferentes proveedores
- Con columnas de diferentes marcas, modelos
- Una combinación de las anteriores.

El objetivo de la precisión intermedia es verificar que en el mismo laboratorio el método proveerá los mismos resultados una vez que la fase de desarrollado haya terminado (Ludwing, 1999).

### d. Reproducibilidad

Representa la precisión obtenida entre diferentes laboratorios. Su objetivo es demostrar que los mismos resultados se obtendrán en diferentes laboratorios. Se determina analizando alícuotas de un lote homogéneo de muestra en diferentes laboratorios con diferentes analistas, diferentes condiciones de equipamiento y ambientales con la condición de seguir los parámetros específicos del método. (Ludwing, 1999; Eurachem, 2005; Quattrocchi et al., 1992).

### e. Exactitud

La exactitud de un método analítico expresa el grado de concordancia entre el valor que se acepta como un valor convencional verdadero o un valor aceptado de referencia y el valor experimental encontrado. Este valor verdadero se puede obtener de varias maneras. Una alternativa es comparar los resultados de un método cuyos resultados son obtenidos de un método de referencia del cual su exactitud ya fue demostrada, otra es mediante el análisis de una muestra con concentraciones conocidas que puede ser una muestra certificada o muestra de referencia y comparar el valor medido con el valor verdadero suministrado con el material. Una recuperación aceptable está en función de la concentración y propósito del análisis, para una concentración de 10 ppm, una recuperación aceptable está entre 80 – 115 % y para 1 ppm está entre 75 – 120 % (AOAC, 2002).

Desviación: $E = (\bar{X} - \mu)$

$\bar{X}$ = valor medio

$\mu$ = valor verdadero

Si el material de referencia certificado o muestras de control no son disponibles, un blanco muestra matriz de interés puede ser añadido con una concentración conocida por peso o volumen. Después de la extracción del analito de la matriz e inyección en el equipo de análisis, la recuperación puede ser determinada comparando la respuesta del extracto con la respuesta del material de referencia disuelto en un solvente puro (ICH-Q2A, 1995; CH-Q2B, 1996; Quattrocchi et al., 1992).

Desviación relativa: $\% \mathrm{E} = \frac{E}{\bar{X}} \times 100$

Recuperación: $\% \mathrm{R} = \frac{\bar{X}}{\mu} \times 100$

**E** = Error o desviación

$\bar{X}$ = Valor medio

**μ** = Valor verdadero

Otra forma de obtener la Recuperación es según Eurachem:

Recuperación (%) = $100\ (C1 - C2)/C3$

**C1**= Concentración determinada en la muestra fortificada
**C2**= Concentración determinada en la muestra no fortificada
**C3**= Concentración de fortificación.

### Ámbito de aplicación

Según la guía ICH Q2A, debe evaluarse la exactitud en métodos de análisis de cuantificación.

### Determinación de la exactitud

Se debe determinar la exactitud en todas las concentraciones estudiadas y debería incluir concentraciones cercanas al límite de cuantificación, en la concentración central y en el extremo final de la recta de calibración (Ludwing, 1999). A través de blancos de matriz o muestras no fortificadas y fortificadas con el analito de interés en una gama de concentraciones (Eurachem, 2005).

### Muestra de concentración conocida

Para evaluar la exactitud de una muestra de concentración conocida, se prepara a partir de un placebo cargado con cantidades conocidas de analito.

### Método de placebo cargado

Se prepara un placebo del problema que contiene todos los ingredientes excepto el analito a determinar. Se añaden cantidades conocidas de un analito patrón a tres

niveles de concentración dentro del rango a estudiar. Se realiza con tres replicados para cada nivel.

**Método de adición de patrón**

Esta aproximación se utiliza, cuando no es posible preparar un placebo de la muestra que no contenga el analito. Se añaden sobre una o varias muestras, cantidades conocidas de un analito patrón a tres niveles de concentración dentro del rango a estudio. Se realizan como mínimo 3 replicados para cada nivel y se analizan las muestras adicionadas y no adicionadas calculando la recuperación.

**Comparación con un método de referencia validado**

Se comparan los resultados obtenidos con el método analítico que se quiere validar con los obtenidos con un método de referencia. Ambos métodos deben ser independientes. Se puede usar un MRC Material de referencia certificado y se usa el método analítico estandarizado, se calcula la recuperación, la misma que dependiendo de la manera como haya sido preparado el MRC, se podría obtener recuperaciones mayores al 100 % (Eurachem, 2005).

**Criterios de aceptación**

La recuperación esperada depende de la matriz de la muestra, del procedimiento de preparación de la muestra y de la concentración del analito. Se desea alcanzar el 100 % de recuperación, pero en algunos tipos de muestras no es posible alcanzar ese resultado.

En ocasiones se presenta desviación de la exactitud por exceso y se produce cuando existen interferencias y la selectividad del método no es adecuada, obteniendo resultados superiores al valor verdadero. Cuando esto sucede, se deberían modificar las condiciones del método para optimizar la selectividad o cambiar a otro que sea más selectivo establecer límites de aceptación del mismo.

Se observa además desviación de la exactitud por defecto, cuando la matriz de la muestra es compleja y la extracción del analito requiere varios pasos obteniendo recuperaciones más bajas. Se debería intentar optimizar la preparación para mejorar el factor de recuperación. Si no es posible pero la exactitud es precisa se debería aplicar un factor de corrección para compensar las pérdidas del analito.

### f. Sensibilidad

La sensibilidad es la capacidad de un método analítico de registrar ligeras variaciones de concentración (ICH-Q2A, 1995;ICH-Q2B, 1996 ). Para expresar la sensibilidad se suelen utilizar los parámetros:

- Límite de detección (LD) se define como la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede detectar aunque no cuantificar bajo las condiciones experimentales del método objeto de estudio (ICH-Q2A, 1995).

- Límite de cuantificación (LC) se define como la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar con una adecuada precisión y exactitud.

El límite de cuantificación es un término cuantitativo y el límite de detección es un término cualitativo. Estos límites son la relación entre el ruido y la señal debida al analito.

### Ámbito de aplicación

La guía ICH establece como necesaria la determinación del LC en métodos para la evaluación de trazas límite, particularmente para la determinación de impurezas y/o en la degradación de productos (ICH-Q2A, 1995). Generalmente se establece el LC en ensayos en los que el rango analítico se encuentre muy próximo al límite de detección. Estos se pueden determinar a partir de la recta de regresión siempre y cuando se hayan analizado concentraciones bajas del analito (Quattrocchi et al., 1992).

### Determinación del Límite de Detección LD

La observación visual podría ser usada para métodos no instrumentales e instrumentales. Él límite de detección se determina por el análisis de las muestras con concentraciones conocidas del analito y por el establecimiento del nivel mínimo en el cual el analito puede detectarse de manera fiable (ICH-Q2B, 1996).

### Determinación del Límite de Cuantificación LC

Cuando no se posee una muestra placebo y cuando se especifica un criterio concreto de precisión y exactitud, el método EURACHEM es apropiado para el cálculo de LC (Eurachem, 1993), donde se prepara una serie de muestras con cantidades decrecientes, analizables cada una de ellas varias veces, representando CV % de la precisión frente a la concentración de cada muestra. De este modo, se obtiene la concentración de LC en función del CV % máximo aceptado para el método estudiado.

Habitualmente se fija un criterio de precisión con un CV % = 10 % para el LC aunque se acepta hasta valores de 20 %, en función del método.

### Relación señal / ruido

Para esto, se requiere que el método de análisis sea instrumental, que proporcione un ruido de línea base. El procedimiento para la determinación de límite de detección se basa en establecer un rango de la señal ruido que proporciona la solución del blanco y muestras con bajas concentraciones conocidas y al establecer la mínima concentración a la cual el analito puede ser detectado. Un rango de señal ruido aceptable es de 3 a 2:1 (ICH-Q2B, 1996).

Para la determinación de límite de cuantificación LC se establece un rango de la señal ruido que proporciona la solución del blanco y muestras con bajas concentraciones conocidas y al establecer la mínima concentración a la cual el

analito puede ser cuantificado. Un rango de señal ruido aceptable es de 10:1 (ICH-Q2B, 1996).

### g. Prueba de adecuabilidad del sistema

La prueba de adecuabilidad del sistema consiste en un conjunto de ensayos que permiten comprobar en el momento de utilización del método, que el sistema es adecuado para llevar a cabo la determinación de los ensayos. Es la comprobación efectuada en un sistema cromatográfico validado para verificar que la resolución y la reproducibilidad del sistema es adecuada para el análisis que se va a realizar (ICH-Q2A 1995; Q2B 1996; EPA, 2009; AOAC, 2002).

La prueba es requisito previo al procedimiento de análisis, se ha de realizar cada día antes de iniciar el trabajo en rutina para comprobar el correcto funcionamiento del sistema cromatográfico. Dicha prueba proporciona la seguridad de que en el momento de iniciar el ensayo, el conjunto del sistema continúa siendo válido para el propósito para el que fue realizado (ICH-Q2A 1995; Q2B 1996; EPA, 2009; AOAC, 2002).

#### Ámbito de aplicación

Se debe emplear en cualquier procedimiento de medida en el que las condiciones analíticas puedan estar sometidas a cambios o variaciones operacionales.

#### Determinación de la idoneidad

La prueba se encuentra vinculada de forma directa a las características del método analítico, debiendo reflejar su viabilidad en el momento de su uso. Los ensayos de idoneidad del sistema vendrán dados por el conocimiento adquirido del método y la viabilidad de su empleo en rutina. Estos ensayos demuestran que el sistema está en plenas condiciones para la realización de análisis y permiten establecer el criterio necesario para modificar las condiciones analíticas en el procedimiento para alcanzar la idoneidad. Estas modificaciones vendrán marcadas por el estudio de robustez. El procedimiento de realización de la prueba de idoneidad, sus criterios de aceptación deben encontrarse dentro del método analítico (Aguirre y García, 2001).

#### Precisión de la prueba del sistema

Se evalúa mediante el cálculo del coeficiente de variación de los resultados obtenidos tras el análisis de una serie de replicados de una muestra. La USP 24 (Farmacopea de Estados Unidos) establece como criterio de aceptación un CV % ≤ 2 % en la inyección de 5 replicados (y si es superior al 2 % se realiza sobre 6 replicados). La precisión es el parámetro de más amplia aplicación para la evaluación de la idoneidad del sistema. Habitualmente se estudia sobre el área del pico cromatográfico, también puede evaluarse sobre altura o tiempo de retención. (Aguirre y García, 2001).

## h. Parámetros cromatográficos:

### Número de platos teóricos (N)

Mide la eficacia del sistema cromatográfico, que expresa el número de picos que pueden aparecer en el cromatograma por unidad de tiempo y de la capacidad del sistema de proporcionar bandas de elución estrechas. Su cálculo se basa en la relación entre el tiempo de retención y la anchura del pico cromatográfico. El número de platos teóricos depende del tiempo de elución y se recomienda que sea superior a 2 000 (Aguirre y García, 2001).

$$N = 16\{tr/w\}^2$$

N = número de platos teóricos
tr = tiempo de retención
w= ancho de base del pico

### Factor de asimetría

Es una medida de la asimetría de la señal generada por el analito. Un aumento del factor de asimetría provoca una pérdida de resolución y una disminución de la precisión de la integración (Aguirre y García, 2001).

$$T = \frac{W_{0.05}}{2F}$$

Dónde:
T = Factor de asimetría
$W_{0.05}$ = Anchura del pico al 5 % de la altura del pico.
F = Distancia entre la perpendicular trazada desde el máximo pico y el frente al 5 % de la altura del pico.

Un pico perfectamente simétrico tendrá un factor de asimetría de 1.0. Un pico que presente ensanchamiento por el inicio del pico tendrá valores inferiores a la unidad, mientras que si presenta cola, el factor será superior a la unidad. Como norma general, el factor de asimetría debe encontrarse entre 0.8 y 1.5, aunque se aceptan valores de hasta 3.0 (European Pharmacopoeia, 2009; Aguirre y García, 2001).

### Resolución

Mide la separación entre dos picos. Se calcula entre la pareja de picos más difícil de separar o entre el analito y sus impurezas. Se calcula tal como se indica en la ecuación siguiente de acuerdo a la ilustración de la Ilustración 7 (Aguirre y García, 2001).

$$R_S = 1.18\ x\ \frac{(tr_1 - tr_2)}{(w_1 - w_2)}$$

Dónde:

$tr_1\ y\ tr_2$ = Tiempo de retención, $tr_1 < tr_2$

$w_1 - w_2$= Anchura del pico a media altura

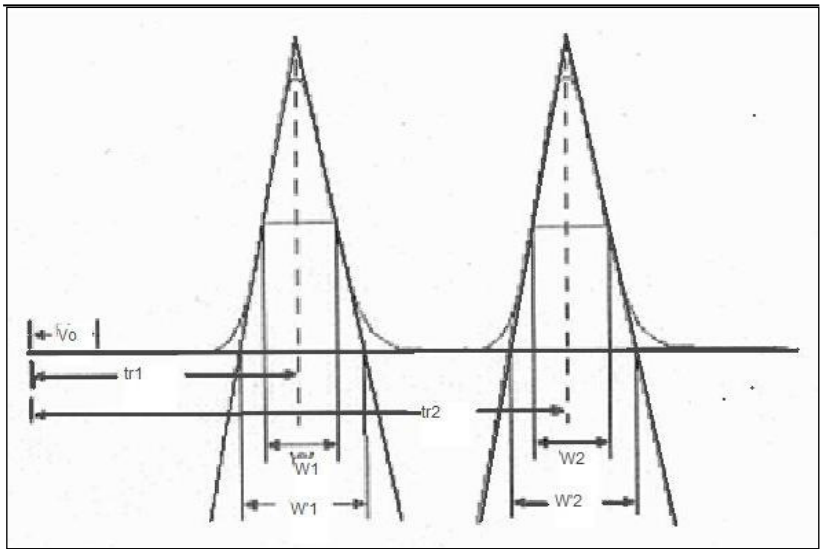



Ilustración7. Descripción del pico cromatográfico (Aguirre y García, 2001)

Para picos de tamaño similar se alcanza una resolución a línea de base con valores de 1.5, es deseable fijar una resolución mayor de 2.0 si se espera la aparición de interferencias (Aguirre y García, 2001).

# CAPÍTULO 2

# PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO

## 2.1 Objetivo

Asegurar que el método de análisis de determinación de aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $SO_4^{2-}$ y $PO_4^{3-}$ en muestras de agua de río, a través de cromatografía iónica (CI), esté bajo control.

## 2.2 Alcance

Este procedimiento se utilizará para la determinación cuantitativa de los aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $SO_4^{2-}$ y $PO_4^{3-}$ en agua de río y residuales; desde su muestreo, traslado, preparación de muestras en el laboratorio hasta su determinación a través del cromatógrafo iónico 883 Metrohm, desde 0.3 $mg.L^{-1}$ (ppm) hasta 10 ppm de concentración en $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$ y desde 1 ppm hasta 20 ppm de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$.

## 2.3 Justificación del Método

El laboratorio de aguas del Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales de la Escuela Politécnica del Litoral (ESPOL), cuenta con modernos equipos para la realización de análisis físico-químicos y bacteriológicos de aguas claras (embotellada, potable, de pozo, de río, etc.), así como de aguas residuales. Entre estos instrumentos se encuentra un equipo de cromatografía iónica nuevo, su uso requiere de estandarizar y validar el método de análisis para la matriz específica de interés.

El laboratorio realiza los análisis de aguas a través de metodologías confiables y amigables con el medio ambiente, por lo que ha determinado que la cromatografía iónica es la técnica indicada para la determinación de aniones en aguas.

Para conocer el funcionamiento del equipo y su programa, se capacitó al personal técnico en el manejo de los mismos, esta instrucción fue parte de la compra – entrega del equipo.

## 2.4 Responsabilidades

La responsabilidad de la realización de la validación es del analista químico, el responsable del laboratorio colabora en las acciones administrativas; y la aprobación del certificado de validación está a cargo del director del laboratorio, lo cual se detalla a continuación en la Tabla 7:

Tabla 7. Responsabilidades de las actividades de validación

| Actividad | Responsables | | |
|---|---|---|---|
| | Director | Analista químico de Validación | Jefe de Laboratorio |
| 1. Elaborar el procedimiento | | R | |
| 2. Revisar el procedimiento | R | EI | |
| 3. Autorizar el procedimiento | R | | |
| 4.Realizar ensayos y registrar datos | | R | EI |
| 5. Supervisar operaciones | | | R |
| 6. Adjuntar certificados | | R | EI |
| 7.Toma de muestras | | R | |
| 8. Preparar informe técnico | | R | |
| 9 Evaluar informe | R | EI | |
| 10 Emisión de certificación | R | | |

Abreviaturas: R= Responsable; EI= entrega información; RI= Recibe información

## 2.5 Cualificación y funcionamiento de los equipos y reactivos

Todos los instrumentos se calibraron según las especificaciones de calibración recomendadas por el fabricante del instrumento y verificados, de tal manera que todos los equipos están en condiciones de ser operados.

### 2.5.1 Reactivos

Todos los reactivos son calidad: Para análisis (P.A.).

1. Agua ultra pura, es agua de calidad 1 según norma ISO 3696, a través de equipo Milli-Q.

2. Carbonato de sodio ($Na_2CO_3$). Mallinckrodt 7528-04. Lote H06582.

3. Hidrógeno carbonato de sodio ($NaHCO_3$). Mallinckrodt. Lote J12605.

4. Ácido sulfúrico ($H_2SO_4$) concentración al 95 %. Mallinckrodt.

5. Nitrato de Potasio (K $NO_3$) Panreac131524.1210 Lote 0000190635.

6. Cloruro de sodio (NaCl) JT Baker 3624-19 lote J11C59.

7. Sulfato de sodio ($Na_2SO_4$) Fisher Chemical. Lote 083054.

8. Nitrito de sodio ($NaNO_2$) JT Baker 3780-0.Lote J08622.

9. Di hidrogeno fosfato de potasio ($KH_2PO_4$) JT Baker 3246-01.Lote 7778-77.

10. Eluente: Disolución tampón 1 mmol Hidrógeno carbonato de sodio (NaHCO3) – 3.2 mmol carbonato de sodio ($Na_2CO3$). Disolver 0.084 g de $NaHCO_3$ y 0.3392 g de $Na_2CO_3$ en un balón de aforo de 1 L con agua ultra pura, mantenerlo en el baño de ultrasonido por media hora, hasta eliminar las burbujas de CO2 presentes y filtrar a través de una membrana de 0.45 µm.

11. Regenerante: Disolución de 50 mmol de $H_2SO_4$. Se prepara bajo una cabina de extracción; se trasvasa en un vaso de precipitación aproximadamente unos 3 ml de $H_2SO_4$ y con ayuda de una pipeta se toma 2.72 ml de $H_2SO_4$ en un balón de aforo de 1 L y se enrasa con agua ultra pura hasta el volumen indicado.

### 2.5.2 Equipos y Materiales para el muestreo

#### 2.5.2.1 Equipos y Materiales para la toma de muestra

1. Canoa o lancha para desplazamiento a lo largo y ancho del río, se debe contar con la seguridad para la toma de muestras (chaleco salvavidas, ayudante).

2. Botellas de muestreo, recipientes con tapa y de boca ancha para la toma de muestras. Las mismas que deben ser identificadas.

3. Recipiente térmico portátil, para el transporte de muestras a baja temperatura hasta el laboratorio.

#### 2.5.2.2 Equipos y Materiales para el análisis

1. Jeringas de polietileno de 10 ml con aguja intercambiable

2. Filtros de membrana de 0.22 µm Millex-MF filtros de esteres de celulosa que se acoplan a la jeringa anterior.

3. Cromatógrafo iónico, el cromatógrafo iónico de Metrohm Basic IC plus 883, versión del programa 5.850.0107, número de serial 09136, mediante la detección de conductividad realiza el análisis iónico. Está compuesto de bomba, detector de conductividad, válvula de inyección, amortiguador de

impulsos, supresor químico MSM II, columna , pre columna separadora, inyector automático de muestras, y sistema de adquisición de datos.

4. Pre columna y columna separadora, pre columna compatible con la columna. Columna Metrosep A Supp 5 – 150/4,0, número de orden 6.1006.520, número de serie 7110581, número de batch 110930, longitud 150 mm, diámetro interno 4.0 mm, tamaño de partícula 5 um, flujo estándar 0.7 $ml.min^{-1}$, flujo máximo 0.8 $ml.min^{-1}$, presión máxima 15 mPa, capacidad de pH desde 3 hasta 12.

5. Automuestreador, Automuestreador compacto 863.0010, versión del programa 5.863.0020, número de serial del equipo 08108.

6. Tubos de polietileno adecuados para el automuestreador.

7. Balanza analítica, marca Ohaus modelo Explorer Pro.

8. Baño ultrasonido, marca Fisher Scientific, modelo FS60D.

9. Cabina de extracción de gases, Frontier Junior.

10. Potenciómetro, marca Thermo, modelo Orion 3 Star pH Benchop.

11. Conductímetro, marca Thermo, modelo Orion 3 Star Conductivity Benchop.

12. Estufa, marca Memmert.

13. Refrigerador, Electrolux de 21 $pies^3$.

14. Desecador de vidrio.

15. Purificador de agua Milli-Q.

## 2.6 Procedimiento de análisis

### 2.6.1 Preparación de muestras y blancos

Las muestras de ensayo, blancos, estándares, eluentes y regenerador, requieren preparación previa antes de ser inyectados en la columna del equipo, lo cual consiste en temperar las muestras a la temperatura ambiente, filtrarlas a través de un filtro de membrana de 0.22 µm y pasarlas por el ultrasonido, de la siguiente manera:

El agua que se usará para: limpieza del equipo, formación del ácido sulfúrico 50 mmol y preparación de estándares, deberá ser agua ultra pura tipo 1, filtrada en una membrana de 0.22 µm.

Las muestras guardadas en el refrigerador deberán alcanzar la temperatura ambiente para proceder a su análisis.

Las muestras de agua de río, deberán ser filtradas a través de un filtro de membrana de 0.22 µm para evitar taponamientos en válvulas y columna.

El ácido de regeneración, el eluente y agua deberán ser desgasificados para eliminar posible presencia de $CO_2$ lo cual afectaría en los resultados.

Disoluciones patrón para la calibración: Para la preparación de soluciones patrón se utilizó el Método 300 de USEPA para la determinación de Aniones inorgánicos por cromatografía iónica y el método 4110 B de estándar métodos considerando las sales antes mencionadas.

Se pesan en la balanza analítica las sales previamente secadas en estufa a 104 °C por 2 horas, con objeto de evitar errores por presencia de agua.

Teniendo en cuenta las buenas prácticas de laboratorio se pesa y afora con agua ultra pura de acuerdo a lo siguiente:

$K NO_3$: 0.1630 g.100 $ml^{-1}$ = 500 $mg.L^{-1}$ = 500 ppm
NaCl: 0.1649 g.100 $ml^{-1}$ = 1 000 $mg.L^{-1}$ = 1 000 ppm
$Na_2SO_4$: 0.1479 g.100 $ml^{-1}$ = 1 000 $mg.L^{-1}$ = 1 000 ppm
$NaNO_2$: 0.0750g.100 $ml^{-1}$ = 500 $mg.L^{-1}$ = 500 ppm
$KH_2PO_4$: 0.0716 g.100 $ml^{-1}$ = 500 $mg.L^{-1}$ = 500 ppm

Las disoluciones de los nuevos estándares se preparan con agua ultra pura desgasificada en un matraz de aforo de 100 ml. Las mismas se deben preparar semanalmente y además se deben guardar en botellas de polietileno con tapa y en refrigeración.

### 2.6.2 Selectividad

Con el fin de identificar los tiempos de retención (tr) e identificar la señal de cada ión, se deberá preparar soluciones con los analitos de interés y correrlos en el equipo CI.

Con la información obtenida se calculará la resolución y se determinará si existen interferencias entre iones.

### 2.6.3 Calibración

Se prepara la mezcla de soluciones estándares de acuerdo a la Tabla 8, se rotula, se toma las alícuotas necesarias y el resto mantiene en refrigeración.

Tabla 8. Concentración de estándares en mezcla de ensayo

| Identificación | $Cl^-$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Mezcla de estándares | 1000 | 500 | 500 | 500 | 1000 |

A partir de la mezcla de estándares, con pipetas automáticas se toma los volúmenes indicados en la Tabla 9 y en balones previamente lavados solamente con agua destilada, se afora a 100 ml con agua ultra pura y se mezcla vigorosamente.

Tabla 9. Volúmenes en ml añadidos a partir de la mezcla de estándares

| Ítem | $Std_1$ (ml) | $Std_2$ (ml) | $Std_3$ (ml) | $Std_4$ (ml) | $Std_5$ (ml) | $Std_6$ (ml) | $Sdt_7$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mezcla de aniones | 0 | 0.01 | 0.02 | 0.1 | 0.5 | 1 | 2 |

Como resultado, se obtendrán las siguientes mezclas de estándares que tienen concentraciones de aniones según la Tabla 10.

Tabla 10. Estándares con concentración conocida de aniones (ppm)

| ítem | $Std_1$ | $Std_2$ | $Std_3$ | $Std_4$ | $Std_5$ | $Std_6$ | $Sdt_7$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | 0 | 0.1 | 0.2 | 1 | 5 | 10 | 20 |
| $NO_2^-$ | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.5 | 2.5 | 5 | 10 |
| $NO_3^-$ | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.5 | 2.5 | 5 | 10 |
| $PO_4^{3-}$ | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.5 | 2.5 | 5 | 10 |
| $SO_4^{2-}$ | 0 | 0.1 | 0.2 | 1 | 5 | 10 | 20 |

Cada estándar preparado es analizado en el equipo, el análisis se inicia con agua ultra pura y seguidamente los estándares de menor a mayor concentración. Los resultados son usados para preparar la recta de calibración por cada analito. Durante éste procedimiento, los tiempos de retención deben ser grabados o guardados.

La calibración se realiza analizando por triplicado las 7 soluciones estándar de la mezcla de los aniones mostrados en la Tabla 10.

La recta de calibración debe ser verificada cada día de trabajo o cuando el eluente de los aniones se haya cambiado, así como, después de cada 20 muestras. Si la respuesta o tiempo de retención por cada analito varía de acuerdo a los valores esperados por más del 10 %, se deberá preparar un nuevo eluente, usando estándares frescos para la calibración. Si los resultados son aún más de ± 10 %, una nueva recta de calibración deberá ser preparada para ese analito.

Con los datos obtenidos, se calcula la ecuación de la recta o recta de regresión, el coeficiente de correlación (r) y su test de significancia t de regresión, pendiente (m), desviación de la pendiente (Sm), coeficiente de determinación ($R^2$ ), límites y región de región de confianza, intercepto (Lo), desviación estándar del intercepto (Slo), residual (Sy,x), límite de detección, límite de cuantificación, y se grafica la recta de regresión, todo lo anterior se estima para cada uno de los iones de estudio.

También será necesario calcular el valor de los residuales y determinar la validez del método al no haber una tendencia de sus puntos. Adicionalmente de deberá realizar la prueba de homogeneidad de varianzas o test de Cochran con el fin de determinar que el valor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados; y por último se deberá calcular el coeficiente de variación (% CV) del factor de respuesta.

### 2.6.4 Precisión

Se deberá realizar la precisión a través de repetibilidad instrumental al correr la misma solución durante 7 veces, precisión intermedia al correr 4 muestras estándar durante dos días y repetibilidad del método al correr muestras que representen el método desde su inicio.

### 2.6.5 Exactitud

Para la realización de exactitud se deberán preparar varias soluciones de concentración conocida, correr en el equipo CI y obtener su error o % de recuperación. Se deberá calcular la media, % CV y el análisis t de % de recuperación.

Se realizará también el análisis de un MRC, y se correrá durante 8 veces. Se deberá calcular la media, su desviación estándar, su recuperación y se realizará una prueba t de significancia.

Adicionalmente se realizará el análisis de muestras conocidas adicionando un estándar de concentración conocida. Se deberá determinar el % de recuperación y su % CV.

### 2.6.6 Límites de Detección y Cuantificación.

Se deberán preparar soluciones de concentración igual a la determinada por mínimos cuadrados, y se deberá comprobar que no haya diferencia significativa entre el valor leído y el valor teórico.

### 2.6.7 Prueba de adecuabilidad del Sistema

Se deberá comprobar al inicio del análisis que los tiempos de retención permanezcan iguales y que su variación no sea mayor a 2 %, que el número de platos teóricos (N) sea mayor a 2 000 y que el factor de asimetría (T) no sea mayor a 2 %.

### 2.6.8 Análisis cromatográfico

Para el manejo del equipo se debe considerar las buenas prácticas de laboratorio. En caso de no usar el cromatógrafo por dos semanas consecutivas, se deberá retirar la columna y llenarla con eluente, además se deberá limpiar el sistema.

El equipo Metrohm 883 posee un manual de instrucciones para el manejo de software, el mismo que se simplifica en el Instructivo Manejo de IC 883 (Anexo 1). Se debe equilibrar el equipo con 30 a 40 minutos de anticipación a la inyección de muestras, esto significa que se deberá dejar correr el equipo con el método "Equilibration" hasta que la línea base se presente en forma constante, uniforme y no presente variaciones.

Se colocan las muestras en el automuestreador.

Se programa el equipo cromatógrafo iónico Metrohm 883 con las secuencias necesarias para la determinación de aniones con los dispositivos adecuados y se lo identifica como: "METODO CALIBRADO COLUMNA CINCO".

Se inyectan y se pone a correr las muestras

En caso de que las muestras excedan el límite del intervalo de calibración, se deberá diluir la muestra, y se aplicará el factor de dilución adecuado.

## 2.7 Toma de muestra experimental

Las muestras de agua deberán ser colectadas de acuerdo a la norma INEN 2176:98, Calidad de agua. Muestreo. Técnicas de Muestro (INEN, 1998), la cual establece guías para obtener los datos necesarios en los análisis de control de calidad de las aguas naturales, poluidas y aguas residuales para su caracterización. Se usará además la norma técnica INEN 2169:98, Calidad de agua. Muestreo, manejo y conservación de muestras (INEN, 1998a) esta Norma establece las precauciones generales que se deben tener en cuenta para conservar y transportar las muestras de agua e indica la técnicas de conservación usadas comúnmente. La norma Oficial Chilena NCh441/6 OF98, Calidad de Agua Muestreo Parte 6: Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua (INN, 1998), Norma Oficial Chilena NCh441/1 OF98 Calidad de Agua Muestreo Parte 1: Guía para el diseño de programas de muestreo, normas que indican los principios para el muestreo y realización de programas de muestreo en ríos (INN, 1998a).

La calidad de los resultados obtenidos en un análisis depende en gran parte de la calidad del muestreo, sin considerar el grado de tecnología usada para dicho análisis. El muestreo debe definirse dependiendo del objetivo a conseguir y con ello su conservación y traslado hacia el laboratorio de análisis.

En general, una muestra debe reproducir lo del total, debe ser homogénea y no reaccionar o cambiar por efecto de las condiciones ambientales, de conservación o traslado; sin embargo, en aguas superficiales y residuales sí podrían existir cambios debido a las reacciones físico, químicas o biológicas, por lo cual se deberá tener cuidado al tomar las muestras, antes y después del traslado y durante su conservación en el laboratorio antes del análisis (INEN, 1998).

El río Daule presenta un caudal promedio de 950 $m^3.s^{-1}$ y mínimo de 25 $m^3.s^{-1}$, con un máximo de 3 600 $m^3.s^{-1}$ en épocas de precipitaciones muy altas (CAAM, 1996). Se observa que el caudal del río es muy variable en el tiempo dependiendo de varias situaciones entre ellas el drenaje y el clima. Lo que significa que las muestras deberán ser tomadas en un período corto de tiempo para no tener influencia del caudal o de cambios súbitos de nutrientes del río.

Cuando se pretende evaluar los efectos de un afluente en un curso de agua principal, es necesario tomar muestras por lo menos en dos zonas, un muestreo aguas arriba y otro muestreo aguas abajo de la confluencia. Los efluentes se mezclan en forma vertical, horizontal y longitudinal dependiendo de las distancias, velocidad y curvas, se podrían mezclar en menos de 1km o fracciones (INN, 1998).

Para el desarrollo del presente trabajo se tomarán muestras, en el sector conocido como Puente Lucía, 500 m aguas arriba de La Toma y 500 m aguas abajo de la misma. Se tomarán muestras en la represa Daule-Peripa y en el sector Pichincha, como sitio primero de descarga de la represa.

## 2.8 Cálculos

### 2.8.1 Determinación de la concentración de analito presente en la muestra

Los resultados se obtienen por interpolación en la recta de calibración con el resultado de áreas.

El programa del equipo da automáticamente el resultado de la concentración en las unidades deseadas, siendo para éste método en ppm, y deberá ser comprobado usando el programa Excel a través del método de mínimos cuadrados.

### 2.8.2 Pruebas de significancia

Una medición puede tener errores aleatorios y errores sistemáticos, ocasionando que la misma no represente exactamente al valor conocido como verdadero. La manera para determinar si la variación de resultados es debido a errores aleatorios se realiza una prueba estadística llamada Prueba de Significación, la cual indica si existe una diferencia significativa entre los dos resultados o si solamente se debe a errores aleatorios (Miller y Miller, 1993).Para la determinación de validez del método, se emplearán varias pruebas de significancia tales como: Prueba t de student, prueba F de Fisher, Análisis de Varianza, etc.

# CAPÍTULO 3

# METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DEL AGUA DEL RÍO DAULE

## 3.1 Determinación de los puntos de muestreo

Una vez que se estandariza y valida el método de ensayo de análisis de los aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$ para muestras de agua de río, se procede a establecer las estaciones de muestreo, la frecuencia, la identificación de las mismas, la logística que involucra el muestreo en sí mismo, la conservación de las muestras durante el traslado y permanencia en el laboratorio antes de ser analizadas.

Como parte de los objetivos se tiene: la determinación de los nutrientes en el sector Puente Lucía y la comparación de la carga de nutrientes aguas arriba y aguas abajo del sector La Toma, razones por las cuales se definen las siguientes estaciones de muestreo, presentados en la Tabla 11 y en la Ilustración 8.

Ilustración 8. Estaciones de muestreo

Para facilitar la designación de las estaciones se estableció la siguiente codificación.

Estación 1, aguas arriba, orilla1 = A1
Estación 2, aguas arriba, centro = A2
Estación 3, aguas arriba, orilla2 = A3
Estación 4, aguas abajo, orilla1 = B1
Estación 5, aguas abajo, centro = B2
Estación 6, aguas abajo, orilla2 = B3
Día 11 de marzo = D1
Día 20 de marzo = D2
Hora: Desde las 9: horas hasta las 14: horas

1.- A nivel de sector Puente Lucía: Las estaciones incluyen las orillas y centro del río.

Tabla 11. Estaciones de muestreo en sector Puente Lucía

| Sector | Muestra 1 Hora: 1 | Muestra 2 Hora: 2 | Muestra 3 Hora: 3 | Muestra 4 Hora: 4 | Muestra5 Hora: 5 | Muestra 6 Hora: 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Aguas arriba de La Toma | A1 | A1 | A1 | A1 | A1 | A1 |
| | A2 | A2 | A2 | A2 | A2 | A2 |
| | A3 | A3 | A3 | A3 | A3 | A3 |
| Aguas abajo de La Toma | B1 | B1 | B1 | B1 | B1 | B1 |
| | B2 | B2 | B2 | B2 | B2 | B2 |
| | B3 | B3 | B3 | B3 | B3 | B3 |
| | | | | Muestras total: 36 * 2 | | 72 |

2.- A nivel de la represa Daule Peripa. Toma de varias muestras a lo largo de la represa, 5 de agosto de 2012

Ilustración 9. Represa Daule Peripa

3.- En el sector Pichincha.- Aguas arriba aproximadamente a 1 km desde el puente, toma de varias muestras, 5 de agosto de 2012.

Ilustración 10. Población Pichincha

## 3.2 Toma de muestras

Las muestras de agua se recogieron en el río Daule en el sector Puente Lucía, aproximadamente a 2 m de las orillas y en el centro del mismo. A 500 m aguas abajo aproximadamente del sector conocido como La Toma se repitió el muestreo. Las muestras se tomaron cada hora durante 6 horas el día 11 de marzo de 2012; este procedimiento se repitió el día 20 de marzo de 2012.

El muestreo en la represa Daule Peripa y sector Pichincha fue realizado el día 5 de agosto de 2012.

Las muestras fueron tomadas del agua superficial aproximadamente a 30 - 40 cm de profundidad.

Previo al muestreo, los recipientes de polipropileno fueron rotulados con la identificación del sitio, fecha y hora. Seguidamente los recipientes con las muestras

tapados se conservaron en un recipiente térmico frío hasta la llegada al Laboratorio de Aguas del Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales de la Escuela Superior Politécnica el Litoral, donde se almacenaron en un refrigerador mientras se espera su análisis.

## 3.3 Preparación de muestras en el laboratorio

Previo al análisis, las muestras en el laboratorio fueron colocadas al ambiente y, homogenizadas, realizándose finalmente mediciones de pH y conductividad.

Las muestras para el análisis cromatográfico son filtradas a través de filtro de 0.22 µm, obteniéndose una muestra transparente, libre de partículas, adecuada para ser inyectada en el equipo sin que haya riesgos de contaminación de la columna o taponamientos de válvulas debido a los sedimentos presentes en las muestras originales.

Las muestras filtradas se trasvasan en los tubos de polipropileno adecuados para el equipo y se colocan en el automuestreador.

## 3.4 Análisis diversos

### 3.4.1 Análisis de pH

La lectura es directa usando un equipo de medición de pH marca Thermo Modelo Orion Star.

### 3.4.2 Análisis de conductividad

La lectura es directa usando un equipo de medición de conductividad marca Thermo modelo Orion Star.

### 3.4.3 Análisis en el equipo de Cromatografía Iónica IC 883

Usando el instructivo Manejo de IC 883, se programa el equipo para el análisis de las muestras seleccionadas y preparadas. Se verifica la existencia de agua, ácido sulfúrico diluido y eluente en las respectivas botellas, o se procede a llenar con nuevas soluciones.

Una vez acondicionado el equipo con el método de “Equilibrio”, se inyecta una muestra control con el propósito de verificar que los tiempos de retención no hayan cambiado o en su defecto que la variación de los mismos no sea mayor al 10 %. En caso de existir variación, se deberá preparar nuevas soluciones o preparar una nueva recta de calibración.

# CAPÍTULO 4

# RESULTADOS

Este capítulo contiene los resultados de las diversas pruebas de validación del método y los resultados de aplicación del método en el análisis de muestras de agua recogidas en las diversos puntos de muestreo y su análisis estadístico.

## 4.1 Resultados de pruebas para Validación

### 4.1.1 Selectividad

La prueba de selectividad consistió en preparar una solución de las sales correspondientes de los aniones para obtener una concentración de 5 ppm de $Cl^-$, 5 ppm de $SO_4^{2-}$, 2.5 ppm de $NO_2^-$, 2.5 ppm de $NO_3^-$ y 2.5 ppm de $PO_4^{3-}$

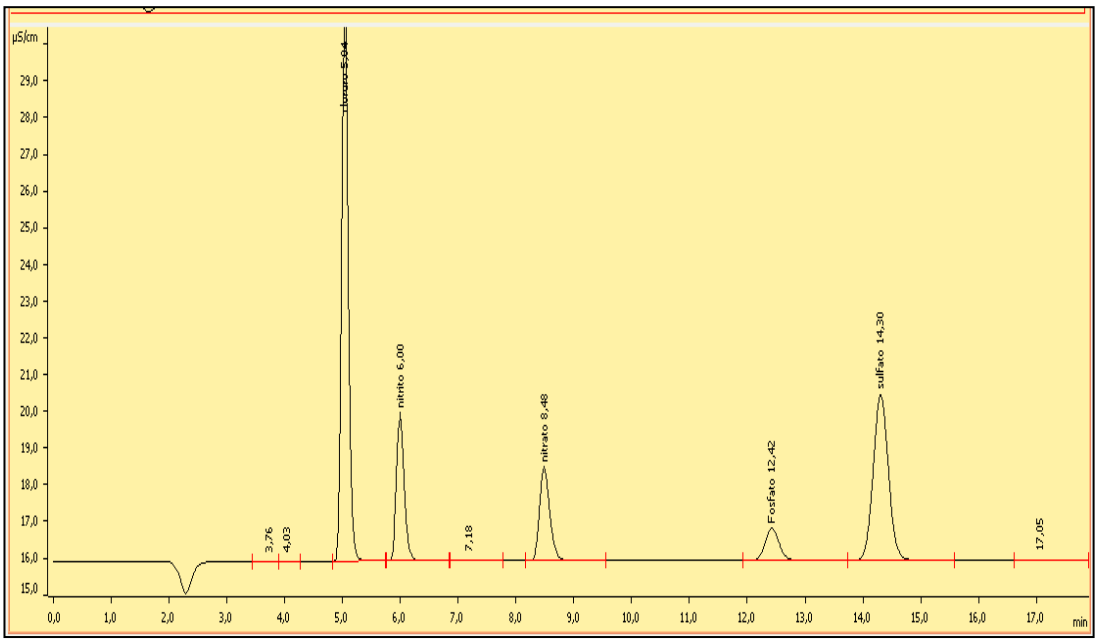



Ilustración 11. Cromatograma de aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$, $SO_4^{2-}$

Esta solución se procedió a inyectar en el equipo para la identificación de los aniones mencionados anteriormente. El equipo identifica automáticamente la columna que se usa y determina los tiempos de retención para cada ion; sin embargo, se tiene la opción de rectificar dichos tiempos si se requiere.

El cromatograma de la Ilustración 11, muestra el resultado de la selectividad de la solución preparada con los aniones motivos de la investigación y se presenta además los tiempos de retención de cada uno de ellos.

La Tabla 12 resume los tiempos de retención y la resolución de los aniones del cromatograma anterior, para $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$.

Tabla 12. Tiempo de retención y resolución de los aniones de estudio

| Componente | Tiempo de retención (min) | Ancho de base del pico (min) | Resolución |
|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | 5.04 | 0.20 | 4.4 |
| $NO_2^-$ | 6.00 | 0.24 | 8.8 |
| $NO_3^-$ | 8.48 | 0.32 | 10.2 |
| $PO_4^{3-}$ | 12.42 | 0.45 | 4.0 |
| $SO_4^{2-}$ | 14.30 | 0.48 | - |

En el cromatograma mostrado en la Gráfica 11, se observa la inexistencia de picos que interfieran y al observar la Tabla 12 se nota una buena resolución, ya que para cada uno de los iones el resultado de la resolución es ≥ 1.5. Por tanto, el resultado de selectividad para el método analítico propuesto es conforme a lo esperado.

### 4.1.2 Linealidad

Se preparan 7 soluciones de distintas concentraciones de $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$, se analizan y con los resultados obtenidos se calcula la recta de regresión lineal por mínimos cuadrados. Cada solución se lee por triplicado.

La Tabla 13 resume los resultados de la recta de regresión, del coeficiente de correlación y el valor t experimental ($t_{exp.}$) de regresión y t crítica ($t_{crít.}$) en la prueba de linealidad para cada uno de los aniones estudiados.

Tabla 13. Ecuación de la recta y coeficiente de correlación

| Anión | Ecuación de la recta de regresión | r | texp. regresión | tcrít |
|---|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | Q = 2.592 + 94.574*A | 0.9996 | 154.29 | 2.11 |
| $NO_2^-$ | Q = -1.011 + 162.586 *A | 0.9999 | 352.89 | 2.13 |
| $NO_3^-$ | Q = -0.739 + 196.735*A | 0.9999 | 253.41 | 2.10 |
| $PO_4^{3-}$ | Q = 0.036 + 402.544*A | 0.9999 | 246.92 | 2.12 |
| $SO_4^{2-}$ | Q = 0.275 + 144.114*A | 0.9999 | 258.71 | 2.10 |

Q = concentración (ppm), A = área ($\mu S.cm^{-1}.min$), r = coeficiente de correlación

Los valores de **r** en la Tabla 13, son aceptables e indican una correlación entre el área y la concentración, lo cual se confirma al hacer el test de regresión. El resultado obtenido de texp. de cada ion es mayor que tcrít., por lo tanto, implica que se rechaza la hipótesis nula Ho que indica que no hay correlación entre las variables (r = 0), y se acepta la hipótesis alterna H1 que indica que r no debe ser significativamente diferente de 1.

Se analizará cada ion en forma individual y se lo hará en el mismo orden de elución.

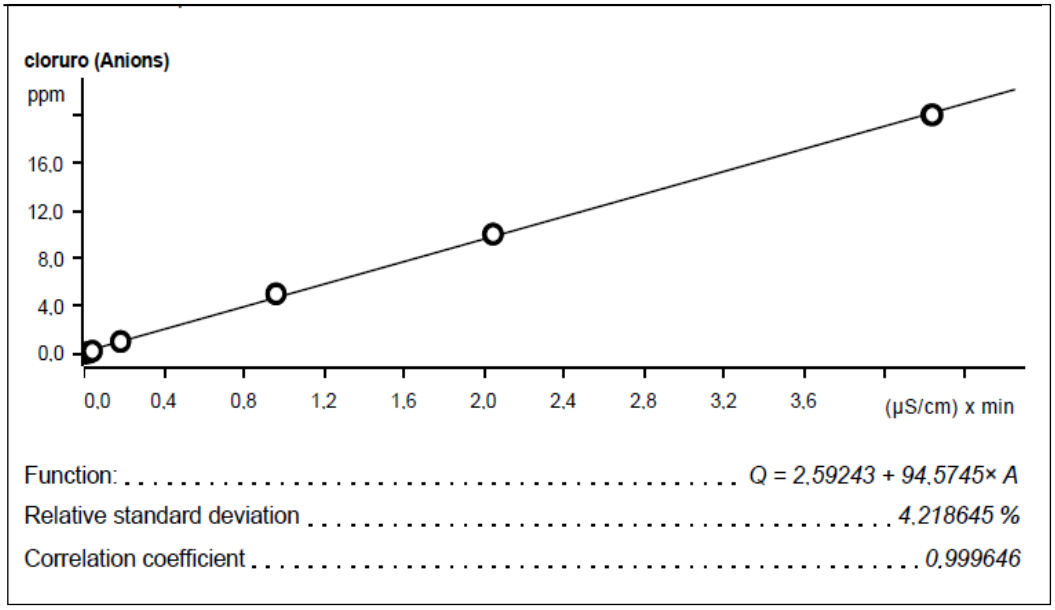
#### 4.1.2.1 Anión cloruro $Cl^-$

Las lecturas de $Cl^-$ contenido en las 7 soluciones estándares, analizados por triplicado y arrojados por el programa Magic Net, se muestran en la Tabla 14, con estos valores se calcula los diversos resultados estadísticos necesarios.

Tabla 14. Resultados de concentración del ion $Cl^-$ en la mezcla de estándares

| Sample type | Index | Conc. (ppm) | Volume (µl) | Dilution | Sample amount | Area (µS/cm*min) | Indent |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Standard 1 | 1 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 1 | 2 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.000 | Agua purificada |
| Standard 1 | 3 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.000 | Agua purificada |
| Standard 2 | 1 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.022 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 2 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.022 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 3 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.024 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 1 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | n.d. | Muestra estándar |
| Standard 3 | 2 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | 0.040 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 3 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | 0.040 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 1 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.181 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 2 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.181 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 3 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.181 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 1 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.957 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 2 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.959 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 3 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.959 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 1 | 10 | 20 | 1 | 1 | 2.041 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 2 | 10 | 20 | 1 | 1 | 2.045 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 3 | 10 | 20 | 1 | 1 | 2.044 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 1 | 20 | 20 | 1 | 1 | 4.233 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 2 | 20 | 20 | 1 | 1 | 4.245 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 3 | 20 | 20 | 1 | 1 | 4.240 | Muestra estándar |

En la Gráfica 1 se observa la recta de calibración para $Cl^-$, la ecuación de la recta, la desviación estándar obtenida y el coeficiente de correlación. La Gráfica 1 además muestra la relación concentración de aniones (ppm) versus área ($uS.cm^{-1}.min$), y se observa una buena correlación de acuerdo a su coeficiente r igual a 0.9996.




Gráfica 1. Recta de calibración, ion $Cl^-$, a través del programa Magic Net

### Análisis mediante programa Excel

Los datos obtenidos para $Cl^-$ se analizan a través del programa de Microsoft Windows office Excel, para verificar el correcto funcionamiento del programa presente en el CI y además para calcular los diveros resultados estadísticos necesarios.

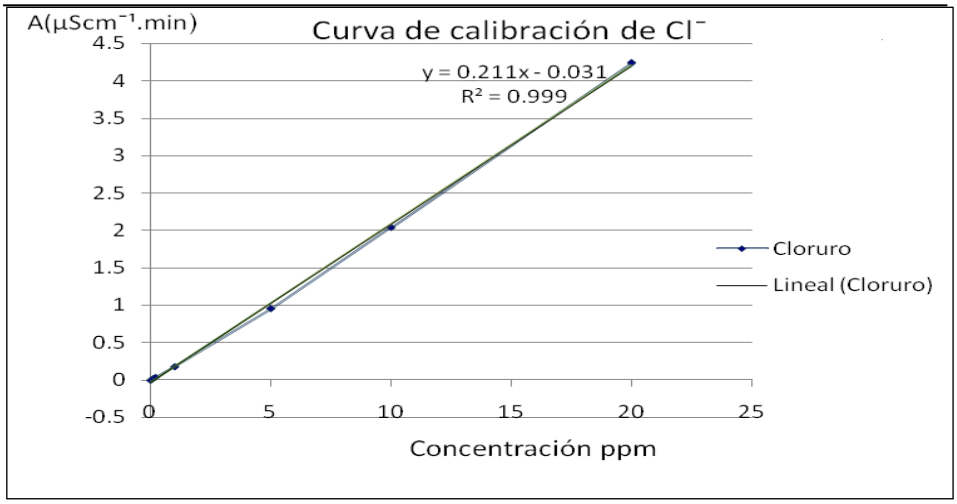
El cálculo del método de mínimos cuadrados en Excel se aplica al señalar 2 columnas y cuatro filas en blanco, seguidamente se selecciona “estimación lineal”, se define el rango de datos y la constante “verdadero” y al mismo tiempo se pulsa “control+shift+capslock” y se obtiene la pendiente (m), la desviación estándar de la pendiente (Sm), el coeficiente de determinación ($R^2$), el intercepto (Lo), la desviación estándar del intercepto (SLo), el residual (Sy,x) y los grados de libertad (gl), los cuales están resumidos en la Tabla 15.

Con la información anterior y el valor t de student, se calcula los límites de detección LD, de cuantificación LC, los límites de confianza, y la región de confianza, mostrados en la Tabla 15.

Tabla 15. Resumen de estadísticos, por mínimos cuadrados, $Cl^-$

| Estadístico | Valor |
|---|---|
| m(área/concentración)= Pendiente | 0.21163 |
| Sm (área/concentración)= desviación estándar de la pendiente. | 0.00137 |
| R2 = coeficiente de determinación | 0.99928 |
| t de student | 2.10981 |
| L.sup.Región de confianza | 0.05841 |
| L.inf.Región de confianza | -0.12056 |
| Resolución(concentración) | 0.00047 |
| µ resolución | 0.00027 |
| Coeficiente de correlación = r | 0.99964 |
| Lo(área) = intercepto | -0.03107 |
| Slo(área)= desviación estándar del intercepto | 0.01250 |
| Sy,x(área)= Residual | 0.04242 |
| grados de libertad | 17 |
| Límite Detección área | -0.00469 |
| Límite Detección(concentración) LD | 0.12462 |
| Límite Cuantificación (área) | 0.05842 |
| límite cuantificación(concentración)LC | 0.42286 |
| Sx,y (concentración) | 0.20042 |

Los resultados obtenidos del análisis para el ion $Cl^-$ son graficados en una recta área ($uS.cm^{-1}.min$) verus concentración (ppm). El resultado se puede observar en la Gráfica 2, en donde se muestra la linealidad y la ecuación de la recta. Se procede a corroborar con la ecuación presentada por el equipo.




Gráfica 2. Representación gráfica de recta de calibración para $Cl^-$, usando el programa Excel.

El programa del equipo para la recta del anión $Cl^-$ da como resultado la ecuación:

$$Q = 2.59243 + 94.5745 * A$$

La cantidad de muestra tomada para el análisis fue de 20 µl, por lo que se procede a dividir por éste valor y se obtiene lo siguiente:

$$Q = \frac{2.59243}{20} + \frac{94.5745}{20} * A$$

$$Q = 0.1296216 + 4.728725 * A$$

$$A = \frac{(Q - 0.1296)}{4.7287}$$

$$\underline{A = 0.18\ \mu S.cm^{-1}.min}$$

Y según excel se obtiene la ecuación:

$$Y = 0.211X - 0.031$$

$$\underline{Y = 0.18\ \mu S.cm^{-1}.min}$$

Es decir, el valor de A del programa Magic Net corresponde al valor de Y de la ecuación de la recta del programa Excel.

A = Y = $\underline{0.18\ \mu S.cm^{-1}.min}$

El valor del coeficiente de determinación $R^2$ dado por el programa Magic Net del Cl es:

$$R^2 = 0.9992863$$

$$r = \sqrt{R^2}$$

$r = \sqrt{0.9992863}$

$r = 0.9996$

Y a través del programa Excel y presentado en la Gráfica 2 se obtiene un valor de r:

$r = 0.9996 \quad = \quad r = 0.9996$

Por lo anterior, se determina que los valores de A y r presentados por las dos metodologías son similares.

**Región de Confianza y límites de intervalo**

La región de confianza o intervalo de confianza es: la zona o intervalo en el cual se puede suponer o decir bajo que probabilidad se encuentra el valor verdadero de cualquier observación que se realice; los límites de confianza son los valores extremos de éste intervalo.

Se calcula usando las siguientes fórmulas:

Región de confianza de curva de calibración: $Lo \mp t * Sy,x$

$$L.\sup \mathrm{rc} = Lo + (t * Sy,x) \qquad L.\inf rc = Lo - (t * Sy,x)$$

$$Ymáx = m * X + L.sup\ rc \qquad Y\,mín = m * X + L.\inf rc$$

En donde:

| | | |
|---|---|---|
| *Y máx* | = | Límite superior de región de confianza a una concentración conocida |
| *Y mín* | = | Límite inferior de región de confianza a una concentración conocida |
| *L.sup rc* | = | Límite superior de la región de confianza |
| *L.inf rc* | = | Límite inferior de la región de confianza |
| *Sy,x* | = | Residual de Y con respecto a X |

Se calcula además el límite de la pendiente, del intercepto, de detección y de cuantificación con las siguientes ecuaciones:

Límite de pendiente L (sup o inf) m $= m + (t * Sm)$

Límite de intercepto Lo (sup ó inf) m $= Lo \mp (t * SLo)$

Límite de detección de Área $= Lo \mp (t * SLo)$

Límite de detección de concentración $= \frac{\text{Límite de detección de Área} - \text{Lo}}{m}$

Límite de cuantificación de Área $= Lo + (t * Sy, x)$

Límite de cuantificación de concentración $= \frac{\text{Límite de Cuantificación de Área} - \text{Lo}}{m}$

En donde:

*L sup m* = Límite superior de la pendiente

*L inf. m* = Límite inferior de la pendiente

En la Tabla 16 se tabulan los límites de la pendiente y del intercepto.

Tabla 16. Límites de m y Lo, $Cl^-$

| Límites | Superior | Inferior |
|---|---|---|
| Intervalo de pendiente | 0.21452 | 0.20873 |
| Límite de intercepto Lo | -0.00469 | -0.05745 |
| Límite de Región de confianza | 0.05841 | -0.12056 |

Se realiza el test de verificación de la pendiente m, buscando corroborar la significancia estadística de la misma a través de sus límites superior e inferior. Este intervalo de pendiente no debe incluir el cero, para considerarla pendiente significativamente diferente de éste valor. En la Tabla 16 se observa que el valor del parámetro mencionado no incluye el 0, es decir existe significancia.

De la misma manera se calcula el estadístico t del intercepto, a través de sus límites y para concluir que la ordenada no es significativamente diferente de 0, el valor del intervalo de los límites deberá incluir el valor 0 mencionado.

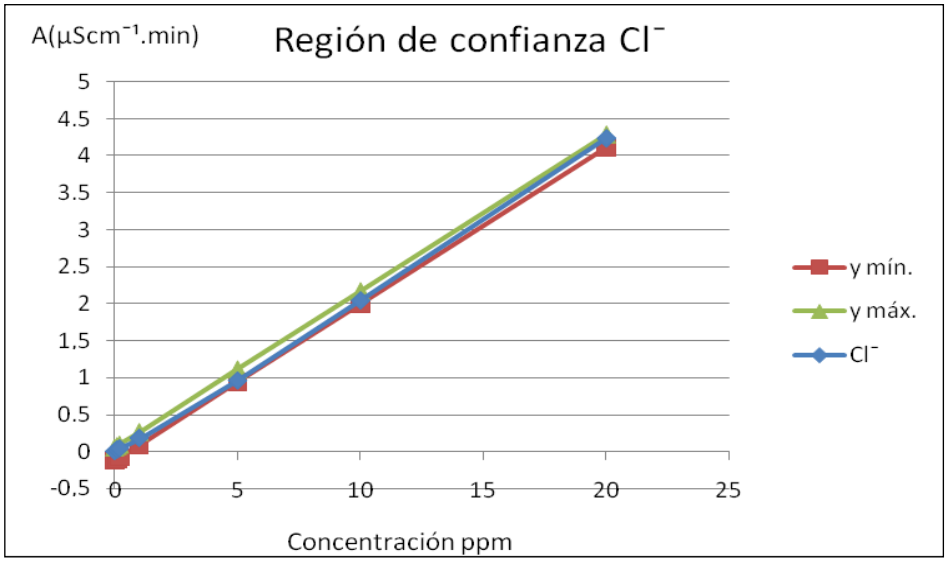
De acuerdo a la Tabla 16 para el intercepto, en el intervalo de sus límites no se encuentra el valor 0, es decir es significativamente diferente de 0, por lo cual el valor de una muestra analizada deberá estar interpolado entre al menos dos estándares uno superior y otro inferior, para evitar el sesgo del método.

Tabla 17. Región de confianza de la recta de calibración de $Cl^-$

| Concentración x (ppm) | y máx. ($\mu Scm^{-1}.min$) | y mín. ($\mu Scm^{-1}.min$) |
|---|---|---|
| 0 | 0.05841 | -0.12056 |
| 0.1 | 0.07958 | -0.09940 |
| 0.2 | 0.10074 | -0.07823 |
| 1 | 0.27004 | 0.09106 |
| 5 | 1.11657 | 0.93759 |
| 10 | 2.17473 | 1.99575 |
| 20 | 4.29105 | 4.11207 |

En la Tabla 17 se indica la región en donde se podrían encontrar los valores del estándar $Cl^-$ analizado para su calibración.

En la Gráfica 3 se observa la región de confianza y la recta de $Cl^-$, la cual está dentro del intervalo.




Gráfica 3. Región de confianza para $Cl^-$

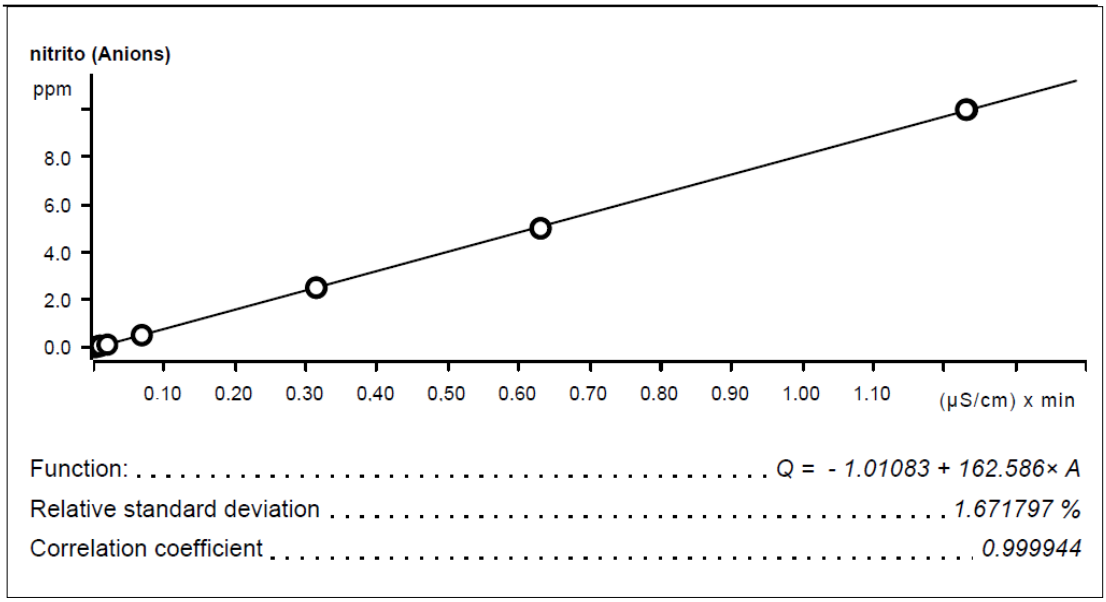
### 4.1.2.2 Anión nitrito $NO_2^-$

Las 7 soluciones con ión $NO_2^-$, fueron analizadas por triplicado cuyos resultados se encuentran registrados en la Tabla 18.

Tabla 18. Concentración de $NO_2^-$, en la mezcla de estándares

| Sample type | Index | Conc. (ppm) | Volume (µl) | Dilution | Sample amount | Área (µScm⁻¹.min) | Ident |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Standard 1 | 1 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 1 | 2 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Agua purificada |
| Standard 1 | 3 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Agua purificada |
| Standard 2 | 1 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.009 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 2 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.009 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 3 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.01 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 1 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.02 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 2 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | n.d | Muestra estándar |
| Standard 3 | 3 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | n.d | Muestra estándar |
| Standard 4 | 1 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | n.d | Muestra estándar |
| Standard 4 | 2 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.068 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 3 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.068 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 1 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.315 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 2 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.314 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 3 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.314 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 1 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.631 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 2 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.630 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 3 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.631 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 1 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.231 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 2 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.232 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 3 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.231 | Muestra estándar |

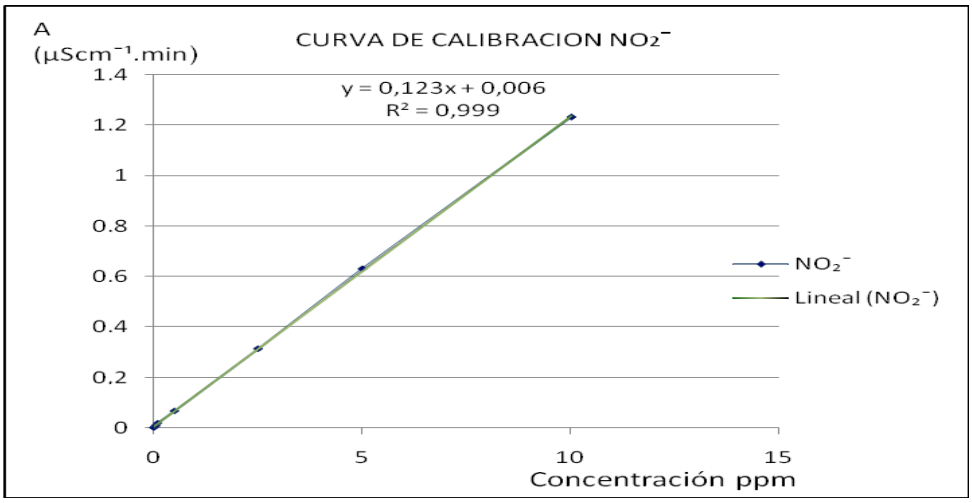
El programa Magic Net facilita la representación de la regresión lineal del ensayo de calibración a través de la recta obtenida de concentración versus área y su linealidad. Asimismo se observa la ecuación de la recta, la desviación estándar relativa de 1.67 % y un coeficiente de correlación muy bueno de 0.9999 por medio de la Gráfica 4.




Gráfica 4. Recta de calibración de $NO_2^-$

### Análisis mediante programa Excel

Con los resultados obtenidos, la ayuda del programa Excel y las fórmulas anteriormente planteadas, se calculan los estadísticos resumidos en la Tabla 19 y se grafica la recta mostrada en la Gráfica 5.




Gráfica 5. Recta de calibración para ión $NO_2^-$, a través del programa Excel

La Tabla 19 presenta entre otros parámetros, los límites de detección y de cuantificación calculados a través del método de mínimos cuadrados para el ion $NO_2^-$; se observa un alto grado de correlación r.

Tabla 19. Resumen de estadísticos, mínimo cuadrados, $NO_2^-$

| Estadístico | Valor |
|---|---|
| m = pendiente | 0.12299 |
| Sm = desviación estándar de la pendiente | 0.00034 |
| R2 = coeficiente de determinación | 0.99987 |
| t de student | 2.13144 |
| L.sup. Región de confianza | 0.01735 |
| L.inf. Región de confianza | -0.00490 |
| Resolución ( concentración) | 0.00081 |
| µresolución | 0.00046 |
| Coeficiente de correlación = r | 0.99993 |
| Lo = intercepto | 0.00622 |
| Slo = desviación estándar del intercepto | 0.00167 |
| Sy,x = Residual | 0.00522 |
| grados de libertad | 15 |
| Límite Detección área | 0.00980 |

| | |
|---|---|
| Límite Detección (concentración) LD | 0.02908 |
| Límite Cuantificación (área) | 0.01735 |
| Límite cuantificación (concentración) LC | 0.09046 |
| Sx,y (concentración) | 0.04244 |

Los límites de detección y de cuantificación se observan en valores muy bajos, LD igual a 0.029 ppm y LC igual a 0.090 ppm, valores que deberán ser comprobados experimentalmente.

Seguidamente se calculan los límites de confianza y de pendiente, lo cual se indica en la Tabla 20.

Tabla 20. Límites de m y Lo, para $NO_2^-$

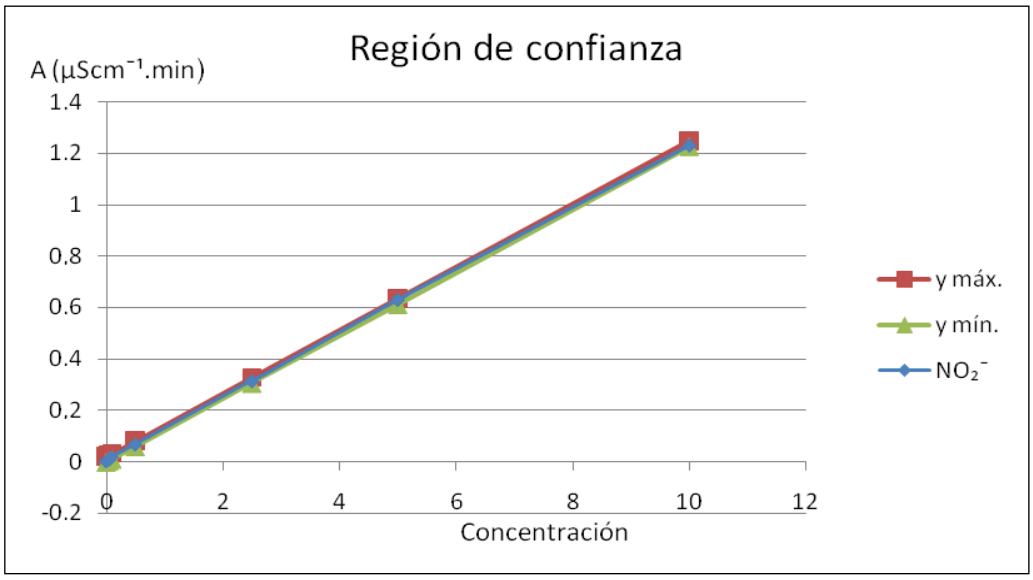
| Límites | Superior | Inferior |
|---|---|---|
| Intervalo de pendiente. m | 0.12374 | 0.12225 |
| Límite de intercepto .Lo | 0.00980 | 0.00264 |
| Región de confianza | 0.01735 | -0.00490 |

De acuerdo a la Tabla 20, el intervalo de la pendiente no muestra el valor 0, lo cual significa que existe diferencia significativa de 0, es decir, existe una correlación lineal. Mientras que en el caso del intercepto el intervalo no incluye este valor, lo cual significa que se deberá interpolar el valor de las muestras entre al menos dos estándares, uno superior y otro inferior para evitar el sesgo del método.

Tabla 21. Región de confianza de la calibración

| Concentración x (ppm) | Y máx. ($\mu Scm^{-1}.min$) | Y mín. ($\mu Scm^{-1}.min$) |
|---|---|---|
| 0 | 0.01735 | -0.00490 |
| 0.05 | 0.02350 | 0.00124 |
| 0.1 | 0.02965 | 0.00739 |
| 0,5 | 0.07885 | 0.05659 |
| 2.5 | 0.32484 | 0.30259 |
| 5 | 0.63234 | 0.61009 |
| 10 | 1.24733 | 1.22508 |

En la Tabla 21 y en la Gráfica 6 están presentados los valores de la región de confianza del ion $NO_2^-$, cuyos valores son relativamente pequeños.



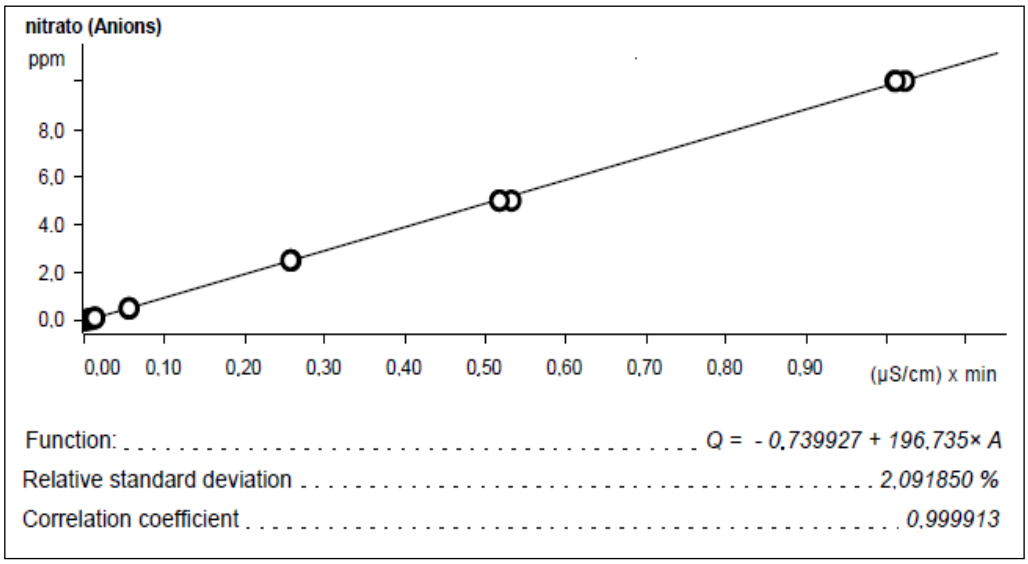

Gráfica 6. Región de confianza de $NO_2^-$

#### 4.1.2.3 Anión nitrato $NO_3^-$

Los resultados mostrados en la Tabla 22 son los obtenidos para el análisis de $NO_3^-$ y es la manera como el programa Magic Net 1 los reporta.

Tabla 22. Concentraciones de Ion $NO_3^-$, en mezcla de estándares

| Sample type | Index | Conc. (ppm) | Volume (µl) | Dilution | Sample amount | Area (µScm⁻¹ .min) | Ident |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Standard 1 | 1 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 1 | 2 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.001 | Agua purificada |
| Standard 1 | 3 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.001 | Agua purificada |
| Standard 2 | 1 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.007 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 2 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.007 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 3 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.008 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 1 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.013 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 2 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.013 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 3 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.013 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 1 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.056 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 2 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.055 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 3 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.056 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 1 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.257 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 2 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.258 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 3 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.257 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 1 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.517 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 2 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.533 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 3 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.518 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 1 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.01 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 2 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.023 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 3 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.012 | Muestra estándar |



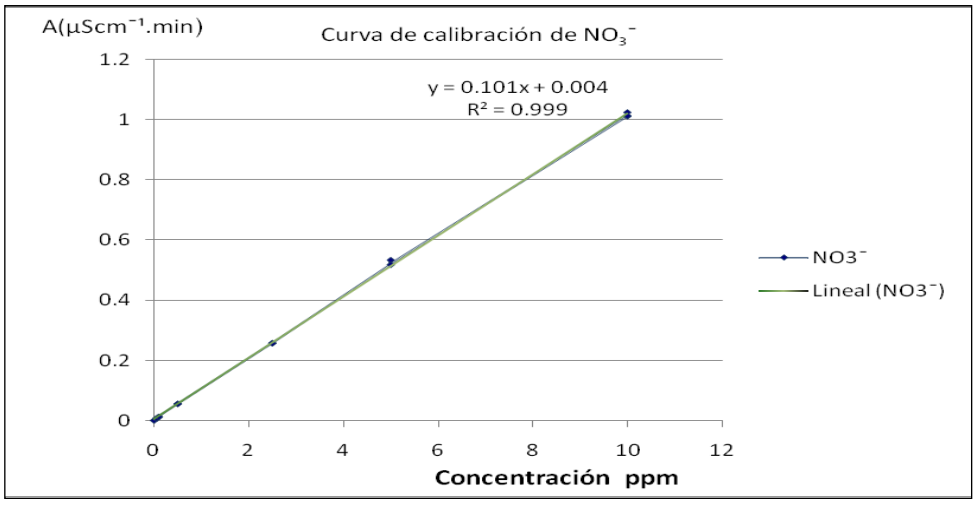

Gráfica 7. Recta de calibración de $NO_3^-$, programa Magic Net

La gráfica de regresión lineal para la calibración y la ecuación de la recta se encuentran representadas en la Gráfica 7, en donde se confronta la concentración versus área, para conocer la existencia de correlación.

El coeficiente de correlación r es alto e igual a 0.9999 lo cual indica una correlación fuerte, la desviación estándar relativa es de 2.09 %, dentro de lo esperado. La ecuación de la recta determinada se exhibe en la Tabla 13.

**Análisis mediante programa Excel**

Con los resultados obtenidos del ion $NO_3^-$, y a través de excel y las fórmulas anteriormente planteadas, se calculan los estadísticos resumidos en la Tabla 23 y se grafica la recta mostrada en la Gráfica 8.




Gráfica 8. Recta de calibración para ion $NO_3^-$, programa Excel

La Tabla 23 presenta además los límites de detección y de cuantificación calculados a través del método de mínimos cuadrados para el ion $NO_3^-$, los cuales son relativamente bajos, adicionalmente se observa una alta correlación entre las variables al observar la Gráfica 8 y por el valor del coeficiente de correlación.

Tabla 23. Resumen de estadísticos, mínimos cuadrados, $NO_3^-$

| Estadístico | Valor |
|---|---|
| m = pendiente | 0.10158 |
| Sm = desviación estándar de la pendiente | 0.00040 |
| R2 = coeficiente de determinación | 0.99971 |
| t de student | 2.10092 |
| L.sup. Región de confianza | 0.01745 |
| L.inf. Región de confianza | -0.00897 |
| Resolución ( concentración) | 0.00098 |
| µresolución | 0.00056 |
| Coeficiente de correlación = r | 0.99985 |
| Lo = intercepto | 0.00424 |
| Slo = desviación estándar del intercepto | 0.00178 |
| Sy,x = Residual | 0.00629 |
| grados de libertad | 18 |
| Límite Detección área | 0.00798 |
| Límite Detección (concentración) LD | 0.03682 |
| Límite Cuantificación (área) | 0.01745 |
| Límite cuantificación (concentración) LC | 0.13010 |
| Sy,x(concentración) | 0.06192 |

Seguidamente se calculan los límites de pendiente, intercepto y confianza, y se grafica la región de confianza, lo cual se indica en la Tablas 24, 25 y en la Gráfica 9.

Tabla 24. Límites de m y Lo, para $NO_3^-$

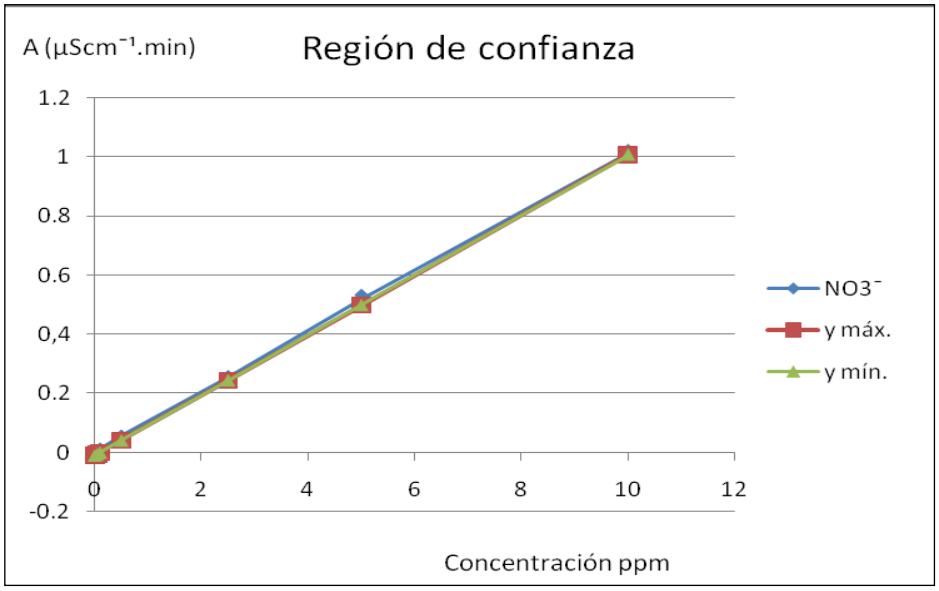
| Límites | Superior | Inferior |
|---|---|---|
| Límite de pendiente m | 0.10242 | 0.10074 |
| Límite de intercepto Lo | 0.00798 | 0.00050 |
| Región de confianza | 0.01745 | -0.00897 |

El intervalo de la pendiente no muestra el valor 0 dentro del mismo, lo cual significa que existe una correlación lineal al existir una diferencia significativa de 0. En el intervalo del intercepto no se encuentra el valor 0, lo cual significa que será necesario interpolar el valor de una muestra entre los valores de al menos dos estándares, uno superior y otro inferior.

Tabla 25. Región de confianza de la calibración, $NO_3^-$

| Concentración x (ppm) | Y máx. ($\mu Scm^{-1}.min$) | Y mín. ($\mu Scm^{-1}.min$) |
|---|---|---|
| 0 | 0.01745 | -0.00897 |
| 0,05 | 0.02253 | -0.00390 |
| 0.1 | 0.02761 | 0.00118 |
| 0.5 | 0.06825 | 0.0418 |
| 2.5 | 0.27141 | 0.24498 |
| 5 | 0.52537 | 0.49893 |
| 10 | 1.03328 | 1.00684 |

Se observa que el intervalo de confianza es relativamente pequeño y la región es presentada en la Gráfica 9.




Gráfica 9. Región de confianza de la recta de calibración, $NO_3^-$

#### 4.1.2.4 Anión fosfato $PO_4^{3-}$

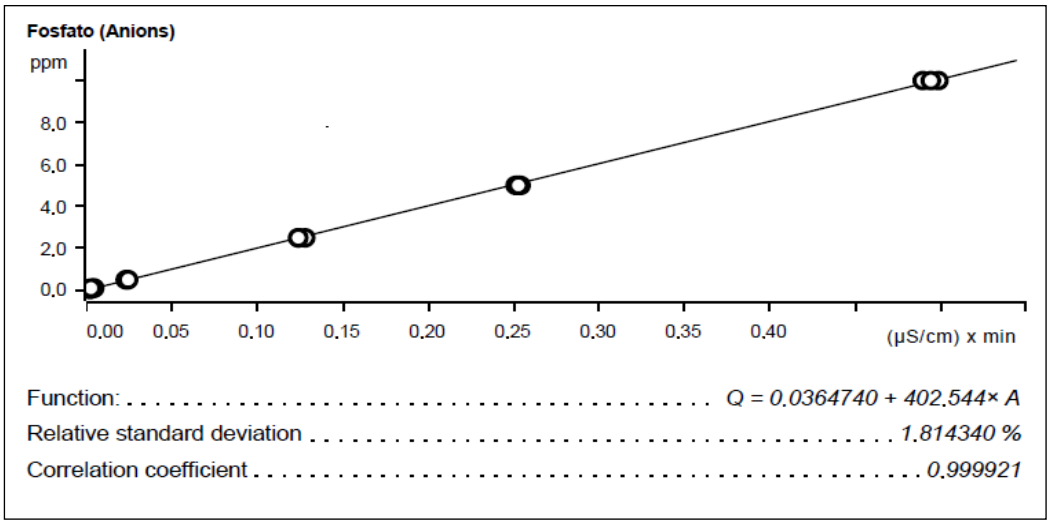
Otro de los aniones presentes en la mezcla de estándares fue el anión $PO_4^{3-}$.

Los resultados se presentan en la Tabla 26 de acuerdo al formato dado por el equipo. Las muestras también fueron analizadas por triplicado.

Tabla 26. Resultados de concentración de ion $PO_4^{3-}$, en la mezcla de estándares

| Sample type | Index | Conc. (ppm) | Volume (µl) | Dilution | Sample amount | Área ($\mu Scm^{-1}$.min) | Ident |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Standard 1 | 1 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 1 | 2 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 1 | 3 | 0 | 20 | 1 | 1 | n.d | Agua purificada |
| Standard 2 | 1 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 2 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 3 | 0.05 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 1 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.004 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 2 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.004 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 3 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 1 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.023 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 2 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.024 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 3 | 0.5 | 20 | 1 | 1 | 0.024 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 1 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.124 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 2 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.128 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 3 | 2.5 | 20 | 1 | 1 | 0.124 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 1 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.251 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 2 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.254 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 3 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.253 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 1 | 10 | 20 | 1 | 1 | 0.49 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 2 | 10 | 20 | 1 | 1 | 0.499 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 3 | 10 | 20 | 1 | 1 | 0.494 | Muestra estándar |

La gráfica de calibración dada por el programa Magic Net se presenta en la Gráfica 10 para el ion $PO_4^{3-}$ con una desviación estándar relativa de 1.814 %, lo cual es un valor aceptable con respecto a 5 % como límite establecido por el laboratorio.



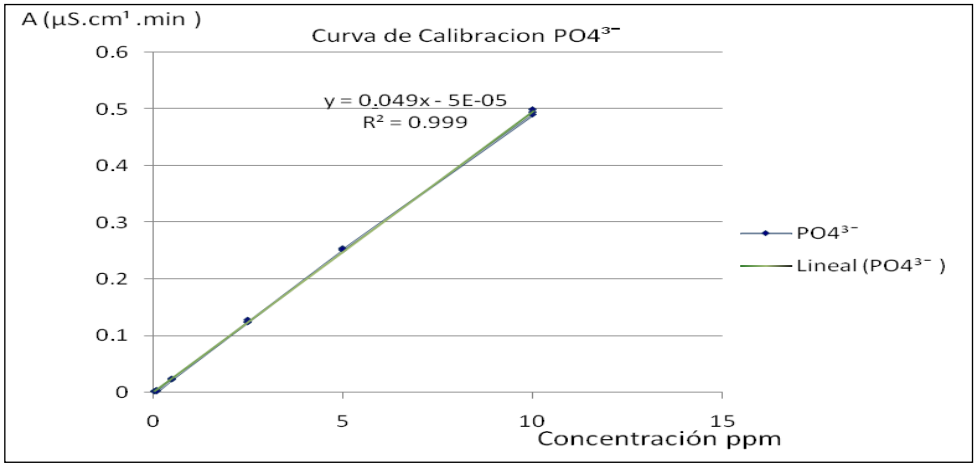

Gráfica 10. Recta de calibración del ión $PO_4^{3-}$

La recta además muestra un alto coeficiente de correlación, r = 0.9999

### Análisis mediante programa Excel

Una vez más se analizan los datos usando el programa Excel, con el fin de corroborar el funcionamiento del programa Magic net y que cuyos resultados no sean productos del azar.

Los resultados obtenidos, a través de regresión lineal y usando las fórmulas anteriormente indicadas, se determinan los estadísticos resumidos en la Tabla 27, adicionalmente se calculan los límites de intercepto, de pendiente, límites de confianza, y se procede a graficar para visualizar mejor su desempeño. Ver Tabla 28 y 29.




Gráfica 11. Recta de calibración para ión $PO_4^{3-}$

El coeficiente de correlación es mostrado tanto en la Gráfica 11 como en la Tabla 27, el mismo que expresa una alta correlación.

Tabla 27. Resumen de estadísticos, por mínimos cuadrados, $PO_4^{3-}$

| Estadístico | Valor |
|---|---|
| m(área/concentración)= Pendiente | 0.04967 |
| Sm (área/concentración)= desviación estándar de la pendiente. | 0.00020 |
| R2 = coeficiente de determinación | 0.99973 |
| t de student | 2.11990 |
| L.sup.Región de confianza | 0.00641 |
| L.inf.Región de confianza | -0.00651 |
| Resolución(concentración) | 0.00201 |
| µresolución | 0.00116 |
| Coeficiente de correlación = r | 0.99986 |
| Lo(área) = intercepto | -5.23E-05 |
| Slo(área)= desviación estándar del intercepto | 0.00094 |

| | |
|---|---|
| Sy,x(área)= Residual | 0.00305 |
| grados de libertad | 16 |
| Límite Detección área | 0.00194 |
| Límite Detección(concentración) LD | 0.04019 |
| Límite Cuantificación (área) | 0.00641 |
| límite cuantificación(concentración)LC | 0.13015 |
| Sy,x(concentración) | 0.06139 |

De acuerdo a la Tabla 28, el intervalo de la pendiente no abarca el valor 0, es decir, la pendiente es significativamente diferente de éste número. El valor del intercepto si abarca el valor 0, lo cual indica que no existe diferencia significativa entre el intercepto y el valor mencionado, es decir, que la ordenada en el origen es estadísticamente igual a 0.

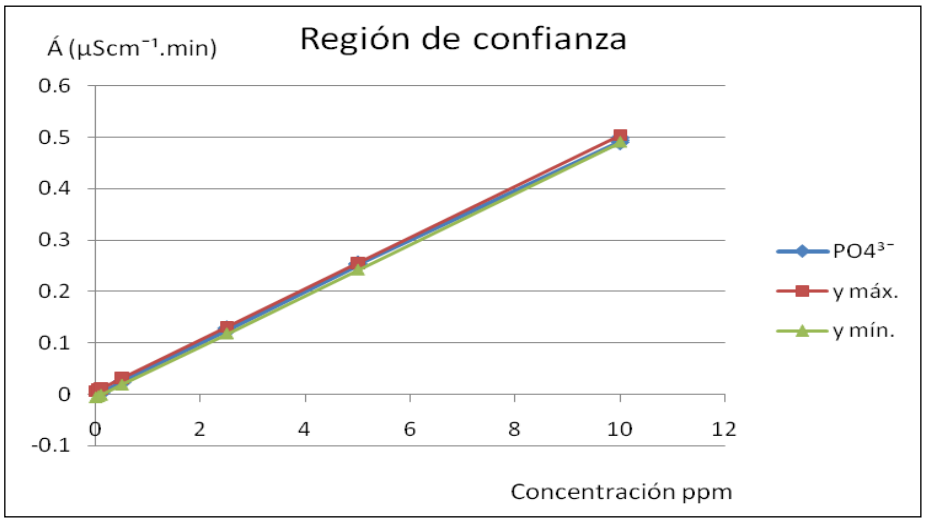
Tabla 28. Límites de m y Lo, para $PO_4^{3-}$

| Límites | Superior | Inferior |
|---|---|---|
| Límite de pendiente m | 0.05010 | 0.04925 |
| Límite de intercepto Lo | 0.00194 | -0.00205 |
| Región de confianza | 0.00641 | -0.00651 |

Los valores de Y máxima (Y máx) y Y mínima (Y mín) que forman la región de confianza de la curva de calibración se exhiben en la Tabla 29 y se representa en la Gráfica 12.

Tabla 29. Región de confianza de la calibración

| Concentración x (ppm) | Y máx. ($\mu Scm^{-1}.min$) | Y mín. ($\mu Scm^{-1}.min$) |
|---|---|---|
| 0 | 0.00641 | -0.00652 |
| 0.05 | 0.00889 | -0.00403 |
| 0.1 | 0.01138 | -0.00155 |
| 0.5 | 0.03125 | 0.01832 |
| 2.5 | 0.13060 | 0.11767 |
| 5 | 0.25480 | 0.24187 |
| 10 | 0.50318 | 0.49025 |




Gráfica 12. Recta de región de confianza, $PO_4^{3-}$

#### 4.1.2.5 Anión sulfato $SO_4^{2-}$

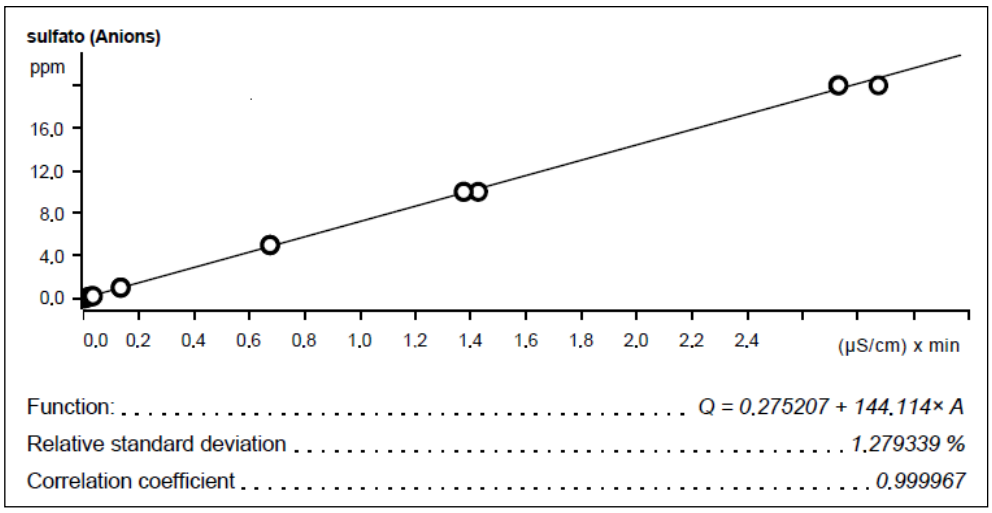
Finalmente el $SO_4^{2-}$, presente en la mezcla de estándares fue analizado por triplicado y los resultados presentados en la Tabla 30.

Tabla 30. Resultados de concentración de ión $SO_4^{2-}$, en la mezcla de estándares

| Sample type | Index | Conc. (ppm) | Volume (µl) | Dilution | Sample amount | Area (µScm⁻¹.min) | Ident |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Standard 1 | 1 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.001 | Agua purificada |
| Standard 1 | 2 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.001 | Agua purificada |
| Standard 1 | 3 | 0 | 20 | 1 | 1 | 0.002 | Agua purificada |
| Standard 2 | 1 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.016 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 2 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.016 | Muestra estándar |
| Standard 2 | 3 | 0.1 | 20 | 1 | 1 | 0.016 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 1 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | 0.03 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 2 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | 0.031 | Muestra estándar |
| Standard 3 | 3 | 0.2 | 20 | 1 | 1 | 0.035 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 1 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.134 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 2 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.135 | Muestra estándar |
| Standard 4 | 3 | 1 | 20 | 1 | 1 | 0.134 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 1 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.674 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 2 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.674 | Muestra estándar |
| Standard 5 | 3 | 5 | 20 | 1 | 1 | 0.674 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 1 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.426 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 2 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.374 | Muestra estándar |
| Standard 6 | 3 | 10 | 20 | 1 | 1 | 1.374 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 1 | 20 | 20 | 1 | 1 | 2.726 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 2 | 20 | 20 | 1 | 1 | 2.728 | Muestra estándar |
| Standard 7 | 3 | 20 | 20 | 1 | 1 | 2.872 | Muestra estándar |

Los resultados se presentan en la Tabla 30 de acuerdo al formato dado por el equipo.

La recta que evidencia la correlación del ion $SO_4^{2-}$ se presenta en la Gráfica 13.



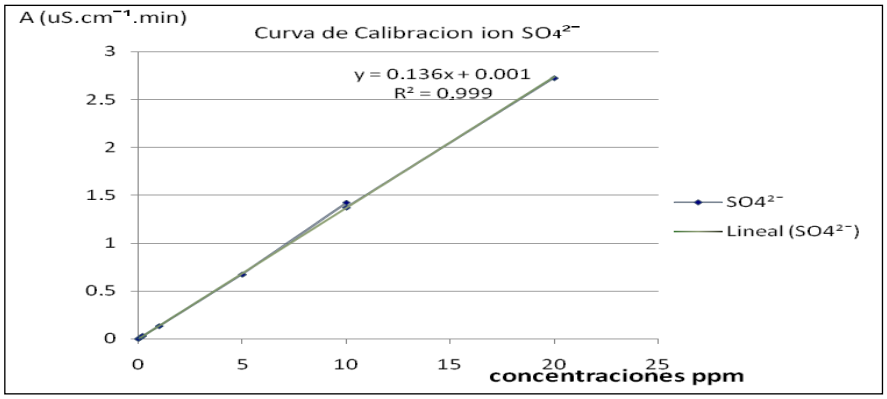

Gráfica 13. Recta de calibración del ion $SO_4^{2-}$

La recta muestra un coeficiente de correlación alto, y una desviación estándar relativa baja de 1.279 comparando con el límite de 5 % establecido por el laboratorio.

### Análisis mediante programa Excel

Para el ión $SO_4^{2-}$ también, se analizan los datos usando el programa Excel, con el fin de corroborar el funcionamiento del programa Magic Net y determinar similitudes entre los dos programas.

Se realiza la ecuación de la recta para visualizar la linealidad y correlación de las variables, representado en la Gráfica 14.




Gráfica 14. Recta de calibración de ión $SO_4^{2-}$

A través de regresión lineal y usando las fórmulas ya establecidas, se determinan los estadísticos resumidos en la Tabla 31.

Tabla 31. Resumen de estadísticos, cuadrados mínimos, $SO_4^{2-}$

| Estadístico | Valor |
|---|---|
| m(área/concentración)= Pendiente | 0.13681 |
| Sm (área/concentración)= desviación estándar de la pendiente. | 0.00052 |
| R2 = coeficiente de determinación | 0.99973 |
| t de student | 2.10092 |
| L.sup.Región de confianza | 0.03300 |
| L.inf.Región de confianza | -0.02917 |
| Resolución(concentración) | 0.00073 |
| µresolución | 0.00042 |
| Coeficiente de correlación = r | 0.99986 |
| Lo(área) = intercepto | 0.00191 |
| Slo(área)= desviación estándar del intercepto | 0.00405 |
| Sy,x(área)= Residual | 0.01479 |
| grados de libertad | 18 |
| Límite Detección área | 0.01044 |
| Límite Detección(concentración) LD | 0.06232 |
| Límite Cuantificación (área) | 0.03300 |
| límite cuantificación(concentración)LC | 0.22723 |
| Sx,y (concentración) | 0.10816 |

Los valores de los límites de intervalo y región de confianza se muestran en las Tablas 32 y 33.

Tabla 32. Límites de m y Lo, $SO_4^{2-}$

| Límites | Superior | Inferior |
|---|---|---|
| Límite de pendiente m | 0.13792 | 0.13570 |
| Límite de intercepto lo | 0.01044 | -0.00661 |
| Región de confianza | 0.03300 | -0.02917 |

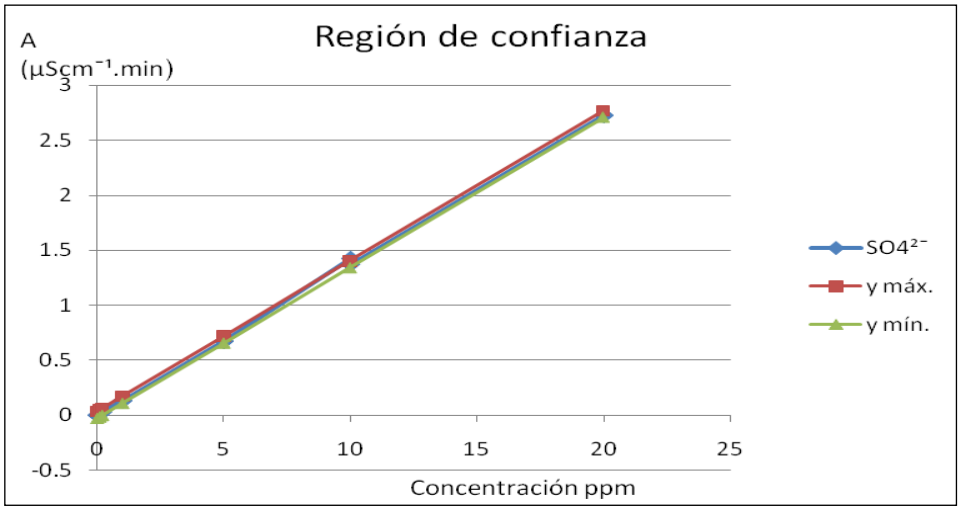
De acuerdo a la Tabla 32, el intervalo de la pendiente no involucra el valor 0, es decir, la pendiente es significativamente diferente de 0, por lo que existe una correlación lineal. El valor del intercepto si abarca el valor 0, lo cual indica que la ordenada en el origen es estadísticamente igual a 0.

La región de confianza de la curva de calibración para $SO42^-$ presenta un rango de 0.062, mayor que la región de confianza de $NO2^-$ y de $PO_4^{3-}$, cuyos valores se muestran en la Tabla 33.

Tabla 33. Región de confianza de la recta de calibración, $SO_4^{2-}$

| Concentración x (ppm) | Y máx. ($\mu Scm^{-1}.min$) | Y mín. ($\mu Scm^{-1}.min$) |
|---|---|---|
| 0 | 0.03300 | -0.02917 |
| 0.1 | 0.04668 | -0.01549 |
| 0.2 | 0.06036 | -0.00181 |
| 1 | 0.16981 | 0.10763 |
| 5 | 0.71707 | 0.65489 |
| 10 | 1.40113 | 1.33895 |
| 20 | 2.76927 | 2.70709 |

Los valores de la región de confianza para cada concentración se representan en la Gráfica 15.




Gráfica 15. Región de confianza de la recta de calibración, $SO_4^{2-}$

Una vez obtenidos los resultados individuales de cada concentración para cada ion y calculada su recta de regresión, se calcula el valor de los residuales. La Tabla 34 muestra los valores residuales de $NO_2^-$, $PO_4^{3-}$ y $NO_3^-$ en cada punto de concentración.

Tabla 34. Tabla de residuales de $NO_2^-$, $PO_4^{3-}$, $NO_3^-$

| Concentración (ppm) | Residual $NO_2^-$ | RESIDUAL $PO_4^{3-}$ | Residual $NO_3^-$ |
|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 | -0.00316 |
| 0 | -0.00422 | 0 | -0.00316 |
| 0 | -0.00422 | -0.00316 | -0.00224 |
| 0.05 | -0.00337 | -0.00316 | -0.00224 |
| 0.05 | -0.00337 | -0.00224 | -0.00124 |
| 0.05 | -0.00237 | -0.00224 | -0.00132 |
| 0.1 | 0.00147 | -0.00124 | -0.00132 |
| 0.1 | 0 | -0.00132 | -0.00132 |
| 0.5 | 0 | -0.00132 | 0.00103 |
| 0.5 | 0.00027 | -0.00132 | 3.6E-05 |
| 0.5 | 0.00027 | 0.00103 | 0.00103 |
| 2.5 | 0.00127 | 3.65919 | -0.00114 |
| 2.5 | 0.00027 | 0.00103 | -0.00014 |
| 2.5 | 0.00027 | -0.00114 | -0.00114 |
| 5 | 0.00978 | -0.00014 | 0.00487 |
| 5 | 0.00878 | -0.00114 | 0.02087 |
| 5 | 0.00978 | 0.00487 | 0.00587 |
| 10 | -0.00520 | 0.02087 | -0.01008 |
| 10 | -0.00420 | 0.00587 | 0.00291 |
| 10 | -0.00520 | -0.01008 | -0.00808 |

Para verificar la validez del modelo de concentraciones, se representan los residuales. Eurachem manifiesta que una distribución de los puntos en forma aleatoria y sin tendencia demuestra la linealidad y esto verificaría la validez del modelo.

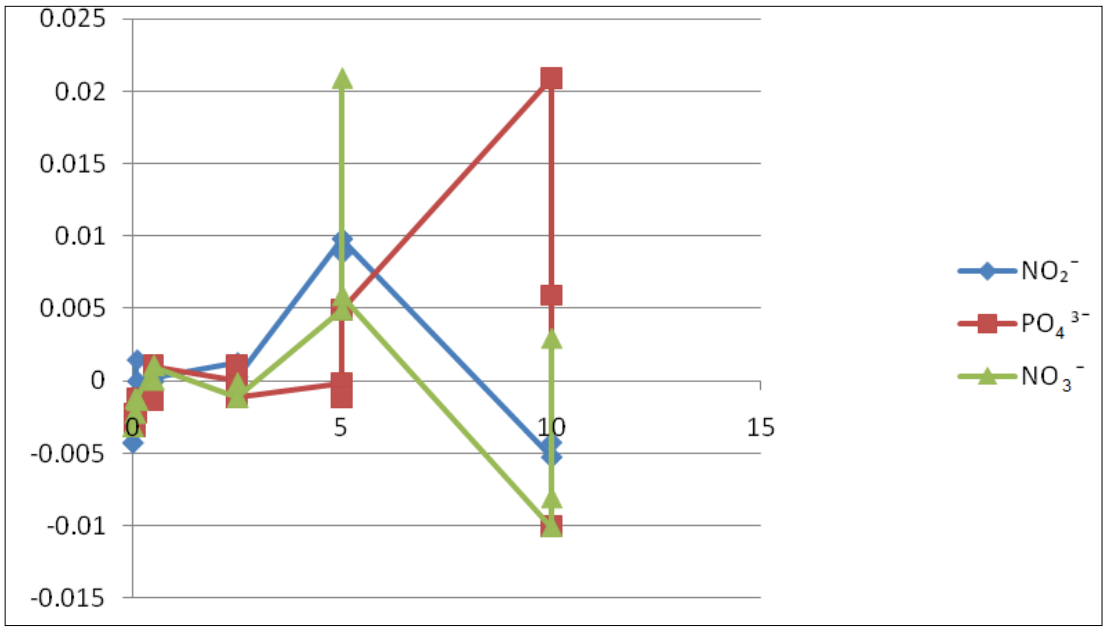
La Tabla 35 muestra los valores residuales de $Cl^-$, $SO_4^{2-}$ en cada punto de concentración.

Tabla 35. Residuales de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$

| Conc. (ppm) | Residual $Cl^-$ | Residual $SO_4^{2-}$ |
|---|---|---|
| 0 | 0.03107 | -0.00091 |
| 0 | 0.03107 | -0.00091 |
| 0 | 0 | 8.6E-05 |
| 0.1 | 0.03190 | 0.00040 |
| 0.1 | 0.03190 | 0.00040 |
| 0.1 | 0.03390 | 0.00040 |

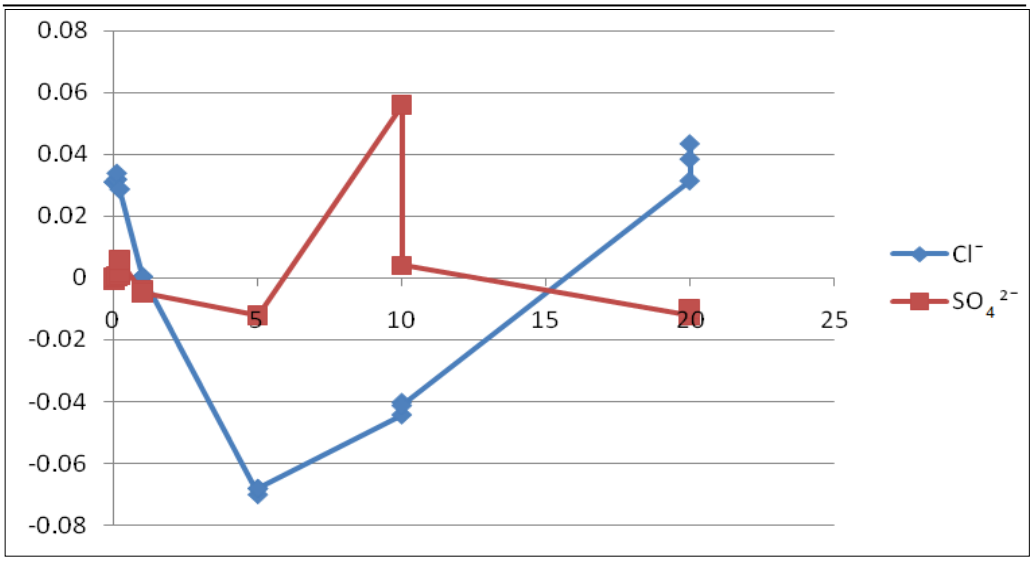
| | | |
|---|---|---|
| 0.2 | 0.02874 | 0.00072 |
| 0.2 | 0.02874 | 0.00172 |
| 1 | 0.00044 | 0.00572 |
| 1 | 0.00044 | -0.00472 |
| 1 | 0.00044 | -0.00372 |
| 5 | -0.07008 | -0.00472 |
| 5 | -0.06808 | -0.01198 |
| 5 | -0.06808 | -0.01198 |
| 10 | -0.04424 | -0.01198 |
| 10 | -0.04024 | 0.05595 |
| 10 | -0.04124 | 0.00395 |
| 20 | 0.03143 | 0.00395 |
| 20 | 0.04343 | -0.01218 |
| 20 | 0.03843 | -0.01018 |

En la Gráfica 16 se muestra los residuales, y se observa la variación de los puntos los cuales no muestran una clara tendencia.




Gráfica 16. Residuales de $NO_2^-$, $PO_4^{3-}$ y $NO_3^-$

La Gráfica 17 muestra los residuales de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$, donde tampoco existe una marcada tendencia.




Gráfica 17. Residuales de $Cl^-$ y $SO_4^{2-}$

Al realizar el test de Cochran, registrados en la Tabla 36 se observa que el valor experimental es menor que el de tabla estandarizada de Cochran, lo cual significa que las varianzas de las concentraciones son homogéneas, es decir el factor de concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

Tabla 36. Resultados del test de Cochran

| Varianza | $Cl^-$ | $SO_4^{2-}$ | $NO_3^-$ | $NO_2^-$ | $PO_4^{3-}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Experimental | 0.4844 | 0.6522 | 0.6313 | 0.7619 | 0.5369 |
| Tabla | 0.6841 | 0.7977 | 0.6841 | 0.7977 | 0.6841 |

Se determina además el % CV del factor de respuesta y se obtienen los resultados indicados den la Tabla 37, los cuales son menores del 5 % a excepción del $Cl^-$ que es 6 %.

Tabla 37. Valores del coeficiente de variación del factor de respuesta

| Parámetro | $Cl^-$ | $SO_4^{2-}$ | $NO_3^-$ | $NO_2^-$ | $PO_4^{3-}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| CV (%) | 6.2774 | 2.3323 | 3.8569 | 3.6430 | 2.9442 |
| Concentración inicial (ppm) | 1 | 1 | 0.300 | 0.300 | 0.300 |

### 4.1.3 Pruebas de precisión

Para ensayar la determinación de precisión, se realizaron varias soluciones estándares y así obtener diversas concentraciones de los siguientes aniones: $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$ con el objeto de realizar repetibilidad instrumental, repetibilidad intermedia y repetibilidad del método.

### 4.1.3.1 Repetibilidad instrumental

Se toma una alícuota de una misma solución estándar de 4.5 ppm $Cl^-$, 2.5 ppm $NO_2^-$, 2.5 ppm $NO_3^-$, 2.5 ppm $PO_4^{3-}$ y 5 ppm $SO_4^{2-}$, y se analiza 7 veces en el equipo CI.

Se obtiene el cromatograma mostrado en la gráfica 18, en donde se observa la repetibilidad de los picos, es decir lecturas muy similares.

El orden de elución de los aniones en ésta columna siempre será el mismo, empieza el $Cl^-$, el $NO_2^-$, luego $NO_3^-$, seguidamente $PO_4^{3-}$ y por último $SO_4^{2-}$.

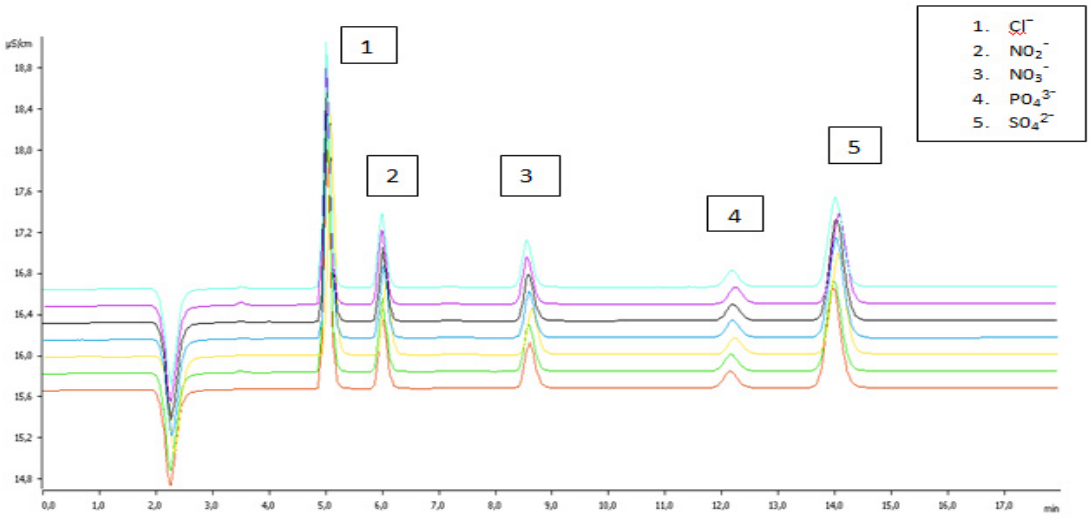



Ilustración 13. Cromatograma para repetibilidad Instrumental

Los valores obtenidos del análisis cromatográfico se indican en la Tabla 38, donde se muestra su mínima desviación estándar, el promedio obtenido y un % CV totalmente aceptable, es decir el equipo no presenta variaciones importantes en las determinaciones, por lo tanto el equipo está en óptimas condiciones de trabajo.

Tabla 38. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 4.5 y 2.5 pm

| Lecturas | Concentración en mezcla de estándar (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| | 4,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 4,5 |
| lecturas 1 | 4.393 | 2.466 | 2.426 | 2.424 | 4.489 |
| lecturas 2 | 4.396 | 2.469 | 2.429 | 2.429 | 4.480 |
| lecturas 3 | 4.397 | 2.472 | 2.436 | 2.422 | 4.489 |
| lecturas 4 | 4.427 | 2.499 | 2.459 | 2.404 | 4.473 |
| lecturas 5 | 4.440 | 2.493 | 2.463 | 2.430 | 4.530 |
| lecturas 6 | 4.443 | 2.497 | 2.467 | 2.435 | 4.520 |
| lecturas 7 | 4.443 | 2.499 | 2.474 | 2.428 | 4.529 |

| | Resultados | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| media | 4.420 | 2.485 | 2.451 | 2.425 | 4.501 |
| desv. estándar | 0.024 | 0.015 | 0.020 | 0.010 | 0.024 |
| %CV | 0.534 | 0.612 | 0.803 | 0.412 | 0.536 |

### 4.1.3.2 Precisión intermedia

Se preparan 4 soluciones estándares cuyas concentraciones son 10 ppm $Cl^-$, 5 ppm $NO_2^-$, 5 ppm $NO_3^-$, 5 ppm $PO_4^{3-}$ y 10 ppm $SO_4^{2-}$ y se analizan en el equipo CI.

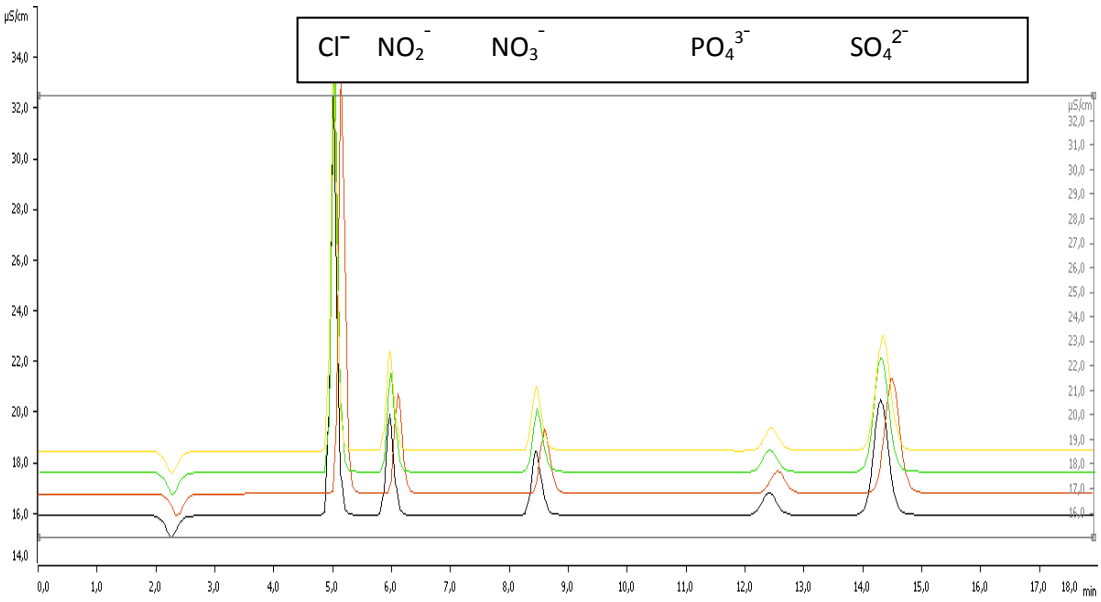



Ilustración 14. Cromatograma de precisión intermedia

Los cromatogramas de las inyecciones efectuadas, se indica en la Ilustración 14, y se observa repetibilidad en la elución ya que los tiempos y concentraciones son similares; y por ello se calcula la dispersión de los resultados o desviación estándar.

En la Tabla 39 se registran los resultados de éstas inyecciones, cuyos valores de desviación estándar y % CV son aceptables.

Tabla 39. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 10 y 5 ppm

| | Concentración en mezcla de estándares ( ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Lecturas | $Cl^-$ 10 | $NO_2^-$ 5 | $NO_3^-$, 5 | $PO_4^{3-}$ 5 | $SO_4^{2-}$ 10 |
| lecturas 1 | 9.850 | 4.980 | 5.038 | 5.293 | 9.974 |
| lecturas 2 | 9.912 | 4.986 | 5.030 | 5.393 | 9.997 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| lecturas 3 | 9.847 | 4.988 | 5.037 | 5.103 | 9.971 |
| lecturas 4 | 9.875 | 4.986 | 5.040 | 5.277 | 9.996 |
| | | | Resultados | | |
| media | 9.8710 | 4.9850 | 5.0363 | 5.2665 | 9.9845 |
| desv. estándar | 0.0301 | 0.0035 | 0.0043 | 0.1205 | 0.0139 |
| %CV | 0.3047 | 0.0695 | 0.0864 | 2.2877 | 0.1394 |

Para la aceptación de los resultados de % CV se considera el criterio planteado por Rando y Valderrama (2010) que indica lo siguiente:

- Para concentraciones comprendidas LC ≤ X <10·LC se acepta un valor límite de % CV ≤ 15 %.

- Para concentraciones comprendidas 10·LC ≤ X <20·LC se acepta un valor límite de % CV ≤ 10 %.

- Para concentraciones comprendidas 20·LC ≤ X se acepta un valor límite de % CV ≤ 5 %.

Y AOAC (2002) se vale de la siguiente ecuación en función de la concentración del analito. De ésta manera para análisis en concentraciones de 10 ppm el % CV aceptable es hasta 6 % y para concentraciones de 1 ppm se acepta hasta un valor de 8 % de % CV.

$$\%CV = C^{-0.15}$$

C = Concentración

De acuerdo a lo anterior, se calcula el valor aceptable de % CV, tomando como límites de cuantificación los valores obtenidos en la recta de calibración a través de cuadrados mínimos, se obtiene para cada uno de los iones un valor de 5 % de CV, lo cual se puede observar en la Tabla 40.

Tabla 40. % CV de los aniones para análisis de repetibilidad

| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$, | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| LC (ppm) | 0.4 | 0.09 | 0.13 | 0.13 | 0.23 |
| LC*20 (ppm) | 8 | 1.8 | 2.6 | 2.6 | 4.6 |
| X | 10 | 5 | 5 | 5 | 10 |
| CV % Aceptado | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

Según los resultados registrados en la Tabla 39 el % CV es menor de lo estipulado en la Tabla 40, lo cual significa que la repetibilidad está controlada o es conforme.

Al día siguiente, se prepararon 4 nuevas soluciones estándar, que contienen 10 ppm $Cl^-$, 5 ppm $NO_2^-$, 5 ppm $NO_3^-$, 5 ppm $PO_4^{3-}$, y 10 ppm $SO_4^{2-}$, se analizan y se obtienen los resultados indicados en la Tabla 41.

Tabla 41. Concentraciones para ensayo de repetibilidad 10 y 5 (ppm)

| | Concentración en mezcla de estándares ( ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Lecturas | $Cl^-$ 10 | $NO_2^-$ 5 | $NO_3^-$, 5 | $PO_4^{3-}$ 5 | $SO_4^{2-}$ 10 |
| lecturas 1 | 9.294 | 4.808 | 4.849 | 4.728 | 9.749 |
| lecturas 2 | 9.367 | 4.903 | 4.978 | 4.773 | 9.868 |
| lecturas 3 | 9.389 | 4.903 | 4.972 | 4.845 | 9.873 |
| lecturas 4 | 9.406 | 4.895 | 4.995 | 4.966 | 9.905 |
| | Resultados | | | | |
| media | 9.3873 | 4.9003 | 4.9817 | 4.8613 | 9.8820 |
| desv. estándar | 0.0196 | 0.0046 | 0.0119 | 0.0975 | 0.0201 |
| %CV | 0.2083 | 0.0943 | 0.2395 | 2.0063 | 0.2031 |

Los resultados obtenidos de media, desviación estándar y % CV son aceptables para el análisis con un valor menor del 5 %.

Para obtener un resultado de precisión intermedia, se calcula el contenido de cada anión y su coeficiente de variación junto con el coeficiente de variación de los 8 resultados. Ver Tabla 42.

Tabla 42. Concentraciones para análisis de precisión intermedia

| Descripción | Concentración en mezcla de estándares ( ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Concentración teórica | $Cl^-$ 10 | $NO_2^-$ 5 | $NO_3^-$ 5 | $PO_4^{3-}$ 5 | $SO_4^{2-}$ 10 |
| lecturas 1 | 9.294 | 4.808 | 4.849 | 4.728 | 9.749 |
| lecturas 2 | 9.367 | 4.903 | 4.978 | 4.773 | 9.868 |
| lecturas 3 | 9.389 | 4.903 | 4.972 | 4.845 | 9.873 |
| lecturas 4 | 9.406 | 4.895 | 4.995 | 4.966 | 9.905 |
| lecturas 1 | 9.850 | 4.980 | 5.038 | 5.293 | 9.974 |
| lecturas 2 | 9.912 | 4.986 | 5.030 | 5.393 | 9.997 |
| lecturas 3 | 9.847 | 4.988 | 5.037 | 5.103 | 9.971 |
| lecturas 4 | 9.875 | 4.986 | 5.040 | 5.277 | 9.996 |
| | Resultados | | | | |
| media | 9.6175 | 4.9311 | 4.9924 | 5.0473 | 9.9166 |
| desv. estándar | 0.2736 | 0.0046 | 0.0119 | 0.0975 | 0.0201 |
| % CV | 2.8451 | 0.0937 | 0.2390 | 1.9324 | 0.2024 |

El resultado obtenido de % CV del análisis de los 2 días para precisión intermedia es aceptable ya que es menor al 5 % tomado como base. La Tabla 42 muestra los valores de % CV de la precisión intermedia.

Tabla 43. % CV de los aniones para precisión intermedia

| N= 8 | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$, | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Media | 9.6175 | 4.9311 | 4.9924 | 5.0473 | 9.9166 |
| CV % obtenido | 2.8451 | 0.0937 | 0.2390 | 1.9324 | 0.2024 |
| CV% Aceptado | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

Con los resultados obtenidos de repetibilidad y precisión intermedia, se concluye que el método es preciso dentro de las concentraciones estudiadas e independientemente del día y del analista.

#### 4.1.3.3 Repetibilidad del método

Se realiza el ensayo sobre 4 nuevas soluciones preparadas desde un inicio, es decir secar las sales, pesar, aforar y diluir hasta obtener las concentraciones de 5 ppm $Cl^-$, 2.5 ppm $NO_2^-$ , 2.5 ppm $NO_3^-$, 2.5 ppm $PO_4^{3-}$, y 5 ppm $SO_4^{2-}$. Para éste ensayo se usa el mismo instrumento y realiza el mismo analista.

La Tabla 44 recoge los resultados del ensayo.

Tabla 44. Resultado de concentraciones, repetibilidad del método

| Lecturas | $Cl^-$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) | $NO_3^-$, (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Lectura 1 | 4.427 | 2.499 | 2.459 | 2.404 | 4.473 |
| Lectura 2 | 4.440 | 2.493 | 2.463 | 2.430 | 4.530 |
| Lectura 3 | 4.443 | 2.497 | 2.467 | 2.435 | 4.520 |
| Lectura 4 | 4.443 | 2.499 | 2.474 | 2.428 | 4.529 |

Los resultados de media, desviación estándar y % CV menor al 5 % son aceptables para el análisis de repetibilidad.

Tabla 45. Resultados de análisis de repetibilidad del método

| Descripción | Concentración en mezcla de estándares ( ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Concentración teórica | 5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 5 |
| lecturas 1 | 4.427 | 2.499 | 2.459 | 2.404 | 4.473 |
| lecturas 2 | 4.440 | 2.493 | 2.463 | 2.430 | 4.530 |
| lecturas 3 | 4.443 | 2.497 | 2.467 | 2.435 | 4.520 |
| lecturas 4 | 4.443 | 2.499 | 2.474 | 2.428 | 4.529 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 4.4367 | 2.4963 | 2.4630 | 2.4230 | 4.5077 |
| Desv. estándar | 0.0076 | 0.0028 | 0.0064 | 0.0138 | 0.0270 |
| %CV | 0.1720 | 0.1133 | 0.2597 | 0.5703 | 0.5999 |

La Ilustración 15 muestra el cromatograma de cada muestra, en donde se observa la homogeneidad de picos para cada anión.

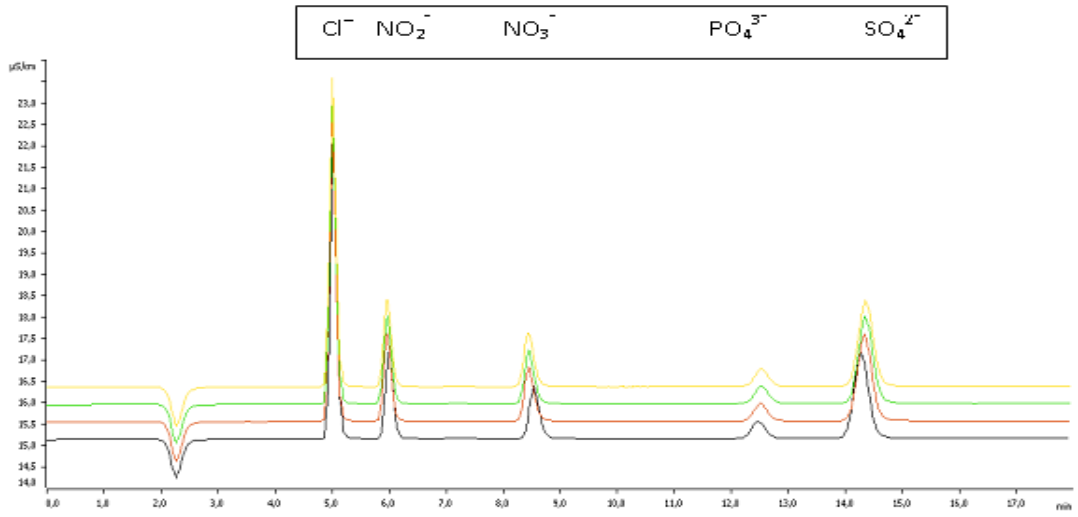



Ilustración 15. Cromatograma de repetibilidad de método

De acuerdo al valor de % CV y analizando los cromatogramas, existe repetibilidad aceptable del método.

### 4.1.4 Exactitud

#### 4.1.4.1 Resultados exactitud

Generalmente se deberían preparar muestras con los iones de ensayo $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$,y $SO_4^{2-}$ de manera que contengan el 80, 100 y 120 % del valor teórico

o esperado del analito; al no conocer los valores de la muestra del río, los valores a ensayar estarían dentro del rango de calibración.

El ensayo de exactitud consiste en el análisis de varias soluciones de concentración conocida, análisis de muestras del agua de río, adiciones de estándar a las muestras de agua de río, ensayo de un material de referencia certificado MRC y los análisis de recuperación de cada muestra analizada.

#### 4.1.4.1.1 Análisis de concentraciones conocidas

Para evaluar la recuperación se prepara soluciones con aniones de concentración conocidas, para ello se preparan soluciones estándar siguiendo el mismo procedimiento indicado en la preparación de estándares para obtener concentraciones de 1 ppm $Cl^-$, 1 ppm $NO_2^-$, 1 ppm $NO_3^-$, 1 ppm $PO_4^{3-}$,y 1 ppm $SO_4^{2-}$. Se analizan las muestras y se obtienen los valores presentados en la Tabla 46.

La Tabla 46 registra los resultados del análisis y el cálculo de la media, desviación estándar, % CV y % de recuperación aceptables, siendo el valor más alto de 103 % para el $SO_4^{2-}$ y la menor recuperación de 96.61 % para $NO_3^-$.

Tabla 46. Resultados de análisis de muestras estándar con 1 ppm de aniones

| Lecturas | Concentración teórica y de lectura (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ 1 | $NO_2^-$ 1 | $NO_3^-$ 1 | $PO_4^{3-}$ 1 | $SO_4^{2-}$ 1 |
| Lectura 1 | 1.018 | 0.953 | 0.949 | 0.952 | 1.015 |
| Lectura2 | 1.002 | 0.953 | 0.961 | 0.983 | 1.012 |
| Lectura3 | 1.013 | 0.971 | 0.965 | 0.971 | 1.021 |
| Lectura4 | 1.022 | 0.973 | 0.966 | 1.001 | 1.029 |
| Lectura5 | 1.020 | 0.977 | 0.968 | 0.991 | 1.028 |
| Lectura6 | 1.029 | - | - | - | 1.044 |
| Lectura7 | 1.035 | - | - | - | 1.048 |
| Lectura8 | 1.037 | - | - | - | 1.049 |
| Lectura9 | 1.038 | 0.973 | 0.976 | 0.999 | 1.037 |
| Lectura10 | 1.033 | 0.970 | 0.976 | 0.995 | 1.035 |
| Lectura11 | 1.050 | 0.963 | 0.968 | 0.983 | 1.047 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 1.027 | 0.967 | 0.966 | 0.984 | 1.033 |
| Desv. estándar | 0.0135 | 0.0093 | 0.0086 | 0.0164 | 0.0133 |
| %CV | 1.3172 | 0.9609 | 0.8946 | 1.6639 | 1.2868 |
| %recuperación | 102.70 | 96.66 | 96.61 | 98.44 | 103.32 |

Al siguiente día se prepara soluciones estándar conteniendo 2 ppm de concentración de los aniones $Cl^-$, $SO_4^{2-}$, $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$, se analizan y se calcula la media, desviación estándar y % CV.

Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 47, donde se observa que los resultados de % CV son menores a lo esperado en el $Cl^-$ y en el $SO_4^{2-}$, pero mayor al 5 % del % CV en $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$, debido a los valores leídos del análisis de la solución 5.

Tabla 47. Resultados de análisis de muestras con 2 ppm de cada anión

| | Concentración teórica y de lectura(ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lecturas | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| lecturas 1 | 1.954 | 1.905 | 1.921 | 2.029 | - |
| lecturas 2 | 1.855 | 1.832 | 1.853 | 2.027 | 2.021 |
| lecturas 3 | 1.853 | 1.849 | 1.879 | 2.020 | 2.136 |
| lecturas 4 | 1.867 | 1.866 | 1.900 | 2.057 | 2.241 |
| lecturas 5 | 1.734 | 1.603 | 1.660 | 1.779 | 2.067 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 1.8873 | 1.8110 | 1.8426 | 1.9824 | 2.1163 |
| Desv. estándar | 0.0784 | 0.1194 | 0.1051 | 0.1146 | 0.0957 |
| %CV | 4.1519 | 6.5921 | 5.7060 | 5.7797 | 4.5201 |
| %recuperación | 94.37 | 90.55 | 92.13 | 99.12 | 105.81 |

Se preparan nuevas soluciones, conteniendo 1.8 ppm $Cl^-$, 1 ppm $NO_2^-$, 1 ppm $NO_3^-$, 1 ppm $PO_4^{3-}$ y 2 ppm de $SO_4^{2-}$, se analizan en el CI. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 48 cuyos resultados de desviación, % CV y recuperación son aceptables.

Tabla 48. Resultados de análisis de muestras con 1.8 ppm de $Cl^-$, 2 de $SO_4^{2-}$ y 1 ppm de $NO_2^-$, 1 ppm de $NO_3^-$ y 1 ppm de $PO_4^{3-}$

| | Concentración teórica y de lectura (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lecturas | 1.8 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| lecturas 1 | 1.893 | 0.930 | 0.998 | 1.065 | 2.183 |
| lecturas 2 | 1.872 | 0.939 | 1.004 | 1,060 | 2.289 |
| lecturas 3 | 1.891 | 0.950 | 1.013 | 1.061 | 2.080 |
| lecturas 4 | 1.872 | 0.939 | 1.000 | 1.048 | 2.296 |
| lecturas 5 | 1.869 | 0.938 | 1.004 | 1.056 | 2.323 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 1.8853 | 0.9392 | 1.0038 | 1.0580 | 2.2342 |
| Desv. estándar | 0.0116 | 0.0071 | 0.0058 | 0.0064 | 0.1014 |
| %CV | 0.6147 | 0.7581 | 0.5740 | 0.6089 | 4.5374 |
| %recuperación | 104.74 | 93.92 | 100.38 | 105.80 | 111.71 |

Se repite el análisis con las concentraciones de 1.8 ppm $Cl^-$, 1 ppm $NO_2^-$, 1 ppm $NO_3^-$, 1 ppm $PO_4^{3-}$ y 2 ppm de $SO_4^{2-}$, cuyos resultados se muestran en la Tabla 49.

Tabla 49. Resultados de análisis con muestras 1.8 ppm de $Cl^-$, 2 de $SO_4^{2-}$ y 1 ppm de $NO_2^-$, 1 ppm de $NO_3^-$ y 1 ppm de $PO_4^{3-}$

| | Concentración teórica y de lectura (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lecturas | 1.8 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| lecturas 1 | 1.875 | 0.939 | 1.006 | 1.049 | 2.319 |
| lecturas 2 | 1.903 | 0.951 | 1.014 | 1.028 | 2.080 |
| lecturas 3 | 1.905 | 0.952 | 1.014 | 1.062 | 2.088 |
| lecturas 4 | 1.916 | 0.947 | 1.017 | 1.051 | 2.084 |
| lecturas 5 | 2.048 | - | - | 1.060 | 2.089 |
| lecturas 6 | 1.898 | 0.951 | 1.016 | 1.059 | 2.089 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 1.8943 | 0.9480 | 1.0134 | 1.0515 | 2.1248 |
| Desv. estándar | 0.0622 | 0.0054 | 0.0043 | 0.0126 | 0.0952 |
| %CV | 3.2813 | 0.5681 | 0.4279 | 1.2011 | 4.4797 |
| %recuperación | 105.241 | 94.8 | 101.34 | 105.15 | 106.242 |

Nuevas soluciones se preparan para obtener concentraciones de 3.6 ppm $Cl^-$, 2 ppm $NO_2^-$, 2 ppm $NO_3^-$, 2 ppm $PO_4^{3-}$ y 4 ppm $SO_4^{2-}$ de concentración. Las muestras se analizan en el equipo CI y sus resultados se encuentran en la Tabla 50, en donde se observa una desviación estándar, % CV y recuperación aceptables.

Tabla 50. Soluciones con 3.6 ppm $Cl^-$, 2 ppm de $NO_2^-$, 2 ppm de $NO_3^-$, 2 ppm de $PO_4^{3-}$ y 4 ppm de $SO_4^{2-}$

| | Concentración teórica y de lectura (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lecturas | 3.6 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| lecturas 1 | 3.306 | 1.86 | 1.862 | 2.032 | 3.806 |
| lecturas 2 | 3.323 | 1.865 | 1.869 | 2.035 | 3.786 |
| lecturas 3 | 3.333 | 1.904 | 1.889 | 2.053 | 3.908 |
| lecturas 4 | 3.328 | 1.868 | 1.873 | 2.007 | 3.940 |
| lecturas 5 | 3.316 | 1.861 | 2.049 | 2.065 | 3.984 |
| lectura 6 | 3.360 | 1.890 | 1.890 | 2.056 | 3.822 |
| lecturas 7 | - | - | - | 2.005 | 3.909 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 3.3207 | 1.8747 | 1.9053 | 2.0361 | 3.8793 |
| Desv. estándar | 0.0184 | 0.0181 | 0.0713 | 0.0236 | 0.0750 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| %CV | 0.5555 | 0.9647 | 3.7397 | 1.1603 | 1.9323 |
| %recuperación | 92.24 | 93.73 | 95.26 | 101.80 | 96.98 |

Se prepara soluciones estándar para obtener concentraciones con mayor cantidad de los aniones investigados, así: 7.5 ppm de $Cl^-$, 3.8 ppm $NO_2^-$, 3.8 ppm $NO_3^-$, 3.8 ppm $PO_4^{3-}$ y 7.6 ppm de $SO_4^{2-}$de concentración. Los valores obtenidos se indican en la Tabla 51 donde se presentan los valores de desviación estándar, % CV y recuperación los cuales son aceptables.

Tabla 51. Resultados de análisis de muestras con 7.5 ppm de Cl; 7.6 ppm de $SO_4^{2-}$ y 3.8 ppm de $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$

| | Concentración teórica y de lectura (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| | 7.5 | 3.8 | 3.8 | 3.8 | 7.6 |
| lecturas 1 | 7.513 | 3.827 | 3.757 | 3.765 | 7.622 |
| lecturas 2 | 7.276 | 3.840 | 3.755 | 3.789 | 7.629 |
| lecturas 3 | 7.273 | 3.842 | 3.754 | 3.847 | 7.638 |
| lecturas 4 | 7.674 | 4.051 | 3.919 | 3.979 | 8.049 |
| lecturas 5 | 7.655 | 4.040 | 3.909 | 3.947 | 8.018 |
| | Resultados | | | | |
| Promedio | 7.4782 | 3.92 | 3.8188 | 3.8654 | 7.7912 |
| Desv. Estándar | 0.1961 | 0.1148 | 0.0870 | 0.0946 | 0.2215 |
| CV% | 2.6221 | 2.9280 | 2.2778 | 2.4481 | 2.8434 |
| % recuperación | 99.70 | 103.15 | 100.49 | 101.72 | 102.51 |

Se incrementan las concentraciones de los aniones para obtener soluciones con 13 ppm $Cl^-$, 7.5 ppm NO2$^-$, 7.5 ppm $NO_3^-$, 7.5 ppm $PO_4^{3-}$ y 15 ppm $SO_4^{2-}$, se analizan 5 muestras y al siguiente día se analizan 6 muestras más.

El cromatograma obtenido se observa en la Ilustración 16, donde se manifiesta que los picos se mantienen en tiempos de retención constantes y orden de elución.

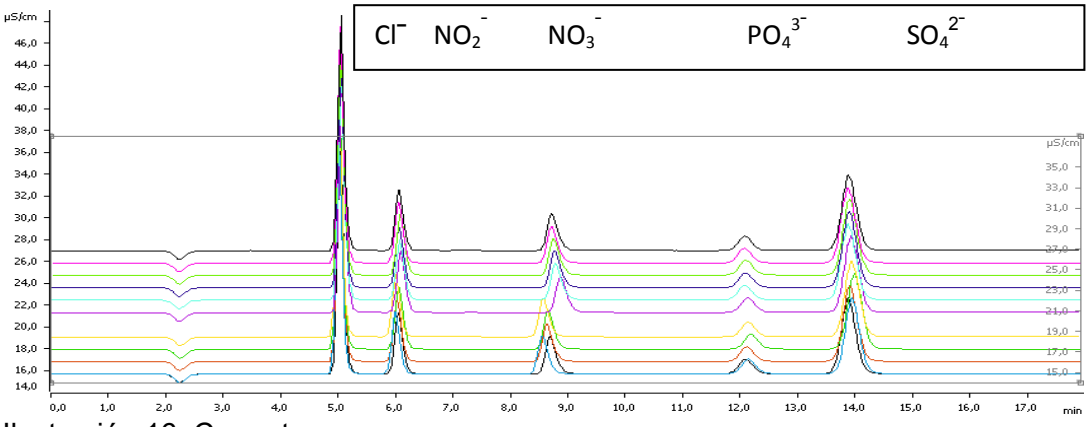



Ilustración 16. Cromatograma

En la Tabla 52 se indican los valores obtenidos, los resultados de desviación estándar, % CV y % de recuperación, valores que son aceptables.

Tabla 52. Soluciones con 13 ppm de $Cl^-$, 7.5 ppm $NO_2^-$, 7.5 ppm $NO_3^-$, 7.5 ppm $PO_4^{3-}$ y 15 ppm $SO_4^{2-}$

| | Concentración en mezcla de estándares ( ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lecturas | 13 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 15 |
| lecturas 1 | 12.509 | 7.255 | 6.930 | 7.572 | 14.296 |
| lecturas 2 | 12.469 | 7.259 | 6.937 | 7.567 | 14.347 |
| lecturas 3 | 12.526 | 7.548 | 7.008 | 7.537 | 14.348 |
| lecturas 4 | 12.515 | 7.263 | 6.949 | 7.578 | 14.558 |
| lecturas 5 | 12.505 | 7.256 | 6.954 | 7.564 | 14.316 |
| lecturas 6 | 12.694 | 7.281 | - | 7.578 | 14.478 |
| lecturas 7 | 12.441 | 7.219 | 6.924 | 7.538 | 14.342 |
| lecturas 8 | 12.507 | 7.214 | 6.930 | 7.549 | 14.361 |
| lecturas 9 | 12.503 | 7.279 | 6.899 | 7.582 | 14.338 |
| lecturas 10 | 12.480 | 7.238 | 6.901 | 7.519 | 14.308 |
| recuras 11 | 12.479 | 7.255 | 6.931 | 7.557 | 14.320 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 12.5116 | 7.2788 | 6.9363 | 7.5583 | 14.3647 |
| Desv. estándar | 0.0652 | 0.0918 | 0.0308 | 0.0203 | 0.0802 |
| %CV | 0.5210 | 1.2607 | 0.4434 | 0.2689 | 0.5584 |
| %recuperación | 96.24 | 97.05 | 92.48 | 100.77 | 95.76 |

**Prueba t de porcentaje de Recuperación**

Con el propósito de verificar que no existe diferencia entre la recuperación media y 100, se realiza una prueba t con ayuda de la siguiente fórmula:

$$texp. = \frac{|100 - X| * \sqrt{n}}{CV}$$

n = número de muestras

Se obtienen los siguientes resultados mostrados en la Tabla 53:

Tabla 53. Resumen de resultados del porcentaje de recuperación

| ítem | $Cl^-$ (%) | $NO_2^-$ (%) | $NO_3^-$, (%) | $PO_4^{3-}$ (%) | $SO_4^{2-}$ (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Recuperación 1 | 102.7 | 96.66 | 96.61 | 98.44 | 103.32 |
| Recuperación2 | 99.71 | 103.16 | 100.49 | 101.72 | 102.52 |
| Recuperación3 | 104.74 | 93.92 | 100.38 | 105.80 | 111.71 |
| Recuperación4 | 105.24 | 94.80 | 101.34 | 105.15 | 106.24 |
| Recuperación5 | 92.24 | 93.73 | 95.26 | 101.80 | 96.98 |
| Recuperación6 | 96.24 | 97.05 | 92.48 | 100.77 | 95.76 |
| | Resultados | | | | |
| Promedio | 100.14 | 96.55 | 97.76 | 102.28 | 102.75 |
| Desv. Estándar | 4.6820 | 3.2105 | 3.2285 | 2.5224 | 5.3993 |
| CV% | 4.6753 | 3.3250 | 3.3024 | 2.4661 | 5.2545 |
| texp. | -0.0759 | 2.5388 | 1.6597 | -2.2659 | -1.2847 |
| tcrít. | 2.5706 | | | | |

Al realizar el análisis de los resultados registrados en la Tabla 53, se observa que t experimental (texp.) es menor que (<) t tcrít., lo cual significa que no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100, por lo tanto la exactitud es conforme.

#### 4.1.4.1.2 Análisis de un Material de Referencia Certificado (MRC)

Para el ensayo de éste procedimiento se usó un Material de Referencia Certificado MRC, llamado PRIMUS Primary Multiion Standars Certificate, el cual es una solución de bromuro ($Br^-$), $Cl^-$, fluoruro ($F^-$), $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$ con una concentración igual para todos los iones de 10 $mg.Kg^{-1}$con una incertidumbre expandida de ± 0.02 $mg.Kg^{-1}$. El certificado se indica en el Anexo 2.

La solución durante su almacenamiento debe permanecer entre 5 °C hasta 30 °C, y debido a la generación de temperaturas mayores a lo establecido en el laboratorio, se lo almacena en un refrigerador a temperaturas entre 8 a 12 °C.

Previo a realizar el análisis, la solución es temperada a lo recomendado y establecido durante la jornada de trabajo que es 22 °C. Esta solución seguidamente es trasvasada a los tubos limpios de polipropileno adecuados para el automuestreador. Se programa el equipo y se corren las muestras 8 veces.

El resultado del análisis se muestra en la Tabla 54 y se calcula su promedio, desviación estándar, % CV y % de recuperación. Se realiza una prueba t para comprobar si existe diferencia significativa o no entre lo indicado en el certificado y el resultado obtenido en el análisis.

Tabla 54. Concentraciones del estándar primario Multi-anión

| Lecturas | Concentración MRC teórica y lectura (ppm) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ (ppm) 10 | $NO_3^-$ (ppm) 10 | $PO_4^{3-}$ (ppm) 10 | $SO_4^{2-}$ (ppm) 10 |
| Lectura 1 | 10.345 | 10.235 | 9.767 | 10.367 |
| Lectura2 | 9.899 | 9.865 | 10.030 | 9.769 |
| Lectura3 | 9.595 | 9.784 | 9.921 | 9.891 |
| Lectura4 | 9.744 | 9.946 | 9.946 | 9.503 |
| Lectura5 | 9.660 | 9.872 | 9.955 | 9.571 |
| Lectura6 | 9.865 | 9.958 | 9.901 | 9.894 |
| Lectura7 | 9.520 | 9.910 | 9.752 | 9.662 |
| Lectura8 | 9.310 | 9.966 | 10.633 | 9.600 |
| | Resultados | | | |
| media | 9.7422 | 9.9420 | 9.9881 | 9.7821 |
| $t_{crít.}$ | 2.3646 | 2.3646 | 2.3646 | 2.3646 |
| desv. estándar | 0.30883 | 0.13283 | 0.27703 | 0.27690 |
| %CV | 3.31719 | 1.33287 | 2.60542 | 2.88435 |
| Nivel de confianza | 0.95 | 0.95 | 0.95 | 0.95 |
| P | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| $t_{exp.}$ | -2.36061 | -1.23499 | -0.12123 | -2.22553 |
| %recuperación | 97.42 | 99.42 | 99.88 | 97.82 |

Al realizar un análisis de los resultados obtenidos, se observa la desviación estándar, el % CV y % de recuperación que están entre los valores aceptables para el método, y se verifica a través de la prueba t, la misma que al ser $t_{exp.}$ menor que $t_{crít.}$, no existe diferencia significativa y por lo tanto la exactitud del método es conforme.

#### 4.1.4.1.3 Adición de estándar a una muestra conocida

Con el objetivo de conocer la existencia o no de efecto matriz, seguidamente se realizan análisis con adición de concentraciones conocidas a una muestra de agua del río Daule

La muestra del río Daule constituye la muestra control, la misma que es homogenizada y dividida en diferentes frascos para su fortificación.

Tabla 55. Resultados de análisis de muestras de agua del río Daule

| | Concentración de muestra de agua río Daule (ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Lecturas | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Lectura 1 | 1.654 | | | 0.355 | 9.105 |
| Lectura 2 | 1.628 | | 0.685 | - | 8.794 |
| Lectura 3 | 1.640 | ND | 0.663 | 0.337 | 8.812 |
| Lectura 4 | 1.601 | | 0.659 | 0.330 | - |
| Lectura 5 | 1.602 | | 0.673 | 0.318 | 8.796 |
| | | | Resultados | | |
| Media | 1.625 | - | 0.670 | 0.335 | 8.8768 |
| Desv. estándar | 0.0233 | - | 0.0116 | 0.0155 | 0.1524 |
| %CV | 1.4366 | - | 1.732 | 4.618 | 1.7166 |

La muestra identificada como control es analizada 5 veces para tener un valor promedio y asumir como valor referencial. En la Tabla 55 se presentan las concentraciones presentes de $Cl^-$, $NO_3^-$, $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$, pero fue No detectable (ND) la concentración de $NO_2^-$.

**Adición 1**

A la muestra control se adiciona 2.25 ppm de $Cl^-$; 1.25ppm de $NO_2^-$, 1.25 ppm de $NO_3^-$, 1.25 ppm $PO_4^{3-}$ y 2.5 ppm de $SO_4^{2-}$.

Tabla 56. Adiciones 1 a la muestra control

| | $Cl^-$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra control | 1.625 | - | 0.670 | 0.325 | 9.155 |
| Fortificación | 2.250 | 1.250 | 1.250 | 1.250 | 2,500 |
| Concentración teórica | 3.875 | 1.250 | 1.920 | 1.575 | 11.655 |
| Lecturas 1 | 3.457 | 1.098 | 1.936 | 1.492 | 11.261 |
| Lecturas 2 | 4.043 | 1.099 | 1.857 | 1.473 | 11.210 |
| Lecturas 3 | 3.714 | 1.107 | 1.834 | 1.482 | 11.241 |
| Lecturas 4 | 3.854 | 1.128 | 1.843 | 1.512 | 11.307 |
| Lecturas 5 | 3.810 | 1.103 | 1.893 | 1.772 | 12.771 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 3.775 | 1.107 | 1.872 | 1.546 | 11.558 |
| Desv. estándar | 0.2146 | 0.0123 | 0.042 | 0.1271 | 0.679 |
| %CV | 5.6826 | 1.1082 | 2.2412 | 8.2173 | 5.8747 |
| %recuperación | 97.43 | 88.56 | 97.53 | 98.12 | 99.16 |

La muestra es mezclada y filtrada a través de los filtros de 0.22 µm e inyectada. Los resultados obtenidos se encuentran tabulados en la Tabla 56, en donde se puede observar que la menor recuperación es para $NO_2^-$ con un 88 % y valores aceptables para los demás.

**Adición 2**

Se sigue el mismo procedimiento anterior y a la muestra control se adiciona 13.52 ppm de $Cl^-$, 7.5 ppm de $NO_2^-$, 7.5 ppm de $NO_3^-$, 7.5 ppm $PO_4^{3-}$ y finalmente 15 ppm de $SO_4^{2-}$.

En la adición segunda se observa que el valor de recuperación del ion $Cl^-$ es menor con un valor de 92.25 %, lo cual está en la Tabla 57.

Tabla 57. Adiciones 2 a la muestra control

| Descripción | $Cl^-$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra control | 1.625 | - | 0.670 | 0.325 | 9.155 |
| Fortificación | 13.520 | 7.500 | 7.500 | 7.500 | 15.000 |
| Concentración teórica | 15.145 | 7.500 | 8.170 | 7.8258 | 24.155 |
| Lecturas 1 | 13.745 | 7.046 | 7.548 | 7.461 | 23.736 |
| Lecturas 2 | - | - | - | 7.738 | 24.173 |
| Lecturas 3 | 14.051 | 7.227 | 7.644 | 7.703 | 24.035 |
| Lecturas 4 | 14.040 | 7.217 | 7.631 | 7.677 | 23.976 |
| Lecturas 5 | 14.052 | 7.231 | 7.639 | 7.679 | 24.068 |
| | | | Resultados | | |
| Media | 13.9720 | 7.1803 | 7.6155 | 7.6516 | 23.9976 |
| Desv. estándar | 0.1514 | 0.0897 | 0.0453 | 0.1094 | 0.1628 |
| % CV | 1.0838 | 1.2492 | 0.5951 | 1.4291 | 0.6784 |
| % recuperación | 92.255 | 95.737 | 93.213 | 97.774 | 99.345 |

El valor de concentración de la matriz y el valor del analito adicionado constituyen el valor teórico, cuya muestra analizada da como resultado el valor experimental. La recuperación relaciona la concentración experimental obtenida frente a la concentración teórica. Esta relación nos indica lo cerca o lejos que está nuestro valor experimental del valor verdadero. Para el caso del ión $Cl^-$ se observa que en el rango de concentraciones estudiado, existe una recuperación del 92 al 97 %. En la Tabla 58 se muestra las recuperaciones de los demás iones, observándose que la exactitud del método en el caso más desfavorable es del 88 %, ya que si la muestra tiene 10 $mg.L^{-1}$ del ión, se podrá recuperar con el método analítico 8.86 $mg.L^{-1}$ de ion nitrito, lo cual deberá ser verificado con ensayos futuros.

Tabla 58. Resumen del porcentaje de recuperación

| Anión | % Recuperación |
|---|---|
| $Cl^-$ | 97.4 – 92.0 |
| $NO_2^-$ | 88.6 – 95.7 |
| $NO_3^-$ | 97.5 – 93.2 |
| $PO_4^{3-}$ | 98.1 – 97.7 |
| $SO_4^{2-}$ | 99.1 – 99.3 |

### 4.1.5 Resultados LD y LC

#### 4.1.5.1 Límite de Cuantificación LC experimental

Para determinar la concentración límite de detección y cuantificación se considera el valor obtenido del cálculo en la recta de calibración de acuerdo a mínimos cuadrados; y su verificación se realiza preparando una solución de igual concentración de $Cl^-$, de $NO_2^-$ de $NO_3^-$, de $PO_4^{3-}$ y $SO_4^{2-}$, de acuerdo a los límites obtenidos según la Tabla 59.

Tabla 59. Límites de detección y de cuantificación

| Patrón | Concentración LD | Concentración LC |
|---|---|---|
| $Cl^-$ | 0.12462 | 0.42285 |
| $NO_2^-$ | 0.02908 | 0.09046 |
| $NO_3^-$ | 0.03682 | 0.13011 |
| $PO_4^{3-}$ | 0.04019 | 0.13015 |
| $SO_4^{2-}$ | 0.06230 | 0.22720 |

Para verificar este LC, se realizan análisis de varias concentraciones hasta que al hacer un test t, se compruebe que el valor $t_{exp.}$ sea menor que el $t_{crít.}$, es decir, hasta que el valor crítico ó de tabla no presente diferencia sigificativa frente al valor experimental.

Los valores obtenidos se presentan en la Tabla LX en donde se observa el resultado de desviación estándar, % CV y recuperación son aceptables; y un valor $t_{exp.}$ menor que $t_{crít.}$, para los límites de cuantificación de 1 ppm para $Cl^-$, 0.300 ppm para $NO_2^-$, 0.300 ppm para $NO_3^-$, 0.300 ppm para $PO_4^{3-}$y 1 ppm de $SO_4^{2-}$, lo cual significa que los valores de las muestras a analizar tendrían validez a partir del límite de cuantificación encontrado.

Tabla 60. Límites de cuantificación

| | Concentración teórica y de lectura(ppm) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| | 1 | 0.300 | 0.3 | 0.3 | 1 |
| Lecturas 1 | 1.013 | 0.321 | 0.318 | 0.335 | 1.025 |
| Lecturas 2 | 1.028 | 0.306 | 0.296 | 0.31 | 1.045 |
| Lecturas 3 | 1.021 | 0.278 | 0.268 | 0.286 | 1.130 |
| Lecturas 4 | 0.988 | 0.306 | 0.299 | 0.302 | 1.026 |
| Lecturas 5 | 1.029 | 0.303 | 0.297 | 0.304 | 1.022 |
| Lecturas 6 | 0.990 | 0.304 | 0.295 | 0.304 | 0.986 |
| Lecturas 7 | 0.998 | 0.304 | 0.297 | 0.296 | 0.978 |
| Lecturas 8 | 1.007 | 0.304 | 0.307 | 0.333 | 1.019 |
| Lecturas 9 | 1.060 | 0.298 | 0.318 | 0.316 | 1.033 |
| Lecturas 10 | 0.990 | 0.288 | 0.302 | 0.298 | 0.980 |
| | Resultados | | | | |
| Media | 1.015 | 0.303 | 0.299 | 0.310 | 1.029 |
| tcrít. | 2.2622 | 2.2622 | 2.2622 | 2.2622 | 2.2622 |
| Desv. estándar | 0.0228 | 0.0115 | 0.0141 | 0.0157 | 0.0438 |
| %CV | 2.2504 | 3.7953 | 4.7019 | 5.0695 | 4.2577 |
| Nivel de confianza | 0.95 | 0.95 | 0.95 | 0.95 | 0.95 |
| P | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| texp. | 2.1 | 0.7 | -0.1 | 1.9 | 2.1 |
| %recuperación | 101.49 | 100.89 | 99.81 | 103.19 | 102.93 |

#### 4.1.5.2 Límite de detección LD experimental

Se preparan varias soluciones hasta una concentración mínima a ser detectada. Se analizan varias muestras y el resultado del límite mínimo de detección LD se indica en la Tabla 61 y su cromatograma se muestra en la Ilustración 17.

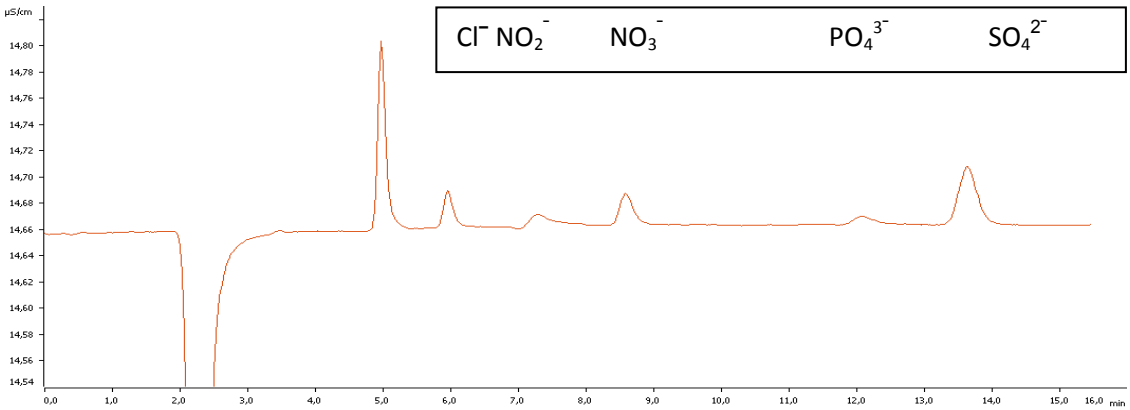



Ilustración 17. Cromatograma LD

Tabla 61. Valores del límite mínimo de detección LD

| $Cl^-$(ppm) | $NO_2^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|
| 0.240 | 0.070 | 0.066 | 0.040 | 0.127 |

### 4.1.6 Resultados de la prueba de adecuabilidad del sistema

La prueba de adecuabilidad del sistema se realiza siempre antes de iniciar el análisis, esto permite verificar que el equipo se encuentra estabilizado. Consiste en la inyección de 6 veces de una misma muestra. Con ello se verifica que el tiempo de retención del analito a determinar permanezca dentro de unos límites de precisión de % CV ≤ 2.0, que la asimetría del pico este entre 0.8 y 1.5 y que los platos teóricos sean superiores a 2 000.

Se inyecta 6 veces una misma muestra, se verifica los valores de tiempo de retención (tr), número de platos teóricos y asimetría.

Tabla 62. Valores del tiempo de retención

| | Tiempo de retención tr(min) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
| Muestra 1 | 5.07 | 6.03 | 8.53 | 12.44 | 14.32 |
| Muestra 2 | 5.01 | 5.97 | 8.48 | 12.46 | 14.33 |
| Muestra 3 | 5.01 | 5.97 | 8.49 | 12.41 | 14.29 |
| Muestra 4 | 5.01 | 6.01 | 8.50 | 12.43 | 14.35 |
| Muestra 5 | 5.06 | 6.02 | 8.52 | 12.46 | 14.34 |
| Muestra 6 | 5.04 | 6.00 | 8.48 | 12.42 | 14.30 |
| | Resultados | | | | |
| media | 5.03 | 6.00 | 8.50 | 12.44 | 14.32 |
| Desv. estándar | 0.027 | 0.025 | 0.021 | 0.020 | 0.023 |
| %CV | 0.543 | 0.422 | 0.247 | 0.166 | 0.162 |

La Tabla 62 muestra los valores del tiempo de retención obtenido, la desviación estándar, la media y adicionalmente el % CV de los tiempos de retención de las muestras analizadas para la prueba de adecuabilidad, cuyo valor es menor a 2 %, por lo tanto pasa la prueba. La Ilustración 18 muestra el cromatograma y la homogeneidad de los tr obtenidos.

Tabla 63. Número de platos teóricos

| Muestra | $Cl^-$ (N) | $NO_2^-$ (N) | $NO_3^-$, (N) | $PO_4^{3-}$ (N) | $SO_4^{2-}$ (N) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 10010 | 9612 | 11311 | 12160 | 14037 |
| Muestra 2 | 10025 | 9614 | 11294 | 12222 | 14165 |
| Muestra 3 | 9972 | 9573 | 11339 | 12181 | 14030 |
| Muestra 4 | 10539 | 9497 | 11468 | 12277 | 13395 |
| Muestra 5 | 10779 | 9695 | 11125 | 12440 | 14494 |
| Muestra 6 | 10660 | 9588 | 11494 | 12269 | 14331 |
| | | | Resultados | | |
| Media | 10330.83 | 9596.50 | 11338.50 | 12258.17 | 14075.33 |
| Desv. estándar | 368.17 | 64.45 | 133.61 | 100.43 | 378.17 |
| %CV | 3.564 | 0.672 | 1.178 | 0.819 | 2.687 |

De acuerdo al requerimiento mencionado anteriormente, es necesario que el número de platos teóricos sea mayor a 2 000, lo cual se cumple al observar el resultado en la Tabla 63.

El valor de asimetría se observa en la Tabla 64 cuyo valor de % CV es menor que 2, por lo cual pasa la prueba.

Tabla 64. Valores de asimetría T

| Muestra | $Cl^-$ | $NO_2^-$ | $NO_3^-$ | $PO_4^{3-}$ | $SO_4^{2-}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 1.176 | 1.169 | 1.222 | 1.083 | 1.067 |
| Muestra 2 | 1.184 | 1.176 | 1.222 | 1.092 | 1.068 |
| Muestra 3 | 1.181 | 1.179 | 1.225 | 1.085 | 1.061 |
| Muestra 4 | 1.149 | 1.179 | 1.246 | 1.085 | 1.059 |
| Muestra 5 | 1.161 | 1.176 | 1.244 | 1.085 | 1.074 |
| Muestra 6 | 1.151 | 1.177 | 1.245 | 1.086 | 1.070 |
| | | | Resultados | | |
| Media | 1.17 | 1.18 | 1.23 | 1.09 | 1.07 |
| Desv. estándar | 0.0154 | 0.0037 | 0.0121 | 0.0030 | 0.0063 |
| %CV | 1.318 | 0.314 | 0.982 | 0.281 | 0.591 |

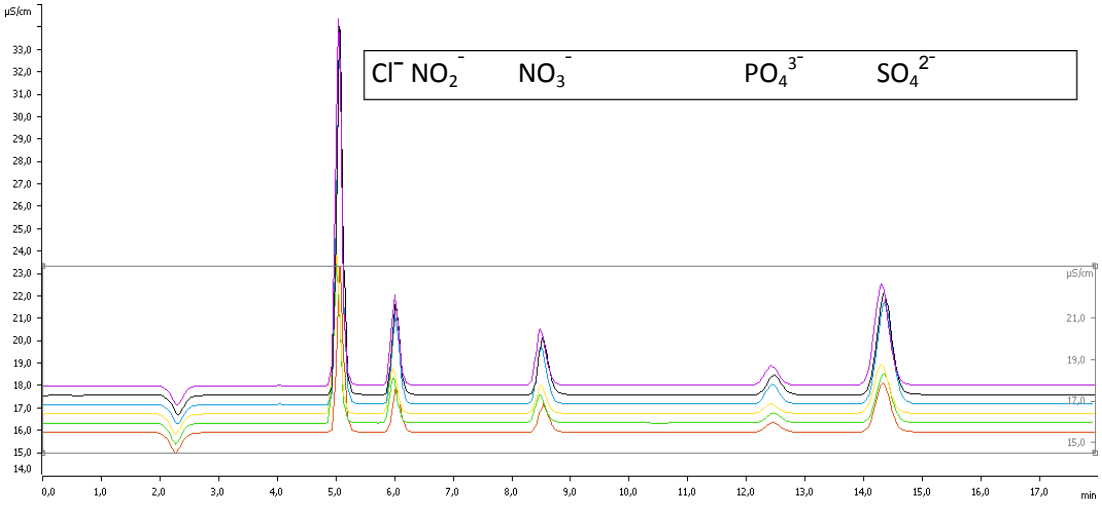



Ilustración 18. Cromatograma de adecuabilidad

Una vez verificado que los valores de la prueba de adecuabilidad del sistema están dentro de los límites establecidos, se inicia el análisis.

Al inicio del análisis se comprueba la no variación del tiempo de retención, del área o concentración durante el tiempo, ya sea por cambio de eluente, cambio de condiciones del laboratorio, de la columna, etc., para ello se deberá pasar un patrón al inicio y al final del análisis y comprobar la lectura del mismo, cuya variación relativa no debe ser superior al 2.0 %.

Según se muestra en la Tabla 65, todos los resultados de variación relativa son inferiores al 2.0 %, por tanto, se puede asegurar que el análisis realizado ha permanecido invariante en el tiempo, concluyendo que los resultados obtenidos a lo largo de toda la analítica son fiables.

Tabla 65. Concentraciones de estándar al inicio y fin de trabajo

| Anión | Estándar Inicial (ppm) | Estándar Final (ppm) | Variación relativa |
|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | 9.793 | 9.871 | 0.800 |
| $NO_2^-$ | 5.077 | 4.985 | 1.806 |
| $NO_3^-$ | 5.103 | 5.036 | 1.302 |
| $PO_4^{3-}$ | 5.103 | 5.198 | 1.862 |
| $SO_4^{2-}$ | 10.038 | 9.985 | 0.530 |

## 4.2 Resultados de análisis realizados en muestras de agua del río Daule

Las muestras de aguas recogidas en el río Daule, analizados a través del método validado por cromatografía iónica, son los indicados en la Tablas 66, 67, 68, 69, 70, 71 y 72.

Tabla 66. Concentración de $Cl^-$ en el río Daule, sector Puente Lucía

| $Cl^-$ (ppm) en río Daule, sector Puente Lucía | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Aguas arriba (A) | | | Aguas abajo (B) | | |
| Hora | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| 9:00 | 2.2390 | 2.3371 | 2.1323 | 2.1920 | 2.1621 | 2.1365 |
| 10:00 | 2.1792 | 2.0896 | 2.1963 | 2.1621 | 2.1280 | 2.1067 |
| 11:00 | 2.1195 | 2.1195 | 2.1195 | 2.1792 | 2.1878 | 2.1749 |
| 12:00 | 2.1835 | 2.1878 | 2.1237 | 2.1280 | 2.0768 | 2.1067 |
| 13:00 | 2.1067 | 2.1024 | 2.1365 | 2.1749 | 2.0853 | 2.1451 |
| 14:00 | 2.1749 | 2.1365 | 2.1451 | 2.1365 | 2.1365 | 2.0939 |
| 9:00 | 2.4438 | 2.4609 | 2.3499 | 2.3798 | 2.3713 | 2.2774 |
| 10:00 | 2.2859 | 2.2731 | 2.2816 | 2.3499 | 2.2859 | 2.3457 |
| 11:00 | 2.3798 | 2.2347 | 2.3286 | 2.2816 | 2.2688 | 2.2603 |
| 12:00 | 2.2560 | 2.2518 | 2.2688 | 2.2518 | 2.2774 | 2.2518 |
| 13:00 | 2.2560 | 2.2560 | 2.4993 | 2.2518 | 2.3627 | 2.2603 |
| 14:00 | 2.2091 | 2.2603 | 2.2859 | 2.3542 | 2.2859 | 2.4652 |

Tabla 67. Concentración de $PO_4^{3-}$ en el río Daule, sector Puente Lucía

| $PO_4^{3-}$ (ppm) en río Daule, sector Puente Lucía | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Aguas arriba (A) | | | Aguas abajo (B) | | |
| Hora | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| 9:00 | 0.3023 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3593 |
| 10:00 | 0.3403 | 0.3783 | 0.4734 | 0.3593 | 0.3593 | 0.3783 |
| 11:00 | 0.3783 | 0.5304 | 0.3973 | 0.3783 | 0.4163 | 0.5875 |
| 12:00 | 0.3593 | 0.5494 | 0.3783 | 0.4163 | 0.2833 | 0.4163 |
| 13:00 | 0.3783 | 0.3783 | 0.3973 | 0.3973 | 0.3783 | 0.3783 |
| 14:00 | 0.3973 | 0.3593 | 0.4354 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3783 |
| 9:00 | 0.3213 | 0.3403 | 0.2833 | 0.2833 | 0.3593 | 0.3593 |
| 10:00 | 0.3213 | 0.3403 | 0.3213 | 0.3213 | 0.3213 | 0.1692 |
| 11:00 | 0.3213 | 0.3213 | 0.3023 | 0.3023 | 0.3213 | 0.3023 |
| 12:00 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3783 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3403 |
| 13:00 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3213 | 0.3403 | 0.2833 | 0.3403 |
| 14:00 | 0.3593 | 0.3593 | 0.3593 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3593 |

Tabla 68. Concentración de $SO_4^{2-}$ en el río Daule, sector Puente Lucía

| | $SO_4^{2-}$ (ppm) en río Daule, sector Puente Lucía | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Aguas arriba (A) | | | Aguas abajo (B) | | |
| Hora | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| 9:00 | 25.1832 | 16.6175 | 16.7051 | 14.8263 | 16.9138 | 11.5670 |
| 10:00 | 11.8229 | 19.365 | 22.9205 | 21.0687 | 16.1529 | 13.4189 |
| 11:00 | 18.1865 | 31.0418 | 19.9104 | 21.4121 | 28.5165 | 26.4626 |
| 12:00 | 34.1125 | 32.4559 | 26.1529 | 23.2707 | 25.6478 | 23.6276 |
| 13:00 | 29.2640 | 33.9172 | 28.2943 | 24.5030 | 24.1461 | 20.1192 |
| 14:00 | 38.8599 | 24.1394 | 31.2438 | 25.0822 | 25.1428 | 19.2774 |
| 9:00 | 18.3549 | 27.8768 | 22.2471 | 12.8801 | 22.2337 | 12.5367 |
| 10:00 | 10.9071 | 10.8195 | 10.7657 | 10.9475 | 10.8532 | 19.7623 |
| 11:00 | 23.2101 | 11.7758 | 11.2034 | 11.3246 | 10.7051 | 11.4391 |
| 12:00 | 11.5737 | 12.5367 | 12.3347 | 11.4458 | 11.9778 | 12.0182 |
| 13:00 | 12.1461 | 13.3852 | 13.062 | 11.6815 | 12.7253 | 12.2673 |
| 14:00 | 11.8094 | 13.6747 | 13.365 | 12.3886 | 13.2505 | 13.0687 |

Tabla 69. Concentración de $NO_3^-$ en el río Daule, sector Puente Lucía

| | $NO_3^-$(ppm) en río Daule, sector Puente Lucía | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Aguas arriba (A) | | | Aguas abajo (B) | | |
| Hora | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| 9:00 | 1.0518 | 1.2736 | 1.2366 | 1.0518 | 1.2551 | 1.4214 |
| 10:00 | 1.4677 | 1.2643 | 1.2551 | 1.0795 | 1.2089 | 1.1627 |
| 11:00 | 1.2089 | 1.6433 | 1.3937 | 1.1996 | 1.2643 | 1.2458 |
| 12:00 | 1.2643 | 1.3013 | 1.2736 | 1.3105 | 1.2643 | 1.3013 |
| 13:00 | 1.2828 | 1.2921 | 1.2551 | 1.2736 | 1.2921 | 1.3013 |
| 14:00 | 1.2828 | 1.2551 | 1.6525 | 1.2643 | 1.2828 | 1.3105 |
| 9:00 | 1.1349 | 1.0980 | 1.0425 | 1.1811 | 1.1442 | 1.3290 |
| 10:00 | 1.3845 | 1.0795 | 1.0702 | 1.0702 | 1.1072 | 1.1072 |
| 11:00 | 1.1442 | 1.0795 | 1.0795 | 1.0055 | 1.1257 | 1.0980 |
| 12:00 | 1.1257 | 1.2089 | 1.1904 | 1.1257 | 1.1719 | 1.1996 |
| 13:00 | 1.2181 | 1.2551 | 0.7652 | 1.1257 | 1.0333 | 1.3290 |
| 14:00 | 1.2570 | 1.2643 | 1.2828 | 1.1996 | 1.2551 | 1.2089 |

Tabla 70. Concentración de aniones en la represa Daule - Peripa

| Muestra | $Cl^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 1.421 | 0.074 | 0.009 | 1.707 | - |
| Muestra 2 | 1.212 | 0.043 | 0.200 | 1.904 | - |
| Muestra3 | 1.164 | 0.042 | 0.006 | 1.571 | - |
| Muestra4 | 1.156 | 0.027 | 0.002 | 1.758 | - |
| Muestra5 | 1.005 | 0.002 | - | 1.710 | - |
| Muestra6 | 0.985 | 0.030 | - | 1.586 | 0.021 |
| Muestra7 | 1.003 | 0.041 | - | 1.550 | - |
| Muestra8 | 1.068 | 0.050 | - | 1.664 | - |
| Muestra9 | 0.859 | 0.148 | - | 1.232 | - |
| Muestra10 | 1.029 | 0.035 | - | 1.605 | - |
| Muestra11 | 1.012 | 0.026 | - | 1.583 | - |
| Muestra12 | 1.057 | 0.050 | 0.001 | 1.663 | - |
| Muestra13 | 1.037 | 0.017 | - | 1.567 | - |
| Muestra14 | 1.014 | 0.025 | - | 1.870 | - |
| Muestra15 | 0.987 | 0.032 | - | 1.531 | - |
| Muestra16 | 1.004 | 0.018 | 0.058 | 1.534 | - |
| Muestra17 | 0.997 | 0.021 | - | 1.624 | - |
| Muestra18 | 1.013 | 0.021 | - | 1.703 | - |
| Muestra 19 | 1.018 | 0.029 | - | 1.559 | - |
| Muestra20 | 1.007 | 0.019 | - | 1.703 | - |
| Muestra21 | 1.149 | 0.235 | 0.027 | 1.559 | - |

Tabla 71. Concentración de aniones, sector Pichincha

| Número | $Cl^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 1.167 | 0.075 | - | 1.626 | - |
| Muestra 2 | 1.177 | 0.069 | 0.006 | 1.640 | - |
| Muestra 3 | - | - | - | 3.073 | - |
| Muestra 4 | 1.193 | 0.068 | 0.004 | 3.228 | - |
| Muestra 5 | 1.171 | 0.069 | - | 3.107 | - |
| Muestra 6 | 1.192 | 0.067 | 0.090 | 3.196 | - |

Tabla 72. Concentración de aniones, sector Puente Lucía

| Muestra | $Cl^-$ (ppm) | $NO_3^-$ (ppm) | $PO_4^{3-}$ (ppm) | $SO_4^{2-}$ (ppm) | $NO_2^-$ (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 3.457 | 0.338 | 0.090 | 3.226 | 0.015 |
| Muestra 2 | 3.811 | 0.376 | 0.105 | 12.337 | 0.020 |
| Muestra 3 | 5.330 | 0.445 | 0.130 | 3.179 | 0.015 |
| Muestra 4 | 5.551 | 0.445 | 0.123 | 13.512 | 0.020 |
| Muestra 5 | 2.907 | 0.294 | 0.158 | 18.583 | 0.023 |
| Muestra 6 | 3.116 | 0.460 | 0.115 | 19.573 | 0.023 |

## 4.3 Análisis estadístico de muestras de agua del río Daule

Cuando existe más de una fuente de variación aleatoria, se usa el ANOVA para separar dichas variación presentes. La prueba F se utiliza para ver si las estimaciones de varianza difieren significativamente al dividir el cuadrado medio de los factores a analizar por el cuadrado medio residual.

Para la calificación de la significancia se considera la siguiente cláusula:

Si el valor calculado de F es mayor que F crítica a una probabilidad P=0.05, la hipótesis nula se rechazará y si F es menor que F crítica a la misma probabilidad, la hipótesis nula se aceptará.

La hipótesis nula será:

Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.
Probabilidad $p \leq 0.05$, indicará que no se rechazará la hipótesis alterna

Probabilidad $p \geq 0.05$, indicará que no se rechazará la hipótesis nula.

Y la manera de comprobar la hipótesis será a través de un Análisis de Varianza, ANOVA, de dos factores con varias muestras por grupo.

### 4.3.1 Análisis estadístico de las muestras de $Cl^-$

#### 4.3.1.1 $Cl^-$. Análisis entre días, aguas arriba

Se realiza el análisis estadístico de los resultados obtenidos para el $Cl^-$, aguas arriba en las 3 primeras estaciones y entre días, para conocer si existe diferencia significativa entre el contenido de nutrientes entre esas fechas.

Tabla 73. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1, D2 y A

| Días | Hora | $Cl^-$ (ppm), en estaciones agua arriba (A) A1 | A2 | A3 |
|---|---|---|---|---|
| D1 | 9:00 | 2.2390 | 2.3371 | 2.1323 |
| | 10:00 | 2.1792 | 2.0896 | 2.1963 |
| | 11:00 | 2.1195 | 2.1195 | 2.1195 |
| | 12:00 | 2.1835 | 2.1878 | 2.1237 |
| | 13:00 | 2.1067 | 2.1024 | 2.1365 |
| | 14:00 | 2.1749 | 2.1365 | 2.1451 |
| D2 | 9:00 | 2.4438 | 2.4609 | 2.3499 |
| | 10:00 | 2.2859 | 2.2731 | 2.2816 |
| | 11:00 | 2.3798 | 2.2347 | 2.3286 |
| | 12:00 | 2.2560 | 2.2518 | 2.2688 |
| | 13:00 | 2.2560 | 2.2560 | 2.4993 |
| | 14:00 | 2.2091 | 2.2603 | 2.2859 |

Se realiza la prueba ANOVA para el ión $Cl^-$ con los datos tabulados en 73, el análisis es entre días y en las 3 primeras estaciones. Se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo expresado en la Tabla 74.

Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 74. ANOVA para ion $Cl^-$, entre días en A

| RESUMEN | A1 | A2 | A3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *D1* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 13.0027 | 12.9728 | 12.8533 | 38.8289 |
| Promedio | 2.1671 | 2.1621 | 2.1422 | 2.1571 |
| Varianza | 0.0023 | 0.0085 | 0.0007 | 0.0035 |
| *D2* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 13.8307 | 13.7368 | 14.0142 | 41.5818 |
| Promedio | 2.3051 | 2.2894 | 2.3357 | 2.3101 |
| Varianza | 0.0078 | 0.0072 | 0.0073 | 0.0069 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 26.8334 | 26.7096 | 26.8676 | |
| Promedio | 2.2361 | 2.2258 | 2.2389 | |
| Varianza | 0.0098 | 0.0115 | 0.0139 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.2105 | 1 | 0.2105 | 37.09 | 1.0E-06 | 4.17 |
| Columnas | 0.0011 | 2 | 0.0005 | 0.101 | 0.9038 | 3.31 |
| Interacción | 0.0075 | 2 | 0.0037 | 0.666 | 0.5207 | 3.31 |
| Dentro del grupo | 0.1702 | 30 | 0.0056 | | | |
| Total | 0.3894 | 35 | | | | |

Según el resultado del ANOVA, F>Fcrít., indicando que las muestras son significativamente diferentes entre D1 y D2, aunque entre una misma estación no existan diferencias significativas y lo confirma la probabilidad. El Ho se rechaza ya que el valor de p es menor de 0.05.

#### 4.3.1.2 $Cl^-$. Análisis entre días, aguas abajo

Parte de los datos de la Tabla 66 son mostrados en la Tabla 75 y sirven para el análisis ANOVA, entre días aguas abajo.

Tabla 75. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1 y D2 en B

| | | $Cl^-$ (ppm), en estaciones aguas abajo (B) | | |
|---|---|---|---|---|
| Días | Hora | B1 | B2 | B3 |
| D1 | 9:00 | 2.1920 | 2.1621 | 2.1365 |
| | 10:00 | 2.1621 | 2.1280 | 2.1067 |
| | 11:00 | 2.1792 | 2.1878 | 2.1749 |
| | 12:00 | 2.1280 | 2.0768 | 2.1067 |
| | 13:00 | 2.1749 | 2.0853 | 2.1451 |
| | 14:00 | 2.1365 | 2.1365 | 2.0939 |
| D2 | 9:00 | 2.3798 | 2.3713 | 2.2774 |
| | 10:00 | 2.3499 | 2.2859 | 2.3457 |
| | 11:00 | 2.2816 | 2.2688 | 2.2603 |
| | 12:00 | 2.2518 | 2.2774 | 2.2518 |
| | 13:00 | 2.2518 | 2.3627 | 2.2603 |
| | 14:00 | 2.3542 | 2.2859 | 2.4652 |

Se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo expresado en la Tabla 76

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 76. ANOVA para ión Cl, entre días en B

| RESUMEN | B1 | B2 | B3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *D1* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | |
| Suma | 12.9728 | 12.7765 | 12.7637 | 38.5131 |
| Promedio | 2.1621 | 2.1294 | 2.1272 | 2.1396 |
| Varianza | 0.0006 | 0.0018 | 0.0009 | 0.0012 |
| *D2* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 13.8691 | 13.8520 | 13.8606 | 41.5818 |
| Promedio | 2.3115 | 2.3086 | 2.3101 | 2.3101 |
| Varianza | 0.0031 | 0.0020 | 0.0069 | 0.0036 |
| *Total* | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 26.8419 | 26.6285 | 26.6243 | |
| Promedio | 2.2368 | 2.2190 | 2.2186 | |
| Varianza | 0.0078 | 0.0105 | 0,0126 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.2615 | 1 | 0.2615 | 100.306 | 4,4E-11 | 4.170 |
| Columnas | 0.0025 | 2 | 0.0012 | 0.494 | 0.6144 | 3.315 |
| Interacción | 0.0020 | 2 | 0.0010 | 0.387 | 0.6818 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.0782 | 30 | 0.0026 | | | |
| Total | 0.3444 | 35 | | | | |

Las muestras del D1 y D2 aguas abajo para el ion $Cl^-$ son significativamente diferentes, ya que el estadístico F calculado es mayor que el crítico, pero entre estaciones se observa que no hay diferencia significativa. La probabilidad lo confirma y Ho se rechaza.

#### 4.3.1.3 $Cl^-$. Análisis entre estaciones, día D1

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 77, para análisis entre estaciones para un mismo día para el ión $Cl^-$.

Tabla 77. Concentraciones de ion $Cl^-$ en D1 en A y B

| | $Cl^-$ (ppm), en día D1, en ambas estaciones | | |
|---|---|---|---|
| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
| A | 2.2390 | 2.3371 | 2.1323 |
| | 2.1792 | 2.0896 | 2.1963 |
| | 2.1195 | 2.1195 | 2.1195 |
| | 2.1835 | 2.1878 | 2.1237 |
| | 2.1067 | 2.1024 | 2.1365 |
| | 2.1749 | 2.1365 | 2.1451 |
| B | 2.1920 | 2.1621 | 2.1365 |
| | 2.1621 | 2.1280 | 2.1067 |
| | 2.1792 | 2.1878 | 2.1749 |
| | 2.1280 | 2.0768 | 2.1067 |
| | 2.1749 | 2.0853 | 2.1451 |
| | 2.1365 | 2.1365 | 2.0939 |

Con los datos de la Tabla 77 se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo mostrado en la Tabla 78:

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 78. ANOVA para ion $Cl^-$, en un mismo día D1, en A y B

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | A | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 130.027 | 129.728 | 128.533 | 388.289 |
| Promedio | 21.671 | 21.621 | 21.422 | 21.571 |
| Varianza | 0.0023 | 0.0085 | 0.0007 | 0.0035 |
| | B | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 129.728 | 127.765 | 127.637 | 385.131 |
| Promedio | 21.621 | 21.294 | 21.272 | 21.396 |
| Varianza | 0.0006 | 0.0018 | 0.0009 | 0.0012 |
| | | | | |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 259.755 | 257.493 | 256.170 | |
| Promedio | 21.646 | 21.457 | 21.347 | |
| Varianza | 0.0013 | 0.0050 | 0.0008 | |

ANALISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.00277 | 1 | 0.0027 | 1.106 | 0.3012 | 4.170 |
| Columnas | 0.00547 | 2 | 0.0027 | 1.093 | 0.3479 | 3.315 |
| Interacción | 0.00118 | 2 | 0.0005 | 0.236 | 0.7907 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.07512 | 30 | 0.0025 | | | |
| Total | 0.08456 | 35 | | | | |

Debido a que el valor F es menor que el valor Fcrít., se concluye que las muestras tomadas en las estaciones A y B para $Cl^-$ en el mismo día D1, no presentan diferencia significativa, lo confirma el valor p y por lo tanto, se acepta Ho.

#### 4.3.1.4 $Cl^-$. Análisis entre estaciones, día D2

Se realiza el análisis de ANOVA con una parte de los datos de la Tabla 66, para análisis entre estaciones para un mismo día D2.

Tabla 79. Concentraciones de ión $Cl^-$ en D2 en A y B

| | $Cl^-$ (ppm), en día D1, en ambas estaciones | | |
|---|---|---|---|
| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
| A | 2.4438 | 2.4609 | 2.3499 |
| | 2.2859 | 2.2731 | 2.2816 |
| | 2.3798 | 2.2347 | 2.3286 |
| | 2.2560 | 2.2518 | 2.2688 |
| | 2.2560 | 2.2560 | 2.4993 |
| | 2.2091 | 2.2603 | 2.2859 |
| B | 2.3798 | 2.3713 | 2.2774 |
| | 2.3499 | 2.2859 | 2.3457 |
| | 2.2816 | 2.2688 | 2.2603 |
| | 2.2518 | 2.2774 | 2.2518 |
| | 2.2518 | 2.3627 | 2.2603 |
| | 2.3542 | 2.2859 | 2.4652 |

Con los datos de la Tabla 79 se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, lo cual se indica en la Tabla 80.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 80. ANOVA para ión $Cl^-$, en un mismo día D2, en A y B

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | A | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 130.027 | 129.728 | 128.533 | 388.289 |
| Promedio | 21.671 | 21.621 | 21.422 | 21.571 |
| Varianza | 0.0023 | 0.0085 | 0.0007 | 0.0035 |
| | B | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 129.728 | 127.765 | 127.637 | 385.131 |
| Promedio | 21.621 | 21.294 | 21.272 | 21.396 |
| Varianza | 0.0006 | 0.0018 | 0.0009 | 0.0012 |
| | | | | |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 259.755 | 257.493 | 256.170 | |
| Promedio | 21.646 | 21.457 | 21.347 | |
| Varianza | 0.0013 | 0.0050 | 0.0008 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 8.3E-17 | 1 | 8.3E-17 | 1.4E-14 | 0.9999 | 4.170 |
| Columnas | 0.0034 | 2 | 0.0017 | 0.299 | 0.7431 | 3.315 |
| Interacción | 0.0031 | 2 | 0.0015 | 0.276 | 0.7602 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.1733 | 30 | 0.0057 | | | |
| Total | 0.1800 | 35 | | | | |

El valor de F es menor que el valor $F_{crít.}$ en el día D2, por lo tanto se concluye que no hay diferencia significativa entre las estaciones A y B, lo confirma p y se acepta Ho.

### 4.3.2 Análisis estadístico de las muestras de $NO_3^-$

Para el cálculo, se emplean las mismas directrices que para $Cl^-$.

#### 4.3.2.1 $NO_3^-$. Análisis entre estaciones, aguas arriba, día D1

Se realiza el análisis de ANOVA con parte de los datos de la Tabla 69, para análisis entre días y para la estación A o aguas arriba.

Tabla 81. Concentraciones de ion $NO_3^-$ en D1 y D2 en A

| | | $NO_3^-$ (ppm), en estaciones agua arriba (A) | | |
|---|---|---|---|---|
| Días | Hora | A1 | A2 | A3 |
| D1 | 9:00 | 1.0518 | 1.2736 | 1.2366 |
| | 10:00 | 1.4677 | 1.2643 | 1.2551 |
| | 11:00 | 1.2089 | 1.6433 | 1.3937 |
| | 12:00 | 1.2643 | 1.3013 | 1.2736 |
| | 13:00 | 1.2828 | 1.2921 | 1.2551 |
| | 14:00 | 1.2828 | 1.2551 | 1.6525 |
| D2 | 9:00 | 1.1349 | 1.0980 | 1.0425 |
| | 10:00 | 1.3845 | 1.0795 | 1.0702 |
| | 11:00 | 1.1442 | 1.0795 | 1.0795 |
| | 12:00 | 1.1257 | 1.2089 | 1.1904 |
| | 13:00 | 1.2181 | 1.2551 | 0.7652 |
| | 14:00 | 1.1257 | 1.2643 | 1.2828 |

Con los datos de la Tabla 81 se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, lo cual se indica en la Tabla 82.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 82. ANOVA para ion $NO_3^-$, entre días en A

| RESUMEN | A1 | A2 | A3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | *D1* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.5582 | 8.0295 | 8.0665 | 23.6543 |
| Promedio | 1.2597 | 1.3382 | 1.3444 | 1.3141 |
| Varianza | 0.0180 | 0.0222 | 0.0259 | 0.0211 |
| | *D2* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.1330 | 6.9852 | 6.4306 | 20.5489 |
| Promedio | 1.1888 | 1.1642 | 1.0717 | 1.1416 |
| Varianza | 0.0104 | 0.0078 | 0.0306 | 0.0170 |
| *Total* | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 14.6913 | 15.0147 | 14.4972 | |
| Promedio | 1.2242 | 1.2512 | 1.2081 | |
| Varianza | 0.0142 | 0.0220 | 0.0460 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.2678 | 1 | 0.2678 | 13.910 | 0.0007 | 4.170 |
| Columnas | 0.0113 | 2 | 0.0056 | 0.295 | 0.7460 | 3.315 |
| Interacción | 0.0610 | 2 | 0.0305 | 1.586 | 0.2214 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.5777 | 30 | 0.0192 | | | |
| Total | 0.9180 | 35 | | | | |

En éste caso, donde F es mayor que Fcrít., se observa que sí existe una diferencia significativa entre las muestras de $NO_3^-$ de D1 y D2 aguas arriba, se confirma con p y por lo tanto se rechaza Ho.

#### 4.3.2.2 $NO_3^-$. Análisis entre días D1y D2, aguas abajo

Parte de los datos de la Tabla 69, se encuentran en la Tabla 83 para análisis entre días y aguas abajo o para las estaciones B.

Tabla 83. Concentraciones de ion $NO3^-$ (ppm) en estaciones D1 y D2 agua arriba (B)

| Días | Hora | B1 | B2 | B3 |
|---|---|---|---|---|
| | 9:00 | 1.0518 | 1.2551 | 1.4214 |
| | 10:00 | 1.0795 | 1.2089 | 1.1627 |
| D1 | 11:00 | 1.1996 | 1.2643 | 1.2458 |
| | 12:00 | 1.3105 | 1.2643 | 1.3013 |
| | 13:00 | 1.2736 | 1.2921 | 1.3013 |
| | 14:0 | 1.2643 | 1.2828 | 1.3105 |
| | 9:00 | 1.1811 | 1.1442 | 1.3290 |
| | 10:00 | 1.0702 | 1.1072 | 1.1072 |
| | 11:00 | 1.0055 | 1.1257 | 1.0980 |
| D2 | 12:00 | 1.1257 | 1.1719 | 1.1996 |
| | 13:00 | 1.1257 | 1.0333 | 1.3290 |
| | 14:00 | 1.1996 | 1.2551 | 1.2089 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, lo cual se muestra en la Tabla 84.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 84. ANOVA para ión NO3 , entre días, en B

| RESUMEN | B1 | B2 | B3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | *D1* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.1792 | 7.5674 | 7.7430 | 22.4898 |
| Promedio | 1.1965 | 1.2612 | 1.2905 | 1.2494 |
| Varianza | 0.0116 | 0.0008 | 0.0072 | 0.0074 |
| | *D2* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 6.7079 | 6.8373 | 7.2717 | 20.8170 |
| Promedio | 1.1179 | 1.1395 | 1.2119 | 1.1565 |
| Varianza | 0.0051 | 0.0053 | 0,0103 | 0.0078 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 13.8872 | 14.4048 | 15.0147 | |
| Promedio | 1.1572 | 1.2004 | 1.2512 | |
| Varianza | 0.0093 | 0.0068 | 0.0096 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0777 | 1 | 0.0777 | 11.503 | 0.0019 | 4.170 |
| Columnas | 0.0530 | 2 | 0.0265 | 3.928 | 0.0305 | 3.315 |
| Interacción | 0.0037 | 2 | 0.0018 | 0.275 | 0.7612 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.2027 | 30 | 0.0067 | | | |
| Total | 0.3372 | 35 | | | | |

Lo anteriormente manifestado se confirma, sí existe una diferencia significativa entre las muestras de día D1 con respecto a D2 aguas abajo, para $NO_3^-$ y se confirma por el valor p obtenido y se rechaza Ho.

#### 4.3.2.3 $NO_3^-$. Análisis entre estaciones, D1

Parte de los datos de la Tabla 69, son mostrados en la Tabla 85, para análisis entre las estaciones A y B, en el día D1.

Tabla 85. Concentración de ion $NO3^-$ (ppm), en día D1 en estaciones A y B

| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| | 1.0518 | 1.2736 | 1.2366 |
| | 1.4677 | 1.2643 | 1.2551 |
| A | 1.2089 | 1.6433 | 1.3937 |
| | 1.2643 | 1.3013 | 1.2736 |
| | 1.2828 | 1.2921 | 1.2551 |
| | 1.2828 | 1.2551 | 1.6525 |
| | 1.0518 | 1.2551 | 1.4214 |
| | 1.0795 | 1.2089 | 1.1627 |
| | 1.1996 | 1.2643 | 1.2458 |
| B | 1.3105 | 1.2643 | 1.3013 |
| | 1.2736 | 1.2921 | 1.3013 |
| | 1.2643 | 1.2828 | 1.3105 |

Con los datos de la Tabla 85 se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo mostrado en la Tabla 86:

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 86. ANOVA para ion $NO_3^-$, en D1 en A y B

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *A* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.5582 | 8.0295 | 8.0665 | 23.6543 |
| Promedio | 1.2597 | 1.3382 | 1.3444 | 1.3141 |
| Varianza | 0.0180 | 0.0226 | 0.0259 | 0.0211 |
| *B* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.1792 | 7.5674 | 7.7430 | 22.4898 |
| Promedio | 1.1965 | 1.2612 | 1.2905 | 1.2494 |
| Varianza | 0.0116 | 0.0008 | 0.0072 | 0.0074 |

| *Total* | | | |
|---|---|---|---|
| Cuenta | 12 | 12 | 12 |
| Suma | 14.7375 | 15.5970 | 15.8096 |
| Promedio | 1.2281 | 1.2997 | 1.3174 |
| Varianza | 0.0145 | 0.0122 | 0.0158 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0376 | 1 | 0.0376 | 2.617 | 0.1161 | 4.170 |
| Columnas | 0.0537 | 2 | 0.0268 | 1.865 | 0.1722 | 3.315 |
| Interacción | 0.0008 | 2 | 0.0004 | 0.028 | 0.9722 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.4317 | 30 | 0.0143 | | | |
| Total | 0.52391 | 35 | | | | |

En éste caso no existe diferencia significativa entre las muestras del día D1 entre las estaciones A y B, lo confirma p. Se acepta Ho.

#### 4.3.2.4 $NO_3^-$. Análisis entre estaciones, D2

Parte de los datos de la Tabla 69 son mostrados en la Tabla 87, los cuales se usan para análisis entre las estaciones A y B, en el día D2.

Tabla 87. Concentración de ion $NO3^-$ (ppm), en día D2, en estaciones A y B

| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| | 1.1349 | 1.0980 | 1.0425 |
| | 1.3845 | 1.0795 | 1.0702 |
| A | 1.1442 | 1.0795 | 1.0795 |
| | 1.1257 | 1.2089 | 1.1904 |
| | 1.2181 | 1.2551 | 0.7652 |
| | 1.1257 | 1.2643 | 1.2828 |
| | 1.1811 | 1.1442 | 1.3290 |
| | 1.0702 | 1.1072 | 1.1072 |
| | 1.0055 | 1.1257 | 1.0980 |
| B | 1.1257 | 1.1719 | 1.1996 |
| | 1.1257 | 1.0333 | 1.3290 |
| | 1.1996 | 1.2551 | 1.2089 |

El análisis estadístico para éste caso es realizado con los valores de la Tabla 87, a través del análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo mostrado en la Tabla 88.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 88. ANOVA para ion $NO_3^-$, en D2 en A y B

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *A* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 7.1330 | 6.9852 | 6.4306 | 20.5489 |
| Promedio | 1.1888 | 1.1642 | 1.0717 | 1.1416 |
| Varianza | 0.0104 | 0.0078 | 0.0306 | 0.0170 |
| *B* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 6.7079 | 6.8373 | 7.2717 | 20.8170 |
| Promedio | 1.1179 | 1.1395 | 1.2119 | 1.1565 |
| Varianza | 0.0051 | 0.0053 | 0.0103 | 0.0078 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 13.8410 | 13.8225 | 13.7024 | |
| Promedio | 1.1534 | 1.1518 | 1.1418 | |
| Varianza | 0.0084 | 0.0061 | 0.0239 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0019 | 1 | 0.0019 | 0.171 | 0.6816 | 4.170 |
| Columnas | 0.0009 | 2 | 0.0004 | 0.040 | 0.9602 | 3.315 |
| Interacción | 0.0738 | 2 | 0.0369 | 3.176 | 0.0561 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.3486 | 30 | 0.0116 | | | |
| Total | 0.4254 | 35 | | | | |

Se confirma la hipótesis planteada para $NO_3^-$, no existe diferencia significativa durante el mismo día D2 entre las estaciones A y B, p lo confirma y por lo tanto se acepta Ho.

### 4.3.3 Análisis estadístico de las muestras de $PO_4^{3-}$

La Tabla 67 es el registro de los análisis del agua del río Daule para $PO_4^{3-}$, el análisis estadístico es realizado de igual manera para todos los iones de estudio.

#### 4.3.3.1 $PO_4^{3-}$. Análisis estadístico entre días D1 y D2, aguas arriba

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 89, para análisis entre días D1 y D2 en las estaciones A.

Tabla 89. Concentraciones de ion $PO_4^{3-}$ (ppm), en estaciones D1 y D2 agua arriba (A)

| Días | Hora | A1 | A2 | A3 |
|---|---|---|---|---|
| | 9:00 | 0.3023 | 0.3403 | 0.3593 |
| D 1 | 10:00 | 0.3403 | 0.3783 | 0.4734 |
| | 11:00 | 0.3783 | 0.5304 | 0.3973 |
| | 12:00 | 0.3593 | 0.5494 | 0.3783 |
| | 13:00 | 0.3783 | 0.3783 | 0.3973 |
| | 14:00 | 0.3973 | 0.3593 | 0.4354 |
| | 9:00 | 0.3213 | 0.3403 | 0.2833 |
| | 10:00 | 0.3213 | 0.3403 | 0.3213 |
| D 2 | 11:00 | 0.3213 | 0.3213 | 0.3023 |
| | 12:00 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3783 |
| | 13:00 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3213 |
| | 14:00 | 0.3593 | 0.3593 | 0.3593 |

Con los datos de la Tabla 89, se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo mostrado en la Tabla 90.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 90. ANOVA para ion$PO_4^{3-}$ en D1 y D2 en A

| RESUMEN | A1 | A2 | A3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.156 | 2.536 | 2.441 | 7.133 |
| Promedio | 0.359 | 0.423 | 0.407 | 0.396 |
| Varianza | 0.0011 | 0.0084 | 0.0017 | 0.0041 |
| | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.004 | 2.080 | 1.966 | 6.049 |
| Promedio | 0.334 | 0.347 | 0.328 | 0.336 |
| Varianza | 0.0002 | 0.0002 | 0.0012 | 0.0005 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 4.160 | 4.616 | 4.407 | |
| Promedio | 0.347 | 0.385 | 0.367 | |
| Varianza | 0.0008 | 0.0055 | 0,0030 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0326 | 1 | 0.0326 | 14.968 | 0.0005 | 4.171 |
| Columnas | 0.0086 | 2 | 0.0043 | 1.995 | 0.154 | 3.316 |
| Interacción | 0.0054 | 2 | 0.0027 | 1.258 | 0.299 | 3.316 |
| Dentro del grupo | 0.0653 | 30 | 0.0021 | | | |
| Total | 0.112 | 35 | | | | |

Para el análisis entre días D1 y D2 en la estación A, se observa que sí existe diferencia significativa entre las muestras de acuerdo al resultado de F que es mayor que Fcrít. Lo cual se confirma con p. y por lo tanto Ho se rechaza.

#### 4.3.3.2 $PO_4^{3-}$. Análisis estadístico entre días D1 y D2, aguas abajo

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 91, para análisis entre días D1 y D2 en las estaciones B.

Tabla 91. Concentraciones de ion $PO_4^{3-}$ (ppm), en estaciones D1 y D2 agua arriba (B)

| Días | Hora | B1 | B2 | B3 |
|---|---|---|---|---|
| D 1 | 9:00 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3593 |
| | 10:00 | 0.3593 | 0.3593 | 0.3783 |
| | 11:00 | 0.3783 | 0.4163 | 0.5875 |
| | 12:00 | 0.4163 | 0.2833 | 0.4163 |
| | 13:00 | 0.3973 | 0.3783 | 0.3783 |
| | 14:00 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3783 |
| D2 | 9:00 | 0.2833 | 0.3593 | 0.3593 |
| | 10:00 | 0.3213 | 0.3213 | 0.1692 |
| | 11:00 | 0.3023 | 0.3213 | 0.3023 |
| | 12:00 | 0.3403 | 0.3403 | 0.3403 |
| | 13:00 | 0.3403 | 0.2833 | 0.3403 |
| | 14:00 | 0.3403 | 0.3593 | 0.3593 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo con los datos de la Tabla 91.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 92. ANOVA para ion $PO_4^{3-}$ en D1 y D2 en B

| RESUMEN | B1 | B2 | B3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | *D1* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.232 | 2.118 | 2.498 | 6.848 |
| Promedio | 0.372 | 0.353 | 0.416 | 0.380 |
| Varianza | 0.0009 | 0.0019 | 0.0073 | 0.0037 |
| | *D2* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 1.928 | 1.985 | 1.871 | 5.783 |
| Promedio | 0.321 | 0.331 | 0.312 | 0.321 |
| Varianza | 0.0005 | 0.0008 | 0.0053 | 0.0020 |
| *Total* | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 4.160 | 4.103 | 4.369 | |
| Promedio | 0.347 | 0.342 | 0.364 | |
| Varianza | 0.0014 | 0.0014 | 0.0087 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0315 | 1 | 0.0315 | 11.082 | 0.0023 | 4.170 |
| Columnas | 0.0032 | 2 | 0.0016 | 0.576 | 0.5681 | 3.315 |
| Interacción | 0.0105 | 2 | 0.0052 | 1.849 | 0.1748 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.0852 | 30 | 0.0028 | | | |
| Total | 0.1304 | 35 | | | | |

En la Tabla 92, se observa la diferencia significativa entre las muestras D1 y D2 en B, ya que F es mayor que $F_{crít.}$, p lo confirma y por ello se rechaza Ho.

#### 4.3.3.3 $PO_4^{3-}$. Análisis estadístico entre estaciones A y B, en D1

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 93, para análisis entre estaciones A y B en D1.

Tabla 93. Concentración de $PO_4^{3-}$ (ppm), en día D1, en ambas estaciones A y B

| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| | 0.3023 | 0.3403 | 0.3593 |
| A | 0.3403 | 0.3783 | 0.4734 |
| | 0.3783 | 0.5304 | 0.3973 |
| | 0.3593 | 0.5494 | 0.3783 |
| | 0.3783 | 0.3783 | 0.3973 |
| | 0.3973 | 0.3593 | 0.4354 |
| | 0.3403 | 0.3403 | 0.3593 |
| | 0.3593 | 0.3593 | 0.3783 |
| B | 0.3783 | 0.4163 | 0.5875 |
| | 0.4163 | 0.2833 | 0.4163 |
| | 0.3973 | 0.3783 | 0.3783 |
| | 0.3403 | 0.3403 | 0.3783 |

Con los datos tabulados en 93, se realiza un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 94. ANOVA para ión PO43¯entre A y B, en D1

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | *A* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.156 | 2.536 | 2.441 | 7.133 |
| Promedio | 0.359 | 0.423 | 0.407 | 0.396 |
| Varianza | 0.0011 | 0.0084 | 0.0017 | 0.0041 |
| | *B* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.232 | 2.118 | 2.498 | 6.848 |
| Promedio | 0.372 | 0.353 | 0.416 | 0.380 |
| Varianza | 0.0009 | 0.0019 | 0.0073 | 0.0037 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 4.388 | 4.654 | 4.939 | |
| Promedio | 0.366 | 0.388 | 0.412 | |
| Varianza | 0.0010 | 0.0060 | 0.0041 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0023 | 1 | 0.0022 | 0.626 | 0.4350 | 4.171 |
| Columnas | 0.0127 | 2 | 0.0063 | 1.756 | 0.1900 | 3.315 |
| Interacción | 0.0131 | 2 | 0.0065 | 1.810 | 0.1810 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.1083 | 30 | 0.0036 | | | |
| Total | 0.1362 | 35 | | | | |

El valor F obtenido en la Tabla 94, es menor que Fcrít., por lo cual las muestras de las estaciones A y B en el día D1 no son significativamente diferentes, lo confirma el valor de p y por ello se acepta Ho.

#### 4.3.3.4 $PO_4^{3-}$. Análisis estadístico entre estaciones en D2

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 95, para análisis entre estaciones A y B en D2.

Tabla 95. Concentraciónde $PO_4^{3-}$ (ppm), en día D2, en ambas estaciones A y B

| Estaciones | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| A | 0.3213 | 0.3403 | 0.2833 |
| | 0.3213 | 0.3403 | 0.3213 |
| | 0.3213 | 0.3213 | 0.3023 |
| | 0.3403 | 0.3593 | 0.3783 |
| | 0.3403 | 0.3593 | 0.3213 |
| | 0.3593 | 0.3593 | 0.3593 |
| B | 0.2833 | 0.3593 | 0.3593 |
| | 0.3213 | 0.3213 | 0.1692 |
| | 0.3023 | 0.3213 | 0.3023 |
| | 0.3403 | 0.3403 | 0.3403 |
| | 0.3403 | 0.2833 | 0.3403 |
| | 0.3403 | 0.3593 | 0.3593 |

Con los datos de la Tabla 95, se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 96. ANOVA para ion $PO_4^{3-}$ en A y B en D2

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 2.004 | 2.080 | 1.966 | 6.049 |
| Promedio | 0.334 | 0.347 | 0.328 | 0.336 |
| Varianza | 0.0002 | 0.0002 | 0.0012 | 0.0005 |
| | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 1.928 | 1.985 | 1.871 | 5.783 |
| Promedio | 0.321 | 0.331 | 0.312 | 0.321 |
| Varianza | 0.0005 | 0.0008 | 0.0053 | 0.0020 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 3.932 | 4,065 | 3.837 | |
| Promedio | 0.328 | 0.339 | 0.320 | |
| Varianza | 0.0004 | 0.0005 | 0.0030 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.0020 | 1 | 0.0020 | 1.3961 | 0.2467 | 4.171 |
| Columnas | 0.0022 | 2 | 0.0011 | 0.7765 | 0.4691 | 3.315 |
| Interacción | 0.00002 | 2 | 0.00001 | 0.0071 | 0.9929 | 3.315 |
| Dentro del grupo | 0.0423 | 30 | 0.0014 | | | |
| Total | 0.0464 | 35 | | | | |

El valor de F menor que el $F_{crít.}$ para las muestras de las estaciones A y B en el día D2, indica que no existe diferencia significativa entre ellas, y el valor p lo confirma y por ello se acepta Ho.

### 4.3.4 Análisis estadístico de las muestras de $SO_4^{2-}$

El análisis estadístico que se realizó para el anión $SO_4^{2-}$ es el mismo realizado para $Cl^-$, $NO_3^-$ y $PO4^{3-}$.

#### 4.3.4.1 $SO_4^{2-}$. Análisis estadístico entre días D1 y D2, aguas arriba A

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 97, para análisis entre días D1 y D2, en la estación A

Tabla 97. Concentraciónde $SO_4^{2-}$ (ppm), en D1 y D2 en estaciones (A) agua arriba

| Días | Hora | A1 | A2 | A3 |
|---|---|---|---|---|
| | 9:00 | 25.1832 | 16.6175 | 16.7051 |
| | 10:00 | 11.8229 | 19.3650 | 22.9205 |
| D 1 | 11:00 | 18.1865 | 31.0418 | 19.9104 |
| | 12:00 | 34.1125 | 32.4559 | 26.1529 |
| | 13:00 | 29.2640 | 33.9172 | 28.2943 |
| | 14:00 | 38.8599 | 24.1394 | 31.2438 |
| | 9:00 | 18.3549 | 27.8768 | 22.2471 |
| | 10:00 | 10.9071 | 10.8195 | 10.7657 |
| | 11:00 | 23.2101 | 11.7758 | 11.2034 |
| D 2 | 12:00 | 11.5737 | 12.5367 | 12.3347 |
| | 13:00 | 12.1461 | 13.3852 | 13.0620 |
| | 14:00 | 11.8094 | 13.6747 | 13.3650 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, con los datos de la Tabla 97 y obtiene lo mostrado en la Tabla 98:

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar.

Tabla 98. ANOVA para de ion $SO_4^{2-}$, entre días D1 y D2 en estación A

| RESUMEN | A1 | A2 | A3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| | *D1* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 157.429 | 157.537 | 142.277 | 457.243 |
| Promedio | 26.238 | 26.256 | 23.713 | 25.402 |
| Varianza | 100.842 | 52.980 | 22.426 | 53.349 |
| | | | | |
| | *D2* | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 88.001 | 90.069 | 82.978 | 261.048 |
| Promedio | 14.667 | 15.011 | 13.830 | 14.503 |
| Varianza | 24.962 | 40.823 | 18.036 | 24.914 |
| | | | | |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 245.430 | 247.605 | 225.255 | |
| Promedio | 20.453 | 20.634 | 18.771 | |
| Varianza | 93.700 | 77.122 | 45.031 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 1069.239 | 1 | 1069.239 | 24.668 | 0.000 | 4.171 |
| Columnas | 25.314 | 2 | 12.657 | 0.292 | 0.749 | 3.316 |
| Interacción | 4.809 | 2 | 2.405 | 0.055 | 0.946 | 3.316 |
| Dentro del grupo | 1300.346 | 30 | 43.345 | | | |
| Total | 2399.708 | 35 | | | | |

Las muestras entre días D1 y D2 en la estación A y de acuerdo al valor de F mayor que el valor de Fcrít., permiten concluir que sí existe diferencia significativa entre éstas muestras, lo confirma p y por ello se rechaza Ho.

#### 4.3.4.2 $SO_4^{2-}$. Análisis estadístico entre días D1 y D2, aguas abajo B

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 99, para análisis entre días, en la estación B.

Tabla 99. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$ en D1 y D2 en B

| Días | $SO_4^{2-}$(ppm), en estaciones agua abajo (B) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Hora | B1 | B2 | B3 |
| D 1 | 9:00 | 14.8263 | 16.9138 | 11.5670 |
| | 10:00 | 21.0687 | 16.1529 | 13.4189 |
| | 11:00 | 21.4121 | 28.5165 | 26.4626 |
| | 12:00 | 23.2707 | 25.6478 | 23.6276 |
| | 13:00 | 24.5030 | 24.1461 | 20.1192 |
| | 14:00 | 25.0822 | 25.1428 | 19.2774 |
| D2 | 9:00 | 12.8801 | 22.2337 | 12.5367 |
| | 10:00 | 10.9475 | 10.8532 | 19.7623 |
| | 11:00 | 11.3246 | 10.7051 | 11.4391 |
| | 12:00 | 11.4458 | 11.9778 | 12.0182 |
| | 13:00 | 11.6815 | 12.7253 | 12.2673 |
| | 14:00 | 12.3886 | 13.2505 | 13.0687 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo mostrado en la Tabla 100.

Planteo: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar

Tabla 100. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$ entre día D1 y D2 en estación B

| RESUMEN | B1 | B2 | B3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *D1* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 130.163 | 136.520 | 114.473 | 381.156 |
| Promedio | 21.694 | 22.753 | 19.079 | 21.175 |
| Varianza | 13.899 | 25.382 | 32.959 | 23.772 |
| *D2* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 70.668 | 81.745 | 81.092 | 233.506 |
| Promedio | 11.778 | 13.624 | 13.515 | 12.973 |
| Varianza | 0.521 | 18.796 | 9.658 | 9.280 |
| *Total* | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 200.831 | 218.265 | 195.565 | |
| Promedio | 16.736 | 18.189 | 16.297 | |
| Varianza | 33.370 | 42.810 | 27.813 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 605.569 | 1 | 605.569 | 35.898 | 0.000001 | 4.171 |
| Columnas | 23.528 | 2 | 11.764 | 0.697 | 0.506 | 3.316 |
| Interacción | 32.276 | 2 | 16.138 | 0.957 | 0.396 | 3.316 |
| Dentro del grupo | 506,072 | 30 | 16.869 | | | |
| Total | 1167,4446 | 35 | | | | |

Para las muestras entre días D1 y D2, en las estaciones B, se observa que F es mayor que F crit., indicando que sí hay diferencia significativa entre muestras, lo cual se confirma con el valor de p y rechazándose por ello Ho.

#### 4.3.4.3 $SO_4^{2-}$. Análisis estadístico entre estaciones en D1

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 101 para análisis entre estaciones A y B en el día D1.

Tabla 101. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$ en A y B en D1

| Estaciones | $SO_4^{2-}$(ppm), en día D1, en ambas estaciones | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| A | 25.1832 | 16.6175 | 16.7051 |
| | 11.8229 | 19.3650 | 22.9205 |
| | 18.1865 | 31.0418 | 19.9104 |
| | 34.1125 | 32.4559 | 26.1529 |
| | 29.2640 | 33.9172 | 28.2943 |
| | 38.8599 | 24.1394 | 28.2943 |
| | 14.8263 | 16.9138 | 11.5670 |
| B | 21.0687 | 16.1529 | 13.4189 |
| | 21.4121 | 28.5165 | 26.4626 |
| | 23.2707 | 25.6478 | 23.6276 |
| | 24.5030 | 24.1461 | 20.1192 |
| | 25.0822 | 25.1428 | 19.2774 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene los resultados mostrados en la Tabla 102.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar

Tabla 102. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$ entre estaciones A y B en día D1

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 157.429 | 157.537 | 142.277 | 457.243 |
| Promedio | 26.238 | 26.256 | 23.713 | 25.402 |
| Varianza | 100.842 | 52.980 | 22.426 | 53.349 |
| | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 130.163 | 136.520 | 114.473 | 381.156 |
| Promedio | 21.694 | 22.753 | 19.079 | 21.175 |
| Varianza | 13.899 | 25.382 | 32.959 | 23.772 |
| | | | | |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 287.592 | 294.057 | 256.750 | |
| Promedio | 23.966 | 24.505 | 21.396 | |
| Varianza | 57.787 | 38.965 | 31.032 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 160.814 | 1 | 160.814 | 3.883 | 0.058 | 4.171 |
| Columnas | 66.244 | 2 | 33.122 | 0.800 | 0.459 | 3.316 |
| Interacción | 2.373 | 2 | 1.186 | 0.029 | 0.972 | 3.316 |
| Dentro del grupo | 1242.438 | 30 | 41.415 | | | |
| Total | 1471.868 | 35 | | | | |

Las muestras de las estaciones A y B en el día D1 presentan un valor de F menor que Fcrít., lo cual indica que no existe diferencia significa entre las muestras, p confirma y por ello Ho rechaza.

#### 4.3.4.4 $SO_4^{2-}$. Análisis estadístico entre estaciones en D2

Se realiza el análisis de ANOVA con los datos de la Tabla 103, para análisis entre estaciones y en D2 para el ion $SO_4^{2-}$.

Tabla 103. Concentraciones de ión $SO_4^{2-}$ en D2 en A y B

| | $SO_4^{2-}$ (ppm), en día D2, en ambas estaciones | | |
|---|---|---|---|
| Sulfato | 1 | 2 | 3 |
| | 18.3549 | 27.8768 | 22.2471 |
| | 10.9071 | 10.8195 | 10.7657 |
| A | 23.2101 | 11.7758 | 11.2034 |
| | 11.5737 | 12.5367 | 12.3347 |
| | 12.1461 | 13.3852 | 13.0620 |
| | 11.8094 | 13.6747 | 13.3650 |
| | 12.8801 | 22.2337 | 19.7623 |
| | 10.9475 | 10.8532 | 19.7623 |
| | 11.3246 | 10.7051 | 11.4391 |
| B | 11.4458 | 11.9778 | 12.0182 |
| | 11.6815 | 12.7253 | 12.2673 |
| | 12.3886 | 13.2505 | 13.0687 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y se obtiene lo siguiente mostrado en la Tabla 104.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar

Tabla 104. ANOVA para ión $SO_4^{2-}$ en D2 entre las estaciones A y B

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Total |
|---|---|---|---|---|
| *A* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 88.001 | 90.069 | 82.978 | 261.048 |
| Promedio | 14.667 | 15.011 | 13.830 | 14.503 |
| Varianza | 24.962 | 40.823 | 18.036 | 24.914 |
| *B* | | | | |
| Cuenta | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Suma | 70.668 | 81.745 | 88.318 | 240.731 |
| Promedio | 11.778 | 13.624 | 14.720 | 13.374 |
| Varianza | 0.521 | 18.796 | 15.531 | 11.810 |
| Total | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | |
| Suma | 158.669 | 171.814 | 171.296 | |
| Promedio | 13.222 | 14.318 | 14.275 | |
| Varianza | 13.859 | 27.624 | 15.474 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 11.466 | 1 | 11.466 | 0.580 | 0.452 | 4.171 |
| Columnas | 9.235 | 2 | 4.618 | 0.233 | 0.793 | 3.316 |
| Interacción | 21.721 | 2 | 10.860 | 0.549 | 0.583 | 3.316 |
| Dentro del grupo | 593.345 | 30 | 19.778 | | | |
| Total | 635.7667 | 35 | | | | |

Se observa que las muestras de agua de las estaciones A y B en el día D2 no existe diferencia significa entre las muestras y p lo confirma. Se acepta Ho.

### 4.3.5 Análisis estadístico de las muestras de $NO_2^-$

Las muestras se corrieron, pero los valores de cuantificación, estuvieron por debajo de los límites de cuantificación de éste anión, por lo que no hay datos del mismo.

## 4.4 Análisis de muestras tomadas en la represa Daule – Peripa y en puntos como Pichincha y Puente Lucía

Las muestras tomadas en la represa Daule – Peripa, Pichincha y Puente Lucía son comparadas con el objeto de saber si existe o no diferencia significativa entre ellas.

### 4.4.1 $Cl^-$, Resultado de las estaciones versus valores de la represa

Los valores obtenidos del muestreo en las 6 estaciones son comparados con los valores obtenidos del análisis de la represa, para $Cl^-$ se obtiene:

Tabla 105. Concentraciones de ión $Cl^-$ en A, B y represa

| Días | Concentración de $Cl^-$ (ppm), en estaciones y represa | | | |
|---|---|---|---|---|
| | AB1 | AB2 | AB3 | Represa |
| D1 | 2.2390 | 2.3371 | 2.1323 | 1.421 |
| | 2.1792 | 2.0896 | 2.1963 | 1.212 |
| | 2.1195 | 2.1195 | 2.1195 | 1.164 |
| | 2.1835 | 2.1878 | 2.1237 | 1.156 |
| | 2.1067 | 2.1024 | 2.1365 | 1.005 |
| | 2.1749 | 2.1365 | 2.1451 | 0.985 |
| | 2.1920 | 2.1621 | 2.1365 | 1.003 |
| | 2.1621 | 2.1280 | 2.1067 | 1.068 |
| | 2.1792 | 2.1878 | 2.1749 | 0.859 |
| | 2.1280 | 2.0768 | 2.1067 | 1.029 |
| | 2.1749 | 2.0853 | 2.1451 | 1.012 |
| | 2.1365 | 2.1365 | 2.0939 | 1.057 |
| D2 | 2.4438 | 2.4609 | 2.3499 | 1.037 |
| | 2.2859 | 2.2731 | 2.2816 | 1.014 |
| | 2.3798 | 2.2347 | 2.3286 | 0.987 |
| | 2.2560 | 2.2518 | 2.2688 | 1.004 |
| | 2.2560 | 2.2560 | 2.4993 | 0.997 |
| | 2.2091 | 2.2603 | 2.2859 | 1.013 |
| | 2.3798 | 2.3713 | 2.2774 | 1.018 |
| | 2.3499 | 2.2859 | 2.3457 | 1.007 |
| | 2.2816 | 2.2688 | 2.2603 | 1.149 |
| | 2.2518 | 2.2774 | 2.2518 | 1.421 |
| | 2.2518 | 2.3627 | 2.2603 | 1.212 |
| | 2.3542 | 2.2859 | 2.4652 | 1.164 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo, cuyos resultados se muestran en la Tabla 106.

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar

Tabla 106. ANOVA para ion $Cl^-$ entre A, B y represa

| RESUMEN | AB1 | AB2 | AB3 | Represa | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| *D 1* | | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | 12 | 48 |
| Suma | 25.976 | 25.749 | 25.617 | 12.971 | 90.313 |
| Promedio | 2.165 | 2.146 | 2.135 | 1.081 | 1.882 |
| Varianza | 0.0013 | 0.0050 | 0.0008 | 0.0203 | 0.225 |
| *D 2* | | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | 12 | 48 |
| Suma | 27.700 | 27.589 | 27.875 | 13.023 | 96.187 |
| Promedio | 2.308 | 2.299 | 2.323 | 1.085 | 2.004 |
| Varianza | 0.005 | 0.004 | 0.006 | 0.016 | 0.295 |
| *Total* | | | | | |
| Cuenta | 24 | 24 | 24 | 24 | |
| Suma | 53.675 | 53.338 | 53.492 | 25.994 | |
| Promedio | 2.236 | 2.222 | 2.229 | 1.083 | |
| Varianza | 0.00844 | 0.0106 | 0.0128 | 0.0178 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 0.359 | 1 | 0.359 | 47.495 | 7.9E-10 | 3,949 |
| Columnas | 23.649 | 3 | 7.883 | 1041.822 | 1.3E-68 | 2,708 |
| Interacción | 0.118 | 3 | 0.0393 | 5.199 | 0.0023 | 2,708 |
| Dentro del grupo | 0.666 | 88 | 0.0075 | | | |
| Total | 24.792 | 95 | | | | |

El ANOVA realizado entre días D1 y D2, las estaciones y la muestra tomada en la represa, dan como resultado que F es mayor que $F_{crít.}$, indicando que sí existe diferencia significativa entre todas las muestras, esto lo confirma el valor de p y por lo tanto se rechaza Ho.

### 4.3.2 Análisis de $SO_4^{2-}$

El mismo análisis se realiza con el anión $SO_4^{2-}$, se compara entre los dos días, entre las estaciones, se incluye además la represa y se obtiene:

Tabla 107. Concentraciones de ion $SO_4^{2-}$ en las estaciones y represa

| Días | Concentración de $SO_4^{2-}$ (ppm), en estaciones y represa | | | |
|---|---|---|---|---|
| | AB1 | AB2 | AB3 | Represa |
| | 25.1832 | 16.6175 | 16.7051 | 1.707 |
| | 11.8229 | 19.3650 | 22.9205 | 1.904 |
| | 18.1865 | 31.0418 | 19.9104 | 1.571 |
| | 34.1125 | 32.4559 | 26.1529 | 1.758 |
| | 29.2640 | 33.9172 | 28.2943 | 1.71 |
| | 38.8599 | 24.1394 | 31.2438 | 1.586 |
| D1 | 14.8263 | 16.9138 | 11.5670 | 1.55 |
| | 21.0687 | 16.1529 | 13.4189 | 1.664 |
| | 21.4121 | 28.5165 | 26.4626 | 1.232 |
| | 23.2707 | 25.6478 | 23.6276 | 1.605 |
| | 24.5030 | 24.1461 | 20.1192 | 1.583 |
| | 25.0822 | 25.1428 | 19.2774 | 1.663 |
| | 18.3549 | 27.8768 | 22.2471 | 1.567 |
| | 10.9071 | 10.8195 | 10.7657 | 1.87 |
| | 23.2101 | 11.7758 | 11.2034 | 1.531 |
| | 11.5737 | 12.5367 | 12.3347 | 1.534 |
| | 12.1461 | 13.3852 | 13.0620 | 1.624 |
| | 11.8094 | 13.6747 | 13.3650 | 1.703 |
| D2 | 12.8801 | 22.2337 | 12.5367 | 1.559 |
| | 10.9475 | 10.8532 | 19.7623 | 1.703 |
| | 11.3246 | 10.7051 | 11.4391 | 1.559 |
| | 11.4458 | 11.9778 | 12.0182 | 1.707 |
| | 11.6815 | 12.7253 | 12.2673 | 1.904 |
| | 12.3886 | 13.2505 | 13.0687 | 1.571 |

Se realiza el análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

Se plantea: Ho = No existe diferencia significativa entre los factores a evaluar

Tabla 108. ANOVA para ion $SO_4^{2-}$ entre estaciones y represa

| RESUMEN | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| *D 1* | AB1 | AB2 | AB3 | Represa | Total |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | 12 | 48 |
| Suma | 287.591 | 294.056 | 259.699 | 19.533 | 860.881 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Promedio | 23.966 | 24.504 | 21.641 | 1.627 | 17.935 |
| Varianza | 57.786 | 38.965 | 35.456 | 0.025 | 122.658 |
| | *D2* | | | | |
| Cuenta | 12 | 12 | 12 | 12 | 48 |
| Suma | 158.669 | 171.814 | 164.070 | 19.832 | 514.385 |
| Promedio | 13.222 | 14.317 | 13.672 | 1.652 | 10.716 |
| Varianza | 13.859 | 27.624 | 12.615 | 0.016 | 40.786 |
| | *Total* | | | | |
| Cuenta | 24 | 24 | 24 | 24 | |
| Suma | 446.261 | 465.870 | 423.769 | 39.365 | |
| Promedio | 18.594 | 19.411 | 17.657 | 1.640 | |
| Varianza | 64.376 | 58.918 | 39.557 | 0.020 | |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad (p) | Valor crítico para F |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra | 1250.617 | 1 | 1250.617 | 53.689 | 1.07E-10 | 3.949 |
| Columnas | 5186.475 | 3 | 1728.825 | 74.219 | 5.06E-24 | 2.708 |
| Interacción | 445.606 | 3 | 148.535 | 6.377 | 0.00058 | 2.708 |
| Dentro del grupo | 2049.838 | 88 | 23.294 | | | |
| Total | 8932.535 | 95 | | | | |

Las muestras de las estaciones tomadas en los días D1 y D2, y la muestra tomada en la represa, de acuerdo a la Tabla 108, dan como resultado que F es mayor que $F_{crít.}$, lo que indica que sí existe diferencia significativa entre todas las muestras, esto lo confirma el valor de p. Se rechaza Ho.

## 4.5 Prueba estadística t de student

Con el fin de conocer la similitud o diferencia de concentraciones encontradas en varios sectores, se procede a realizar comparaciones entre las muestras de la represa y las del Puente Lucía y Represa versus Pichincha, con los datos indicados en la Tabla 109, por medio de la prueba t de student, comparación de medias.

### 4.5.1 Prueba t de student, $Cl^-$

La siguiente Tabla 109 muestra los valores del ión $Cl^-$, tomados en las muestras de agua del río Daule en la represa, en sector Pichincha y en Puente Lucía.

Tabla 109. Concentraciones de ion $Cl^-$, Represa, Pichincha y Puente Lucía

| Muestra | Represa | Pichincha | Puente Lucía |
|---|---|---|---|
| Muestra1 | 1.421 | 1.167 | 3.457 |
| Muestra2 | 1.212 | 1.177 | 3.811 |
| Muestra3 | 1.164 | - | 5.33 |
| Muestra4 | 1.156 | 1.193 | 5.551 |
| Muestra5 | 1.005 | 1.171 | 2.907 |
| Muestra6 | 0.985 | 1.192 | 3.116 |
| Muestra7 | 1.003 | | |
| Muestra8 | 1.068 | | |
| Muestra9 | 0.859 | | |
| Muestra10 | 1.029 | | |
| Muestra11 | 1.012 | | |
| Muestra12 | 1.057 | | |
| Muestra13 | 1.037 | | |
| Muestra14 | 1.014 | | |
| Muestra15 | 0.987 | | |
| Muestra16 | 1.004 | | |
| Muestra17 | 0.997 | | |
| Muestra18 | 1.013 | | |
| Muestra19 | 1.018 | | |
| Muestra20 | 1.007 | | |
| Muestra21 | 1.149 | | |

#### 4.5.1.1 Represa versus Pichincha, $Cl^-$

Se realiza una prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales y se obtiene lo siguiente indicado en la Tabla 110:

Tabla 110. Prueba t, $Cl^-$, Represa vs Pichincha

| | *Represa* | *Pichincha* |
|---|---|---|
| Media | 1.057 | 1.18 |
| Varianza | 0.01293 | 0.00014 |
| Observaciones | 21 | 5 |
| Diferencia hipotética de las medias | 3 | |
| Grados de libertad | 22 | |
| Estadístico t | -123.013 | |
| P(T<=t) una cola | 5.079E-33 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 1.7171 | |
| P(T<=t) dos colas | 1.015E-32 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2.0738 | |

Con el mismo criterio de evaluación de F, ahora se evalúa mediante la prueba t de student, por lo tanto: al ser mayor el estadístico calculado t que el t crítico ($t_{crít.}$), se concluye que las muestras difieren significativamente.

#### 4.5.1.2 Represa versus Puente Lucía, $Cl^-$

Se realiza la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, con los datos de la Tabla 109 y se obtiene lo presentado en la Tabla 111:

Tabla 111. Prueba t, $Cl^-$, Represa versus Puente Lucía

| | *Represa* | *Puente Lucía* |
|---|---|---|
| Media | 1.057 | 4.02866 |
| Varianza | 0.0129344 | 1.29525 |
| Observaciones | 21 | 6 |
| Diferencia hipotética de las medias | 3 | |
| Grados de libertad | 5 | |
| Estadístico t | -12.834 | |
| P(T<=t) una cola | 2.556E-05 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 2.015048 | |
| P(T<=t) dos colas | 5.112E-05 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2.570 | |

Al ser t mayor que $t_{crít.}$ da como resultado que las muestras de agua de la represa y del Puente Lucía son significativamente diferentes.

### 4.5.2 Prueba t de student, $SO_4^{2-}$

La siguiente Tabla 112, contiene los datos para $SO_4^{2-}$ y con ellos se realiza una prueba t para comprobar diferencias significativas

Tabla 112. Concentración de ion $SO_4^{2-}$, Represa, Pichincha y Puente Lucía

| Muestra | Represa | Pichincha | Puente lucía |
|---|---|---|---|
| Muestra1 | 1.707 | 1.626 | 3.226 |
| Muestra2 | 1.904 | 1.640 | 12.337 |
| Muestra3 | 1.571 | 3.073 | 3.179 |
| Muestra4 | 1.758 | 3.228 | 13.512 |
| Muestra5 | 1.710 | 3.107 | 18.583 |
| Muestra6 | 1.586 | 3.196 | 19.573 |
| Muestra7 | 1.550 | | |
| Muestra8 | 1.664 | | |
| Muestra9 | 1.232 | | |
| Muestra10 | 1.605 | | |
| Muestra11 | 1.583 | | |
| Muestra12 | 1.663 | | |
| Muestra13 | 1.567 | | |
| Muestra14 | 1.870 | | |
| Muestra15 | 1.531 | | |
| Muestra16 | 1.534 | | |
| Muestra17 | 1.624 | | |
| Muestra18 | 1.703 | | |
| Muestra19 | 1.559 | | |
| Muestra20 | 1.703 | | |
| Muestra21 | 1.559 | | |

#### 4.5.2.1 Represa versus Pichincha, $SO_4^{2-}$

Se realiza la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, con los datos de la Tabla 109 y se obtiene lo presentado en la Tabla 113.

Tabla 113. Prueba t, $SO_4^{2-}$, Represa vs pichincha

| | *Represa* | *Pichincha* |
|---|---|---|
| Media | 1.62776 | 2.645 |
| Varianza | 0.01902 | 0.61770 |
| Observaciones | 21 | 6 |
| Diferencia hipotética de las medias | 1 | |
| Grados de libertad | 5 | |
| Estadístico t | -6.259 | |
| P(T<=t) una cola | 0.00076 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 2.015 | |
| P(T<=t) dos colas | 0.00152 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2.570 | |

Las muestras de la represa Daule – Peripa y de Pichincha presentan diferencia significativa en cuanto al ion $SO_4^{2-}$, debido a que el estadístico t es mayor que el valor tcrít.

#### 4.5.2.2 Represa versus Puente Lucía, $SO_4^{2-}$

Se realizó la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, con los datos de la Tabla 112 y se obtiene lo presentado en la Tabla 114.

Tabla 114. Prueba t, $SO_4^{2-}$, Represa versus Puente Lucía

| | *Represa* | *Puente Lucía* |
|---|---|---|
| Media | 1.62776 | 11.735 |
| Varianza | 0.01901 | 51.49153 |
| Observaciones | 21 | 6 |
| Diferencia hipotética de las medias | 1 | |
| Grados de libertad | 5 | |
| Estadístico t | -3.791 | |
| P(T<=t) una cola | 0.00637 | |
| Valor crítico de t (una cola) | 2.015 | |
| P(T<=t) dos colas | 0.01274 | |
| Valor crítico de t (dos colas) | 2.570 | |

Las muestras de la represa y de Puente Lucía presentan diferencia significativa entre ellas, en referencia al ion $SO_4^{2-}$.

## 4.6 Comparación de las muestras de agua de río versus los valores establecidos en la normativa ambiental TULSMA

Al realizar una prueba t entre los valores medio de las muestras de agua del río Daule versus los valores establecidos en la normativa TULSMA, se obtienen los siguientes resultados mostrados en la Tabla 115.

Tabla 115. Concentraciones de iones frente a normativa

| Anión | Media (ppm) | Desviación | texp. | n | t crítico (95%) | Normativa TULSMA ppm | Diferencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | 2.229 | 0.1018 | -20659.4 | 72 | 1.993 | 250 | DS |
| $PO_4^{3-}$ | 0.359 | 0.0632 | -1293.9 | 72 | 1.993 | No registra | - |
| $SO_4^{2-}$ | 18.554 | 6.7648 | -290.3 | 72 | 1.993 | 250 | DS |
| $NO_3^-$ | 1.215 | 0.1370 | -2666.3 | 72 | 1.993 | 44.28 | DS |
| $NO_2^-$ | < 0.30 | - | - | - | - | 3.29 | - |

De acuerdo a la Tabla 115 se observa que los valores obtenidos de las muestras del río Daule son menores que los establecidos en la normativa ambiental TULSMA, y al realizar un análisis t, se observa que texp. es mayor que tcrít., por lo tanto se concluye que sí existe diferencia significativa entre el grupo muestral, los valores permitidos son mayores que los encontrados en las muestras de agua del río Daule.

## 4.7 Resultados de análisis de pH

Los resultados del análisis de pH se adjuntan en la Tabla 116, cuyo valor promedio fue de 7.397 de pH con una desviación estándar de 0.148.

Tabla 116.Valores de pH de las estaciones muestreadas durante los dos días

| Días | pH de las estaciones | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| D1 | 7.16 | 7.24 | 7.22 | 7.39 | 7.18 | 7.31 |
| | 7.21 | 7.30 | 7.40 | 7.34 | 7.19 | 7.29 |
| | 7.19 | 7.45 | 7.32 | 7.67 | 7.64 | 7.26 |
| | 7.36 | 7.48 | 7.34 | 7.23 | 7.37 | 7.24 |
| | 7.24 | 7.42 | 7.21 | 7.45 | 7.24 | 7.37 |
| | 7.32 | 7.60 | 7.23 | 7.49 | 7.66 | 7.44 |
| D2 | 7.29 | 7.31 | 7.41 | 7.43 | 7.30 | 7.64 |
| | 7.43 | 7.36 | 7.32 | 7.34 | 7.32 | 7.47 |
| | 7.31 | 7.35 | 7.30 | 7.30 | 7.35 | 7.35 |
| | 7.75 | 7.76 | 7.37 | 7.39 | 7.76 | 7.48 |
| | 7.37 | 7.66 | 7.87 | 7.57 | 7.38 | 7.44 |
| | 7.33 | 7.44 | 7.45 | 7.66 | 7.39 | 7.45 |

## 4.8 Resultados de análisis de conductividad

Los resultados de análisis con conductividad se presentan en la Tabla 117, con un resultado promedio de 145.70 ($\mu S.cm^{-1}$) y una desviación estándar de 5.514.

Tabla 117. Valores de conductividad de las estaciones muestreadas durante los dos días

| Días | Conductividad (µS/cm), de las estaciones | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
| D1 | 133.3 | 133.3 | 138.2 | 134.8 | 136.1 | 135.6 |
| | 135.8 | 145.0 | 142.4 | 135.2 | 141.5 | 139.6 |
| | 144.2 | 150.0 | 147.9 | 139.2 | 137.1 | 147.1 |
| | 148.2 | 150.2 | 148.2 | 149.5 | 151.1 | 150.4 |
| | 150.8 | 148.4 | 148.7 | 145.4 | 145.6 | 149.9 |
| | 149.6 | 147.4 | 145.0 | 150.6 | 143.5 | 144.0 |
| D2 | 146.0 | 141.3 | 141.8 | 143.6 | 145.3 | 145.6 |
| | 141.2 | 138.6 | 140.8 | 144.7 | 142.2 | 146.4 |
| | 140.4 | 148.2 | 144.5 | 146.0 | 140.5 | 146.5 |
| | 148.0 | 151.7 | 151.0 | 145.3 | 147.8 | 148.2 |
| | 149.8 | 156.3 | 155.0 | 146.2 | 152.0 | 149.3 |
| | 149.1 | 158.6 | 155.4 | 148.7 | 156.2 | 155.6 |

## 4.9 Análisis y evaluación de resultados

Los resultados integrales de los análisis de validación del método se presentan en la Tabla 118, en lo que respecto a las categorías principales de selectividad, función respuesta, límites, precisión y exactitud.

El método es selectivo de los aniones estudiados sin que se hayan presentado inteferencias.

La función respuesta del método mostró una excelente linealidad ya que el coeficiente r mostró una correlación superior a 0.999.

Los límites de cuantificación comunican una gran certeza a los resultados ya que se trabaja encima del valor mínimo que el equipo puede detectar.

La precisión de los resultados muestran dispersiones y coeficiente de variación aceptables dentro de lo esperado, menor a 5 %.

La exactitud de los resultados es satisfactoria ya que muestra una recuperación cercana al 100 % y un % CV aceptable, ya que de acuerdo a AOAC (2002), para una concentración de 10 ppm, una recuperación aceptable está entre 80 – 115 % y para 1 ppm está entre 75 – 120 %.

Tabla 118. Resumen de validación del método

| MÉTODO | Determinación de aniones en agua de río Daule | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Analito (unidad) | $Cl^-$ (ppm) | $NO2^-$ (ppm) | $NO3^-$ (ppm) | $PO4^{3-}$ (ppm) | $SO4^{2-}$ (ppm) |
| Equipo | Cromatógrafo iónico Metrohm 883 | | | | |
| SELECTIVIDAD | | | | | |
| Interferencias: Ninguna | | | | | |

| FUNCIÓN RESPUESTA (RECTA DE CALIBRACIÓN) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Aniones | Pendiente (m) | Límites de pendiente de (m) | Intercepto (Lo) | Límites de intercepto de (Lo) | r |
| $Cl^-$ | 0.211 | 0.208 | -0.031 | -0.057 | 0.9996 |
| | | 0.214 | | -0.004 | |
| $NO_2^-$ | 0.123 | 0.122 | 0.006 | 0.002 | 0.9999 |
| | | 0.124 | | 0.009 | |
| $NO3^-$ | 0.101 | 0.1 | 0.004 | 0.0005 | 0.9999 |
| | | 0.102 | | 0.007 | |
| $PO4^{3-}$ | 0.0496 | 0.0492 | -5.00E-05 | -0.002 | 0.9999 |
| | | 0.05 | | 0.002 | |
| $SO4^{2-}$ | 0.136 | 0.135 | 0.0019 | -0.006 | 0.9999 |
| | | 0.137 | | 0.01 | |

| LÍMITES (ppm) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Aniones | De detección | De cuantificación | De detección método | De cuantificación método | Rango de trabajo |
| $Cl^-$ | 0.124 | 0.422 | 0.24 | 1 | 1 |
| | | | | | 20 |
| $NO_2^-$ | 0.029 | 0.09 | 0.07 | 0.3 | 0.3 |
| | | | | | 10 |
| $NO3^-$ | 0.036 | 0.13 | 0.066 | 0.3 | 0.3 |
| | | | | | 10 |
| $PO4^{3-}$ | 0.04 | 0.13 | 0.04 | 0.3 | 0.3 |
| | | | | | 10 |
| $SO4^{2-}$ | 0.062 | 0.227 | 0.127 | 1 | 1 |
| | | | | | 20 |

| PRECISIÓN | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Aniones | Parámetros | Repetibilidad Instrumental | Precisión intermedia | Precisión del método |
| $Cl^-$ | S | 0.024 | 0.27 | 0.0076 |
| | %CV | 0.524 | 2.845 | 0.172 |
| $NO_2^-$ | S | 0.015 | 0.0046 | 0.0028 |
| | %CV | 0.612 | 0.0937 | 0.113 |
| $NO3^-$ | S | 0.020 | 0.0119 | 0.0064 |
| | % CV | 0.803 | 0.239 | 0.259 |
| $PO4^{3-}$ | S | 0.010 | 0.0975 | 0.138 |
| | %CV | 0.412 | 1.932 | 0.570 |
| $SO4^{2-}$ | S | 0.024 | 0.020 | 0.027 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | %CV | 0.536 | 0.2024 | 0.599 |
| EXACTITUD | | | | |
| Aniones | Parámetros | Ensayo Recuperación | MRC | |
| $Cl^-$ | %R | 100.14 | 97.42 | |
| | %CV | 4.675 | 3.317 | |
| $NO_2^-$ | %R | 96.55 | - | |
| | %CV | 3.325 | - | |
| $NO3^-$ | %R | 97.76 | 99.42 | |
| | %CV | 3.30 | 1.332 | |
| $PO4^{3-}$ | %R | 100.28 | 99.88 | |
| | %CV | 2.46 | 2.605 | |
| $SO4^{2-}$ | %R | 102.7 | 97.82 | |
| | %CV | 5.25 | 2.884 | |

Los valores de precisión y exactitud se encuentran dentro de rangos aceptables y la prueba de adecuabilidad del sistema de igual manera por lo que se determinó que el método fue validado.

La preparación de los estándares en una mezcla se realizó para que los aniones presenten comportamientos iguales a la muestra original del río, al estar los 5 aniones en la mezcla, estos están influenciados por las mismas variables, pero cada uno tiene respuestas propias.

Uno de los objetivos del presente trabajo fue comparar la carga de aniones del río Daule que posee antes de ser procesada o potabilizada, razón por la cual se muestreó en estaciones aguas arriba y aguas abajo del punto de referencia La Toma; que es el lugar donde se toma el agua para su procesamiento. Los resultados de comparación entre estaciones y días mediante la prueba F se muestran en la Tabla 119, 120, 121 y 122.

Tabla 119. Comparación de valores de prueba F, $Cl^-$

| Análisis | Fexp. | Fcrít. | Resumen |
|---|---|---|---|
| Entre D1 y D2, en A | 37.09 | 4.17 | DS |
| Entre D1 y D2 en B | 100.31 | 4.17 | DS |
| Entre A y B en D1 | 1.11 | 4.17 | NDS |
| Entre A y B en D2 | 1E-14 | 4.17 | NDS |

Se resume las diferencias significativas DS o no diferencias significativas NDS.

Para $NO_2^-$:

Los límites de detección fueron bajos, pero el límite de cuantificación fue superior a lo necesario para la determinación de $NO_2^-$ en las muestras de agua del río.

Tabla 120. Comparación de valores de prueba F, $NO_3^-$

| Análisis | Fexp. | Fcrít. | Resumen |
|---|---|---|---|
| Entre D1 y D2, en A | 13.91 | 4.17 | DS |
| Entre D1 y D2 en B | 11.50 | 4.17 | DS |
| Entre A y B en D1 | 2.61 | 4.17 | NDS |
| Entre A y B en D2 | 0.17 | 4.17 | NDS |

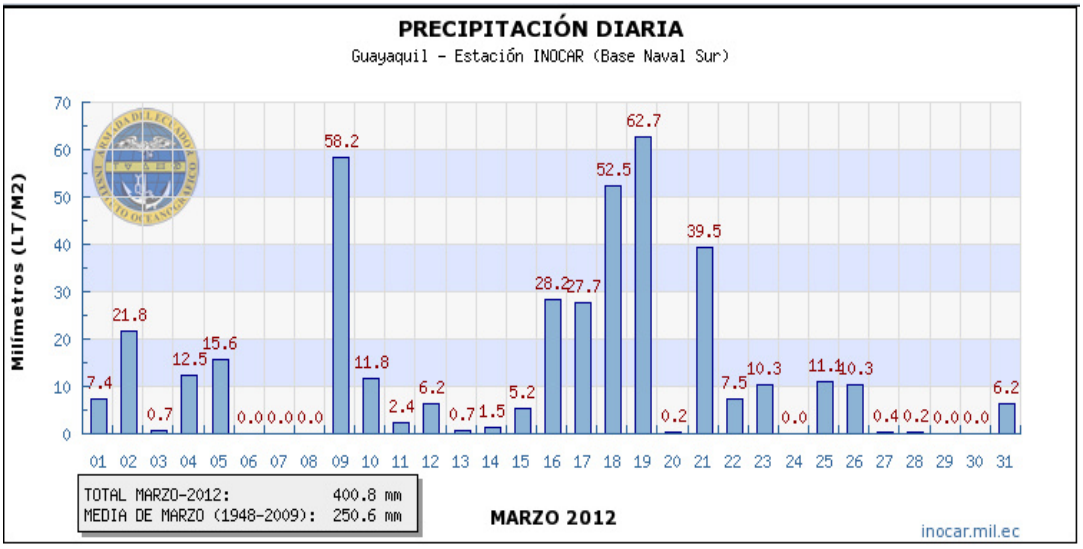
Tabla 121. Comparación de valores de prueba F, $PO_4^{3-}$

| Análisis | Fexp. | Fcrít. | Resumen |
|---|---|---|---|
| Entre D1 y D2, en A | 14.96 | 4.17 | DS |
| Entre D1 y D2 en B | 11.08 | 4.17 | DS |
| Entre A y B en D1 | 0.63 | 4.17 | NDS |
| Entre A y B en D2 | 1.40 | 4.17 | NDS |

Tabla 122. Comparación de valores de prueba F, $SO_4^{2-}$

| Análisis | Fexp. | Fcrít. | Resumen |
|---|---|---|---|
| Entre D1 y D2, en A | 24.67 | 4.17 | DS |
| Entre D1 y D2 en B | 35.89 | 4.17 | DS |
| Entre A y B en D1 | 3.88 | 4.17 | NDS |
| Entre A y B en D2 | 0.58 | 4.17 | NDS |

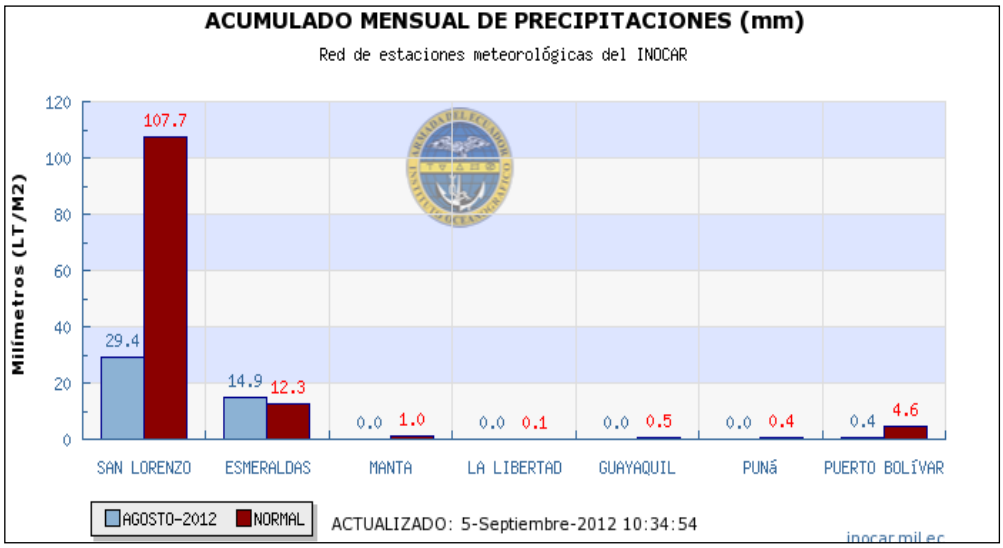
Para el mes de marzo de 2012, el INOCAR (2012) emitió la gráfica de precipitaciones de ese mes (Gráfica 18), lo que podría justificar la diferencia significativa de aniones analizados entre las dos fechas de marzo.




Gráfica 18.Precipitación diaria, Guayaquil, marzo 2012(INOCAR, 2012)

El análisis entre estaciones aguas arriba A y aguas abajo B, indica que no existe diferencia significativa; y en las estaciones escogidas, la no diferencia podría deberse a que el agua ya se ha mezclado con las cargas anteriores, debido a la velocidad rápida y a la forma del río, entre otras.

Para el mes de agosto, la Gráfica 19 emitida por el INOCAR (2012a) da un valor de precipitación de 0 mm en la ciudad de Guayaquil.




Gráfica 19. Acumulado de precipitaciones Guayaquil, Agosto 2012 (INOCAR, 2012a)

La comparación efectuada de las muestras tomadas en las estaciones en las fechas de marzo y agosto dio como resultado lo indicado en la Tabla 123.

Tabla 123. Valores F, de estaciones incluyendo represa Daule

| Anión | Identificación | F | Fcrít. | Resultado |
|---|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | Muestra Total | 47.49 | 3.949 | DS |
| | Entre estaciones | 1041.82 | 2.708 | DS |
| $SO_4^{2-}$ | Muestra Total | 53.70 | 3.949 | DS |
| | Entre estaciones | 74.22 | 2.708 | DS |

Los valores de $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$, medidos en la represa, fueron menores del límite de cuantificación establecido en el método.

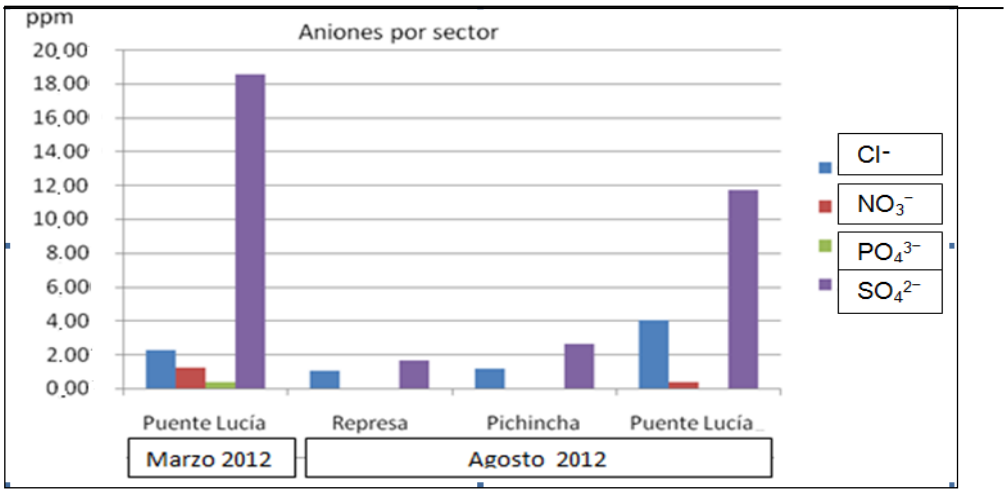
Existe una diferencia significativa entre el total de muestras y entre las estaciones, lo cual indica que el agua superficial de la represa es diferente al agua que llega hasta el sector Puente lucía.

Se realizó una prueba t de 2 muestras suponiendo varianzas desiguales para comparar los valores de la represa Daule-Peripa versus sector Pichincha y se obtiene que para $Cl^-$ el valor texp. igual a 123 es mayor que la tcrít. de 2.073 y para

$SO_4^{2-}$, el valor texp. es 12.83 y tcrít. es 2.07, lo que indica que las muestras de agua superficial de los dos sectores comparados son diferentes. Esto podría deberse a que aguas profundas anóxicas se descarguen de la represa, lo cual respondería a olores azufrados presentes en la base de la represa y a la presencia de substancias espumosas en el río a nivel del sector Pichincha, o a la descarga evidente de las aguas servidas a lo largo del sector.

Igual comparación estadística se realizó entre el resultado de las muestras de agua de la represa Daule-Peripa frente al resultado de las muestras del sector Puente Lucía, obteniéndose para $Cl^-$ una texp. de -6.25 frente a una tcrít. de 2.57 y para $SO_4^{2-}$ una texp. de 3.79 frente a 2.57 de tcrít., lo que indica para ambos casos que existe diferencia significativa y que las muestras de agua son diferentes. La prueba t corrobora el resultado obtenido a través del análisis de varianza con un valor de Fexp. de 53.70 frente al Fcrít. de 3.95.

Un resumen de la concentración promedio de los aniones por sector y por tiempo (Gráfica 20), permite ultimar que estas expresiones se producen por efectos temporales ($NO_3^-$, $PO_4^{3-}$, $SO_4^{2-}$), espaciales ($SO_4^{2-}$) y ecológicos ($Cl^-$, $SO_4^{2-}$).




Gráfica 20. Aniones por sector y fecha.

En síntesis, el rango encontrado de concentraciones en este trabajo (Puente Lucía, mes de marzo) se muestra en la Tabla 124.

Tabla 124. Rango de concentraciones en Puente Lucía

| Anión | media (ppm) | Desviación | Min (ppm) | Máx (ppm) |
|---|---|---|---|---|
| $Cl^-$ | 2.229 | 0.101 | 2.076 | 2.499 |
| $PO_4^{3-}$ | 0.359 | 0.063 | 0.302 | 0.5875 |
| $SO_4^{2-}$ | 18.554 | 6.764 | 10.705 | 38.859 |
| $NO_3^-$ | 1.215 | 0.137 | 0.765 | 1.652 |

# CONCLUSIONES

1. La Escuela Politécnica del Litoral (ESPOL) a través de esta tesis marca sus objetivos estratégicos en la medida que promueve, desarrolla y fortalece la investigación en su recinto. Este cometido se ha establecido a través de la Maestría en Manejo Integral de Laboratorios de Desarrollo (González, Huayamave y Montaño, 2007) y la activación del Proyecto REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DE DEPURADORA PARA EL DESARROLLO DE EXPLOTACIONES AGRICOLAS (González y Huayamave, 2007) en el Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales en el que se puso en operación el Laboratorio de Aguas y el equipo de cromatografía iónica Metrohm 883, que con esta tesis se prueba y valida la metodología de análisis para la consecución de información veraz, precisa y rápida, de aniones en muestras de agua.

2. El programa Magic Net incorporado al equipo cromatogáfico fue a su vez validado mediante el programa Excel de Microsoft verificándose la validez de los resultados obtenidos. Así, el valor del área del $Cl^-$ de 0.18 $\mu S.cm^{-1}.min$ tanto en la recta provista por el programa Magic Net como en el resultado calculado por el programa Excel.

3. El método de análisis validado, motivo de este trabajo, cuenta con una útil aplicación al estimar la presencia de los aniones de estudio en tres sectores del río Daule: represa Daule-Peripa, tramo del cantón Pichincha y Puente Lucía. Estos sectores se establecieron con el propósito de evaluar el comportamiento espacio temporal de la calidad del agua en el curso del río, y finalmente, evaluar la potabilidad de esta agua destinada al consumo humano y uso doméstico en la ciudad de Guayaquil.

4. Se puede interpretar que las concentraciones promedio de los aniones por sector y por tiempo obtenidos en este trabajo obedecen a efectos temporales ($NO_3^-$, $PO_4^{3-}$, $SO_4^{2-}$), espaciales ($SO_4^{2-}$) y ecológicos ($Cl^-$, $SO_4^{2-}$). Los efectos temporales de $NO_3^-$ y $PO_4^{3-}$ estarían relacionados principalmente por los escurridos de la agricultura (Montaño y Robadue, 1995), mientras que los de $SO_4^{2-}$ serían además espaciales. Los efectos ecológicos obedecen a las características estuarinas del agua en el tramo final del río Daule y a la constitución geológica de la cuenca.

5. Las concentraciones de los aniones $Cl^-$, $NO_2^-$, $NO_3^-$ y $SO_4^{2-}$ a lo largo de todo el curso del río Daule, con ocasión de este trabajo, son significativamente menores de lo establecido en las normativas TULSMA en relación al uso para potabilización. Por esta razón se rechaza la hipótesis nula propuesta en este trabajo.

6. La calidad del agua como fuente de agua potable y en relación a los iones $Cl^-$, $NO_3^-$ y $SO_4^{2-}$ es aceptable de acuerdo a los criterios establecidos en la normativa TULSMA. En todo caso los valores de esos parámetros exhiben crecimiento a medida que el río avanza.

   Respecto al $PO_4^{3-}$ vale considerar que la normativa TULSMA no ha emitido criterio para este parámetro en relación a agua para uso público urbano.

7. Con ocasión de este trabajo se observó que la represa estaba cubierta por extensas áreas de Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes)* y el agua a nivel superficial se mostraba totalmente transparente, pero con niveles medidos bajos de nutrientes y significativamente diferentes a los encontrados en el sector Puente Lucía. Esta diferencia se explicaría por los vertidos agrícolas y domésticos al río Daule.

8. En los análisis de laboratorio se pudo evidenciar que la concentración de los aniones aguas arriba y aguas abajo del sector La Toma (Puente Lucía) no presentan diferencia significativa en el mismo día, pero sí entre diferentes días. Esto podría deberse a que el río Daule varía su caudal de acuerdo a la época y descarga de la represa Daule-Peripa.

# RECOMENDACIONES

1. Mantener y reeditar las maestrías del Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales, lo mismo que celebrar convenios ventajosos con otras instituciones. De esta manera se incrementarán los laboratorios, se fortalecerá el quehacer investigativo y se brindará adecuados servicios al estudiantado, a la comunidad universitaria y al sector productivo.

2. Sistematizar y ampliar los conocimientos generados en el presente trabajo de modo que la ciudadanía que se beneficia de esta agua y los organismos encargados del manejo del agua potable tengan cada vez más comprensión de este recurso y de su calidad.

3. Mantener activa la labor del Laboratorio de Aguas del DCQA en general y de cromatografía iónica en particular, en la dirección de que los parámetros desarrollados en esta tesis se lleguen a acreditar. El gran esfuerzo que la ESPOL está desplegando para lograr acreditaciones en el área de docencia se tiene también que extender al área de investigación.

4. Alentar el procesamiento y evaluación de la información de monitoreo del agua de Interagua y otras instituciones que permita, en complemento con el trabajo de esta tesis pero que en definitiva forje una generalización a escala de tiempo y calidad total de la potabilidad del agua del río Daule para la ciudad de Guayaquil.

5. Realizar estudios más amplios y detallados en la dirección de relacionar los desarrollos agrícolas, industriales y poblacionales con el medio ambiente y la calidad del agua destinada para el uso y consumo humano previa potabilización.

6. Sugerir al Ministerio del Ambiente la reforma del TULSMA a fin de que extienda su normativa hacia el fosfato ($PO_4^{3-}$) en agua de uso en potabilización. El fósforo es uno de los elementos mayores presentes en el cuerpo humano (González, 2013) y determinante por tanto de la salud de la población.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Aguirre Ortega, L., & García Junca, T. (2001). *Validación de métodos analíticos. Monografías de AEFI.* Barcelona.

2. AMAP (Arctic Monitoring and Assessment Programme). (1997). Arctic Pollution Issues: A State of the Arctic Environment Report. Oslo Norway.

3. AOAC. (2002). Guidelines for Single laboratory Validation of Chemical Methodos for Dietary Supplements and Botanicals.

4. Aranda, N. (2004). Eutrofización y calidad del agua de una zona costera tropical. Tesis doctoral. Barcelona.

5. Artiges, A. (1995). *Harmonisation Internacionale.* Japan.

6. Asecal-Corpei-Instituto Nacional de Pesca. (2008). *Programación Capacitación en Validación de Métodos de Calibración de equipos de Control de Calidad según ISO 17025.*

7. Aubry, A.-F., Tattersall, P., & Ruan, J. (2009). Chapter 7. Development os stability Indicating Methods. In K. HUYNH-BA (Ed.), *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development* (p. 139). Delaware, Newark: Springer.

8. Barba Quinaluisa, S. G. (2004). *Estudio Hidrogeoquímico de los principales ríos de la cuenca del río Napo dentro del proyecto Hybam.* Quito.

9. Bittel, L. (1991). *Curso Práctico McGraw-Hill del Supervisor. Organización, asignación y capacitación del personal.* México: mcGraw-Hill.

10. CAAM (Comisión Asesora Ambiental). (1996). *Sistemas Biofísicos en el Golfo de Guayaquil,* Quito: Crearimagen.

11. Camargo, J. A., & Alonso, Á. (2006). *sciecedirect.*Revisado Marzo 15, 2011, en Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogrn pollution in auatic ecosystems: A global assessment: http://www.uah.es/universidad/ecocampus/docs/6.pdf

12. Carlson, R. E. (1977). A trophic state index for lakes. *Imnological Research Center, University of Minesota, 22*, 362-399 p.

13. Carpenter, S. R. (2008). *PNAS.* Revisado Febrero 1, 2013, en Phosphorus control is critical to mitigating eutrophication: http://www.pnas.org/content/105/32/11039.full

14. CELEC- EP. (2012, febrero 23). *Unidad de Negocio Hidronación*. Revisado enero 29, 2013, en http://www.hidronacion.org/index.php?option=com_content&view=article&id=131:la-cuenca-del-rio-guayas&catid=45:noticias&Itemid=210

15. Codex Alimentarius. (1981). Norma Codex para las aguas minerales naturales, Codex stand 108-1981. 4 p.

16. Comisión Asesora Ambiental, CAAM. (1996). *Sistemas Biofísicos en el Golfo de Guayaquil,* Quito: Crearimagen.

17. Corstanje, R., Reddy.K.R., Prenger, J.P., Newman, S., Ogram, A.V. (2007, Abril). *Soil microbial eco-physiological response to nutrient enrichment in a sub-tropical wetland.*Revisado Marzo 10, 2011, en Soil: http://www.sciencedirect.com.

18. Dery, P., & Anderson, B. (2007). *Peak Phosphorus.*Revisado Febrero 1, 2013, en Energy Bulletin: http://energybulletin.net/stories/2007-08-13/peak-phosphorus

19. Díaz Marot, A. (2002). *Validación de Métodos y equipos de análisis químico.* Barcelona: Instituto Químico de Sarriá.

20. DOH (Departamento de Salud). (2004). *Nitrato en el Agua. PUB. #331-214.* Estado de Washington.

21. Ecuadorinmediato.com,. (2012). *El Periódico Instantáneo del Ecuador*, Digital. Revisado Julio 20, 2012, en Expreso (Guayaquil) 75 % de Industrias en el río Daule sin licencia ambiental: http://www.ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&func=wap_news_view&id=170494

22. EDQM (European Directorate or Quality of Medicine & Health Care). (2005). OMLC Network of the Council of Europe. Quality Assurance Document. Validation of Analytical Procedures.

23. Eith, C., Kolb, m., & Seubert, A. (2001). *Practical ion Chromatography An Introduction.*Herisau: Metrohm Ltd.

24. Environment Canada. (2011). *Canada's Freshwater Quality in a Global Context Indicator*. Revisado Febrero 23, 2013, en http://www.ec.gc.ca/indicateurs-indicators/default.asp?lang=En&n=DB689C68-1

25. EPA *(Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos).* (2009). Revisado Marzo 11, 2011, en Restos que enfrentan los Estuarios por sobrecarga de Nutrientes.: http://water.epa.gov/oceb/nep/spanish_ about3.cfm#sobre

26. EPA. (2012). *EPA, Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos*. Revisado Febrero 18, 2013, en: La calidad de agua http://www.epa.gov/espanol/agua.html#reglamentos

27. Eurachem. (2005). *Métodos Analíticos Adecuados a su propósito* (Segunda ed.). Los Cués: Centro Nacional de Metrologóa.

28. European Pharmacopoeia. (2009). Chapter II. Methods of Analysis *Chromatographic Separation Techiniques. F.E.* (6th ed). Strasbourg:Council of Europe

29. Evangelista, M., Prada, D., Digón, A., Expeleta, D., Giunipero, G., & Piola, J. (2006). Brote de INtoxicación con Nitrito de Sodio Asociado a manejo inadecuado de residuos en Rosario, Argentina 2003. *Rev. Méd. Rosario, 72*, 67-72.

30. Fontúrbel, F. (2005). Indicadores Físicoquímicos y Biológicos del proceso de eutrofización del lago Titikaka (Bolvia). Ecología Aplicada 4(1,2).

31. Fritz, J. S., & Gjerde, D. T. (2000). *Ion Chromatography.* Alemania: Wiley - Vch.

32. Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Pichincha. (2012). *Pichincha Ciudad del Río*. Revisado Febrero 12, 2013, from http://www.municipiopichincha.gob.ec

33. González Carlos, 2013. Composición Química de la Materia Viva. [Revisado 20 junio 2013] Disponible en: http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/3er/Laqumi/Qui-ing.html

34. Gonzalez, G., & Herrador, Á. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC Trends in ANAlytical Chemistry, 26* (3), 227-238.

35. González Olga, Justo Huayamave y Mariano Montaño (2007). Maestría en Manejo Integral de Laboratorios de Desarrollo, Guayaquil. Disponible en:https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/24482/1/Maestria%20ICQA%20Borrador%20-18-11-2007.pdf

36. González González Juan Emilio y Justo Pastor Huayamave Navarrete (2007). REUTILIZACION DE AGUAS RESIDUALES DE DEPURADORA PARA EL DESARROLLO DE EXPLOTACIONES AGRICOLAS, PROYECTO

IBEROAMERICANO PCI, PROYECTO ECUADOR, Documento no publicado, ESPOL, Guayaquil.

37. Googlemap. (2013). *Daule, Guayas, Ecuador*. Revisado Febrero 18, 2013, en http://es.getamap.net/busca_mapas_1_recorrio+r+o+daule.html

**38.** Helmer, R. (1994). *Overview: Water quality monitoring: national and international approaches in Hydrological, Chemical and Biological Processes of transformation and Transport of Contaminants in Aquatic Environments.*(P. Norman E, A. Rod J, & T. Vladimir V, Eds.) Wallingford, Great Britain.

39. Helmer, R., & Meybeck, M. (1996). *An Introduction to water quality in Water Quality Assessments. A guide to Use of Biota, Sediments and water in environmental Monitoring* (2da edición ed.). (D. Chapman, Ed.) Great Britain: University Press, Cambridge.

40. Hidronación. (2007). Revisado Junio 26, 2011, en http://www.hidronación.org/portal/home/location

41. ICH-Q2A. (1995). *Guide line for industry. Text on validation of analitycal procedures.*

42. ICH-Q2B. (1996). *Guidedance for industry. Validation for analitical procedures: Methodology.*

43. INEC (Instituto NAcional de Estadísticas y Censos). (2011). Revisado Febrero 15, 2013, from http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=84&Itemid=65

44. INEC. (2011). *Instituto Nacional de Estadística y Censo*. Revisado enero 21, 2013, en INEC: Resultados Censo de Población.http://www.inec.gob.ec/cpv/?TB_iframe=true&height=450&width=800'%20rel=slbox

45. INEN (1998b). GPE INEN-ISO 30:98. *Definiciones usadas con relación a materiales de referencia.* Ecuador, Quito.

46. *INEN. (1998). Norma Técnica INEN 2176:98, Calidad de agua. Muestreo. Técnicas de Muestreo.* Quito, Ecuador.

47. INEN. (1998a). *Norma Técnica INEN 2169:98. Agua. Calidad de agua. Muestreo. Manejo y Conservación de muestras.* Quito, Ecuador.

48. INN (Instituto Nacional de Normalización). (1998). *Norma Chilena Oficial. NCh411/6.OF98 Calidad de Agua. Muestreo. Parte 6: Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua.* Santiago, Chile.

*49.* INN (Instituto Nacional de Normalización). (1998a). *Norma Chilena Oficial. NCh411/1.OF98 Calidad de Agua. Muestreo. Parte 1: Guía para el diseño de programas de muestreo.* Santiago, Chile.

50. INN (Intituto Nacional de Normalización). (2002). NCh 2725. *Directrices para la aplicación de NCh-ISO 17025 en los laboratorios que realizan ensayos y análisis químicos*. Santiago, Chile.

51. INN (Intituto Nacional de Normalización). (2002a). NCh 2737. Procedimiento para la calibración de medidores de pH. Instituto Nacional de Normalización. Santiago,Chile.19 p.

52. INN (Intituto Nacional de Normalización). (2003). NCh 2766. Química. Estructura y contenido de las normas. Método de análisis químico. 24p.

53. INN (Intituto Nacional de Normalización). (2003a). NCh 2755/1. *Guía para la cuantificación y expresión de la incertidumbre en el análisis químico. Parte 1: Fundamentos*: Instituto Nacional de Normalización. Santiago, Chile.

54. INOCAR. (2012). *Gráfico de precipitaciones diarias en Guayaquil*. Revisado Febrero 21, 2013, en http://www.inocar.mil.ec/graphs/src/inocar/index_ptndiario.php

55. INOCAR. (2012a). *Gráfico de precipitaciones mensuales*. Revisado Febrero 22, 2013, from http://www.inocar.mil.ec/graphs/src/inocar/index_ptnmen.php

56. ISO/IEC 17025. (2005). Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. 38 p.

57. IUPAC (Unión Internacional de Química pura y Aplicada). (1995). *Nomenclatura para cromatografía.* Madrid: Fareso S.A.

58. Jackson, P. E., Thomas, D. H., Donovan, B., Pohl, C. A., & Kiser, R. E. (2001). New block-grafted anion exchanger for environmetal water analysis by ion chromatography. *Elsevier. Journal of Chromatography* , 51-60.

59. Leanza, L. N., Parente, J. R., Varanese, C. T., & Echeverría, P. L. (2005). *Biblioteca Virtual de Desarrollo Sostenible y Salud Ambiental.* (3. -C. 040918, Ed.) Revisado Enero 31, 2013, en ASADES.: http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd53/01-13.pdf

60. Ludwing, H. (1999). *Validation and ualification in Analytical Laboratories.* USA: Interpharm.

61. Metrohm. *850 Professional IC. 2.850.2110-Anion MCS Prep 1. Manual.* Herisau: Teachware Metrohm AG.

62. Miller, J. C., & Miller, J. N. (1993). *Estadística para Química Analítica.*Wilmintong: addison-Wesley Iberoamerican, S.A.

63. Montaño, M., & Robadue, D. (1995). Coastel water quality monitoring and managenment in eight years in Ecuador: The road integrated coastel management, Coastal Resources Center, University of Rhode Island.

64. Montaño, M., & Sanfeliu, T. (2008). Ecosistema Guayas (Ecuador). Medio Ambiente y Sostenibilidad. *Revista Tecnológica ESPOL, 21* (1), 6.

65. Montaño, M., (2010). Ecosistema Guayas (Ecuador): Recursos, Medio Ambiente y Sostenibilidad en la perspectiva del Conocimiento Tropical. Tesis Doctoral, Elche.

66. Moreno, D., Quintero, J., López, A. (2010). Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia. Contactos 78, 25-33

67. Moung, S. (2004). *Avoiding Adverse Health Impacts en Contaminated Vegetables: Options for three wetlands in Phnom Penh, Cambodia, Economy and Environment Program for Southeast Asia.* Reporte No. 2004-RR5, Singapore.

68. OMS. (2006). *Guias para la calidad del agua potable* (Primer apendice a la tercera edicion ed., Vol. 1). Version electronica para la Web.

69. ONU. (2013). *Día Mundial del agua, 22 de marzo. Revisado Abril 18, 2013* en http ://www.un.org/es/events/waterday/2013/sgmessage.shml

70. Palacios, A., & América, L. (1997). Nitratos y Nitritos. *Biblioteca virtual de desarrollo sostenible y salud ambiental. Introducción a la toxicología ambiental* , 279-296.

71. Passos, I. S. (2011). *Cromatografía Iónica. Teoría.* Presentación Power Point, Regional Support Centre Latin America, Brazil.

72. Prefectura del Guayas. (2012). *San Jacinto de Balzar*. Revisado Diciembre 14, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/balzar

73. Prefectura del Guayas. (2012a). *Colimes*. Revisado Agosto 15, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/colimes

74. Prefectura del Guayas. (2012b). *Daule*. Revisado Agosto 15, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/daule

75. Prefectura del Guayas. (2012c). *Guayaquil*. Revisado Agosto 17, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/guayaquil

76. Prefectura del Guayas. (2012d). *Nobol*. Revisado Agosto 17, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/nobol

77. Prefectura del Guayas. (2012e). *Palestina*. Revisado Agosto 17, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/palestina

78. Prefectura del Guayas. (2012f). *Santa Lucía*. Revisado Agosto 15, 2012, en http://www.guayas.gob.ec/cantones/santa-lucia

79. Proaño et. al. (2011). Calidad del Agua del río Daule durante la seca del 2009 y 2010. *El Misionero Universidad Agraria* .

80. Quattrocchi, O. A., Abelaira, S. I., & Laba, L. F. (1992). *Introducción a la HPLC. Aplicación y Práctica.* Argentina: Artes Gráficas Farro S.A. .

81. Rando, J.M.,& Valderrama, C.A. (2010). Estudio de la efectividad de una resina magnética de intercambio iónico para la reducción de aniones y materia orgánica en las aguas del río Llobregat.

82. Rodríguez, A. (2003). caracterización de la calidad de las Aguas y Sedimentos del río Atacames 2002. *Acta Oceanográfica del pacífico, 12* (1), 13-20.

83. Ryczel, M. E. (2006, Abril). *Biblioteca Virtual de Desarrollo Sostenible y Salud Ambiental.* (1. -C. 041831, Ed.) Revisado Enero 31, 2013, en Actualizaciones Médicas: http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd63/presencia.pdf

84. Sadzawka, Carrasco, & Demanet. (2007). *Guía para la validación de los métodos de análisis en lodos y suelos.* Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas.

85. Schafer, Laubli & Dorig. (2003). Ion Chromatography. Theory. Columns and Eluents. Metrhom AG. Herisau. Switzerland.

86. Schindler, D. W., Hecky, R. E., Findlay, D. L., Stainton, M. P., Parker, B. R., & Paterson, M. J. (2008). *PNAS.* Revisado Febreo 1, 2013, en Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment: http://www.pnas.org/content/105/32/11254.abstract?ijkey=193442f62c223a79a31696a755bf00a107e708cf&keytype2=tf_ipsecsha

87. Senagua. (2012). Revisado Julio 28, 2012, en Foro Encuentro : http://www.senagua.gob.ec/?p=11808

88. Sierra, J., Jaime, A., & Mora, A. (2002). Monitoreo de parámetros Físico-Químicos en la Cuenca alta del río Bogotá. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina* , 23-30.

89. Skoog, D. A., & West, D. M. (1985). *Análisis Instrumental* (Segunda edición ed.). (M. Calcagno, Trans.) México: Interamericana.

90. Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (sexta edición ed.). Mexico: Edamsa Impresiones, S.A de C.V.

91. Solis Garza, G., Villalba Atondo, A. I., Nubes Ortíz, G., Castillo Alarcón, J. M., & Meraz Acosta, F. A. (2010). Físico-Química del agua Superficial y Sedimento en el río Santa Cruz, Sonora México. *Biotecnia* , 3-9.

92. Standar Methods. (2005). Standard Methods for the Examination of water and wastewater 20th Edition.

93. Stemper, & Stemper, D. M. (1993). *La Persistencia de los Cacicazgos Prehispánicos en el río Daule, Costa del Ecuador.* (L. mundi, Ed., & J. Camacho, Trans.) Pittsburgh Quito.

94. Torres, G., & Palacios, C. (2007). Calidad Ambientl del Bloom Algal en ärea Urbana del Estero Salado (Ciudad de Guayaquil) en Junio de 2005. *Acta Oceanográfica del Pacífico, 14* (1), 115-123.

95. Trejos, R., & Okuda, T. (1983). Distribución del Nitrito en las aguas costeras Ecuatorianas. *Acta Oceanográfica del Pacífico,INOCAR,Ecuador, Volumen 2* (1), 23.

96. TULSMA (Texto Unificado de la Legislación Secuandaria del Ministerio de Ambiente). (2010). Anexo 1, Libro VI TULSMA. Revisado Noviembre 12, 2012, en Propuesta: http://web.ambiente.gob.ec/?q=taxonomy/term/89/all

97. UNE-EN, ISO/IEC 17025:2005. (2006). *Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.* Registro Oficial No 196 de 2006-01-26: Acuerdo Ministerial No.06039 de 2006-01-12.

98. UNEP/GEMS. (2004) FRESHWATER. Revisado Agosto 15,2011 en http://www.unep.org/yearbook/2004/115.htm

99. Universidad Agraria. (2009). *Proyecto Biomonitoreo de la calidad del agua para determinar la naturaleza y grado de contaminación por la agricultura y actividades afines en los principales ríos de la cuenca del río Guayas.* Informe Técnico de avance. Noviembre de 2009, Guayaquil.

100. WHO. (2003). *Water Sanitation Health.Chloride in drinking water.*(WHO, Ed.) Revisado Enero 28, 2013, en http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/chloride/en/index.html

101. WHO. (2011). Guidelines for Drinking-water Quality. Switzerland.

# ANEXOS

# Anexo 1.

## INSTRUCTIVO DE OPERACIÓN DEL IC 883

**A) Antes de iniciar la operación del sistema,** algunos chequeos son necesarios :

- Revisar botella de desecho, vaciar botella
- Verificar soluciones de ácido sulfúrico y agua para el sistema de supresión.
- Agua para posición de limpieza de autosampler y dosificador
- Presión de soporte de mangueras tygon en bombas peristálticas ( supresor)
- Conexión de capilares para métodos de aniones o cationes ( con o sin supresión )
- columna y eluyente corrector para las aplicaciones

**B) Encender** Primero el computador, enseguida los equipos y el software Magic Net por ultimo.

**C) En la plataforma** "Configuración" verificar en **configuraciones** – si todos los "Equipos" están conectados y si algún accesorio está siendo monitoreado, esperar durante un tiempo de trabajo.

**D) Estabilizar el sistema**, siguiendo el procedimiento de abajo:

1. En la plataforma workplace (ANÁLISIS) hacer clic en "equilibration". No iniciar "(….)" hacer clic dos veces en el método bajo el cual será analizadas las muestras

2. Hacer clic en Star HW .La línea base será realizada bajo la pantalla "Live display" .La estabilización de cualquier sistema de aniones (con utilización de supresión) mover manualmente el rotor del supresor CAMBIAR EL FLUJO DE ELUYENTE (0.0ML) Y ENCENDER LOS STEPS DE LA SUPRESORA .CAMBIAR NUEVAMENTE EL FLUJO PARA 0.8 DESPUES DE LA ESTABILIDAD DE LA PRESION.

3. Si la conductividad y la presión se encuentran estables verificar el método e iniciar las inyecciones conforme al procedimiento de abajo (E). Se necesita alterar el método, seguir el procedimiento (F) antes de inyectar las muestras

**E) Para realizar las inyecciones**

1. Posterior a obtener una línea base y de presión estables, hacer clic en "determination series".

2. Hacer clic en "sample table" => "New" ( en la parte inferior de la pantalla

3. Cuando aparece una nueva lista de muestras, hacer clic dos veces en la primera línea para la edición

4. Escoger el método no iniciar "(…..)"

5. Identificar el tipo en "Ident"

6. En "sample type" escoger la muestra

7. En "Position" escoge el número de vial

8. En "inyections", escoger 1

9. En "volumen" insertar el volumen del lazo (loop 20ul)

10. En "dilution" y "sample amount" insertar 1 .El valor colocado en "dilution" se multiplicara al resultado, el valor colocado en "sample amount" dividirá el resultado de la inyección.

11. Hacer click en "Apply" => "Close" => " START"

12. **Hacer clic en stop del hardware cuando la tabla de muestras es finalizada.** para que el equipo se detenga luego de la última inyección de la secuencia .El equipo ahora parará la operación de la bomba del eluyente, la bomba peristáltica de los reactivos de supresión y que pueda perjudicar el funcionamiento de la bomba de doble pistón a agotamiento del eluyente.

13. Luego de finalizadas las corridas hacer clic en la plataforma "Data base" y abrir la base de datos correspondientes para la visualización de los cromatogramas

**F) Verificar el método** Ajustar los "componentes" de la recta de calibración de la concentración de los mismos en "Standars" Si alguna alteración fuera necesaria, realizar la inyección de un patrón y alterar el método siguiendo los pasos de abajo.

1. Hacer clic en plataforma "Method" abrir el método en "File" "Open" "Method".

2. Una nueva pantalla será abierta Hacer clic en "Integration" en el caso que se necesite alguna alteración en la integración de los picos. Cuando realice cualquier modificación hacer clic en "update" para verificar la integración de los picos.

3. Después hacer clic en "components" para insertar los nombres de los patrones de los tiempos debidos de retención. Por ejemplo para aceptar en el tiempo de retención de Cloruro, que saldrá luego en el nombre encima del pico, hacer clic sobre la línea de Cloruro en la tabla de componentes y cambiar el tiempo de retención .Para adicionar un nuevo patrón colocar el cursor sobre el pico que estará sin nombre y aparecerá un ícono de un pico

verde. Hacer clic directo del mouse y escoger “New componet”. Una pantalla aparecerá para ser insertado o nombrado desde el analito. Actualizar los tiempos de retención de cada analito.

4. Después que todos los anillos fueron insertados, hacer clic en “Standars” para insertar los niveles de concentración de cada analito. Luego inserta las concentraciones de cada punto de la recta. En “Standars” hacer doble clic en la columna que posee un * (asterisco). Aparecerá una pantalla “New Standar”. Insertar las concentraciones correctas en ppm de cada analito.

5. Haciendo clic en “Calibration” escoja el tipo de recta a ser determinada para todos los analitos (linearizar pasando por cero cuadrática, etc.). En “Calibration” cada analito deberá tener especificada a su referencia (área bajo la curva) el tipo de curva para la calibración.

6. Salvar la fecha del método

**G)** Con las **modificaciones listas en los métodos**, iniciar la inyección de los patrones y muestras. Para eso preparar una tabla de muestras. En la columna “sample type”, colocar para cada una de las inyecciones las especificaciones de “standard 1”, “standard 2” o “simple” para las muestras. Hacer clic en “start” para iniciar las inyecciones. A partir de este momento, las próximas inyecciones serán calibradas de acuerdo a la recta de calibración construida. Al final de las inyecciones se debe desligar el eluyente (apagar).

# Anexo 2. MCR

**PRIMUS**
Primary Multiion Standards

A Cooperation Project of
BAM
EMPA
Fluka Analytical

# Certificate

This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31 [1] and comprises four pages.

Produced in double accredited laboratory fulfilling ISO/IEC 17025 and ISO Guide 34

## Primary multianion standard solution

| | |
|---|---|
| ction: | Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs/Switzerland |
| Object of certification: | **Primary multianion standard solution** in *Trace***SELECT**® Ultra water (18.2 MΩ·cm, 0.22 µm filtered) in precleaned 50 mL HDPE bottles, sealed in an aluminized bag |
| Fluka product no.: | 89886 |
| Lot: | BCBB8958 |
| Density at 20°C: | $\rho$ = 998.2 kgm$^{-3}$ u($\rho$) = 0.5 kgm$^{-3}$ |
| Intended use: | This reference material is intended to be used for calibration of ion chromatography or any other analytical technique needing a calibration with anion standard solutions. |
| Expiry date: | JAN / 2014 |
| Storing and handling: | This reference material shall be stored in the original closed bag in a temperature range of 5°C to 30°C. Before opening, the bottle's temperature must be 22 ± 2°C. |

## 1. Certified values

Certified value and uncertainty according to ISO Guide 35 [2] and Eurachem/CITAC Guide [3]

| **Constituent** (formula) | **Certified value** | **Expanded uncertainty** [$U = k \cdot u_c$ ; $k = 2$] |
|---|---|---|
| **Bromide ($Br^-$)** | **10.00 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |
| **Chloride ($Cl^-$)** | **10.00 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |
| **Fluoride ($F^-$)** | **10.00 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |
| **rate ($NO_3^-$)** | **10.01 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |
| **Phosphate ($PO_4^{3-}$)** | **10.00 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |
| **Sulfate ($SO_4^{2-}$)** | **10.00 mg kg$^{-1}$** | **± 0.02 mg kg$^{-1}$** |

## 2. Concept of certification and traceability statement

The certified contents of anions (given as mass fractions) in this multanion solution are calculated from gravimetric preparation values **using BAM/EMPA certified primary materials** (PMs, see page 4). The following basic materials are used: NaF, NaCl, NaBr, $NaNO_3$, $Na_2HPO_4$, $Na_2SO_4$. The anion contents in the PMs are calculated by subtracting the below listed impurities from 100% (=difference analysis approach).
A **content verification** was performed for all the PMs by high precision analysis of either the anion or its counterion. The content verification strongly indicates that no significant impurities are missed in the difference analysis approach (i.e. organics or residual water). In addition, the content verification underpins the correct PM stoichiometry.
A final **process verification** for the production process was performed using high precision titrimetry measurements of bromide and chloride in the bottled multianion solution.

Certificate page 1 of 4

Fluka is a brand of SIGMA-ALDRICH

# Anexo 3.

**Tabla A.2.** La distribución *t*.

| *Valor de t para un intervalo de confianza de*<br>*Valor crítico de \|t\| para valores de P de número de grados de libertad* | *90%*<br>*0.10* | *95%*<br>*0.05* | *98%*<br>*0.02* | *99%*<br>*0.01* |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 6.31 | 12.71 | 31.82 | 63.66 |
| 2 | 2.92 | 4.30 | 6.96 | 9.92 |
| 3 | 2.35 | 3.18 | 4.54 | 5.84 |
| 4 | 2.13 | 2.78 | 3.75 | 4.60 |
| 5 | 2.02 | 2.57 | 3.36 | 4.03 |
| 6 | 1.94 | 2.45 | 3.14 | 3.71 |
| 7 | 1.89 | 2.36 | 3.00 | 3.50 |
| 8 | 1.86 | 2.31 | 2.90 | 3.36 |
| 9 | 1.83 | 2.26 | 2.82 | 3.25 |
| 10 | 1.81 | 2.23 | 2.76 | 3.17 |
| 12 | 1.78 | 2.18 | 2.68 | 3.05 |
| 14 | 1.76 | 2.14 | 2.62 | 2.98 |
| 16 | 1.75 | 2.12 | 2.58 | 2.92 |
| 18 | 1.73 | 2.10 | 2.55 | 2.88 |
| 20 | 1.72 | 2.09 | 2.53 | 2.85 |
| 30 | 1.70 | 2.04 | 2.46 | 2.75 |
| 50 | 1.68 | 2.01 | 2.40 | 2.68 |
| $\infty$ | 1.64 | 1.96 | 2.33 | 2.58 |

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

# Anexo 4.

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

| $\nu_2$ | $\nu_1$ | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* | *10* | *12* | *15* | *20* |
| 1 | 161.4 | 199.5 | 215.7 | 224.6 | 230.2 | 234.0 | 236.8 | 238.9 | 240.5 | 241.9 | 243.9 | 245.9 | 248.0 |
| 2 | 18.51 | 19.00 | 19.16 | 19.25 | 19.30 | 19.33 | 19.35 | 19.37 | 19.38 | 19.40 | 19.41 | 19.43 | 19.45 |
| 3 | 10.13 | 9.552 | 9.277 | 9.117 | 9.013 | 8.941 | 8.887 | 8.845 | 8.812 | 8.786 | 8.745 | 8.703 | 8.660 |
| 4 | 7.709 | 6.944 | 6.591 | 6.388 | 6.256 | 6.163 | 6.094 | 6.041 | 5.999 | 5.964 | 5.912 | 5.858 | 5.803 |
| 5 | 6.608 | 5.786 | 5.409 | 5.192 | 5.050 | 4.950 | 4.876 | 4.818 | 4.772 | 4.735 | 4.678 | 4.619 | 4.558 |
| 6 | 5.987 | 5.143 | 4.757 | 4.534 | 4.387 | 4.284 | 4.207 | 4.147 | 4.099 | 4.060 | 4.000 | 3.938 | 3.874 |
| 7 | 5.591 | 4.737 | 4.347 | 4.120 | 3.972 | 3.866 | 3.787 | 3.726 | 3.677 | 3.637 | 3.575 | 3.511 | 3.445 |
| 8 | 5.318 | 4.459 | 4.066 | 3.838 | 3.687 | 3.581 | 3.500 | 3.438 | 3.388 | 3.347 | 3.284 | 3.218 | 3.150 |
| 9 | 5.117 | 4.256 | 3.863 | 3.633 | 3.482 | 3.374 | 3.293 | 3.230 | 3.179 | 3.137 | 3.073 | 3.006 | 2.936 |
| 10 | 4.965 | 4.103 | 3.708 | 3.478 | 3.326 | 3.217 | 3.135 | 3.072 | 3.020 | 2.978 | 2.913 | 2.845 | 2.774 |
| 11 | 4.844 | 3.982 | 3.587 | 3.357 | 3.204 | 3.095 | 3.012 | 2.948 | 2.896 | 2.854 | 2.788 | 2.719 | 2.646 |
| 12 | 4.747 | 3.885 | 3.490 | 3.259 | 3.106 | 2.996 | 2.913 | 2.849 | 2.796 | 2.753 | 2.687 | 2.617 | 2.544 |
| 13 | 4.667 | 3.806 | 3.411 | 3.179 | 3.025 | 2.915 | 2.832 | 2.767 | 2.714 | 2.671 | 2.604 | 2.533 | 2.459 |
| 14 | 4.600 | 3.739 | 3.344 | 3.112 | 2.958 | 2.848 | 2.764 | 2.699 | 2.646 | 2.602 | 2.534 | 2.463 | 2.388 |
| 15 | 4.543 | 3.682 | 3.287 | 3.056 | 2.901 | 2.790 | 2.707 | 2.641 | 2.588 | 2.544 | 2.475 | 2.403 | 2.328 |
| 16 | 4.494 | 3.634 | 3.239 | 3.007 | 2.852 | 2.741 | 2.657 | 2.591 | 2.538 | 2.494 | 2.425 | 2.352 | 2.276 |
| 17 | 4.451 | 3.592 | 3.197 | 2.965 | 2.810 | 2.699 | 2.614 | 2.548 | 2.494 | 2.450 | 2.381 | 2.308 | 2.230 |
| 18 | 4.414 | 3.555 | 3.160 | 2.928 | 2.773 | 2.661 | 2.577 | 2.510 | 2.456 | 2.412 | 2.342 | 2.269 | 2.191 |
| 19 | 4.381 | 3.522 | 3.127 | 2.895 | 2.740 | 2.628 | 2.544 | 2.477 | 2.423 | 2.378 | 2.308 | 2.234 | 2.155 |
| 20 | 4.351 | 3.493 | 3.098 | 2.866 | 2.711 | 2.599 | 2.514 | 2.447 | 2.393 | 2.348 | 2.278 | 2.203 | 2.124 |

$\nu_1$ = número de grados de libertad del numerador y $\nu_2$ = número de grados de libertad del denominador.

# Anexo 5.

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

| $\nu_2$ | $\nu_1$ | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* | *10* | *12* | *15* | *20* |
| 1 | 647.8 | 799.5 | 864.2 | 899.6 | 921.8 | 937.1 | 948.2 | 956.7 | 963.3 | 968.6 | 976.7 | 984.9 | 993.1 |
| 2 | 38.51 | 39.00 | 39.17 | 39.25 | 39.30 | 39.33 | 39.36 | 39.37 | 39.39 | 39.40 | 39.41 | 39.43 | 39.45 |
| 3 | 17.44 | 16.04 | 15.44 | 15.10 | 14.88 | 14.73 | 14.62 | 14.54 | 14.47 | 14.42 | 14.34 | 14.25 | 14.17 |
| 4 | 12.22 | 10.65 | 9.979 | 9.605 | 9.364 | 9.197 | 9.074 | 8.980 | 8.905 | 8.844 | 8.751 | 8.657 | 8.560 |
| 5 | 10.01 | 8.434 | 7.764 | 7.388 | 7.146 | 6.978 | 6.853 | 6.757 | 6.681 | 6.619 | 6.525 | 6.428 | 6.329 |
| 6 | 8.813 | 7.260 | 6.599 | 6.227 | 5.988 | 5.820 | 5.695 | 5.600 | 5.523 | 5.461 | 5.366 | 5.269 | 5.168 |
| 7 | 8.073 | 6.542 | 5.890 | 5.523 | 5.285 | 5.119 | 4.995 | 4.899 | 4.823 | 4.761 | 4.666 | 4.568 | 4.467 |
| 8 | 7.571 | 6.059 | 5.416 | 5.053 | 4.817 | 4.652 | 4.529 | 4.433 | 4.357 | 4.295 | 4.200 | 4.101 | 3.999 |
| 9 | 7.209 | 5.715 | 5.078 | 4.718 | 4.484 | 4.320 | 4.197 | 4.102 | 4.026 | 3.964 | 3.868 | 3.769 | 3.667 |
| 10 | 6.937 | 5.456 | 4.826 | 4.468 | 4.236 | 4.072 | 3.950 | 3.855 | 3.779 | 3.717 | 3.621 | 3.522 | 3.419 |
| 11 | 6.724 | 5.256 | 4.630 | 4.275 | 4.044 | 3.881 | 3.759 | 3.664 | 3.588 | 3.526 | 3.430 | 3.330 | 3.226 |
| 12 | 6.554 | 5.096 | 4.474 | 4.121 | 3.891 | 3.728 | 3.607 | 3.512 | 3.436 | 3.374 | 3.277 | 3.177 | 3.073 |
| 13 | 6.414 | 4.965 | 4.347 | 3.996 | 3.767 | 3.604 | 3.483 | 3.388 | 3.312 | 3.250 | 3.153 | 3.053 | 2.948 |
| 14 | 6.298 | 4.857 | 4.242 | 3.892 | 3.663 | 3.501 | 3.380 | 3.285 | 3.209 | 3.147 | 3.050 | 2.949 | 2.844 |
| 15 | 6.200 | 4.765 | 4.153 | 3.804 | 3.576 | 3.415 | 3.293 | 3.199 | 3.123 | 3.060 | 2.963 | 2.862 | 2.756 |
| 16 | 6.115 | 4.687 | 4.077 | 3.729 | 3.502 | 3.341 | 3.219 | 3.125 | 3.049 | 2.986 | 2.889 | 2.788 | 2.681 |
| 17 | 6.042 | 4.619 | 4.011 | 3.665 | 3.438 | 3.277 | 3.156 | 3.061 | 2.985 | 2.922 | 2.825 | 2.723 | 2.616 |
| 18 | 5.978 | 4.560 | 3.954 | 3.608 | 3.382 | 3.221 | 3.100 | 3.005 | 2.929 | 2.866 | 2.769 | 2.667 | 2.559 |
| 19 | 5.922 | 4.508 | 3.903 | 3.559 | 3.333 | 3.172 | 3.051 | 2.956 | 2.880 | 2.817 | 2.720 | 2.617 | 2.509 |
| 20 | 5.871 | 4.461 | 3.859 | 3.515 | 3.289 | 3.128 | 3.007 | 2.913 | 2.837 | 2.774 | 2.676 | 2.573 | 2.464 |

$\nu_1$ = número de grados de libertad del numerador y $\nu_2$ = número de grados de libertad del denominador.

**Tabla A.5.** Valores críticos de $Q$ ($P = 0.05$) para un contraste de dos colas.

| *Tamaño de muestra* | *Valor crítico* |
|---|---|
| 4 | 0.831 |
| 5 | 0.717 |
| 6 | 0.621 |
| 7 | 0.570 |

Tomados de King, E. P. 1958. *J. Am. Statist. Assoc.*, 48:531.

# Anexo. 6. Fotos de equipos.

**Equipo: 1. Milli-Q**

**Equipo: 2. Ultrasonido Fisher Scientific**

**Equipo: 3. Conductímetro Orion Star**

**Equipo: 4. Potenciómetro Orion Star**

**Equipo: 5. Extractora de gases Frontier Junior**

**Equipo: 6. Estufa Memmert**

Equipo 7. Refrigerador Electrolux

Equipo 8. Desecador de vidrio

Equipo 9. Balanza analítica

Zona 1. Laboratorio, área de trabajo

Equipo 10. Cromatógrafo Iónico Metrohm 883

Equipo 11. Automuestreador

# Anexo 7. Fotos de los lugares de muestreo

Foto 1. Puente Lucía

Foto 2. Sector La Toma

Represa Daule Peripa

Represa Daule Peripa

Sector Pichincha, descargas domésticas

Sector Pichincha, descargas domésticas

# Anexo 8. Términos y Definiciones

**Análisis:** en el ámbito químico, implica someter a una muestra a un proceso analítico para conocer información sobre la misma (INN, 2002).

**Calibración:** conjunto de operaciones que establecen en condiciones especificadas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medición o por un sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada o por un material de referencia y los valores correspondientes de esa magnitud materializados por patrones (INN, 2002a).

**Curva de calibración (estándar):** representación gráfica bidimensional que muestra la variación de la señal analítica en función de la variación de la concentración de la solución patrón (estándar) (INN, 2003).

**Ensayo:** una operación técnica que consiste en la determinación de una o más características o del comportamiento de un determinado producto, material, equipo, organismo, fenómeno físico, proceso o servicio, de acuerdo a un procedimiento especificado (INN, 2002).

**Error de una medida:** resultado de una medición menos un valor verdadero de un mensurando (INN, 2003a).

Nota: Considerando que un valor verdadero no se puede determinar, en la práctica se usa un valor verdadero convencional.

**Error aleatorio:** resultado de una medición menos la media de un número infinito de mediciones del mismo mensurando, efectuadas bajo condiciones de repetibilidad (INN, 2003a).

**Error sistemático:** media que resultaría de un número infinito de mediciones del mismo mensurando efectuadas bajo condiciones de repetibilidad, menos un valor verdadero del mensurando (INN, 2003a).

Nota: Para un instrumento de medida se utiliza el sesgo.

**Especificidad:** Habilidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se puede esperar que estén presentes. Típicamente éstos pueden incluir impurezas, productos de degradación, la matriz, etc.

**Exactitud:** grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado (INN, 2003a). También se puede definir como la cercanía entre el valor que es aceptado (INEN, 1998b), ya sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interno del laboratorio), o como un valor de guía para la validación de los métodos de (material de referencia certificado) y el valor promedio obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces.

La recuperación en cada punto se calcula mediante la relación entre el valor obtenido y el teórico

**Fortificar:** acción de añadir un analito, sustancia, matriz química o un material de referencia certificado a una muestra en cualquier etapa de un análisis químico, para realzar la respuesta del sistema de medición con un objetivo determinado (INN, 2003a).

**Incertidumbre de una medida:** parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando (INN, 2003a).

**Material de referencia:** material o sustancia en que uno o varios valores de la(s) propiedad(es) es (son) suficientemente homogéneo(s) y bien definido(s) para permitir su uso para calibrar un aparato, evaluar un método de medición o asignar valores a materiales (INN, 2002a; INEN, 1998b)

**Material de referencia certificado (MRC):** material de referencia, acompañado de un certificado, en que uno o varios valores de la(s) propiedad(es) está(n) certificado(s) por un procedimiento que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en que están expresados los valores de la propiedad y para la cual cada valor certificado está acompañado de una incertidumbre a un nivel de confianza indicado (INN, 2002a), (INEN, 1998b)

**Medición:** conjunto de operaciones que tienen por finalidad determinar un valor de una magnitud (INN, 2003a).

**Método analítico:** conjunto de operaciones específicas para caracterizar cualitativa y cuantitativamente a un analito (o familia) en una determinada muestra. Implica el empleo de una técnica (instrumento) y supone la precisión del proceso de medida química (INN, 2002).

**Precisión:** grado de concordancia entre resultados de ensayos independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas (INN, 2003a; INEN, 1998b)

**Repetibilidad:** precisión bajo condiciones de repetibilidad (NCh 2766, 2003).

**Condiciones de repetibilidad:** condiciones en que se obtienen resultados de ensayo independientes con el mismo método sobre ítems de ensayo idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador usando el mismo equipo dentro de intervalos cortos de tiempo (INN, 2003).

**Límite de la repetibilidad:** valor menor o igual al cual la diferencia absoluta entre dos resultados de ensayo obtenidos bajo condiciones de repetibilidad se puede esperar que sea con una probabilidad de 95%. Se designa por el símbolo *r* (INN, 2003).

**Reproducibilidad:** precisión bajo condiciones de reproducibilidad (INN, 2003).

**Condiciones de reproducibilidad:** condiciones en que se obtienen resultados de ensayo con el mismo método sobre ítems de ensayo idénticos en diferentes laboratorios con operadores usando equipos diferentes (INN, 2003).

**Límite de la reproducibilidad:** valor menor o igual al cual la diferencia absoluta entre dos resultados de ensayo obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad se puede esperar que sea con una probabilidad de 95%. Se designa por el símbolo *R* (INN, 2003).

**Robustez:** propiedad analítica de un proceso de medida química que describe su resistencia al cambio cuando se varían ligeramente las condiciones experimentales en las que se desarrolla (INN, 2003a).

**Selectividad:** habilidad de un procedimiento analítico para diferenciar entre varios componentes de una mezcla.

**Términos estadísticos**

**Análisis de regresión**: se usa para predecir el valor de la variable dependiente (*Y*) basada en la variable independiente (*X*).

**Coeficiente de correlación(r):** mide la dependencia estadística entre variables (INN, 2002; 2003a; 2002a; 2003).

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x}) * (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2 * \sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}}$$

**Coeficiente de determinación ($R^2$):** el coeficiente de determinación es el cuadrado del coeficiente de correlación, y toma valores de 0 a 1.

**Coeficiente de variación (**CV**):** desviación estándar de una población de *n* resultados de una muestra dividida por la media de esa muestra. Frecuentemente se expresa en porcentaje.

$$CV\ (\%) = \frac{S}{\bar{\bar{X}}}$$

**Media aritmética (x):** valor promedio obtenido de *n* resultados de una muestra (INN, 2003a).

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} = \frac{x_1 + x_2 + \ \ldots + x_n}{n}$$

**Desviación estándar de la muestra (*s*):** estimación de la desviación estándar de una población por medio de *n* resultados de una muestra (INN, 2003a).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 - (x_2 - \bar{x})^2 - (x_3 - \bar{x})^2 \ldots - (x_n - \bar{x})^2}{n-1}}$$

**Desviación estándar de la media ($S_x$):** desviación estándar de la media x de *n* valores tomados de una población; se expresa por:

$$Sx = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Los términos error estándar y error estándar de la media se han usado para escribir la misma cantidad (INN, 2003a).

**Prueba F:** se usa para determinar si dos varianzas $s_A^2$, $s_B^2$ difieren o no la una de la otra en forma significativa y permite concluir: en datos obtenidos en la misma muestra y en ensayos diferentes se puede decidir: si los dos métodos difieren en precisión de una manera significativa; y cuál de los dos métodos es más preciso.

**Prueba t:** la principal aplicación, se usa para comparar las medias de dos muestras independientes de tamaños iguales.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{X1X2} * \sqrt{\frac{2}{n}}}$$

La prueba t permite también comparar: Una media experimental con un valor conocido. La medias de dos métodos A y B.

$$t = \frac{x_A - x_B}{\sqrt{\frac{n_A + n_B}{n_A * n_B} * (\frac{(n_A - 1)s^2{}_A + (n_B - 1)s^2{}_B}{n_1 + n_2 - 2})}}$$

**Regresión:** corresponde a ecuación de regresión una línea recta $y = \alpha + \beta x$, $\alpha$ y $\beta$ se estiman con a y b con el método de mínimos cuadrados. La ecuación queda:

Donde $\hat{y}$ es la **y** estimada

$$\hat{y} = a_{yx} + b_{yx} * x$$

$$a_{yx} = \bar{y} - b\bar{x}$$

$$b_{yx} = \frac{\sum_{i=1}^{n}\{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}$$

**Desviación típica:** el error tipo o desviación típica residual en la estimación de y después de hacer los ajustes del efecto de x sobre y es: $S_{y,x}$

$$(y_i - \hat{y}_i)\ residuales\ de\ y$$

$$S_{y,x} = \sqrt{\frac{\Sigma(y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$\hat{y}_i = valor\ del\ \ punto\ en\ la\ recta\ \ para\ el\ valor\ de\ x_i$$

Las desviaciones estándar de los coeficientes se calculan:

$$Sb = \frac{Sy,x}{\sqrt{\varepsilon(Xi-Xm)^2}} Sa = Sb\sqrt{\frac{\sum xi^2}{n}}$$

Los valores de Sa y Sb se usan para estimar los límites de confianza de la pendiente y el intercepto. Los intervalos de confianza a y b son

$$b \pm t * Sb \text{ y } a \pm t * Sa$$

**Análisis Simple de varianza:** el análisis de la varianza, creado por R.F Fisher, se emplea para la planificación y evaluación de experiencias y permite medir el efecto cuantitativo de las variables de influencia sobre los resultados de las experiencias. Este análisis presupone condiciones de normalidad y homogeneidad de las varianzas (Asecal, 2008).

**Test de Cochran:** este test de igualdad de varianzas de varios grupos muestrales del mismo tamaño, se lo emplea en las adiciones de analito, para determinar si el factor de concentración tiene alguna influencia en los resultados.

$G_{exp} = S^2máx / S_1^2 + S_2^2 + S_3^2$

$s^2$ = Varianza de cada grupo k

K = número de grupos
n = número de determinaciones por grupo
$G_{tablas}$ (α= 0.05, k, n)

Las varianzas no deberían ser diferentes entre sí para el grado de significancia escogido, usualmente α = 0.05. En el caso de no cumplirse, se analiza si se debe a la mayor variabilidad de uno de los extremos, éste se podría acortar o hacer el análisis a otro nivel de concentración.