

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



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

PROYECTO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**“MAGÍSTER EN GESTIÓN INTEGRAL DE LABORATORIOS DE
QUÍMICA”**

TEMA:

**VERIFICACIÓN DE LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO
TITRIMÉTRICO PARA DETERMINAR EL NITRÓGENO
AMONIACAL EN DIFERENTES MATRICES DE AGUA**

AUTOR:

MARQUEZ GALLEGOS MARIO ARTURO

**Guayaquil - Ecuador
2022**

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este Proyecto de Titulación, me corresponde exclusivamente y ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría. El patrimonio intelectual del mismo, corresponde exclusivamente a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

MARIO ARTURO MÁRQUEZ GALLEGOS

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Dr. Joel Vielma
PRESIDENTE

Msc. María José Morales
TUTOR

Master Nadia Flores
DOCENTE EVALUADOR

CONTENIDO

INDICE DE TABLAS.....	8
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	11
INDICE DE ESQUEMAS.....	12
INDICE DE ANEXOS.....	13
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	14
AGRADECIMIENTO.....	15
DEDICATORIA.....	16
RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	18
CAPÍTULO I.....	19
1. Introducción.....	19
1.2. Antecedentes.....	20
1.3. Descripción Del Problema.....	21
1.4. Objetivos.....	22
1.4.1. Objetivo General.....	22
1.4.2. Objetivos Específicos.....	22
1.5. Hipótesis.....	22
1.6. Alcance.....	22
CAPÍTULO II.....	23
2.1. Marco Teórico.....	23
2.1.1. Nitrógeno Amoniacal-Origen.....	23
2.1.2. Formas Químicas.....	23
2.1.3. Nitrógeno en agua residual.....	23
2.1.4. Componentes.....	24
2.1.5. Etapas.....	24
2.1.6. Agua Superficial.....	25
2.2. Calidad del Agua.....	26
2.2.1. Calidad Ambiental.....	26
2.2.2. Tratamiento de las aguas residuales.....	26
2.2.2.1. Procesos físicos.....	26
2.2.2.2. Procesos químicos.....	27
2.3. Norma NTE INEN 1204:2013.....	28
2.3.1. Fundamento.....	28

2.4. Método Ti-trimétrico.....	28
2.4.1. Técnica	28
2.5. Validación	29
2.5.1. Parámetros de validación	29
2.5.1.1. Especificidad o selectividad.....	29
2.5.1.2. Linealidad	30
2.5.1.3. Límite de detección	30
2.5.1.4. Límite de cuantificación	30
2.5.1.6. Exactitud.....	30
2.5.1.8. Precisión.....	31
2.6. Verificación y Validación de métodos según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018.....	31
2.7. Herramientas de Validación.....	32
2.7.1. Blanco	32
2.7.2. Muestras de prueba de rutina.....	32
2.7.4. Estándares de medición.....	32
2.7.5. Estadísticas.....	33
2.7.6. Proceso de validación del método.....	33
2.8. Anova.....	35
2.8.2. Media Aritmética.....	35
2.8.3. Varianza y desviación estándar	35
2.9. Incertidumbre	36
2.9.1. Incertidumbre de medida	36
2.10. Área de trabajo.....	37
2.10.1. Consideraciones para el estudio de Validación.....	37
2.10.2. Rango de Trabajo del método y del instrumento.....	37
2.10.3. Evaluación del rango de trabajo del instrumento	37
2.10.4. Rango de trabajo del método de evaluación	38
2.11. Calibración	38
2.12. Trazabilidad.....	39
2.12.1. Actividades esenciales para establecer la trazabilidad.....	39
CAPITULO III.....	40
3.1. Metodología.....	40
3.1.2. Enfoque de la investigación	41
3.1.3. Diseño experimental.....	41
3.1.3.2. Rango de Trabajo.....	41
3.1.3.3. Lugar de análisis	41

3.2. Fundamento de la Técnica.....	41
3.2.1. Método Ti-Trimétrico	41
3.2.2. Interferencias	42
3.3. Equipos y Reactivos	42
3.3.1. Equipos.....	42
3.3.2. Reactivos.....	43
3.4. Metodología Experimental	44
3.4.1. Preparación de Reactivos.....	44
3.4.2. Preparación de soluciones patrones y muestras adicionadas	44
III.5. Nitrógeno amoniacal Método Volumétrico 4500-NH3C	45
CAPITULO IV	48
4.1. Cálculos y Resultados.....	48
IV.1.2 RESULTADOS	49
4.1.3 Incertidumbre – Agua Superficial.....	51
NIVEL 1 mg/l	51
Especificación del mesurando	51
Fórmula.....	52
4.1.3.1 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	52
4.1.3.2 Incertidumbre estándar	53
IV 1.3.3 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado.....	53
4.1.3.4 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra.....	54
4. 1.3.5 Incertidumbre de los equipos.....	54
4.1.3.6 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	54
4. 1.3.7 Gráfico de contribución estándar de medición	55
NIVEL 12 mg/l	55
Fórmula.....	56
4. 1.3.8 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	56
4.1.3.9 Incertidumbre estándar	57
4.1.3.11 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra.....	57
4.1.3.12 Incertidumbre de los equipos	58
4.1.3.13 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	58
4.1.3.14 Gráfico de contribución estándar de medición	58
NIVEL 30 mg/l	59

Fórmula.....	59
4.1.3.15 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	60
4.1.3.16 Incertidumbre estándar	61
4.1.3.17 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado.....	61
4.1.3.18 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra.....	61
4.1.3.19 Incertidumbre de los equipos.....	61
4.1.3.20 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	62
4.1.3.21 Gráfico de contribución estándar de medición.....	62
NIVEL 50 mg/l	63
Fórmula.....	63
4.1.3.22 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	64
4.1.3.23 Incertidumbre estándar	64
4.1.3.24 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado.....	64
4.1.3.25 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra.....	65
4.1.3.26 Incertidumbre de los equipos	65
4.1.3.27 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	65
4.1.3.28 Gráfico de contribución estándar de medición.....	66
4.1.4. Incertidumbre – Agua Residual	66
Nivel 1 Mg/L.....	66
Especificación del mesurando	66
4.1.4.1. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	67
4.1.4.2. Incertidumbre estándar debida al MRC.....	68
4.1.4.3. Incertidumbre estándar debido al blanco titulado.....	68
4.1.4.5. Incertidumbre de los equipos	69
4.1.4.6. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	69
4.1.4.7. Gráfico de contribución estándar de medición.....	69
NIVEL 12 mg/l – Agua Residual	70
Especificación del mesurando	70
4.1.4.7. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	71
4.1.4.8. Incertidumbre estándar debida al MRC.....	71

4.1.4.9. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado	72
4.1.4.11. Incertidumbre de los equipos.....	72
4.1.4.12. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	73
4.1.4.13. Gráfico de contribución estándar de medición	73
NIVEL 30 mg/l – Agua Residual	74
Especificación del mesurando	74
4.1.4.7. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.....	74
4.1.4.8. Incertidumbre estándar debida al MRC.....	75
4.1.4.9. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado	75
4.1.4.11. Incertidumbre de los equipos.....	76
4.1.4.12. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	76
IV.1.4.13. Gráfico de contribución estándar de medición.....	77
NIVEL 50 mg/l – Agua Residual	77
Especificación del mesurando	77
4.1.4.14. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad	78
4.1.4.15. Incertidumbre estándar debida al MRC.....	79
4.1.4.16. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado.....	79
4.1.4.18. Incertidumbre de los equipos.....	80
4.1.4.19. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa.....	80
4.1.4.20. Gráfico de contribución estándar de medición	81
CAPÍTULO 5.....	82
5.1. Conclusiones	82
5.2. RECOMENDACIONES	83
Referencias Bibliográficas	84
GLOSARIO	86
ANEXOS	87

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Elección de parámetros analíticos de validación, fijación de objetivos.	48
Tabla 2. Resultados Analíticos	49
Tabla 3. Resultados Precisión, Incertidumbre	50
Tabla 4. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)- Nivel de 1mg/L	52
Tabla 5. Incertidumbre estándar-Nivel de 1mg/L	53
Tabla 6. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado--Nivel de 1mg/L	53
Tabla 7. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra--Nivel de 1mg/L	54
Tabla 8. Incertidumbre de los equipos-Nivel de 1mg/L	54
Tabla 9. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa--Nivel de 1mg/L	54
Tabla 10. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U)	56
Tabla 11. Incertidumbre estándar- Nivel de 12 mg/L	57
Tabla 12. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 12 mg/L	57
Tabla 13. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 12mg/L	57
Tabla 14. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 12mg/L	58
Tabla 15. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa	58
Tabla 16. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U)	60
Tabla 17. Incertidumbre estándar- Nivel de 30mg/L	61
Tabla 18. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 30mg/L	61
Tabla 19. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 30mg/L	61
Tabla 20. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 30mg/L	61
Tabla 21. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa	62
Tabla 22. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U)	64
Tabla 23. Incertidumbre estándar- Nivel de 50mg/L	64
Tabla 24. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 50mg/L	64
Tabla 25. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 50 mg/L	65
Tabla 26. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 50mg/L	65
Tabla 27. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa	65
Tabla 16. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)	67
Tabla 17. Incertidumbre estándar debida al MRC	68
Tabla 18. Incertidumbre estándar debido al blanco titulado	68
Tabla 19. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra	68
Tabla 20. Incertidumbre de los equipos	69
Tabla 21. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa	69

Tabla 22. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U) - Nivel de 12 mg/L_____	71
Tabla 23.Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 12 mg/L_____	71
Tabla 24.Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 12 mg/L_____	72
Tabla 25.Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 12 mg/L____	72
Tabla 26.Incertidumbre de los equipos-Nivel de 12 mg/L _____	72
Tabla 27.Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 12 mg/L _____	73
Tabla 40. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U) - Nivel de 30 mg/L_____	74
Tabla 41.Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 30 mg/L_____	75
Tabla 42.Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 30 mg/L_____	75
Tabla 43.Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 30 mg/L____	76
Tabla 44.Incertidumbre de los equipos-Nivel de 30 mg/L _____	76
Tabla 45.Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 30mg/L_____	76
Tabla 46. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U) - Nivel de 50 mg/L_____	78
Tabla 47.Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 50 mg/L_____	79
Tabla 48.Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 50 mg/L_____	79
Tabla 49.Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 50 mg/L____	80
Tabla 50.Incertidumbre de los equipos-Nivel de 50mg/L _____	80
Tabla 51.Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 50mg/L_____	80

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Análisis de Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L	52
Ilustración 2. Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 1 mg/L	55
Ilustración 3. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L	56
Ilustración 4. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 12mg/L	58
Ilustración 5. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L	60
Ilustración 6. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 30mg/L	62
Ilustración 7. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L	63
Ilustración 8. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 50mg/L	66
Ilustración 9 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l	67
Ilustración 10 Gráfico de contribución estándar de medición	69
Ilustración 11 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l	71
Ilustración 12 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 12 mg/L	73
Ilustración 13 Análisis de incertidumbre 1-50 mg/l	74
Ilustración 14 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 30 mg/L	77
Ilustración 15 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l	78
Ilustración 16 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 50 mg/L	81

INDICE DE ESQUEMAS

<i>Esquema 1. Proceso de validación de métodos, Fuente: Guía Eurachem.....</i>	<i>34</i>
<i>Esquema 2. Metodología de la investigación.....</i>	<i>40</i>
<i>Esquema 3. Flujograma Método Volumétrico 4500-NH₃C.....</i>	<i>47</i>

INDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Equipo Destilador de Nitrógeno y Proteínas. TECNAL 0345</i>	87
<i>Anexo 2. Mantenimiento y limpieza del equipo</i>	88
<i>Anexo 3. Preparación de los reactivos – Ácido Bórico + Indicador mixto</i>	89
<i>Anexo 4. Preparación de los estándares + muestra</i>	90
<i>Anexo 5. Preparación de la Muestra</i>	90
<i>Anexo 6. Colocación de la muestra para analizar</i>	91
<i>Anexo 7. Destilación de la muestra</i>	91
<i>Anexo 8. Proceso de Titulación</i>	92
<i>Anexo 9. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	93
<i>ANEXO 10. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	97
<i>ANEXO 11. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	101
<i>Anexo 12. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	105
<i>ANEXO 13. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	109
<i>ANEXO 14. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	113
<i>ANEXO 15. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	117
<i>ANEXO 16. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	121
<i>ANEXO 17. RESUMEN FINAL - HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN</i>	125

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

NTE: Norma Técnica Ecuatoriana.

ISO: Organización Internacional de Normalización

IEC: Comisión Electrotécnica Internacional

GUM: Guía para estimar la incertidumbre de Medida

N₂: Nitrógeno molecular

NO: Dióxido de Nitrógeno.

NO₂: Óxido Nítrico.

INEN: Servicio Ecuatoriano de Normalización

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

VIM: Vocabulario Internacional de Metrología

OMS: Organización Mundial de la Salud.

SD: Desviación estándar relativa.

BVT: bases volátiles totales.

AGRADECIMIENTO

Dios, te agradezco por darme la oportunidad de cumplir una de mis metas, este logro se lo agradezco a mis padres por apoyarme siempre a continuar mi preparación profesional.

A las personas que estuvieron presente durante el proceso de este estudio, los estimo y agradezco por formar parte de este logro. A todos aquellos que aguardaron por mí y me dieron apoyo hasta el último momento. Gracias.

Mario Márquez G.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis padres, por haberme forjado como la persona que soy actualmente, muchos de mis logros se los debo a ellos y a Dios. A todas las personas que estuvieron presentes y que me ayudaron a llevar a cabo este trabajo que fueron sin duda alguna un pilar fundamental para lograrlo.

Mario Márquez G.

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con la finalidad de verificar la validación del parámetro para determinación de Nitrógeno amoniacal en matrices de aguas superficiales y aguas residuales, llevando a cabo una demostración de que el laboratorio opera con un proceso de calidad viable.

Dichas actividades fueron llevadas a cabo mediante los lineamientos establecidos por la Norma para Laboratorios de Ensayo y Acreditación, Verificación y Validación de métodos según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018.

Se buscaba mediante el trabajo experimental, obtener la valoración de los resultados obtenidos y que esta a su vez estaba encaminada mediante los criterios de aceptación establecidos, dando como finalidad que el método analítico no es fiable en rangos bajos ya que no cumple con los criterios de aceptación para el porcentaje de recuperación, sin embargo, es exacto y preciso en concentraciones altas de Nitrógeno amoniacal.

El desarrollo de este trabajo investigativo nos permite demostrar mediante los procedimientos estadístico la evaluación de los parámetros de calidad dando resultados en promedio global de todos los niveles: límite de detección 1,26 mg/L, Repetibilidad 13,9% y una Reproducibilidad de 10,8%.

Palabras Claves: Verificación, Validación, Calidad, Nitrógeno Amoniacal.

ABSTRACT

The present work was carried out with the purpose of verifying the validation of the parameter for the determination of ammoniacal Nitrogen in surface water and wastewater matrices, carrying out a demonstration that the laboratory operates with a viable quality process.

These activities were carried out according to the guidelines established by the Standard for Testing and Accreditation Laboratories, Verification and Validation of methods according to NTE INEN-ISO/IEC 17025:2018.

It was sought through experimental work, to obtain the evaluation of the results obtained and that this in turn was directed through the established acceptance criteria, giving as a purpose that the analytical method is not reliable in low ranges since it does not meet the criteria of acceptance for percent recovery, however, it is accurate and precise at high concentrations of ammoniacal Nitrogen.

The development of this investigative work allows us to demonstrate, through statistical procedures, the evaluation of quality parameters, giving results in global average of all levels: detection limit 1.26 mg/L, Repeatability 13.9% and a Reproducibility of 10.8%.

Keywords: Verification, Quality, Validation, Ammoniacal Nitrogen.

CAPÍTULO 1

1. Introducción

El presente estudio de investigación se realiza con la finalidad de obtención y recolección de pruebas que permitan la verificación para la validación de un método analítico. La validación y la verificación tienen como objetivo confirmar que la información que se emplea sea fiable y que a su vez aporten confianza del ensayo. El nitrógeno amoniacal da como resultado un ambiente anóxico, desencadenando una serie de reacciones químicas y microbiológica provocando consecuencias ambientales y sanitaria.

La presencia del nitrógeno amoniacal en los recursos hídrico representa un aumento de acidez, eutrofización y toxicidad en los ecosistemas acuáticos. Afectando así a las especies marítimas en su sobrevivencia, crecimiento y reproductibilidad. El nitrógeno amoniacal está presente en las aguas residuales domésticas e industriales como nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal, lo que indica la presencia de materia orgánica, útil en el proceso de nitrificación para el desarrollo de plantas y animales [22].

La concentración de amoniaco y la presencia de interferentes son los dos factores principales que influyen en la selección del método de determinación. En general, la determinación manual directa de concentraciones bajas de amoníaco se limita al agua potable, aguas superficiales limpias o subterráneas y efluentes de aguas residuales nitrificadas de buena calidad [15].

1.2. Antecedentes

La presente revisión, trata sobre los tipos de compuestos nitrogenados en el agua; sus orígenes e impactos sobre el recurso hídrico, algunas especies hidrobiológicas y la salud humana, describe brevemente las opciones tradicionales para transformación o remoción de compuestos nitrogenados en AR, enfatizando en las relativas a la eliminación biológica, pues pueden remover completamente el contaminante y no lo traslada hacia otros sistemas. La información presentada es de gran importancia para la selección de sistemas de tratamiento y remoción del nitrógeno de AR para reducir sus impactos sobre los cuerpos de agua y preservar la salud pública [15].

El método Kjeldahl es el más utilizado para la determinación de nitrógeno total y en las aguas residuales se encuentran diferentes especies nitrogenadas, como son: nitrógeno orgánico y amoniacal, nitritos, nitratos. Es fundamental la transformación y preferiblemente la eliminación del N del agua a sus formas menos tóxicas a través de la aplicación de las tecnologías encaminadas al mejoramiento de la calidad del agua, que involucran la acción de fuerzas físicas, procesos químicos, procesos biológicos o la combinación de ellos [15].

Es la técnica más versátil para el análisis de nitrógeno. De hecho, es el único método que puede ser usado para el análisis del contenido de nitrógeno en muestras con elevada diversidad. Es el método estándar contra el cual todos los demás métodos deben ser comparados y está aceptado por numerosas e importantes organizaciones internacionales [15].

Los contaminantes en las aguas residuales son normalmente, una mezcla compleja de compuestos orgánicos e inorgánicos y por ello no es práctico ni posible, en la mayoría de los casos, obtener su análisis completo. Se ha desarrollado una serie de métodos empíricos para la evaluación de la concentración de contaminantes en aguas residuales, cuya aplicación no requiere un conocimiento [15].

Esta es la razón del porqué la medición de los llamados parámetros combinados o compuestos es la opción que más se usa a menudo para el control de la calidad de las aguas residuales, ya que proporciona a los usuarios una vía rápida y global de apreciar los efectos potenciales de una contaminación no específica. La determinación de nitrógeno total por este método aún hoy en día es uno de los más utilizados en el análisis químico.

1.3. Descripción Del Problema

Es importante realizar la verificación de la validación de nitrógeno amoniacal para lograr que los resultados sean confiables, es decir, que vayan acorde al proceso analítico, junto con otros criterios permitan la obtención calidad y confianza del método. El nitrógeno es un indicador relevante en los estudios medioambientales, debido a la importancia que este tiene en los procesos de tratamiento, en el control de la calidad de las aguas y de las descargas de las aguas residuales al medio.

El método tradicional de determinación de nitrógeno total es el método Kjeldahl, el cual mantiene su vigencia en la actualidad. El tratamiento de aguas residuales está centrado tradicionalmente en la remoción de sólidos, patógenos y materia orgánica, ha puesto especial interés en la remoción de nutrientes, principalmente del nitrógeno debido a las consecuencias ambientales y sanitarias de su presencia en el recurso hídrico como aumento de la acidez, eutrofización y toxicidad de los ecosistemas acuáticos, que afectan sobrevivencia, crecimiento y capacidad reproductiva de algunos animales. Ciertas formas de nitrógeno en el agua establecen riesgos para el hombre por su ingesta o por contacto directo con compuestos como toxinas, liberadas por floraciones de cianobacterias en ambientes eutrofizados.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

- Verificar la validación del parámetro para determinación de Nitrógeno amoniacal en matrices de aguas superficiales y aguas residuales.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Implementar una metodología para la determinación de Nitrógeno amoniacal en matrices de agua superficial y agua residual.
- Evaluar los criterios de calidad que caracterizan el desempeño del ensayo: límite de detección, límite de cuantificación, veracidad, precisión e incertidumbre.
- Obtener información teórica y experimental en lo relacionado a interferencias, limitaciones del método.

1.5. Hipótesis

La verificación del método 4500-NH₃ C Standard Methods en diferentes matrices de aguas muestra resultados con una confianza del 95%.

1.6. Alcance

- Se evalúa el desempeño e identificación de las posibles interferencias y limitaciones que existen entre los parámetros establecidos para la validación del ensayo de nitrógeno amoniacal en matrices de agua residual y doméstica.
- Dar a conocer la sensibilidad existente entre las concentraciones para cada nivel establecido dentro de la validación y según los métodos que se emplean para su obtención.
- Validar el método e implementarlo en el laboratorio de acuerdo a la norma ISO 17025.

CAPÍTULO 2

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Nitrógeno Amoniacal-Origen

Según el estándar método especifica que debido a las descargas de aguas residuales industriales, agrícolas y domésticas las concentraciones de nitrógeno amoniacal aumenta considerablemente en las aguas superficiales y subterráneas, afectando la calidad de estas [26].

El nitrógeno principalmente se lo encuentra en forma de N_2 . Probablemente las formas químicas utilizadas por los seres vivos (amoníaco NH_3) aparecieron por ciclos del nitrógeno entre el mar y los volcanes.

2.1.2. Formas Químicas

El nitrógeno amoniacal se encuentra de forma natural en cuerpos de agua como resultado de la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos que forman parte del suelo y del agua. El nitrógeno amoniacal es un componente también de las aguas residuales sanitarias, dando como resultado la desembocadura directa de las descargas de efluentes domésticos e industriales, y a su vez de otros compuestos nitrogenados [27].

2.1.3. Nitrógeno en agua residual

Este elemento en las aguas residual está presente por orden decreciente del nivel de oxidación en nitrato, nitrito, amoníaco y nitrógeno orgánico. Todas las formas de nitrógeno, así como el nitrógeno gaseoso, son interconvertibles bioquímicamente y a su vez son parte del ciclo del nitrógeno [22].

El amoníaco también se puede encontrar de forma natural en las aguas superficiales y residuales.

2.1.4. Componentes

- **Reservorios:** el nitrógeno está presente en la atmósfera de manera que es un gas no contenedor de óxido nítrico y monóxido de nitrógeno.
- **Microorganismos** participantes: hay microorganismos que son parte del ciclo del nitrógeno, mencionados a continuación:
 1. **Bacterias fijadoras de N_2 :** son aquellas bacterias encargadas de colonizar la rizosfera de las plantas, codifican un complejo de enzimas nitrogenasa participantes en el proceso de fijación [8].
 2. **Bacterias nitrificantes:** Entre estas bacterias, tres microorganismos pueden interferir con el proceso de nitrificación y pueden oxidar el amoníaco o los iones de amonio en el suelo. Se sabe que pueden oxidar materiales inorgánicos para obtener energía, por lo que se les llama organismos quimiolitotrófos [8].
 3. **Bacterias desnitrificantes:** Actualmente, se conocen 50 tipos diferentes de bacterias que pueden reducir el nitrato a N_2 . Esto solo sucede en condiciones anaeróbicas [8].

2.1.5. Etapas

El ciclo del nitrógeno está compuesto por las siguientes etapas:

- **Fijación:** Es el nitrógeno en la atmósfera el que reacciona o se convierte en una forma que se considera reactiva para formar óxidos de nitrógeno. Se necesita una energía considerable para romper los tres enlaces en la molécula de N_2 , y esta ruptura puede ocurrir de dos formas: abiótica o bióticamente [8].
- **Fijación abiótica:** proviene de la electricidad generada por los rayos y los rayos cósmicos. Cuando el N_2 se combina con el oxígeno, produce formas oxidadas de nitrógeno como NO (dióxido de nitrógeno) y NO_2 (óxido nítrico). El agua de lluvia luego deposita estos compuestos en la superficie, formando ácido nítrico (HNO_3) [8].
- **Fijación biótica:** En el primer paso de la reacción, el N_2 se reduce a NH_3 (amoníaco). De esta forma, se incluye en los aminoácidos. Esta fijación la

llevan a cabo los microorganismos del suelo, generalmente bacterias en las raíces de las plantas [8].

- **Asimilación:** Algunas plantas no tienen una relación simbiótica con las bacterias fijadoras de nitrógeno, por lo que toman nitrógeno directamente del suelo. Los nitratos se absorben a través de las raíces y algunas de las células de la raíz se utilizan cuando los nitratos ingresan a la planta [8].

Amonificación: En esta fase, los compuestos de nitrógeno del suelo se descomponen en formas químicas más simples. Aquí, el nitrógeno se encuentra en productos de desecho como la materia orgánica muerta y la urea [8].

- **Nitrificación:** En esta etapa, las bacterias del suelo se encargan de oxidar el amoníaco y los iones de amonio. Durante este proceso, la energía liberada por el metabolismo es absorbida por bacterias conocidas como bacterias nitrificantes del género Nitrosoma. Las enzimas oxigenasas de amoníaco están presentes en las membranas de estos microorganismos [8].
- **Desnitrificación:** Durante la respiración, las bacterias anaerobias utilizan compuestos de nitrógeno como aceptores de electrones en este proceso. La tasa de desnitrificación depende de factores como el nitrato disponible y la saturación y temperatura del suelo. La disponibilidad de O₂ tiende a disminuir cuando el suelo está saturado de agua [8].

2.1.6. Agua Superficial

El agua superficial continental se refiere a toda el agua que está estacionaria o flotando en la superficie de la Tierra. Son aguas que fluyen sobre la superficie de la tierra (plataforma continental) y se producen, generalmente, a partir de las precipitaciones en cada cuenca [20].

2.2. Calidad del Agua

Según la Organización Mundial de la Salud y otras organizaciones internacionales, la calidad del agua depende de varios factores, como las propiedades físicas, químicas y biológicas, la calidad del agua en su estado natural o los cambios provocados por el hombre [1].

2.2.1. Calidad Ambiental

Es un conjunto de características (ambientales, sociales, culturales y económicas), condición limitada, disponibilidad y acceso a ingredientes naturales y posibles cambios en el medio ambiente que afecten sus derechos o puede cambiar su propia situación y la situación de los residentes locales, o en el área [16].

Nitrógeno amoniacal es un Parámetro de control ambiental, que permite medir el grado de contaminación al que se expone el Sistema Hidráulico Sanitario y los cuerpos Hídricos Receptores. El valor máximo permitido de las descargas a un cuerpo de agua dulce y salina según lo establecido TULSMA es de 30 mg/l [29].

2.2.2. Tratamiento de las aguas residuales

Es un proceso complejo que requiere un esfuerzo considerable para evaluar las necesidades de tratamiento, como la caracterización de las aguas residuales. Aquel proceso se logra a través de diversas medidas físicas, químicas y biológicas [16].

2.2.2.1. Procesos físicos

Proceso físico para el tratamiento de aguas residuales. el cual conlleva el uso de la fuerza física se utiliza para curar operaciones físicas generales, sin embargo, se utiliza en todo el proceso de tratamiento de

aguas residuales. Algunas de ellas son casi exclusivamente operaciones de pretratamiento (lavado y homogeneización del flujo) [16].

Los principales procesos físicos son los siguientes:

- Desbaste
- Evaporación
- Homogenización de caudales
- Mezclado
- Floculación
- Sedimentación
- Flotación
- Filtración

2.2.2.2. Procesos químicos

Todos estos son procesos que eliminan los contaminantes del agua, los residuos se obtienen añadiendo reactivos químicos o por propiedades químicas de varios compuestos, depuración del agua y acciones físicas y procesos biológicos [16].

Los principales procesos químicos son los siguientes:

- Precipitación química
- Transferencia de gases
- Adsorción
- Desinfección
- Decloración
- Eliminación de sustancias inorgánicas disueltas
- Intercambio iónico
- Ósmosis inversa
- Ultrafiltración

2.2.3. Sustancias químicas presentes en aguas residuales

Las aguas residuales y los lodos tratados contienen grandes cantidades de contaminantes químicos. El uso en esta área debe restringirse, por ejemplo, en la cadena alimentaria humana. cuando se utilizan se deben seguir las mejores prácticas agronómicas en riego y fertilización, y la concentración de contaminantes en el suelo no debe sobrepasar un cierto límite [14].

2.3. Norma NTE INEN 1204:2013

2.3.1. Fundamento

La norma NTE INEN 1 204 indica que “En presencia de ácido sulfúrico, sulfato de potasio y catalizador sulfato mercuríco, el nitrógeno amino de muchos compuestos orgánicos se transforma bisulfato de amonio. Después que el complejo mercurio-amonio se descompone por digestión con tiosulfato de sodio, se destila el amoniaco de un medio alcalino y se absorbe en ácido bórico. El amoniaco se denomina colorimétricamente o por titulación con una solución valorada de ácido mineral.” [11].

2.4. Método Ti-trimétrico

2.4.1. Técnica

“El método volumétrico por titulación del amoníaco en el destilado sirve para determinar un amplio rango de concentraciones, dependiendo del volumen de ácido bórico usando como absorbente y de la concentración del ácido valorado usado en la titulación.” [11].

Es un estándar global para calcular el contenido de proteínas de una variedad de materiales, incluidos alimentos para humanos y animales, fertilizantes, aguas residuales y combustibles fósiles.

2.5. Validación

La validación es la confirmación y provisión de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos para un uso o aplicación prevista. La validación es un proceso de dos etapas, que se equipara a los conceptos de precisión y exactitud. En primera instancia, el laboratorio debe establecer en qué medida puede producir resultados consistentes dentro de unos límites conocidos [25].

La validación puede incluir procedimientos para el muestreo, manejo y transporte de muestras. En el laboratorio se debe validar:

- Métodos no estandarizados
- Métodos diseñados o desarrollados internamente
- Métodos estandarizados usados fuera del alcance propuesto
- Ampliaciones o modificaciones de métodos estandarizados

La validación incluye:

- La especificación de los requisitos
- La determinación de las características del método
- Una verificación de que se pueden cumplir los requisitos al usar el método
- Una declaración de su validez

2.5.1. Parámetros de validación

En los estudios de validación de un método analítico cuantitativo, normalmente determinan los siguientes parámetros, los cuales muestran el desempeño del método [4].

2.5.1.1. Especificidad o selectividad

Es un método para leer y cuantificar hasta qué punto se lee y cuantifica un analito en presencia de sustancias que interfieren y que pueden estar presentes en la matriz de interés. Se refiere al grado en que un método produce una señal que corresponde solo al compuesto de interés [4].

2.5.1.2. Linealidad

Es la capacidad de un método analítico para proporcionar una respuesta o resultado proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra durante un período de tiempo. Se crea un gráfico llamado curva de calibración comparando los valores obtenidos con las concentraciones [4].

2.5.1.3. Límite de detección

La cantidad más pequeña del analito que se puede detectar en una muestra, pero que no siempre se determina con un valor exacto, se denomina límite de detección [4].

2.5.1.4. Límite de cuantificación

Es el valor de cuantificación más bajo de analito que puede estar presente en una muestra, la cual es determinada con exactitud y precisión apropiadas [4].

2.5.1.6. Exactitud

Es el grado de concordancia o nivel entre los resultados obtenidos en la prueba y el valor de referencia, la cercanía del resultado al valor de referencia. El propósito de la validación de métodos es comprobar y confirmar la precisión de los resultados mediante la evaluación de los efectos sistemáticos y estocásticos sobre los mismos [4].

2.5.1.7. Porcentaje de recuperación

Esto nos permite ver el rendimiento del método analítico en relación con el proceso de extracción del analito y la cantidad de analito presente en la muestra. A menudo existe una relación inherente a las propiedades de la matriz que se puede determinar usando una muestra certificada, o se puede agregar una cantidad de analito a la muestra que se analiza [4].

2.5.1.8. Precisión

Es aquel valor que se obtiene durante mediciones repetidas de la misma muestra o de muestras similares. Se expresa mediante el uso de herramientas estadísticas de dispersión como la desviación estándar, la varianza o el coeficiente de variación [4].

- **Repetibilidad:** Se trata de la precisión con la que se pueden realizar los resultados del análisis con los mismos métodos, laboratorios, operadores y condiciones utilizando el mismo equipo en poco tiempo [4].
- **Reproducibilidad:** Similar a la reproducibilidad, pero en este caso los resultados analíticos se obtienen utilizando el mismo método, las mismas muestras, pero en diferentes laboratorios, por diferentes analistas o en diferentes días [4].

2.6. Verificación y Validación de métodos según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018

La norma NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018 nos dice en el ítem, C 7.2.1.4 Cuando el laboratorio utilice métodos no normalizados, métodos desarrollados y métodos utilizados fuera de su alcance previsto o modificados de otra manera, deberá disponer de un procedimiento en el que describa como mínimo:

- Objeto
- Alcance e intervalo de trabajo
- Condiciones Ambientales cuando aplique.
- Equipamiento con las especificaciones técnicas
- Descripción de las actividades de laboratorio
- Aseguramiento de la validez de los resultados
- Cálculos, y forma de reporte
- Estimación de la Incertidumbre o el procedimiento
- Documentos y/o registros asociados

C 7.2.1.5 El laboratorio debe verificar los métodos normalizados que utiliza de acuerdo con un procedimiento establecido, para asegurar que cumple con los

requisitos de desempeño propuestos (objetivos). El laboratorio debe asegurar con datos experimentales que el método puede ser aplicado correctamente en las condiciones del laboratorio. Se deberá disponer de los registros correspondientes [27].

2.7. Herramientas de Validación

2.7.1. Blanco

Este control permite realizar la evaluación la señal de medida que es aquella que se le atribuye a un analito, existen varios tipos de blancos:

- A. Blanco de reactivo: es aquel que se utiliza para determinar si aportan en la señal de medición
- B. Muestras en blanco: son aquellas muestras que no tienen presencia del analito [17].

2.7.2. Muestras de prueba de rutina

Son pruebas que brindan una información acerca de la precisión, interferencias, etc.

2.7.3. Soluciones Enriquecidas

Son aquellos materiales o mezcla a donde es añadido el o los analitos que son de interés dentro de un estudio [17].

2.7.4. Estándares de medición

Son aquellas soluciones a las cuales se las conoce como patrones de medición o calibradores, son soluciones de sustancias individuales, pero en realidad pueden ser cualquier cosa si un parámetro o característica en particular se caracteriza hasta tal punto que se puede utilizar como referencia metrológica [17].

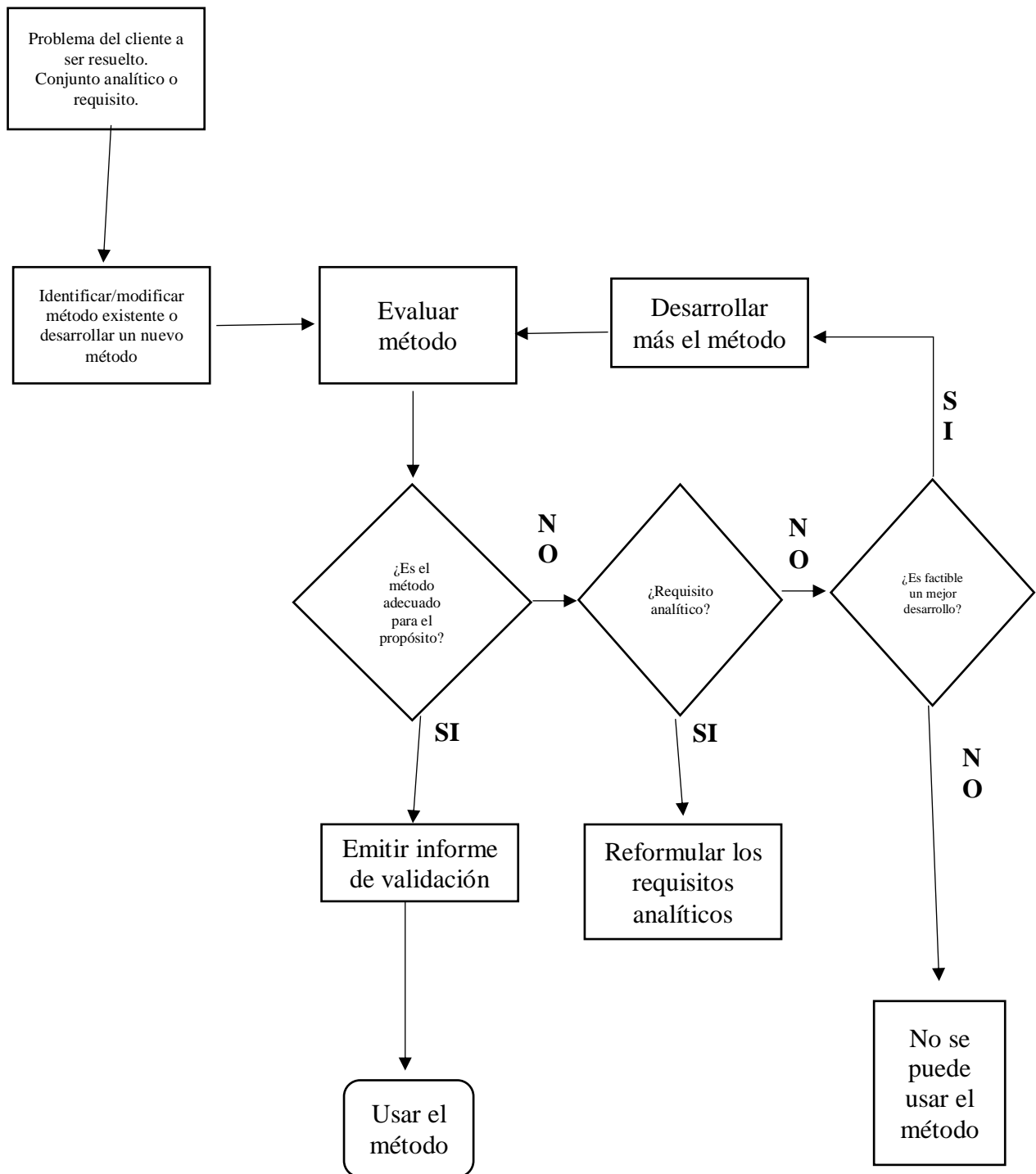
2.7.5. Estadísticas

Los métodos estadísticos son importantes para resumir datos y emitir juicios objetivos sobre las diferencias entre conjuntos de datos.

Los analistas deberían al menos estar familiarizados con los elementos básicos de la teoría estadística, especialmente como una evaluación precisión, sesgo, rango lineal, LOD, LOQ e Incertidumbre de medición [17].

2. 7.6. Proceso de validación del método

El proceso de verificación finaliza con una conclusión y una declaración sobre si se han cumplido los requisitos del análisis. Si no se cumplen los requisitos del análisis, entonces se requiere un mayor desarrollo de este método. Este proceso de desarrollo y evaluación continua hasta que este método se considera capaz de cumplir con los requisitos [17].



Esquema 1. Proceso de validación de métodos, Fuente: Guía Eurachem

2.8. Anova

Es un conjunto muy útil y flexible de métodos estadísticos. Es beneficioso cuando más de dos grupos lo necesitan a modo de comparación, si hay más de dos mediciones repetidas cuando los sujetos pueden diferir en una o más características que afectan el resultado y requieren ajustar su efecto o cuando quieras analizar afecta los efectos de dos o más tratamientos diferentes al mismo tiempo [5].

El análisis paramétrico de la varianza se realiza con los siguientes supuestos [3].

1. Nivel de medición intervalos o de razón.
2. Muestreo aleatorio independiente.
3. Poblaciones normales para cada grupo.
4. Varianzas iguales en las poblaciones.

2.8.1. ¿Para qué sirve el análisis de varianza?

El uso del análisis de varianza de una vía (ANOVA) sirve para determinar si existe alguna diferencia estadísticamente significativa entre las medias de tres o más grupos [7].

2.8.2. Media Aritmética

Es una de las medidas de tendencia central más utilizadas, que caracteriza a un grupo de valores únicos [13].

2.8.3. Varianza y desviación estándar

Son medidas de la dispersión o variabilidad de los datos con respecto a un rango de valores. Como se dijo en la introducción de esta unidad, indican la homogeneidad o heterogeneidad, y por lo tanto las similitudes o diferencias, que existen entre los individuos de un grupo con respecto a alguna variable cuantitativa [3].

2.9. Incertidumbre

La palabra "incierto" significa duda. Por lo tanto, en el sentido más amplio, "incertidumbre de medida" expresar dudas sobre la validez de los resultados de las mediciones [9].

2.9.1. Incertidumbre de medida

Este término según la GUM, se define como, parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando [9].

La incertidumbre de la medición generalmente consta de varios componentes. Algunos se pueden estimar a partir de la distribución estadística de una serie de mediciones y se pueden caracterizar por su desviación estándar experimental. Otros componentes, que también pueden caracterizarse por desviaciones estándar, se estiman suponiendo distribuciones de probabilidad basadas en la experiencia u otra información [9].

Para la GUM, en la práctica existen numerosas fuentes posibles de incertidumbre en una medición, entre ellas:

- a) definición incompleta del mensurando;
- b) realización imperfecta de la definición del mensurando;
- c) muestra no representativa del mensurando, la muestra analizada puede no representar al mensurando definido;
- d) conocimiento incompleto de los efectos de las condiciones ambientales sobre la medición, o medición imperfecta de dichas condiciones ambientales;
- e) lectura sesgada de instrumentos analógicos, por parte del técnico;
- f) resolución finita del instrumento de medida o umbral de discriminación;
- g) valores inexactos de los patrones de medida o de los materiales de referencia;
- h) valores inexactos de constantes y otros parámetros tomados de fuentes externas y utilizados en el algoritmo de tratamiento de los datos;

- i) aproximaciones e hipótesis establecidas en el método y en el procedimiento de medida;
- j) variaciones en las observaciones repetidas del mensurando, en condiciones aparentemente idénticas [9].

2.10. Área de trabajo

2.10.1. Consideraciones para el estudio de Validación

El área de trabajo del método a validar se debe encontrar dentro del procedimiento documentado. En este periodo de verificación, es necesario confirmar que el método se puede utilizar durante este período. Es necesario valorar la carga de trabajo, los laboratorios deben considerar la linealidad del método y el procedimiento de calibración especificado en el método. [6].

2.10.2. Rango de Trabajo del método y del instrumento

Muchos métodos se basan en muestras de prueba (muestras de laboratorio) recibidas por el laboratorio de procesamiento (digeridas, extraídas, diluidas) y la señal registrada antes de enviarse al instrumento de medición. En tales casos, hay dos espacios de trabajo. La carga del método especificada en el alcance del método es la misma que la concentración en la muestra de laboratorio [6].

2.10.3. Evaluación del rango de trabajo del instrumento

Entre el LOQ y el límite superior del rango la herramienta funciona, responde y obedece ciertas relaciones, durante la validación es necesario confirmar esta relación e indicar el alcance de la instrumentación y que esta sea compatible con intervalos del método definido en el alcance, y validado el procedimiento de calibración del instrumento recomendado [6].

Se estima el rango de operación del instrumento y confirmar que son aptos para su propósito, se debe verificar los estándares de calibración con concentraciones fuera del rango esperado en $\pm 10\%$ o incluso $\pm 20\%$ y grafique la señal [6].

2.10.4. Rango de trabajo del método de evaluación

- 1) Disponibilidad de muestras con concentraciones conocidas y muestras en blanco
- 2) las muestras utilizadas deben tomarse durante todo el procedimiento de medición;
- 3) las concentraciones de las diferentes muestras deben cubrir preferentemente todo el rango de interés
- 4) el instrumento debe haber sido calibrado de acuerdo con el procedimiento de calibración sugerido.
- 5) Estos valores se trazan en el eje y contra las concentraciones conocidas de las muestras [6].

2.11. Calibración

La calibración es el proceso de comparar el rendimiento de los instrumentos y equipos utilizados en un área determinada con el rendimiento de otros instrumentos y equipos.

Esto generalmente se hace utilizando dimensiones de objetos conocidas por los operadores de herramientas y equipos. Estos objetos conocidos se denominan estándares. El estándar también puede ser un dispositivo que ya ha sido calibrado [32].

La calibración se puede aplicar a diferentes partes de un sistema de medición. Existe En particular, los instrumentos generalmente se calibran por separado y luego se usan Un sistema de medición más grande. Para elementos como balanzas y termómetros con menos frecuencia, porque son relativamente estables a medio plazo [6].

2.12. Trazabilidad

El concepto de trazabilidad según VIM, la define como una propiedad de los resultados de medición o valores predeterminados asociados a ellos [6].

La cláusula 6.5.3 de la norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2018 declara: “Cuando la trazabilidad metrológica a unidades del SI no sea técnicamente posible, el laboratorio debe demostrar trazabilidad metrológica a una referencia apropiada, como, por ejemplo:

- a) Valores certificados de materiales de referencia certificados suministrados por un productor competente,
- b) Resultados de los procedimientos de medición de referencia, métodos especificados o normas de consenso que están descritos claramente y son aceptados, en el sentido de que proporcionan resultados de medición adecuados para su uso previsto y asegurados mediante comparación adecuada “ [26].

2.12.1. Actividades esenciales para establecer la trazabilidad

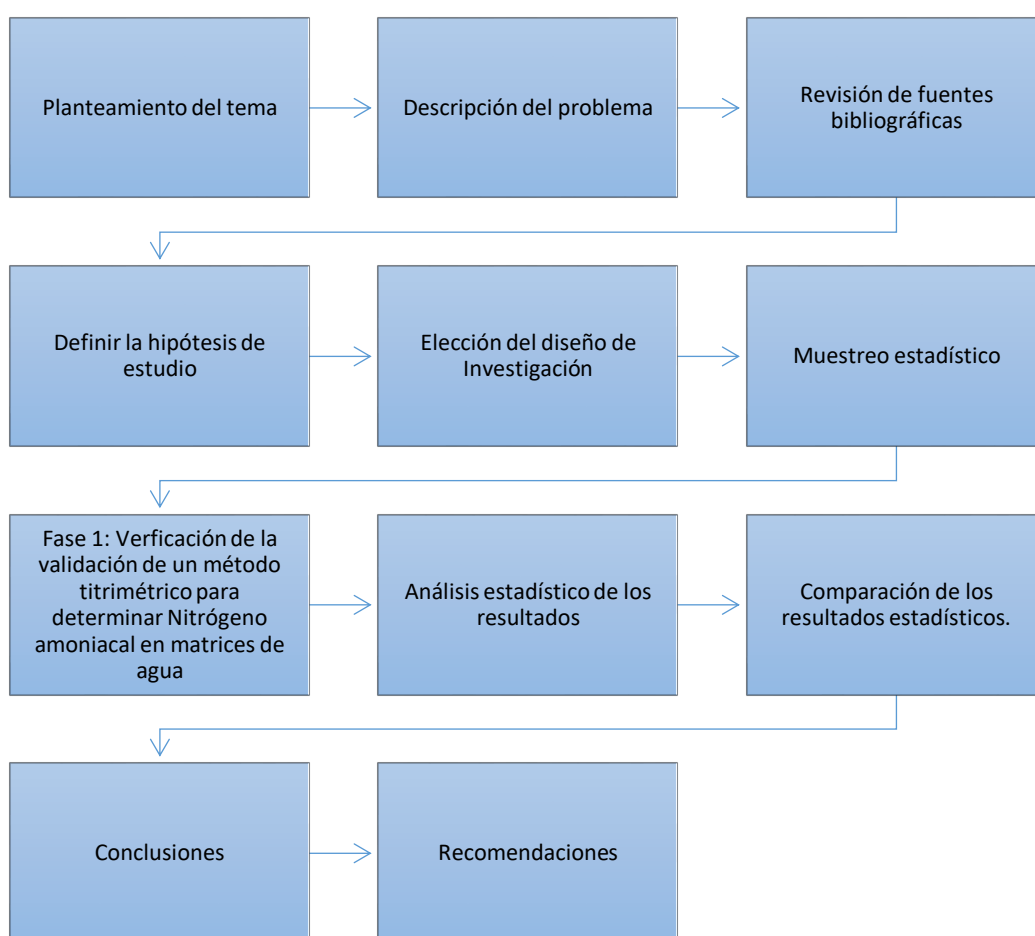
Un laboratorio de trabajo debe tener establecido los siguientes puntos dentro de un conjunto de actividades, siendo las siguientes:

- a) Especificación del mensurando, alcance de las mediciones y la incertidumbre requerida.
- b) Elegir un método adecuado para estimar el valor, es decir, un procedimiento de medición con cálculo asociado, una ecuación y condiciones de medición.
- c) Demostrar, mediante validación, que las condiciones de cálculo y medición incluyen todas las “magnitudes de influencia” que afectan significativamente el resultado, o el valor asignado a un patrón.
- d) Identificar la importancia relativa de cada cantidad de influencia.
- e) Elegir y aplicar patrones de referencia apropiados.
- f) Estimación de la incertidumbre [26].

CAPITULO 3

3.1. Metodología

La metodología empleada en este estudio es descriptiva, experimental y prospectivo, en el esquema 2 que se encuentra a continuación, se describe paso a paso el desarrollo establecido para llevar a cabo esta investigación.



Esquema 2. Metodología de la investigación

3.1.2. Enfoque de la investigación

Se trata de un estudio de tipo descriptivo, experimental y comparativo tomando como argumentos los análisis del laboratorio

- Descriptivo porque se explicará el procedimiento de los parámetros que se llevaran a cabo durante el estudio.
- Experimental debido a que se efectúan pruebas de laboratorio con la cual se tendrá como objetivo determinar la exactitud de ambos parámetros.
- Prospectivo ya que los datos obtenidos pueden usarse en investigaciones futuras.

3.1.3. Diseño experimental

3.1.3.1. Tipo de muestra

Este método es aplicable para aguas superficiales y aguas residuales. Para la recolección de muestra del presente estudio se realizó en la ciudadela Santa María Casa Grande II ubicada en el km 13,5 vía a Daule.

.

3.1.3.2. Rango de Trabajo

El intervalo de trabajo será entre: 1 – 50 mg/L NH₃-N

3.1.3.3. Lugar de análisis

Laboratorio Ingeestudios S.A., Km 11,5 vía a la Costa. Guayaquil, Ecuador.

3.2. Fundamento de la Técnica

3.2.1. Método Ti-Trimétrico

Los dos factores principalmente que influyen en la selección del método para determinar el amoníaco son la concentración y la presencia de interferencia. En general, la determinación manual directa de concentraciones bajas de amonio

se limita a aguas potables, aguas superficiales o subterráneas limpias y efluentes de agua residuales nitrificadas de buena calidad.

El TE-0364 es un equipo utilizado para la destilación de nitrógeno amoniacal, bases volátiles totales (BVT) y análisis de nitrógeno/ proteína por el método de Kjeldahl luego del proceso de digestión [18].

3.2.2. Interferencias

- La glicina, la urea, el ácido glutámico, los cianatos y la acetamida se hidrolizan muy lentamente en la solución al reposar, pero de estos solo la urea y los cianatos se hidrolizan en la destilación a un pH de 9,5.
- El asciende a aproximadamente el 7% a este pH para la urea y aproximadamente al 5% para los cianatos.
- Los compuestos alcalinos volátiles como la hidracina y las aminas hidrolisis influirán en los resultados de la titulación
- El cloro residual reacciona con el amoniaco; eliminar mediante pretratamiento de la muestra. [11].
- La muestra tiene que estar en temperatura ambiente.

3.3. Equipos y Reactivos

3.3.1. Equipos

- Destilador de Nitrógeno y proteínas

Modelo: TE-0364

Marca: TECNAL

- Balanza Analítica

Modelo: PA 214C

Marca: OHAUS

- Agitador Magnético

Modelo: H190M

Marca: Hanna Instruments

3.3.2. Reactivos

A. Método Ti-Trimétrico

- Ácido bórico 2%
- Hidróxido de sodio 6M
- Tetraborato de sodio 0,025M
- Agua destilada
- Ácido sulfúrico 0,02N
- Indicador mixto

Opcional

- Bórax
- Hidróxido de sodio 0,1N
- Indicador Rojo Metilo
- Indicador azul de Metileno
- Thiosulfato de sodio

B. Solución Estándar de Amonio, CRM (100mg/l)

3.3.3. Materiales

- Tubo de digestión de 400ml
- Pipeta volumétrica de 50ml, 10ml, 2ml
- Pipeta de 10ml
- Probeta de 100ml
- Matraz Erlenmeyer 100ml Aforado
- Bureta 25ml
- Tiras de pH

3.4. Metodología Experimental

3.4.1. Preparación de Reactivos

- **Solución de tetraborato de sodio 0,025M:** Pesar aproximadamente 9,5 +/- 0,02 de tetraborato de sodio decahidratado (bórax) disolver en un matraz de 500 ml.
- **Solución de hidróxido de sodio a 0,1N:** Pesar 0,4 +/- 0,01 de hidróxido de sodio y disolver en un matraz de 100 ml.
- **Disolución amortiguadora de borato:** agregar 88 ml de 0,1N NaOH para 500ml de tetraborato de sodio 0,025 M y diluir en 1L.
- **Solución Absorbente:** Pesar 20 g de H_3BO_3 en agua destilada y diluir a 1L
- **Reactivo declorante:** Disolver 3,5 g de tiosulfato de sodio en agua destilada y diluir a 1L, preparar semanalmente [28].
Utilice 1 ml de reactivo para eliminar 1mg/l de cloro residual en muestras de 500 ml [28].
- **Solución indicadora mixta:** Disolver 0,02g de rojo de metilo en 100 ml de alcohol etílico o Isopropílico al 95%. Disolver 0,01g de azul de metileno en 50 ml de etílico o Isopropílico al 95%. Preparar mensualmente [28].
- **Titulador estándar de ácido sulfúrico 0,02 N:** Preparar y estandarizar como se indica en la alcalinidad, sección 2320B.3C, para la mayor precisión, estandarizar el titulante frente a una cantidad de Na_2CO_3 que se ha incorporado en la solución indicadora de ácido bórico para reproducir las condiciones reales de titulación de la muestra; 1.00 ml 14 normalidad 1000g N [28].

3.4.2. Preparación de soluciones patrones y muestras adicionadas

- Estándar de 1mg/L: Concentración teórica 1 mgN-NH₃/L: preparado por dilución a partir del patrón de una solución de amonio de 100 mg/L, del cual se miden 1ml y se llevan a un matraz aforado de 100 mL.
- Estándar de 12mg/L: Concentración teórica 12 mgN-NH₃/L: preparado por dilución a partir del patrón de una solución de amonio de 100 mg/L, del cual se miden 12ml y se llevan a un matraz aforado de 100mL.

- Estándar de 30mg/L: Concentración teórica 30 mgN-NH₃/L: preparado por dilución a partir del patrón de una solución de amonio de 100 mg/L, del cual se miden 30ml y se llevan a un matraz aforado de 100 mL.
- Estándar de 50mg/L: Concentración teórica 50 mgN-NH₃/L: preparado por dilución a partir del patrón de una solución de amonio de 100 mg/L, del cual se miden 50ml y se llevan a un matraz aforado de 100 mL.

La preparación de las muestras adicionadas se realizó diariamente tal como se describe a continuación:

- M1+St: Medir 1ml del estándar madre de 100 mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml. (Agua Superficial)
- M1+St: Medir 12ml del estándar madre de 100 mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.
- M1+St: Medir 30ml del estándar madre de 100mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.
- M1+St: Medir 50ml del estándar madre de 100mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.
- M1+St: Medir 1ml del estándar madre de 100 mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml. (Agua Residual)
- M1+St: Medir 12ml del estándar madre de 100 mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.
- M1+St: Medir 30ml del estándar madre de 100mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.
- M1+St: Medir 50ml del estándar madre de 100mg/L, llevar a matraz aforado de 100ml.

III.5. Nitrógeno amoniacal Método Volumétrico 4500-NH₃C

Medir con pipeta volumétrica, el volumen de muestra establecido: para muestras con concentración ≤ 50 mgN-NH₃/L medir un volumen de muestra de 100mL y para muestras con concentración ≥ 50 mgN-NH₃/L medir un volumen de muestra de 50ml



Transferir la muestra al tubo de digestión semi micro Kjeldahl.



Neutralizar la muestra a pH=7 con NaOH 1N o con H₂SO₄ 1N. Usar

Adicionar a la muestra 25mL de Buffer de Boratos y verificar pH = 9,5. De lo contrario ajustar a dicho pH con NaOH 6N. Usar tirillas de pH.

Destilación

Ensamblar tubo Kjeldahl en el destilador automático y programar la destilación.

Adicionar 50 mL de H₃ BO₃ + Indicador mixto en un Erlenmeyer de 250 mL. Ubicar el Erlenmeyer en el destilador.

Ajustar la altura del Erlenmeyer de manera que el tubo terminal del refrigerante quede sumergido en el ácido bórico

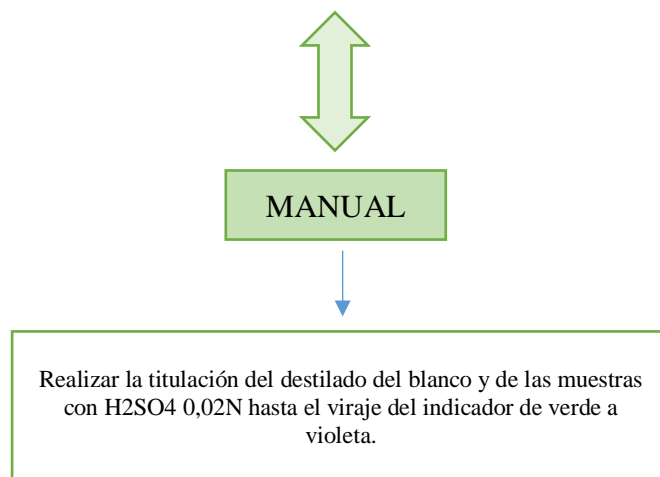
Efectuar la destilación de la muestra. En el destilador TECNAL 0345

La destilación dura 9 minutos, para obtener aproximadamente 170 mL de destilado de amoniaco por arrastre de vapor.

Finalizada la destilación enjuagar con agua destilada la manguera de salida del destilado sobre el Erlenmeyer.

TITULACIÓN

Antes de iniciar la titulación, verificar la concentración del H₂ SO₄ usando TRIS como estándar primario. Anotar el valor del consumo del titulante.



Esquema 3. Flujograma Método Volumétrico 4500-NH3C

CAPITULO 4

4.1. Cálculos y Resultados

Tabla 1. Elección de parámetros analíticos de validación, fijación de objetivos.

PARÁMETRO	OBJETIVOS
Repetibilidad	$RSD_r \leq 15\%$
Reproducibilidad	$RSD_R \leq 15\%$
Controles de calidad internos	Duplicados: <ul style="list-style-type: none"> • Niveles menores a 30 mg/L: % RPD $\leq 15\%$ • Niveles mayores a 50 mg/L: % RPD $\leq 10\%$ Carta control del Patrón (Cloruro de amonio 99.6%) en 2 concentraciones: <ul style="list-style-type: none"> • 30 mg/L Nitrógeno amoniacal • 50 mg/L Nitrógeno amoniacal
Intervalo de trabajo	1-50 mg/l
Exactitud (empleo de material certificado)	$85 \geq \% \text{ recuperación} \leq 115$ en todos los niveles
Límite de cuantificación (LQM)	De acuerdo a la desviación estándar obtenido en los análisis y teniendo en cuenta la menor concentración que arroja resultados de exactitud y precisión fuera de los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio corresponde a 1mg N-NH ₃ /L
Incertidumbre	Para el rango de 1-12 mg/l es de 21% Para el rango de 30mg/l hasta 50 mg/l es de 12%

IV.1.2 RESULTADOS

Tabla 2. Resultados Analíticos

NIVEL	Analistas/días		NIVEL	Analistas/días	
	Día 1	Día 2		Día 1	Día 2
	Agua SUPERFICIAL	1,68		1,68	Agua RESIDUAL
1,12		1,12	17,36	18,48	
1,12		1,68	17,92	19,06	
1,12		1,68	19,60	19,04	
1,68		1,12	10,04	18,48	
Nivel 1 (agua rio + 1mg/l)	2,24	2,24	Nivel 1 (agua residual + 1mg/l)	19,04	19,04
	2,24	2,24		17,36	17,36
	1,68	2,80		17,92	18,48
	1,68	2,80		18,48	18,48
	2,80	1,68		18,48	19,04
Nivel 2 (agua rio + 12mg/l)	12,32	12,32	Nivel 2 (agua residual + 12mg/l)	28	29,20
	12,32	12,32		28,56	28,56
	13,44	13,44		28,56	28,56
	12,88	12,32		28	28
	12,32	12,32		28,56	28
Nivel 3 (agua Rio + 30mg/l)	32,48	28,56	Nivel 3 (agua residual + 30mg/l)	48,72	45,92
	30,24	30,24		46,48	43,68
	29,12	28,56		47,60	44,24
	28,56	29,12		45,92	45,92
	29,12	28		45,92	45,36
Nivel 4 (agua rio + 50mg/l)	49,28	48,72	Nivel 4 (agua residual+50mg/L)	61,60	63,84
	51,52	48,72		62,72	61,60
	51,52	49,28		62,72	62,72
	49,28	49,28		63,84	62,72
	49,28	51,52		63,84	63,84

Tabla 3. Resultados Precisión, Incertidumbre

MÉTODO ANALÍTICO TRITIMETRICO				
CUANTITATIVO x			Analito: NITROGENO	
CUALITATIVO			AMONIACAL	
DE IDENTIFICACIÓN			Unidades: mg/l	
			Matriz: AGUA	
PRECISIÓN				
Nivel	Repetibilidad		Reproducibilidad	
	S_r	% RSD_r	S_R	% RSD_R
Nivel 1: 1 mg/l	0,69	304,2%	0,69	304,2%
Nivel 2: 12 mg/l	0,85	8,6%	0,85	8,6%
Nivel 3: 30 mg/l	1,41	5,2%	2,09	7,6%
Nivel 4: 50 mg/l	1,01	2,3%	1,01	2,3%
Nivel 5: Agua Residual	7,63	77,6%	10,39	105,7%
Nivel 6: 1 mg/l	0,31	36,5%	0,31	36,5%
Nivel 7: 12 mg/l	0,61	5,5%	0,61	5,5%
Nivel 8: 30 mg/l	1,22	4,4%	1,35	4,8%
Nivel 9: 50 mg/l	1,39	2,9%	1,39	2,9%
Nivel 10: Agua de Rio	0,31	21,9%	0,31	21,9%
R. GLOBALES		13,9%		10,8%
OBJETIVO		≤15%		≤15%
C/NC		Cumple		Cumple
EXACTITUD				
Nivel	% RECUPERACIÓN			
Nivel 1: 1mg/l	56,2%			
Nivel 2: 12 mg/l	81,7%			
Nivel 3: 30 mg/l	91,3%			
Nivel 4: 50 mg/l	88,7%			
Nivel 5: 1 mg/l	84,0%			
Nivel 6: 12 mg/l	93,3%			

Nivel 7: 30 mg/l	93,3%
Nivel 8: 50 mg/l	96,9%
R. GLOBALES	85,7%
OBJETIVO	85-115%
C/NC	CUMPLE
INCERTIDUMBRE U (k=2) %	
Nivel 1: 1 mg/l	139,5%
Nivel 2: 12 mg/l	14,1%
Nivel 3: 30 mg/l	13,9%
Nivel 4: 50 mg/l	4,0%
Nivel 5: 1 mg/l	64,1%
Nivel 6: 12 mg/l	10,2%
Nivel 7: 30 mg/l	9,0%
Nivel 8: 50 mg/l	5,6%
R. GLOBALES	Para el rango de >12 hasta <30 mg/l es de 21% Para el rango de >30mg/l hasta 50 mg/l es de 12%
OBJETIVO	≤ 21 %
C/NC	Cumple
INTERVALO DE TRABAJO	12-50mg/l

4.1.3 Incertidumbre – Agua Superficial

NIVEL 1 mg/l

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, El cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado. En la Ilustración 1, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

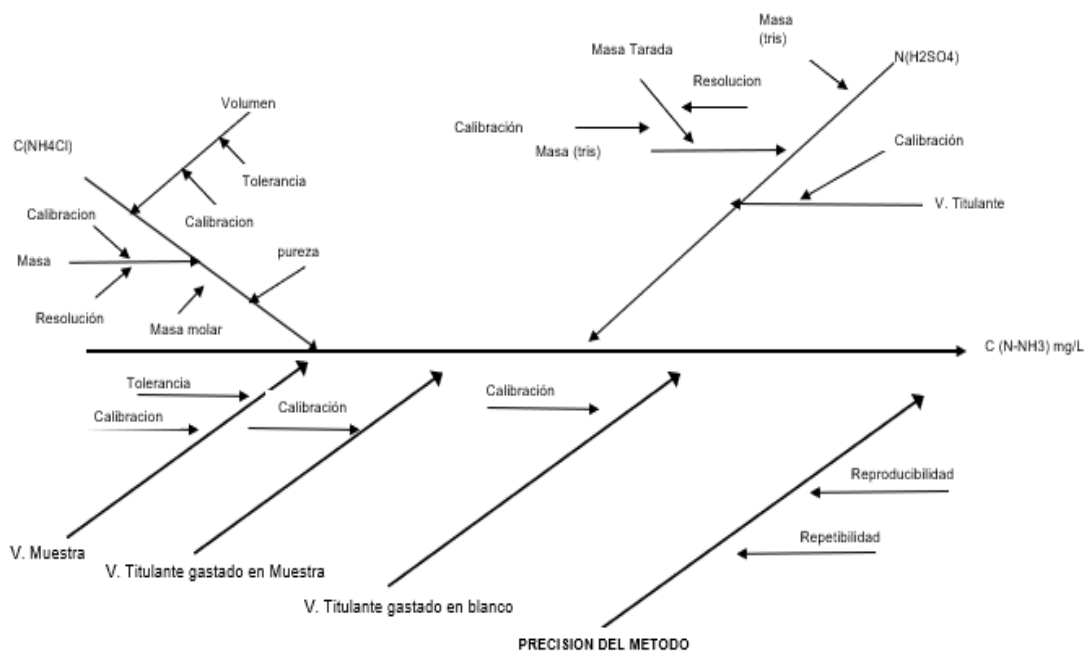


Ilustración 1. Análisis de Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 - \text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H₂SO₄ titulado para la muestra en ml

B: volumen de H₂SO₄ titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: 14(normalidad del ácido estandarizado) x1000

4.1.3.1 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 4. Cálculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)- Nivel de 1mg/L

Muestra	sd	se	up	media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIACAL	0,307	0,000	0,307	0,84	0,61	0,365	0,365

$$U = k \times u_p$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- u_p = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, s_t)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR
- según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.3.2 Incertidumbre estándar

Tabla 5. Incertidumbre estándar-Nivel de 1mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrógeno Amoniacal	100,3	2	1,0

IV 1.3.3 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 6. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado--Nivel de 1mg/L

Número De Lecturas	Consumo (MI)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
$u_{\text{Estándar}}$	0,00000

4.1.3.4 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 7. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra--Nivel de 1mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,6
2	0,6
3	0,5
4	0,5
5	0,7
6	0,6
7	0,6
8	0,7
9	0,7
10	0,5
Promedio	0,600
Desv. Estándar	0,08165
U _{Estándar}	0,02582

4. 1.3.5 Incertidumbre de los equipos

Tabla 8. Incertidumbre de los equipos-Nivel de 1mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
	u calibración	0,1501	

4.1.3.6 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 9.Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa--Nivel de 1mg/L

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0258	0,0258
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	3,0	0,1501	0,0500
Reproducibilidad Anova	0,8	0,3	0,3655

U_{comb} (mg/l)

1,1

U_{exp.} (mg/l)

2

U_{exp.}%

252

4. 1.3.7 Gráfico de contribución estándar de medición

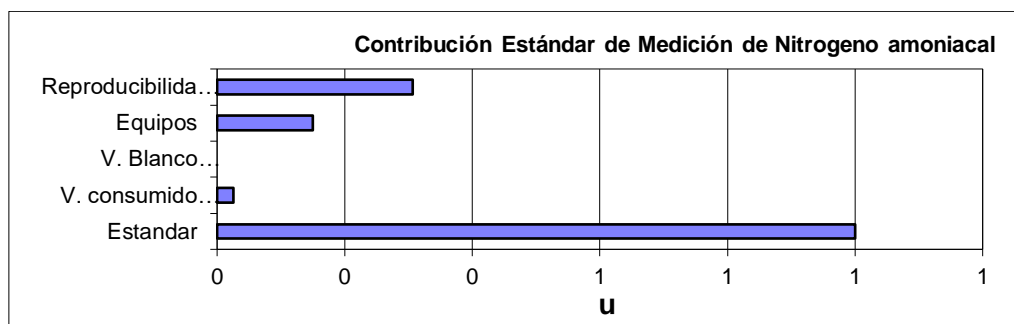


Ilustración 2. Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 1 mg/L

Discusión: Este nivel tiene una U de 252 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 1, en la tabla 4 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 0,307 que pertenece a la concentración de 1mg/l. En la tabla 5, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 6, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 7, tenemos una U de 0,02582 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 8, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 9, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 1.

NIVEL 12 mg/l

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, El cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado. En la Ilustración 3, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3\text{-N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H₂SO₄ titulado para la muestra en ml

B: volumen de H₂SO₄ titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: 14(normalidad del ácido estandarizado) x1000

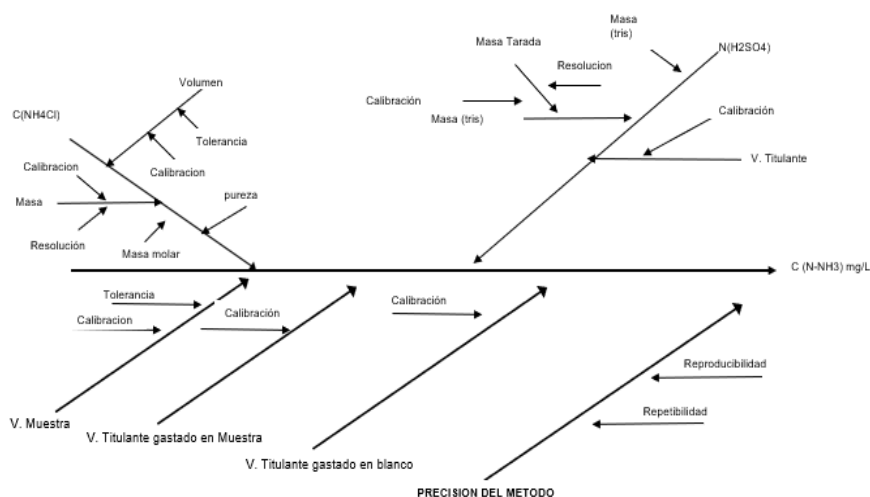


Ilustración 3. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L

4. 1.3.8 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 10. Calculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

Muestra	sd	se	Up	media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIAICAL	0,613	0,000	0,613	11,20	1,20	0,055	0,055

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.3.9 Incertidumbre estándar

Tabla 11. Incertidumbre estándar- Nivel de 12 mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrogeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.3.10 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 12. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 12 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
U _{Estándar}	0,00000

4.1.3.11 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 13. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 12mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	2,4
2	2,4
3	2,6
4	2,5
5	2,4
6	2,4
7	2,4
8	2,6
9	2,4
10	2,5
Promedio	2,460
Desv. Estándar	0,08433
U_{Estándar}	0,02667

4.1.3.12 Incertidumbre de los equipos

Tabla 14. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 12mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
u calibración		0,1501	

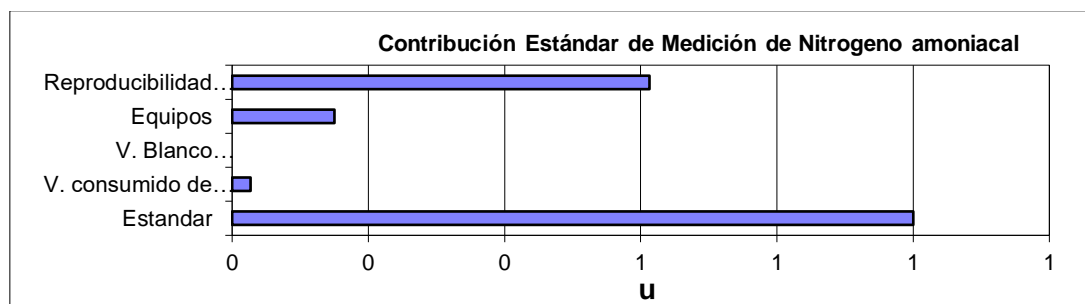
4.1.3.13 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 15. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0267	0,0267
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	3,0	0,1501	0,0500
Reproducibilidad Anova	11,2	0,6	0,0547
U _{comb} (mg/l)		1,2	
U _{exp.} (mg/l)		3	
U _{exp.} %		21	

4.1.3.14 Gráfico de contribución estándar de medición

Ilustración 4. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 12mg/L



Discusión: Este nivel tiene una U de 21 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 3, en la tabla 10 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 0,613 que pertenece a la concentración de 12 mg/l. En la tabla 11, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 12, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 13, tenemos una U de 0,0267 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 14, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 15, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 12 mg/l.

NIVEL 30 mg/l

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, El cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado. En la Ilustración 5, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 -\text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H_2SO_4 titulado para la muestra en ml

B: volumen de H_2SO_4 titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: $14(\text{normalidad del ácido estandarizado}) \times 1000$

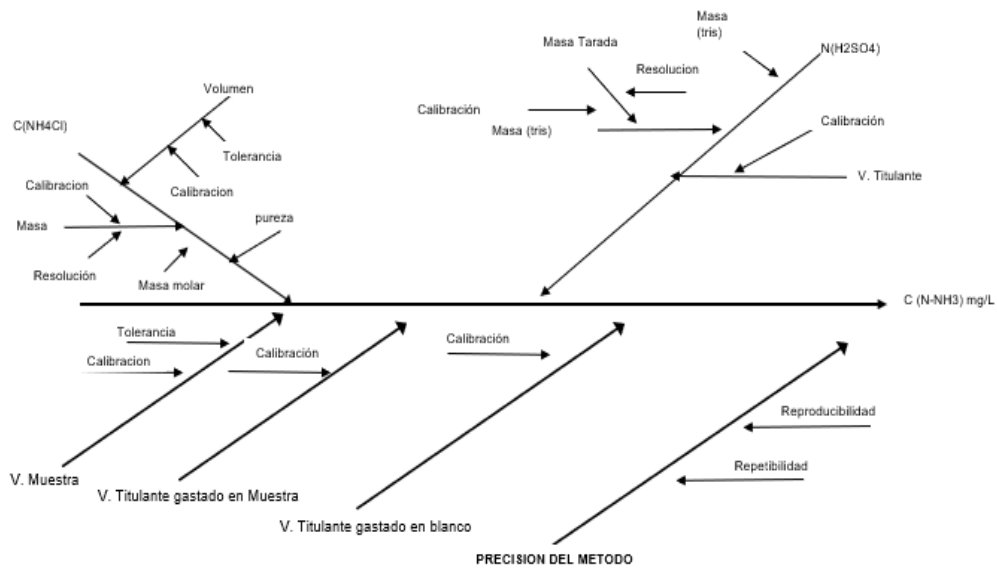


Ilustración 5. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L

4.1.3.15 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 16.Calculo de la incertidumbre estándar (up), media y incertidumbre expandida (U)

Muestra	sd	se	up	media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIACAL	1,220	0,574	1,349	28,00	2,70	0,048	0,048

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

4.1.3.16 Incertidumbre estándar

Tabla 17. Incertidumbre estándar- Nivel de 30mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrogeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.3.17 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 18. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 30mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
U _{Estándar}	0,00000

4.1.3.18 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 19. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 30mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	6,0
2	5,6
3	5,4
4	5,3
5	5,4
6	5,3
7	5,6
8	5,3
9	5,4
10	5,2
Promedio	5,450
Desv. Estándar	0,23214
U _{Estándar}	0,11607

4. 1.3.19 Incertidumbre de los equipos

Tabla 20. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 30mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
	u calibración	0,1501	

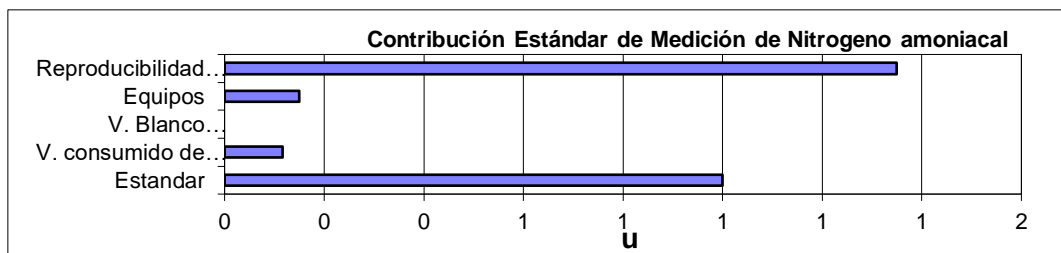
4.1.3.20 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 21. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,1161	0,1161
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	28,0	1,3	0,0482
U _{comb} (mg/l)		1,7	
U _{exp.} (mg/l)		3	
U _{exp.} %		12	

4.1.3.21 Gráfico de contribución estándar de medición

Ilustración 6. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 30mg/L



Discusión: Este nivel tiene una U de 12 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 4, en la tabla 16 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 1,349 que pertenece a la concentración de 30 mg/l. En la tabla 17, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 18, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 19, tenemos una U de 0,1161 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 20, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 21, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 30 mg/l.

NIVEL 50 mg/L

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, El cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado. En la Ilustración 7, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 -\text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H_2SO_4 titulado para la muestra en ml

B: volumen de H_2SO_4 titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: $14(\text{normalidad del ácido estandarizado}) \times 1000$

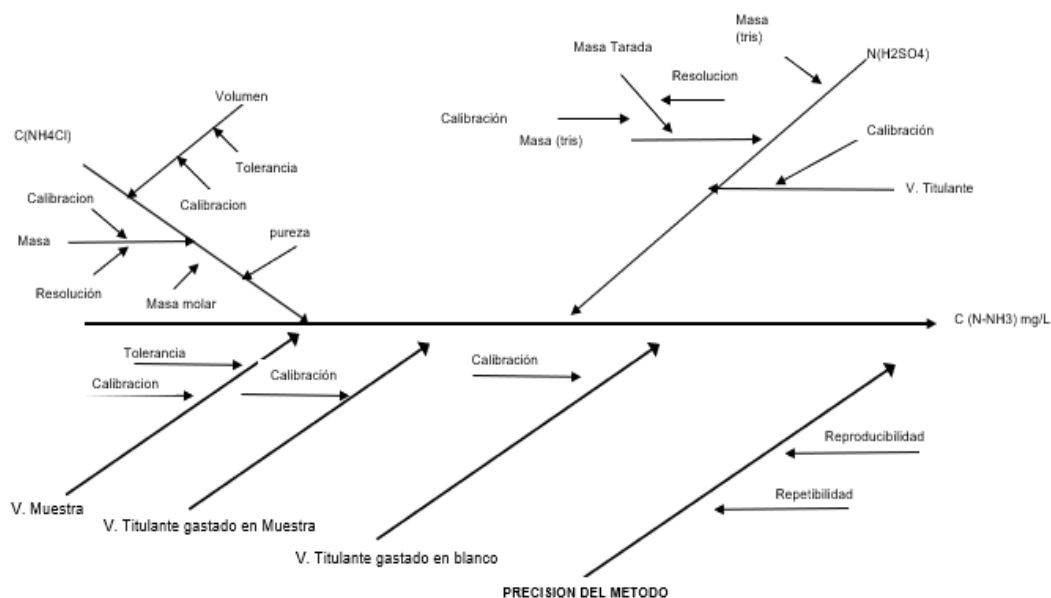


Ilustración 7. Análisis de fuente Incertidumbre-Nivel de 1-50mg/L

4.1.3.22 Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 22.Calculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

Muestra	sd	se	up	media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIAICAL	1,394	0,000	1,394	48,40	2,28	0,029	0,029

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

4.1.3.23 Incertidumbre estándar

Tabla 23.Incertidumbre estándar- Nivel de 50mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrógeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.3.24 Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 24.Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado- Nivel de 50mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
UEstándar	0,00000

4.1.3.25 Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 25. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra- Nivel de 50 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	9,0
2	9,4
3	9,4
4	9,0
5	9,0
6	8,9
7	8,9
8	9,0
9	9,0
10	9,4
Promedio	9,100
Desv. Estándar	0,21082
u_{Estándar}	0,10541

4.1.3.26 Incertidumbre de los equipos

Tabla 26. Incertidumbre de los equipos- Nivel de 50mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
	u calibración	0,1501	

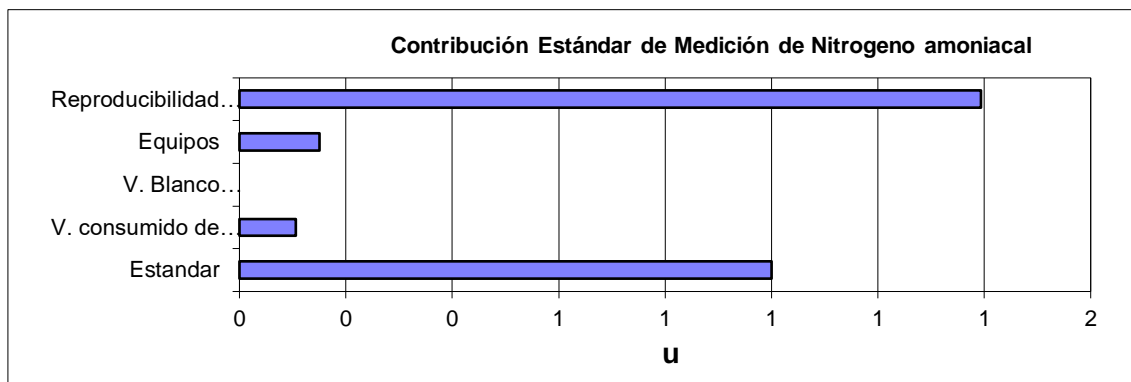
4.1.3.27 Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 27. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,1054	0,1054
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	48,4	1,4	0,0288
U _{comb} (mg/l)		1,7	
U _{exp.} (mg/l)		3	
U _{exp.} %		7	

4.1.3.28 Gráfico de contribución estándar de medición

Ilustración 8. Gráfico de contribución estándar de medición- Nivel de 50mg/L



Discusión: Este nivel tiene una U de 7 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 7, en la tabla 22 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 1,394 que pertenece a la concentración de 30 mg/l. En la tabla 23, tenemos una U de 1000 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 24, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 25, tenemos una U de 0,10541 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 26, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 27, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 50 mg/l.

4. 1.4. Incertidumbre – Agua Residual

Nivel 1 Mg/L

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, El cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado. En la Ilustración 9, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 \text{ -N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H₂SO₄ titulado para la muestra en ml

B: volumen de H₂SO₄ titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: 14(normalidad del ácido estandarizado) x1000

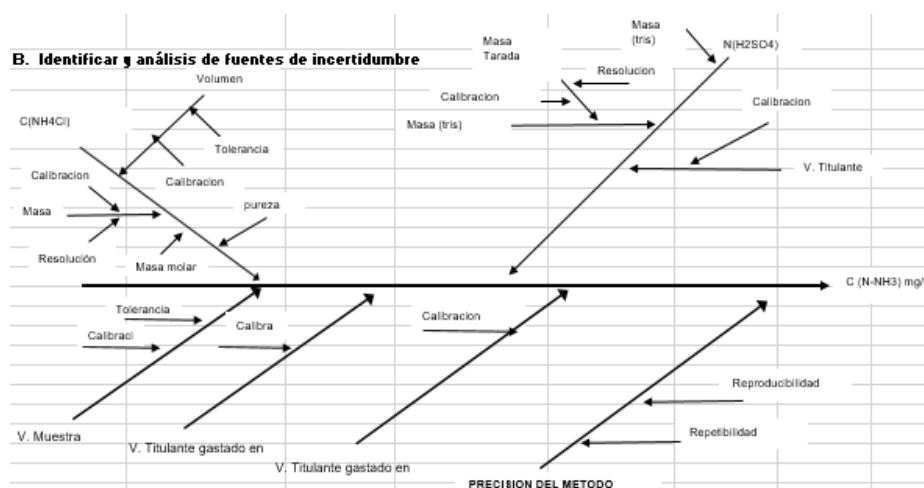


Ilustración 9 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l

4. 1.4.1. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad.

Tabla 28. Cálculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

Muestra	sd	se	up	Media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIACAL	0,688	0,000	0,688	-0,23	1,38	- 3,042	- 3,042

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.4.2. Incertidumbre estándar debida al MRC

Tabla 29. Incertidumbre estándar debida al MRC

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrogeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.4.3. Incertidumbre estándar debido al blanco titulado

Tabla 30. Incertidumbre estándar debido al blanco titulado

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
uEstándar	0,00000

4.1.4.4. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 31. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Número de lecturas	consumo (ml)
1	3,6
2	3,3
3	3,4
4	3,5
5	3,5
6	3,6
7	3,4
8	3,5
9	3,5
10	3,6
Promedio	3,490
Desv. Estándar	0,09944
uEstándar	0,03145

4.1.4.5. Incertidumbre de los equipos

Tabla 32. Incertidumbre de los equipos

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	Mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	Mg
u calibración		0,1501	

4.1.4.6. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 33. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0314	0,0314
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	-0,2	0,7	-2,9913

U_{comb} (mg/l)

1,2

U_{exp.} (mg/l)

2

U_{exp.%}

-1064

4.1.4.7. Gráfico de contribución estándar de medición

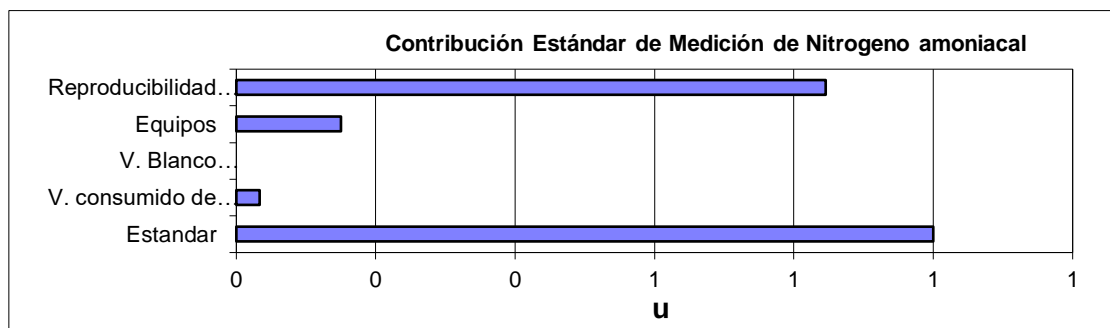


Ilustración 10 Gráfico de contribución estándar de medición

Discusión: Este nivel tiene una U de 252 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 9, en la tabla 28 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 0,307 que pertenece a la concentración de 1mg/l. En la tabla 29, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 30, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 31, tenemos una U de 0,03145 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 32, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 33, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 1.

NIVEL 12 mg/l – Agua Residual

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, el cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado.

En la Ilustración 11, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método, correspondientes al Nivel de 12 mg/L.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 - \text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H_2SO_4 titulado para la muestra en ml

B: volumen de H_2SO_4 titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: $14(\text{normalidad del ácido estandarizado}) \times 1000$

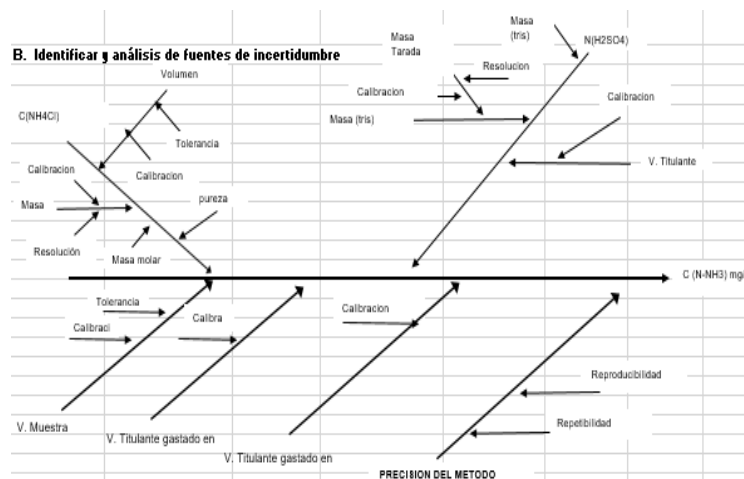


Ilustración 11 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l

4.1.4.7. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 34. Cálculo de la incertidumbre estándar (u_p), media e incertidumbre expandida (U) -Nivel de 12 mg/L

Muestra	Sd	se	U_p	media	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONICAL	0,846	0,000	0,846	9,81	1,69	0,086	0,086

$$U = k \times u_p$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- u_p = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.4.8. Incertidumbre estándar debida al MRC

Tabla 35. Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 12 mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrogeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.4.9. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 36. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 12 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
UEstándar	0,00000

4.1.4.10. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 37. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 12 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	5,2
2	5,3
3	5,3
4	5,2
5	5,3
6	5,4
7	5,3
8	5,3
9	5,2
10	5,2
Promedio	5,270
Desv. Estándar	0,06749
UEstándar	0,02134

4.1.4.11. Incertidumbre de los equipos

Tabla 38. Incertidumbre de los equipos-Nivel de 12 mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
	u calibración	0,1501	

4.1.4.12. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 39. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 12 mg/L

Magnitud	Valor	U	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0213	0,0213
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	9,8	0,8	0,0862

U_{comb} (mg/l)

1,3

U_{exp.} (mg/l)

3

U_{exp.}%

27

4.1.4.13. Gráfico de contribución estándar de medición

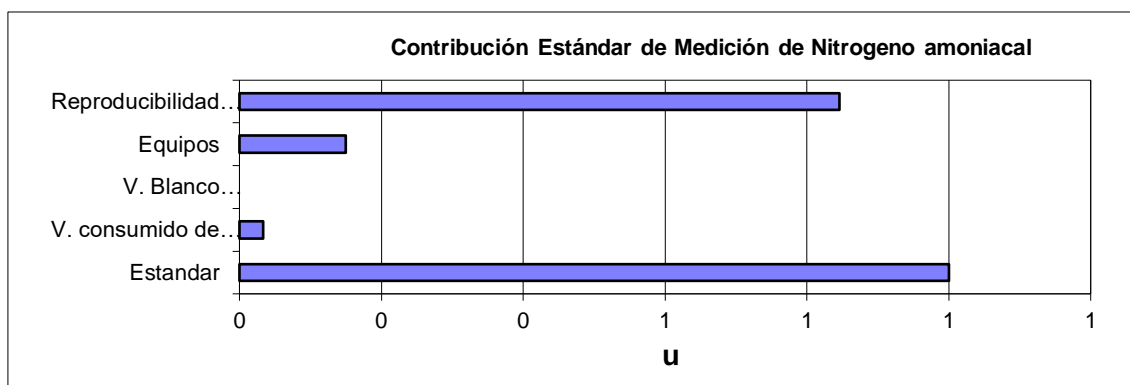


Ilustración 12 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 12 mg/L

Discusión: Este nivel tiene una U de 21 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 11, en la tabla 34 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 0,613 que pertenece a la concentración de 12 mg/l. En la tabla 35, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 36, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 37, tenemos una U de 0,02134 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 38, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 39, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 12 mg/l.

NIVEL 30 mg/l – Agua Residual

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, el cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado.

En la Ilustración 13, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método, correspondientes al Nivel de 30 mg/L.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 \text{ -N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H_2SO_4 titulado para la muestra en ml

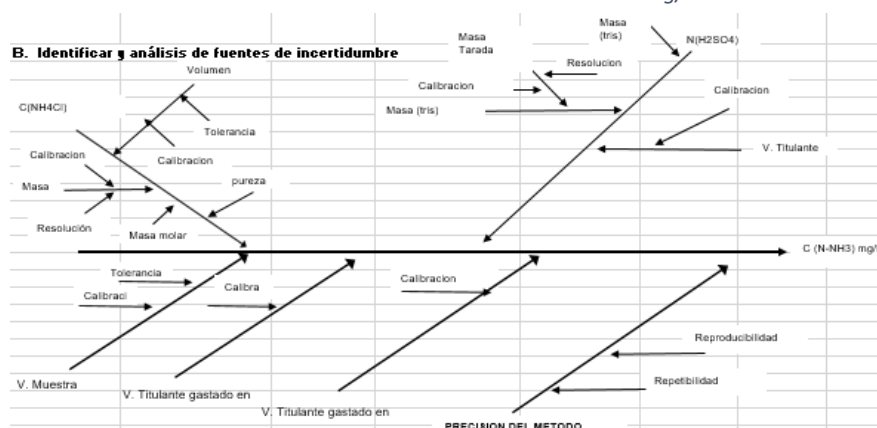
B: volumen de H_2SO_4 titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: $14(\text{normalidad del ácido estandarizado}) \times 1000$

Ilustración 13 Análisis de incertidumbre 1-50 mg/l

4.1.4.7.



Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 40. Cálculo de la incertidumbre estándar (u_p), media e incertidumbre expandida (U) -Nivel de 30 mg/L

Muestra	sd	se	u_p	media	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONIACAL	1,414	1,535	2,087	27,38	4,17	0,076	0,052

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.4.8. Incertidumbre estándar debida al MRC

Tabla 41. Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 30 mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrógeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.4.9. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 42. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 30 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
UEstándar	0,00000

4.1.4.10. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 43. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 30 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	8,9
2	8,5
3	8,7
4	8,4
5	8,4
6	8,4
7	8,0
8	8,1
9	8,4
10	8,3
Promedio	8,410
Desv. Estándar	0,26013
U _{Estándar}	0,08226

4.1.4.11. Incertidumbre de los equipos

Tabla 44. Incertidumbre de los equipos-Nivel de 30 mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	Mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	Mg
	u calibración	0,1501	

4.1.4.12. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 45. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 30mg/L

Magnitud	Valor	u	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0823	0,0823
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	27,4	2,1	0,0762

U_{comb} (mg/l)

2,3

U_{exp.} (mg/l)

5

U_{exp.}%

17

IV.1.4.13. Gráfico de contribución estándar de medición

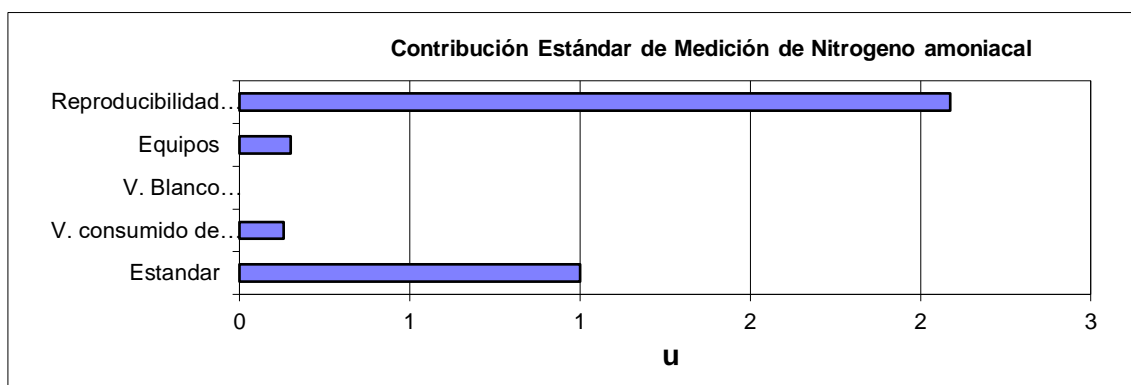


Ilustración 14 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 30 mg/L

Discusión: Este nivel tiene una U de 12 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 13, en la tabla 40 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 1,349 que pertenece a la concentración de 30 mg/l. En la tabla 41, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 42, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 43, tenemos una U de 0,08226 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 44, tenemos una U de 0,1501 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 45, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para Obtener la U correspondiente al nivel 30 mg/l.

NIVEL 50 mg/l – Agua Residual

Especificación del mesurando

Medición de la cantidad de ion borato (H_2BO_3) presente en la muestra, producto de la destilación por arrastre de vapor, el cual se mide mediante la titulación con ácido sulfúrico 0,02N. La cantidad de ion borato presente es equivalente a la cantidad de amoníaco liberado.

En la Ilustración 15, se puede visualizar el análisis de las incertidumbres establecidas para el método.

Fórmula

$$\text{mg NH}_3 - \text{N/L} = (A-B) \times 280 / \text{ml de muestra}$$

Donde:

A: volumen de H₂SO₄ titulado para la muestra en ml

B: volumen de H₂SO₄ titulado para el blanco

NOTA: en esta fórmula el factor. En este ejemplo 280 se calcula

FACTOR: 14(normalidad del ácido estandarizado) x1000

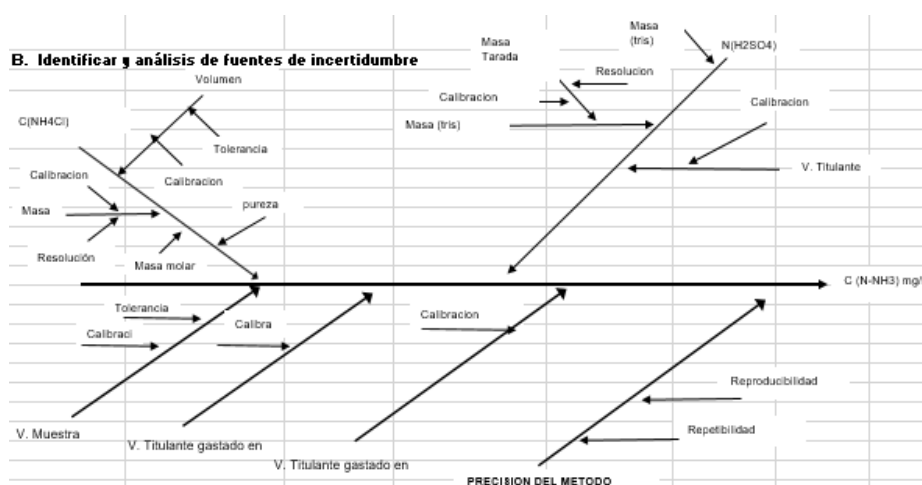


Ilustración 15 Análisis de Incertidumbre 1-50 mg/l

4.1.4.14. Componente de incertidumbre basado en la precisión intermedia, datos tomados del ANOVA validación del método, considerando la mayor desviación estándar de reproducibilidad

Tabla 46. Cálculo de la incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U) -Nivel de 50 mg/L

Muestra	sd	se	up	media	U	RSDiI	RSDir
NITROGENO AMONICAL	1,009	0,000	1,009	44,35	2,02	0,023	0,023

$$U = k \times up$$

- dónde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
- up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)
- Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR, según la fórmula:

$$U = 2 \times \text{RSDiR} \times \text{result}$$

4.1.4.15. Incertidumbre estándar debida al MRC

Tabla 47. Incertidumbre estándar debida al MRC-Nivel de 50 mg/L

Analito	Conc (mg/L)	NH3 (± mg/L)	μ MRC
Estandar Nitrogeno Amoniacal	100,3	2	1,0

4.1.4.16. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado

Tabla 48. Incertidumbre estándar debida al Blanco titulado - Nivel 50 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	0,2
2	0,2
3	0,2
4	0,2
Promedio	0,200
Desv. Estándar	0,00000
UEstándar	0,00000

4.1.4.17. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra

Tabla 49. Incertidumbre estándar debida al titulado gasto en la muestra-Nivel de 50 mg/L

Número de lecturas	consumo (ml)
1	11,2
2	11,4
3	11,4
4	11,6
5	11,5
6	11,5
7	11,1
8	11,4
9	11,4
10	11,6
Promedio	11,410
Desv. Estándar	0,15951
U _{Estándar}	0,05044

4.1.4.18. Incertidumbre de los equipos

Tabla 50. Incertidumbre de los equipos-Nivel de 50mg/L

Equipo	Incertidumbre	u Estándar	Unidades
Balanza EQ-02	0,00021	0,000105	mg
Pesa PF-03	0,3	0,15	mg
	u calibración	0,1501	

4.1.4.19. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa

Tabla 51. Resumen del cálculo de Incertidumbre estándar y relativa-Nivel de 50mg/L

Magnitud	Valor	U	u/v ₁
Estandar	100	1,0000	0,0100
V. consumido de muestra	1	0,0504	0,0504
V. Blanco consumido	0,2	0,0000	0,0000
Equipos	2,0	0,1501	0,0751
Reproducibilidad Anova	44,4	1,0	0,0228

U _{comb} (mg/l)	1,4
U _{exp.} (mg/l)	3
U _{exp.} %	6

4.1.4.20. Gráfico de contribución estándar de medición

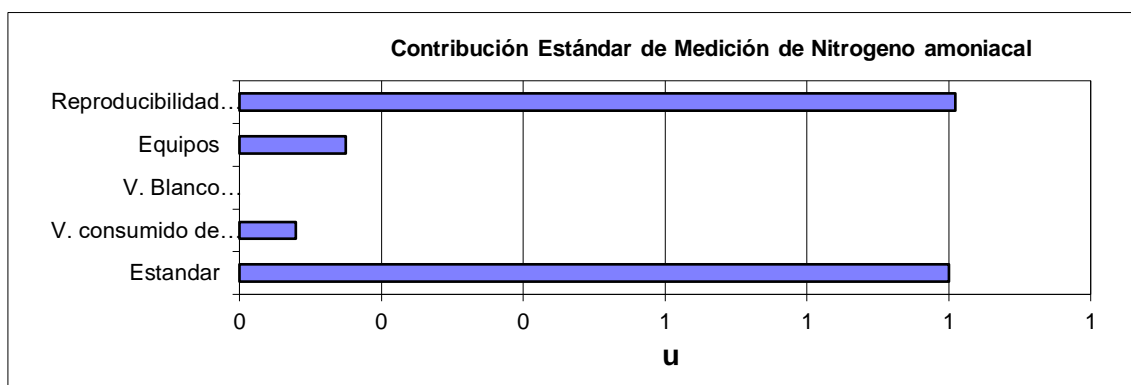


Ilustración 16 Gráfico de contribución estándar de medición-Nivel de 50 mg/L

Discusión: Este nivel tiene una U de 7 %, tomando en consideración todas las distribuciones especificadas en la ilustración 15, en la tabla 46 podemos observar que tenemos un up (media e Incertidumbre expandida) de 1,394 que pertenece a la concentración de 50 mg/l. En la tabla 47, tenemos una U de 1,0 del estándar madre de nitrógeno amoniacal, en la tabla 48, tenemos una U de 0,00 del consumo del blanco obtenido. En la tabla 49, tenemos una U de 0,10541 del consumo de la muestra fortificada, en la tabla 50, tenemos una U de 0,0504 considerada de los equipos que se utilizaron para la validación, y finalmente en la tabla 51, se puede visualizar el resumen de todas las incertidumbres reportadas y consideradas para obtener la U correspondiente al nivel 50 mg/l.

CAPÍTULO 5

5.1. Conclusiones

A través del actual trabajo de verificación para la validación del parámetro nitrógeno amoniacal en matrices de agua superficial y residual, Se demostró la valoración de los resultados obtenido y teniendo como base los criterios de aceptación establecidos, llegando a las siguientes conclusiones:

- Se verifico que en los ensayos de nitrógeno amoniacal en matrices de agua superficial y residual fueron evaluados por el Laboratorio Ingeestudios S.A (Guayaquil- Km 11.5 vía a la costa). En donde el informe emitido por el laboratorio indica que se no encontraron ninguna anomalía. Lo cual asegura la calidad de los datos obtenidos durante el proceso de validación y la competencia técnica del laboratorio.
- Se evaluó la fiabilidad de los resultados mediante la verificación de la trazabilidad de la metodología analítica con incertidumbres asociada a las mediciones. Con este método de análisis desarrollado en este trabajo se demuestra que proporciona resultados fiables y adecuados.
- La evaluación de los criterios de calidad da como resultados en promedio global de todos los niveles: límite de detección 1,26 mg/L, Repetibilidad 13,9% y una Reproducibilidad de 10,8%.
- Las incertidumbres obtenidas en la fortificación para la matriz de agua superficial en el Nivel de 12mg/L siendo este valor 21%, Nivel de 30mg/L siendo este valor 12%, en la matriz de residual en el Nivel de 12mg/L siendo este valor 27%, Nivel de 30mg/L es un 17%.
- Se demostró que el método analítico no es confiable en rangos menores a 12mg/l debido que no cumple con los criterios de aceptación y el porcentaje de recuperación, sin embargo, es exacto y preciso en el intervalo de trabajo para concentraciones mayores a 12mg/l hasta 50 mg/l.

5.2. RECOMENDACIONES

- Aunque el límite de cuantificación establecido para el método de nitrógeno amoniacal es de 1 mg/l, teniendo en cuenta la diversidad de muestras que analizar el laboratorio con concentraciones bajas de nitrógeno amoniacal, se recomienda para obtener resultados confiables en rangos bajos, realizar los ensayo en un espectrofotómetro uv-vis en una longitud de onda 655nm.

Referencias Bibliográficas

- [1] E. Baeza, "Calidad del Agua". Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. Universidad Católica de Valparaíso, Chile, 2016, pp. 2-11.
- [2] G. Bolívar, Analito. Lifeder, 2022.
- [3] G. Briones, "Metodología de la investigación cuantitativa en las ciencias sociales". Bogota, Colombia, 1996, pp 44-219.
- [4] M. Castelo, "Determinación de Arsénico y Mercurio en agua de consumo del cantón Rumiñahui por Espectrofotometría de Absorción Atómica". Quito, 2015, pp. 142.
- [5] J. Dagnino, "Análisis de Varianza", Revista Chilena de Anestesia. Pontificia Universidad Católica de Chile, Núm. 4, Vol. 43, 2014, pp 306-310.
- [6] M. Rösslein, B. King y S. Ellison, "Trazabilidad en medición química". Guía EURACHEM/CITAC, Conjunto de Eurachem/CITAC, 2003, pp. 13-43.
- [7] R. Ferrero, "¿Qué es el anova de una vía?". Blog Formación, 2017.
- [8] Gomez, "Ciclo del nitrógeno", Lifeder, 2015.
- [9] GUM, "Evaluación de datos de medición — Guía para la expresión de la incertidumbre de medida. Guía para la expresión de la incertidumbre de medida". Centro Español de Metrología, Centro Español de Metrología, España, 2008.
- [10] HACH LATAM, "Espectrofotómetro VIS de laboratorio DR3900" HACH, 2021.
- [11] Instituto Ecuatoriano de Normalización. "NORMA TÉCNICA ECUATORIANA", 2013.
- [12] N. Iñón, "Ciclo del Nitrógeno", Universidad Nacional de San Martín, 2016, pp. 68-72.
- [13] C. Juárez, "Análisis de Varianza de tipo I: Anova I. Universidad Autónoma del Estado de México. Ed.1, 2015, pp.47.
- [14] G. León, "Parámetros de calidad para el uso de aguas residuales". Guías de calidad de efluentes para la protección de la salud, 2012, pp.2-12.
- [15] M. Espinoza, Y. León y X. Rodríguez, "Problemática de la determinación de especies nitrogenadas (nitrógeno total y amoniacal) en aguas residuales", Revista CENIC. La Habana-Cuba, 2013 vol. 44, pp. 3-12.
- [16] J. López, "Las aguas residuales domésticas del barrio el recreo y su incidencia en la calidad del agua del río Pindo Grande en la ciudad de Puyo, Provincia de Pastaza". Universidad Técnica de Ambato, Puyo, 2015.
- [17] Magnusson, Örnemark, "La idoneidad para el propósito de los métodos analíticos. Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionado". Grupo de Trabajo de Validación de Métodos de Eurachem. Eurachem, 2014.

- [18] A. Vera, M. Márquez y J. Saetama, “Verificación de la validación de un método titrimétrico para determinar el nitrógeno amoniacal en diferentes matrices de agua”. Validación, Laboratorio Ingeestudios S.A., Guayaquil, 2022.
- [19] Ministerio del Ambiente, “Texto Unificado De Legislación Secundaria De Medio Ambiente”, 2003.
- [20] Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, “Estado y calidad de las aguas residuales”, 2020.
- [21] Organización Panamericana de la Salud, “informe 36, anexo 3”. Organización Panamericana de la salud, 2018.
- [22] D. Ospina, “Validación de nitrógeno amoniacal por destilación como continuidad a la estandarización de los parámetros ejecutados en el laboratorio de aguas de la Corporación Autónoma Regional del Quindío CRQ”. Bdigital, Universidad del Quindío, 2007.
- [23] RAE, “Desbaste”. Real Academia Española, 2021.
- [24] RAE, “Hidrólisis”. Real Academia Española, 2021.
- [25] SAE, “¿Qué es la validación de métodos de laboratorio?”. Servicio de acreditación Ecuatoriana, 2017.
- [26] SAE, “Política de trazabilidad de las mediciones”. Servicio de acreditación Ecuatoriana, 2019.
- [27] SAE, “Criterios Generales para Acreditación de laboratorios de ensayo y calibración según NTE/INEN/ISO/IEC 17025:2018. Servicio de acreditación Ecuatoriana, 2021.
- [28] Standard Methods, “Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater”, Ed. 23, 2017.
- [29] TECNAL, “Nitrógeno ammoniacal en aguas y efluentes”, TECNAL, 2021.
- [30] TIMSA, “Técnica e Ingeniería de Mezclas”, 2021.
- [31] TULSMA, “Registro Oficial #387”. Quito, Pichincha, Ecuador, 2015.
- [32] M. Vallez, “Calibración”, ISO 17025. Normas ISO, Albuquerque, 2021.

GLOSARIO

1. **Analito:** son sustancias químicas cuya presencia o concentración se requiere durante las mediciones químicas [2].
2. **Desbaste:** es el estado de cualquier materia que se tiene fin a labrarse, luego de haberla despojado de las partes más bastas. [23].
3. **Floculación:** Un proceso diseñado para eliminar la fracción coloidal en el agua utilizada para el suministro público de agua y el agua de proceso industrial [30].
4. **Hidrolisis:** desdoblamiento de una molécula por la acción del agua. [24].
5. **Mesurando:** magnitud particular sujeta a ser medida [21].
6. **Nitrosificantes:** son aquellas bacterias que emplean la enzima nitrito oxidoreductasa para oxidar el nitrito a nitrato [12].
7. **Rizosfera:** es considerada la vida microbiana prospera en la zona del suelo cerca de las raíces de las plantas.
8. **Tulasma:** es el documento en donde se establecen políticas básicas ambientales del Ecuador reconociendo que el principio fundamental que debe trascender el conjunto de políticas es el compromiso de la sociedad de promover el desarrollo hacia la sustentabilidad [19].
9. **Validación:** el proceso por el cual se establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas [12].
10. **Verificación:** acción de verificar [23].

ANEXOS

Anexo 1. Equipo Destilador de Nitrógeno y Proteínas. TECNAL 0345



Anexo 2. Mantenimiento y limpieza del equipo



Anexo 3.Preparación de los reactivos – Ácido Bórico + Indicador mixto



Anexo 4. Preparación de los estándares + muestra



Anexo 5. Preparación de la Muestra



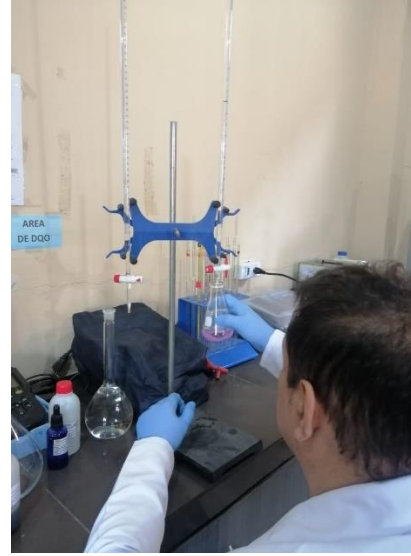
Anexo 6. Colocación de la muestra para analizar



Anexo 7. Destilación de la muestra



Anexo 8. Proceso de Titulación



Anexo 9. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICIÓN

Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando **NITROGENO AMONIACAL**

Procedimiento

PE 1,34

Equipo (s):

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua residual

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2			VII	VIII	IX	X
Test 1	18,48	18,48								
Test 2	17,36	18,48								
Test 3	17,92	19,60								
Test 4	19,06	19,04								
Test 5	19,04	18,48								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	1 mg/L									
	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	19,04	19,04								
Test 2	17,36	17,36								
Test 3	17,92	18,48								
Test 4	18,48	18,48								
Test 5	18,48	19,04								
Test 6										
Spike (surrogate) =		1,0	mg/L							
Spike recovery=		0,226	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,560	0,560								
Test 2	0,000	1,120								
Test 3	0,000	1,120								
Test 4	0,580	0,560								
Test 5	0,560	0,560								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	1,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,560	0,560								
Test 2	0,000	-1,120								
Test 3	0,000	-1,120								
Test 4	-0,580	-0,560								
Test 5	-0,560	0,560								
Test 6										
x	-0,116	-0,336								
s	0,473	0,849								
s²	0,224	0,721								
n	4	4								
ns²	0,90	2,89								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = \sum s_i^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = \sum st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	0,1210	1	$MSe = 0,121$
	Dentro-grupos SSd	3,7814	8	$MSd = 0,473$
	Total SSt	3,9024	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd. Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo s_d , s_e y s_t las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	$F = MSe/MSd$ Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value $\alpha = 0.05$	Significación estadística?	s^2d	se^2	s^2t
NITROGENO AMONICAL	0,26	5,32	6,27E-01	No	0,473	0,000	0,473

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

Mensurando	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
Nitrogeno amoniacal	0,688	0,000	0,688	-0,23	1,38	-3,042	-3,042

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
Nitrogeno amoniacal	0,56	0,23	0,40	3,71	2,26	Yes	0,118

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	0,69
u(Rm)	=	0,12
uc	=	0,70
U	=	1,40

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 10.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando NITROGENO AMONIACAL

Procedimiento
Equipo (s):

PE 1,34

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua residual

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VII	VIII	IX	X	
Test 1	18,48	18,48								
Test 2	17,36	18,48								
Test 3	17,92	19,60								
Test 4	19,06	19,04								
Test 5	19,04	18,48								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	12,0 mg/L Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	28,00	29,20								
Test 2	28,56	28,56								
Test 3	28,56	28,56								
Test 4	28,00	28,00								
Test 5	28,56	28,00								
Test 6										
Spike (surrogate) =		12,0	mg/L							
Spike recovery=		9,806	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,793	0,893								
Test 2	0,933	0,840								
Test 3	0,887	0,747								
Test 4	0,745	0,747								
Test 5	0,793	0,793								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	12,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	9,520	10,720								
Test 2	11,200	10,080								
Test 3	10,640	8,960								
Test 4	8,940	8,960								
Test 5	9,520	9,520								
Test 6										
x	9,964	9,648								
s	0,926	0,758								
s ²	0,857	0,575								
n	4	4								
ns ²	3,43	2,30								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = S nisi^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = nt st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	0,2496	1	$MSe = 0,250$
	Dentro-grupos SSd	5,7264	8	$MSd = 0,716$
	Total SSt	5,9760	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd, Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F Siendo sd, se y st las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	se ²	s ² t
NITROGENO AMONIACAL	0,35	5,32	5,71E-01	No	0,716	0,000	0,716

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDiI	RSDiR
NITROGENO AMONIACAL	0,846	0,000	0,846	9,81	1,69	0,086	0,086

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR

según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiI \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONIACAL	0,82	9,81	12,00	8,51	2,26	Yes	0,021

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres u_p , $u(R_m)$ y U

u_p	=	0,85
$u(R_m)$	=	0,02
u_c	=	0,85
U	=	1,69

u_p = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

u_c = Incertidumbres estándar combinadas, $u_p^2 + u(R_m)^2$

$U = k \times u_c$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 11.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando **NITROGENO AMONIACAL**

Procedimiento
Equipo (s):

PE 1,34

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua residual

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2			VII	VIII	IX	X
Test 1	18,48	18,48								
Test 2	17,36	18,48								
Test 3	17,92	19,60								
Test 4	19,06	19,04								
Test 5	19,04	18,48								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	30,0 mg/L									
	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	48,72	45,92								
Test 2	46,48	43,68								
Test 3	47,60	44,24								
Test 4	45,92	45,92								
Test 5	45,92	45,36								
Test 6										
Spike (surrogate) =		30,0	mg/L							
Spike recovery=		27,382	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,008	0,915								
Test 2	0,971	0,840								
Test 3	0,989	0,821								
Test 4	0,895	0,896								
Test 5	0,896	0,896								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	30,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	30,240	27,440								
Test 2	29,120	25,200								
Test 3	29,680	24,640								
Test 4	26,860	26,880								
Test 5	26,880	26,880								
Test 6										
x	28,556	26,208								
s	1,589	1,214								
s²	2,526	1,474								
n	4	4								
ns²	10,10	5,90								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = \sum S_i^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = \sum st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	13,7828	1	MSe = 13,783
	Dentro-grupos SSd	15,9984	8	MSd = 2,000
	Total SSt	29,7812	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd, Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo sd, se y st las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	se ²	s ² t
NITROGENO AMONICAL	6,89	5,32	3,04E-02	Si	2,000	2,357	4,356

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONIACAL	1,414	1,535	2,087	27,38	4,17	0,076	0,052

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONIACAL	0,91	27,38	30,00	4,55	2,26	Yes	0,019

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	2,09
u(Rm)	=	0,02
uc	=	2,09
U	=	4,17

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

Anexo 12.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando	NITROGENO AMONICAL	Procedimiento	PE 1,34
		Equipo (s):	

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua residual

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	18,48	18,48								
Test 2	17,36	18,48								
Test 3	17,92	19,60								
Test 4	19,06	19,04								
Test 5	19,04	18,48								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	50,0 mg/L									
	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	61,60	63,84								
Test 2	62,72	61,60								
Test 3	62,72	62,72								
Test 4	63,84	62,72								
Test 5	63,84	63,84								
Test 6										
Spike (surrogate) =		50,0	mg/L							
Spike recovery=		44,350	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,862	0,907								
Test 2	0,907	0,862								
Test 3	0,896	0,862								
Test 4	0,896	0,874								
Test 5	0,896	0,907								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	50,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	43,120	45,360								
Test 2	45,360	43,120								
Test 3	44,800	43,120								
Test 4	44,780	43,680								
Test 5	44,800	45,360								
Test 6										
x	44,572	44,128								
s	0,848	1,148								
s ²	0,719	1,317								
n	4	4								
ns ²	2,88	5,27								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = S nisi^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = nt st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	0,4928	1	MSe = 0,493
	Dentro-grupos SSd	8,1450	8	MSd = 1,018
	Total SS _t	8,6378	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd, Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo s_d , s_e y s_t las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$s_d^2 = MSd$	$s_e^2 = (MSe - MSd) / n$	$s_t^2 = s_e^2 + s_d^2$
---------------	---------------------------	-------------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	s ² e	s ² t
NITROGENO AMONICAL	0,48	5,32	5,06E-01	No	1,018	0,000	1,018

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONICAL	1,009	0,000	1,009	44,35	2,02	0,023	0,023

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONICAL	0,89	44,35	50,00	18,24	2,26	Yes	0,006

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	1,01
u(Rm)	=	0,01
uc	=	1,01
U	=	2,02

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 13. HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando	NITROGENO AMONIACAL	Procedimiento	PE 1,34
		Equipo (s):	

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua Superficial

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,68	1,68								
Test 2	1,12	1,12								
Test 3	1,12	1,68								
Test 4	1,12	1,68								
Test 5	1,68	1,12								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	1,0 mg/L									
	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	2,24	2,24								
Test 2	2,24	2,24								
Test 3	1,68	2,80								
Test 4	1,68	2,80								
Test 5	2,80	1,68								
Test 6										
Spike (surrogate) =		1,000	mg/L							
Spike recovery=		0,840	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,560	0,560								
Test 2	1,120	1,120								
Test 3	0,560	1,120								
Test 4	0,560	1,120								
Test 5	1,120	0,560								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	1,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,560	0,560								
Test 2	1,120	1,120								
Test 3	0,560	1,120								
Test 4	0,560	1,120								
Test 5	1,120	0,560								
Test 6										
x	0,784	0,896								
s	0,307	0,307								
s²	0,094	0,094								
n	4	4								
ns²	0,38	0,38								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (v)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = \frac{SSe}{ne}$
Dentro-grupos SSd	$SSd = S nisi^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = \frac{SSd}{nd}$
Total SSt	$SSt = nt st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONIACAL	Entre-grupos SSe	0,0314	1	MSe = 0,031
	Dentro-grupos SSd	0,7526	8	MSd = 0,094
	Total SS _t	0,7840	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd, Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo s_d , s_e y s_t las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$s_d^2 = MSd$	$s_e^2 = (MSe - MSd) / n$	$s_t^2 = s_e^2 + s_d^2$
---------------	---------------------------	-------------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	s ² e	s ² t
NITROGENO AMONIACAL	0,33	5,32	5,80E-01	No	0,094	0,000	0,094

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONICAL	0,307	0,000	0,307	0,84	0,61	0,365	0,365

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR

según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONICAL	0,84	0,84	1,00	1,71	2,26	No	0,093

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	0,31
u(Rm)	=	0,09
uc	=	0,32
U	=	0,64

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 14.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando NITROGENO AMONIACAL

Procedimiento
Equipo (s):

PE 1,34

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua Superficial

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,68	1,68								
Test 2	1,12	1,12								
Test 3	1,12	1,68								
Test 4	1,12	1,68								
Test 5	1,68	1,12								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	12,0 mg/L Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2		VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	12,32	12,32								
Test 2	12,32	12,32								
Test 3	13,44	13,44								
Test 4	12,88	12,32								
Test 5	12,32	12,32								
Test 6										
Spike (surrogate) =		12,000	mg/L							
Spike recovery=		11,200	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,887	0,887								
Test 2	0,933	0,933								
Test 3	1,027	0,980								
Test 4	0,980	0,887								
Test 5	0,887	0,933								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	12,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	10,6	10,6								
Test 2	11,2	11,2								
Test 3	12,3	11,8								
Test 4	11,8	10,6								
Test 5	10,6	11,2								
Test 6										
x	11,312	11,088								
s	0,730	0,469								
s²	0,533	0,220								
n	4	4								
ns²	2,13	0,88								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = S nisi^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = nt st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	0,1254	1	MSe = 0,125
	Dentro-grupos SSd	3,0106	8	MSd = 0,376
	Total SSt	3,1360	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd. Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo sd, se y st las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	se ²	s ² t
NITROGENO AMONICAL	0,33	5,32	5,80E-01	No	0,376	0,000	0,376

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONIACAL	0,613	0,000	0,613	11,2	1,2	0,055	0,055

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONIACAL	0,93	11,20	12,00	4,29	2,26	Yes	0,016

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	0,61
u(Rm)	=	0,02
uc	=	0,61
U	=	1,23

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 15.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando **NITROGENO AMONICAL**

Procedimiento
Equipo (s):

PE 1,34

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua Superficial

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,68	1,68								
Test 2	1,12	1,12								
Test 3	1,12	1,68								
Test 4	1,12	1,68								
Test 5	1,68	1,12								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	30,0 mg/L Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	32,48	28,56								
Test 2	30,24	30,24								
Test 3	29,12	28,56								
Test 4	28,56	29,12								
Test 5	29,12	28,00								
Test 6										
Spike (surrogate) =		30,000	mg/L							
Spike recovery=		28,000	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,027	0,896								
Test 2	0,971	0,971								
Test 3	0,933	0,896								
Test 4	0,915	0,915								
Test 5	0,915	0,896								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	30,0 mg/l									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	30,800	26,880								
Test 2	29,120	29,120								
Test 3	28,000	26,880								
Test 4	27,440	27,440								
Test 5	27,440	26,880								
Test 6										
x	28,560	27,440								
s	1,428	0,970								
s ²	2,038	0,941								
n	4	4								
ns ²	8,15	3,76								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (u)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$SSe = SSt - SSd$	$ne = p-1$	$MSe = SSe / ne$
Dentro-grupos SSd	$SSd = S nisi^2$	$nd = p(n-1)$	$MSd = SSd / nd$
Total SSt	$SSt = nt st^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONICAL	Entre-grupos SSe	3,1360	1	MSe = 3,136
	Dentro-grupos SSd	11,9168	8	MSd = 1,490
	Total SS _t	15,0528	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd, Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo s_d , s_e y s_t las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	se ²	s ² t
NITROGENO AMONICAL	2,11	5,32	1,85E-01	No	1,490	0,329	1,819

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONIACAL	1,220	0,574	1,349	28,00	2,70	0,048	0,044

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%
 up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONIACAL	0,93	28,00	30,00	4,89	2,26	Yes	0,014

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	1,35
u(Rm)	=	0,01
uc	=	1,35
U	=	2,70

up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 16.HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICION Análisis de Varianza (ANOVA)

Mensurando **NITROGENO AMONICAL**

Procedimiento
Equipo (s):

PE 1,34

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla I: Matriz: Agua superficial

	Grupos									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V Lab 1	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	1,68	1,68								
Test 2	1,12	1,12								
Test 3	1,12	1,68								
Test 4	1,12	1,68								
Test 5	1,68	1,12								
Test 6										

Tabla II: Concentración medida de la Muestra Enriquecida

	50,0 mg/L									
	I Lab 1	II Lab 1	III lab 2	IV Lab 2	V Lab 1	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	49,28	48,72								
Test 2	51,52	48,72								
Test 3	51,52	49,28								
Test 4	49,28	49,28								
Test 5	49,28	51,52								
Test 6										
Spike (surrogate) =		50,000	mg/L							
Spike recovery=		48,440	mg/L							

Donde x = el resultado experimental	
p	2
n	5

Tabla III: Factor de Recuperación

	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	0,952	0,941								
Test 2	1,008	0,952								
Test 3	1,008	0,952								
Test 4	0,963	0,952								
Test 5	0,952	1,008								
Test 6										

Tabla IV: Concentración Recuperada de la Muestra Enriquecida

	50,0 mg/L									
	Grupos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Test 1	47,600	47,040								
Test 2	50,400	47,600								
Test 3	50,400	47,600								
Test 4	48,160	47,600								
Test 5	47,600	50,400								
Test 6										
x	48,832	48,048								
s	1,450	1,337								
s²	2,101	1,788								
n	4	4								
ns²	8,40	7,15								

Tabla V: Cálculo de los cuadrados medios entre-grupos y dentro-grupos

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
Entre-grupos SSe	$S_{Se} = S_{St} - S_{Se}$	$ne = p-1$	$M_{Se} = S_{Se} / ne$
Dentro-grupos SSd	$S_{Sd} = S - n\bar{s}^2$	$nd = p(n-1)$	$M_{Sd} = S_{Sd} / nd$
Total SSt	$S_{St} = nt \bar{s}^2$	$nt = pn-1$	-

Mensurando	Fuente de varianza	Suma de cuadrados (SS)	Grados de libertad (ν)	Cuadrado medio (MS)
NITROGENO AMONIACAL	Entre-grupos SSe	1,5366	1	MSe = 1,537
	Dentro-grupos SSd	15,5546	8	MSd = 1,944
	Total SSt	17,0912	9	

El cuadrado medio, MSe y MSd, son comparados para determinar si MSe es significativamente mayor que MSd. Es decir, si hay una diferencia estadísticamente significativa entre-grupos. Para esto, se usa la prueba-F. Siendo s_d , s_e y s_t las desviaciones estándares entre-grupos, dentro-grupos y total respectivamente, se tiene que:

$sd^2 = MSd$	$se^2 = (MSe - MSd) / n$	$st^2 = se^2 + sd^2$
--------------	--------------------------	----------------------

Tabla VI: Prueba de Significación y cálculo de Varianzas

Mensurando	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s ² d	se ²	s ² t
NITROGENO AMONIACAL	0,79	5,32	4,00E-01	No	1,944	0,000	1,944

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

Incertidumbre expandida (U) de la medición basada en la precisión intermedia

Tabla VII: Cálculo de la Incertidumbre estándar (up), media e incertidumbre expandida (U)

	sd	se	up	media(x)	U	RSDil	RSDir
NITROGENO AMONIACAL	1,394	0,000	1,394	48,4	2,8	0,029	0,029

$$U = k \times up$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

up = incertidumbre estándar de la precisión intermedia (desviación estándar total, st)

Un cálculo de la incertidumbre dentro del rango del método puede ser calculado utilizando el RSDiR según la fórmula:

$$U = 2 \times RSDiR \times result$$

Tabla VIII: Cálculo del factor de corrección (Rm) y su incertidumbre estándar, u (Rm)

Mensurando	Rm	Cobs	Ccorr	tcalc	t0.05	Signif.	u(Rm)
NITROGENO AMONIACAL	0,97	48,44	50,00	3,58	2,26	Yes	0,009

Incertidumbre en la medición (incluye la incertidumbre del factor de recuperación, Rm)

si $Ccorr = (Cobs/Rm)$

$$(u(Ccorr)/Ccorr)^2 = (u(Cobs)/Cobs)^2 + (u(Rm)/Rm)^2$$

Tabla IX: Valores de las Incertidumbres up, u(Rm) y U

up	=	1,39
u(Rm)	=	0,01
uc	=	1,39
U	=	2,79


up = incertidumbre estándar calculada de los datos de validación (ver spreadsheet: Validacion)

uc = Incertidumbres estándar combinadas, $up^2 + u(Rm)^2$

$$U = k \times uc$$

donde: k = factor de cobertura de 2, correspondiente a un nivel de confianza de 95%

ANEXO 17.RESUMEN FINAL - HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN

 <small>Laboratorio de calidad de aguas.</small>	HOJA DE TRABAJO: ANOVA II VERIFICACIÓN DE VALIDACIÓN	CÓDIGO: F PG7.2-02 Rev. 03 Fecha de elaboración:
--	--	--

RESUMEN FINAL

Mensurando : NITROGENO AMONICAL								Procedimiento	PE 1,34			
								Equipo (s):				
RANGO VALIDADO	NIVEL		Media (x)	SI (up)	%RSDSI	Sr (sd)	%RSDir	%Precisión	uRm	U k=2	%U k=2	
	17,69	mg/L	9,83	10,39	105,7%	7,63	77,6%					AGUA RESIDUAL
	1,40	mg/L	1,40	0,31	21,9%	0,31	21,9%					AGUA DE RIO
	1,00	mg/L	-0,23	0,69	-304,2%	0,69	-304,2%	56,2%	0,12	1,40	139,5%	AGUA RESIDUAL
	12,00	mg/L	9,81	0,85	8,6%	0,85	8,6%	81,7%	0,02	1,69	14,1%	
	30,00	mg/L	27,38	2,09	7,6%	1,41	5,2%	91,3%	0,02	4,17	13,9%	
	50,00	mg/L	44,35	1,01	2,3%	1,01	2,3%	88,7%	0,01	2,02	4,0%	AGUA DE RIO
	1,00	mg/L	0,84	0,31	36,5%	0,31	36,5%	84,0%	0,09	0,64	64,1%	
	12,00	mg/L	11,20	0,61	5,5%	0,61	5,5%	93,3%	0,02	1,23	10,2%	
	30,00	mg/L	28,00	1,35	4,8%	1,22	4,4%	93,3%	0,01	2,70	9,0%	
50,00	mg/L	48,44	1,39	2,9%	1,39	2,9%	96,9%	0,01	2,79	5,6%		
				10,8%		13,9%	85,7%					