

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE POSTGRADO**

**PROYECTO DE TITULACIÓN**

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

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

**TEMA:**

Validación de un método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible en matriz suelos, con extractante Olsen Modificado, en el laboratorio químico del CINCAE

**AUTOR:**

**KARINA MARÍA FAJARDO VERA**

Guayaquil - Ecuador

2024

## RESUMEN

Al no existir una validación para la determinación de fósforo con extractante Olsen modificado, cuantificado con el método colorimétrico de azul de molibdeno, y entendiendo la importancia de reportar resultados fiables de contenido de fósforo asimilable para ser usados en la determinación de dosis óptimas de fertilización, lo cual evita, por un lado, contaminar el medio ambiente por una sobrefertilización, o pérdidas en la producción por una subestimación de la necesidad real. Para ello se propone, como objetivo general “Validar el método colorimétrico de azul de molibdeno para la determinación de fósforo disponible en matriz de suelos, utilizando el extractante Olsen Modificado, comprobando la veracidad del método por medio de parámetros de validación definidos en el laboratorio químico de CINCAE”, estos parámetros incluyen la determinación de interferentes que pueden sesgar el resultado del análisis; los límites de detección y cuantificación que impiden reportar valores fuera de niveles de confianza; la veracidad del método con la cual se aseguró precisión y exactitud, al no existir MRC para este método, se usó como referente, muestras analizadas en una intercomparación de RELEASE del año 2022; se logró la repetibilidad y precisión intermedia de los datos al obtener %RSD menores a los estipulados por normativas internacionales y el correspondiente ANOVA, finalmente se determinó la incertidumbre de la medida para muestras en niveles bajo, medio y alto de fósforo. Estos materiales servirán de control en el proceso diario de análisis.

## **ABSTRACT**

If there is no validation for the determination of phosphorus with modified Olsen extractant, quantified with the molybdenum blue colorimetric method, and understanding the importance of reporting reliable results of assimilable phosphorus content to be used in determining optimal fertilization doses, which avoids, on the one hand, contaminating the environment due to overfertilization, or losses in production due to an underestimation of the real need. To this end, the general objective is proposed to “Validate the molybdenum blue colorimetric method for the determination of available phosphorus in soil matrix, using the Modified Olsen extractant, verifying the veracity of the method through validation parameters defined in the chemical laboratory. of CINCAE”, these parameters include the determination of interferences that can bias the result of the analysis; detection and quantification limits that prevent reporting values outside confidence levels; the veracity of the method with which precision and accuracy was assured, since there is no MRC for this method, samples analyzed in a RELASE interlaboratory from the year 2022 were used as a reference; Repeatability and intermediate precision of the data were achieved by obtaining %RSD lower than those stipulated by international regulations and the corresponding ANOVA, finally the uncertainty of the measurement was determined for samples at low, medium and high levels of phosphorus. These materials will serve as a control in the daily analysis process.

## **DEDICATORIA**

A mi papá, el Sr. Julio Fajardo, quien no sólo me dio la vida, sino que me enseñó a disfrutar de ella, con su ejemplo y amor ayudó a formar mi carácter, apoyó mis sueños, caminó a mi lado, disfrutó mis triunfos pasados, fue mi roca fuerte en medio de mis fracasos. Me regaló un diccionario y me enseñó a leer, me enseñó, además, que la búsqueda del conocimiento no es una obligación; es una pasión, su ejemplo se convirtió en mi sueño, y éste, en mi propósito. Aunque él ya no está físicamente, su legado vivirá en mi mente y sobre todo en mi corazón.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios porque sus propósitos son perfectos, a mi familia; a mis amigos y compañeros de trabajo; a mis amigos de la maestría, a docentes y personal administrativo de la ESPOL, ya que cada uno aportó con tiempo, impulsos, colaboración, paciencia, enseñanzas, amistad, y mucho más de lo que yo podía esperar de ellos, gracias por su apoyo en todo momento.

## **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.

---

Karina María Fajardo Vera

# TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

Joel Vielma Puente, Ph D.  
PRESIDENTE

---

Bolívar Aucatoma Guerrero, M.Sc  
TUTOR

---

César Araque Molina, Ph D  
DOCENTE EVALUADOR

## ABREVIATURAS O SIGLAS

ANOVA:	Análisis de las varianzas
As:	Arsénico
CINCAE:	Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador
EDTA:	Ácido etilendiaminotetracético
Fe:	Hierro
GR:	Grado reactivo
H <sub>0</sub> :	Hipótesis nula
H <sub>1</sub> :	Hipótesis alternativa
INIAP:	Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias
LD:	Límite de detección
LD <sub>t</sub> :	Límite de detección teórico
LC:	Límite de cuantificación
λ:	Longitud de onda
MRC:	Material de referencia certificado
MR:	Material de referencia
nm:	Nanómetros
osc/min:	Oscilaciones por minuto
P:	Fósforo
RELEASE:	Red de Laboratorios de Suelos del Ecuador
SAE:	Servicio de Acreditación Ecuatoriano
SGC:	Sistema de Gestión de Calidad
UV-VIS:	Ultravioleta visible



# TABLA DE CONTENIDO

<i>CAPÍTULO 1</i>	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Descripción del problema	2
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivos Específicos	4
1.4. Hipótesis	5
1.5. Alcance	5
<i>CAPÍTULO 2</i>	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. El análisis de fósforo en la agricultura.	6
2.2. Formas de fósforo en los suelos	8
2.3. Métodos de análisis de fósforo en suelos	8
2.3.1. Extractante Olsen y Olsen Modificado	11
2.3.2. Método colorimétrico de azul de molibdeno	12
2.4. Interferencias del método	13
2.4.1. Consideraciones de la técnica de análisis de fósforo	13
2.5. Espectrofotometría ultravioleta visible	14
2.5.1. Parámetros del espectrofotómetro	15
2.6. Validación de Métodos Analíticos	17
2.6.1. Selectividad / Especificidad.	17
2.6.2. Límites de detección y cuantificación	18
2.6.3. Linealidad	18
2.6.4. Intervalo de trabajo	19
2.6.5. Repetibilidad	19
2.6.6. Precisión intermedia	19
2.6.7. Veracidad	20
2.6.8. Robustez	20
<i>CAPÍTULO 3</i>	21
3. METODOLOGÍA	21
3.1. Tipo de investigación	21
3.1.1. Población:	21
3.1.2. Muestra:	21
3.1.3. Técnica:	21
3.2. Diseño de investigación	21
3.3. Metodología	22

3.3.1.	Definición de variables	22
3.4.	Recolección de datos	22
3.4.1.	Métodos y técnicas	22
3.4.2.	Ingreso de la muestra	22
3.4.3.	Preparación de reactivos:	24
3.4.4.	Preparación de Patrón de Fósforo	25
3.4.5.	Proceso de Extracción:	25
3.4.6.	Proceso de determinación: Método colorimétrico de azul de molibdeno.	26
3.4.7.	Especificaciones del espectrofotómetro	26
3.5.	Diseño experimental de la Validación del Método	27
3.5.1.	Selectividad / Especificidad:	27
3.5.2.	Estudio del blanco	28
3.5.3.	Límite de detección y límite de cuantificación	28
3.5.4.	Linealidad	29
3.5.5.	Intervalo de trabajo:	29
3.5.6.	Veracidad	30
3.5.7.	Repetibilidad y precisión intermedia	30
3.5.8.	Robustez	31
3.6.	Recursos	32
3.6.1.	Materiales	32
3.6.2.	Reactivos	33
3.7.	Análisis estadístico	33
3.8.	Incertidumbre	33
3.9.	Declaración del método validado	34
<b>CAPÍTULO 4</b>		<b>35</b>
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>35</b>
4.1.	Validación del método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible	35
4.1.1.	Selectividad / Especificidad	35
4.1.2.	Estudio de blanco	37
4.1.3.	Límite de detección y cuantificación	37
4.1.4.	Curva de calibración	38
4.1.5.	Exactitud	41
4.1.6.	Repetibilidad	43
4.1.7.	Reproducibilidad	44
4.1.8.	Robustez del método	45
4.2.	Veracidad del método analítico y validez del resultado	46
4.3.	Cálculo de la incertidumbre de medida.	47
<b>CAPÍTULO 5</b>		<b>48</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>48</b>
<b>6.</b>	<b>Referencias</b>	<b>50</b>

7.	Apéndices y anexos	55
	Apéndice A: Selectividad / Especificidad	55
	Apéndice B: Estudio del Blanco	58
	Apéndice C: Límites de detección y de cuantificación	60
	Apéndice D: Linealidad	62
	Apéndice F: Veracidad	69
	Apéndice G: Repetibilidad	71
	Apéndice H: Precisión intermedia: Reproducibilidad	73
	Apéndice I: ANOVA	77
	Apéndice J: Estimación de la incertidumbre de la medición	83
	Apéndice K: Robustez	86
	Apéndice L: Declaración de Validación del Método.	88
	Anexo A: Informe de Intercomparación de RELASE (extracto)	89
	Anexo B: Certificado de análisis de estándar de fósforo	92
	Anexo C: Certificado de análisis de reactivos para determinación de P	95
	Anexo D: Informe técnico de espectrofotómetro ultravioleta visible	100
	Anexo E: Certificados de calibración y/o caracterización	105

## LISTADO DE FIGURAS

Fig. 2.1. Espectro electromagnético, frecuencias ultravioleta y visible [46]	14
Fig. 2.2. Espectro electromagnético, frecuencias ultravioleta y visible [49]	15
Fig. 3.3. Diagrama de flujo de proceso: preparación de reactivos, extracción, desarrollo de color y determinación por espectroscopía ultravioleta visible.	27
Fig. 4.4. Curva de calibrado obtenida en el espectrofotómetro ultravioleta y visible	38
Fig. 4.5. Gráfico de residuales, en la prueba de linealidad.	40
Fig. 7.6. Resultados del parámetro selectividad/especificidad. Interferente hierro	55
Fig. 7.7. Resultados del parámetro selectividad/especificidad. Interferente Arsénico.	56
Fig. 7.8. Registro de datos primarios para el parámetro de selectividad/especificidad.	57
Fig. 7.9. Resultados del Estudio del Blanco	58
Fig. 7.10. Registro de datos primarios para el parámetro de estudio del blanco.	59
Fig. 7.11. Resultados de LD y LC	60
Fig. 7.12. Registro de datos primarios para el parámetro de LD y LC.	61
Fig. 7.13. Determinación de linealidad. Curva 1	62
Fig. 7.14. Linealidad. Curva 1. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2	63
Fig. 7.15. Determinación de linealidad. Curva 2.	64
Fig. 7.16. Linealidad. Curva 2. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2	65
Fig. 7.17. Determinación de linealidad. Curva 3.	66
Fig. 7.18. Linealidad. Curva 3. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2	67
Fig. 7.19. Registro de datos primarios para el parámetro de Linealidad.	68
Fig. 7.20. Determinación de Exactitud en muestras de una intercomparación con RELASE	69
Fig. 7.21. Registro de datos primarios para Exactitud.	70
Fig. 7.22. Resultados de ensayo de Repetibilidad y Reproducibilidad en tres niveles. Día 1. Analista 1	71
Fig. 7.23. Registro de datos primarios para el Repetibilidad.	72
Fig. 7.24. Resultados del ensayo de Reproducibilidad en tres niveles. Día 2. Analista 2	73
Fig. 7.25. Resultados del ensayo de Reproducibilidad en tres niveles. Día 3. Analista 3	74
Fig. 7.26. Registro de datos primarios para el parámetro de Reproducibilidad.	75
Fig. 7.27. Parámetro de Reproducibilidad, nivel bajo. Análisis de la varianza en Excel	77
Fig. 7.28. Parámetro de Reproducibilidad nivel bajo. Análisis de la varianza en RStudio	78
Fig. 7.29. Parámetro de Reproducibilidad, nivel medio. Análisis de la varianza en Excel	79

Fig. 7.30. Parámetro de Reproducibilidad nivel medio. Análisis de la varianza en Rstudio	79
Fig. 7.31. Parámetro de Reproducibilidad, nivel alto. Análisis de la varianza en Excel	81
Fig. 7.32. Parámetro de Reproducibilidad nivel alto. Análisis de la varianza en RStudio	82
Fig. 7.33. Determinación de la incertidumbre: Diagrama de Ishikawa	83
Fig. 7.34. Determinación de la incertidumbre en el niveles bajo, medio y alto	84
Fig. 7.35. Resultados para el parámetro de Robustez	86
Fig. 7.36. Prueba de significancia para el parámetro de Robustez	87

## LISTADO DE TABLAS

TABLA I	MÉTODOS AGRONÓMICOS DE CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO EN EL SUELO	8
TABLA II	Propiedades del suelo y métodos recomendados	11
TABLA III	Aspectos y características clave relacionados con el espectrofotómetro	17
TABLA IV	Preparación de patrones: Concentración en las soluciones patrón y en el suelo, para fósforo	25
TABLA V	Análisis de la varianza ANOVA	31
TABLA VI	Determinación de interferentes en el parámetro especificidad, contenido de Fe	36
TABLA VII	Determinación de interferentes en el parámetro especificidad, contenido de As	36
TABLA VIII	Evaluación del estudio del blanco por medio del porcentaje de recuperación	37
TABLA IX	Determinación de los límites de detección y cuantificación	38
TABLA X	Curvas de calibrado y prueba de F	39
TABLA XI	Función respuesta obtenida a partir del software RStudio	40
TABLA XII	<i>Análisis de los residuos</i>	41
TABLA XIII	Límites de aceptación para las curvas de calibración	41
TABLA XIV	Determinación de la exactitud	42
TABLA XV	Recuperación esperada en función a la concentración	42
TABLA XVI	Análisis de la varianza para la determinación de veracidad	43
TABLA XVII	Determinación de la repetibilidad	43
TABLA XVIII	Precisión esperada (repetibilidad) en función a la concentración del analito	44

TABLA XIX	
Determinación de la reproducibilidad	44
TABLA XX	
Determinación de la reproducibilidad	45
TABLA XXI	
Desviación estándar relativa prevista de la reproducibilidad (PRSD <sub>R</sub> )	45

# CAPÍTULO 1

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

La validación de un método cumple un papel importante, ya que el laboratorio necesita proveer resultados confiables a sus clientes, adoptando la responsabilidad de demostrar que un método analítico es “adecuado para su uso previsto”, esto se consigue cuando dicho resultado muestra ser lo suficientemente fiable para tomar decisiones, según lo referencia la guía EURACHEM [1].

Otra de las características propias de la validación analítica, es proporcionar conocimiento sólido respecto a la metodología de análisis, así como la experiencia en los detalles prácticos que son llevados a cabo, sumado a ello la comprensión de las etapas críticas del proceso, lo que brinda tanto al laboratorio como a sus técnicos, mayor confianza en sus propios resultados [1]

Por ello, el presente trabajo se centra en la validación de la metodología para la determinación de fósforo usando Olsen Modificado, como solución extractante. Cabe mencionar, que la selección del extractante adecuado juega un rol significativo en el resultado analítico para suelos agrícolas [2]. En este sentido, el extractante Olsen Modificado usado para el análisis químico de suelos con fines de fertilización, se basa en la extracción química de una fracción conocida como asimilable del total del elemento y que la planta bajo condiciones apropiadas puede aprovechar, con lo que se determina la concentración del mencionado analito. Esta porción, favorable bajo condiciones adecuadas, proporciona información sobre la concentración del elemento en cuestión. La relevancia agronómica de esta fracción se destaca cuando representa la proporción del requerimiento nutricional del cultivo. Es importante señalar que no todos los extractantes cumplen con esta condición, por lo que resulta crucial considerar el tipo de cultivo, la forma en que el nutriente está presente en el suelo y el método de análisis empleado [3].



Asimismo, la determinación precisa de la concentración de un elemento, como el fósforo (P), en el cultivo, puede reducir el impacto ambiental asociado. Un estudio llevado a cabo en 75 sitios de cultivo en el norte de China ejemplifica cómo el exceso de fósforo lixiviado de sistemas agrícolas con un alto aporte de fertilizantes puede tener efectos perjudiciales en la calidad del agua [4].

Otro estudio, esta vez realizado en Europa, destaca la importancia de abordar de manera proactiva las futuras implicaciones de la escasez de fósforo para asegurar la sostenibilidad agrícola. Este enfoque implica la toma de decisiones basadas en datos precisos sobre el estado del fósforo en el campo, información obtenida a través de determinaciones analíticas y el uso eficiente del recurso a nivel social. Adoptar un enfoque de economía circular se presenta como una estrategia integral para reducir las pérdidas de fósforo y mitigar el consiguiente impacto ambiental [5]

Finalmente, cabe resaltar que el fósforo es un macronutriente geológico no renovable, desempeñando un papel crucial en la seguridad alimentaria. Por lo tanto, el uso excesivo de este elemento como fertilizante y la consiguiente pérdida difusa resultan en el deterioro de la calidad del agua, eutrofización y pérdida de biodiversidad [6], [7].

En definitiva, ninguna de estas investigaciones podría aportar significancia a la ciencia, sí la determinación analítica sobre la que se basan sus estudios, no aporta confiabilidad en los resultados de análisis de fósforo que un proceso de validación puede ofrecer.

## **1.2. Descripción del problema**

Los análisis de macro y microelementos en la matriz suelos con fines agrícolas, se realizan con el propósito de determinar contenidos disponibles y/o asimilables de los nutrientes existentes en el suelo, que la planta puede absorber para su desarrollo; sin embargo, la complejidad de la composición del suelo y su variabilidad en las diferentes zonas geográficas, han hecho que se utilicen diferentes tipos de extractantes [8]; no obstante, en algunos casos no existen materiales de referencia

certificados [9], ni normas oficiales para la determinación de estos analitos, debido a ello, no se pueden establecer ni la veracidad del método ni referencias de precisión, entre otros parámetros de calidad.

Este es el caso para el análisis de fósforo en suelos con el extractante Olsen Modificado, ya que precisamente la fórmula modificada del extractante, fue adoptada para suelos del Ecuador por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), sin existir hasta la fecha Materiales de Referencia Certificados (MRC) con la norma ISO/IEC 17034:2016; ni pruebas interlaboratorios con organismos acreditados con la norma ISO/IEC 17043:2023; a pesar de ello, se han realizado pruebas interlaboratorios desde el año 2001, organizadas por la Red de Laboratorios de Suelos del Ecuador RELASE [10].

En el laboratorio químico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), una de las medidas para realizar el aseguramiento de la calidad de los resultados, es participando en rondas interlaboratorios con la RELASE, en las cuales ha obteniendo calificaciones de acuerdo al estadístico Z-score como satisfactorias para la determinación de fósforo en suelos con extractante Olsen Modificado, por valor de consenso, cuando los resultados de todos los laboratorios se ajustan a una distribución normal [11], sin embargo, el laboratorio no ha realizado una validación formal de éste método de ensayo, en la que se determinen límites de detección y cuantificación; linealidad, repetibilidad, reproducibilidad y veracidad, todos éstos, parámetros de validación de un método, además de la incertidumbre de medida.

Precisamente, la validación analítica busca evaluar todas las características de desempeño del método que garanticen la validez de los resultados. Además, proporciona estrategias de control basadas en un valor referente para mejorar la confiabilidad y la precisión de los análisis realizados en el laboratorio.

Entre las determinaciones analíticas que realiza el laboratorio químico del CINCAE, se determina el contenido de fósforo, utilizando Olsen Modificado para su extracción. La determinación de fósforo en suelos, con dicho extractante, es un procedimiento que se desarrolla ampliamente en el país desde la década del

setenta; sin que hasta el momento exista algún laboratorio que se encuentre acreditado en el parámetro de fósforo, de acuerdo a la revisión en la página oficial del Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE).

En consecuencia la validación de un método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible en matriz suelos, con extractante Olsen Modificado, se plantea como herramienta para asegurar la calidad de los resultados analíticos del CINCAE, con el propósito de brindar recomendaciones de fertilización eficientes, optimizando recursos y disminuyendo el impacto ambiental debido al uso indiscriminado de fertilizantes agrícolas y/o mejorando la productividad del cultivo de caña de azúcar, lo cual no se logra sin el sustento de un análisis de suelos.

Con base a lo expuesto, surge la siguiente pregunta de investigación

¿De qué manera la validación del método espectrofotométrico de fósforo en matriz de suelos ofrecerá al agricultor información que plasme la realidad del cultivo, mejorando la sustentabilidad del suelo, por medio de resultados analíticos fiables del laboratorio químico?

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Validar el método colorimétrico de azul de molibdeno para la determinación de fósforo disponible en matriz de suelos, utilizando el extractante Olsen Modificado, comprobando la veracidad del método por medio de parámetros de validación definidos en el laboratorio químico.

#### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- ✓ Diseñar la metodología de validación de un método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible, sustentado en los lineamientos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017
- ✓ Cuantificar el contenido de fósforo en tres muestras de suelos, mediante espectrofotometría ultravioleta visible y Olsen Modificado como extractante.

- ✓ Evaluar los criterios de validación: estudio de blanco; límite de detección y cuantificación; curva de calibración; repetibilidad intermedia; exactitud y robustez del método, basado en las guías oficiales de laboratorio para validación de métodos.
- ✓ Establecer la veracidad del método por medio de los resultados de un ensayo interlaboratorio de la RELASE, correspondiente al último año de evaluación
- ✓ Comprobar la validez del resultado, para el método colorimétrico por espectrofotometría ultravioleta visible, en el rango de 2 mg/l a 100 mg/l de fósforo en el suelo.

#### **1.4. Hipótesis**

El proceso de validación de un método colorimétrico para determinación de fósforo disponible en matriz de suelos, con extractante Olsen Modificado, permitirá determinar la concentración de fósforo de manera confiable a través de la comprobación de la veracidad del método utilizado en el análisis químico.

#### **1.5. Alcance**

Determinación de la concentración de fósforo asimilable, en muestras de suelos con cultivo de caña de azúcar de la Cuenca Baja del río Guayas, con extractante Olsen Modificado, utilizado para suelos con pH entre 6 a 8 y método colorimétrico de azul de molibdeno, por espectroscopía ultravioleta visible a una longitud de onda de 680 nm, en un rango de 3 a 100 mg/l fósforo en la solución del suelo, mediante los siguientes parámetros de validación: Estudio del blanco < a 0,01 mg/l, Límite de detección de 0,1 mg/l P, Límite de cuantificación de 0,2 mg/l P, linealidad con un  $r^2 \geq 0,995$ , intervalo de trabajo de 0,3 a 10,0 mg/l P, precisión intermedia con un  $CV \leq 5\%$ , veracidad de entre el 80-110 % de recuperación y robustez por medio de la variable tiempo de reacción. Y como tratamiento estadístico para la interpretación de los resultados: estadística inferencial, análisis de varianza y estimación de la incertidumbre del método.

# CAPÍTULO 2

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. El análisis de fósforo en la agricultura.

El fósforo (P) es un elemento fundamental para la vida del planeta, ya que participa en la mayoría de los procesos metabólicos de importancia, como en la transferencia de energía a modo de adenosín trifosfato (ATP); así también, los vegetales necesitan fósforo para la fotosíntesis, de allí su importancia en la agricultura y con ello, en la producción de alimentos [12].

No obstante, el fósforo es un recurso finito, por tanto, la comunidad científica está de acuerdo en que el fósforo, tendrá un impacto en la producción agrícola y la seguridad alimentaria en el futuro, al ser un recurso estratégico [13]. Pese a ello, el P se ha venido usando de manera ineficaz, especialmente en la cadena alimentaria, siendo común que la cantidad de fósforo presente en la dieta humana o de animales supere el requerimiento, al ser digerible tan solo una fracción de lo necesario [14]. Sumado a ello, también la sobre fertilización deja su huella, ya que esta acumulación significativa de fósforo en suelos agrícolas, conocida como el "legado del fósforo", es el resultado de prácticas de fertilización inadecuadas que con frecuencia generan importantes problemas ambientales [5], [15]. Por ende, resulta imperativo optimizar el uso del recurso de fósforo a nivel social, reduciendo las pérdidas y mejorando los resultados ambientales para asegurar la sostenibilidad agrícola [3].

La baja producción agrícola, comúnmente atribuida a niveles bajos de fósforo (P) disponible en el suelo, experimentó un cambio significativo a partir de 1843 con la introducción de los fertilizantes fosfatados. La utilización frecuente de estos nuevos fertilizantes, combinada con los residuos orgánicos provenientes de la ganadería, resultó en un aumento considerable de la concentración de fósforo en el suelo, superando incluso los niveles requeridos por los cultivos y alcanzando valores

ambientalmente aceptables. Sin embargo, este exceso de fósforo en el suelo conlleva a la pérdida del mismo por escorrentía, ya que los suelos saturan su capacidad de absorción de fosfatos debido a las elevadas concentraciones de este elemento [16].

De esta manera, contenidos superiores a  $0.05 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$  para aguas de drenaje afectan significativamente el ecosistema, en áreas agrícolas concentraciones de P total en aguas superficiales, aún menores a  $0.04 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$  conllevan a la eutrofización [17]. Así mismo, resulta importante la determinación de “niveles críticos” de P en el suelo, para evitar la pérdida de este macroelemento mediante un manejo agronómico y ambientalmente adecuado de la fertilización fosfatada. Estos niveles críticos, están definidos como los valores límite de P en el suelo, ambientalmente aceptables y congruentes a una producción óptima, por lo tanto, valores por encima del nivel óptimo se convierten en una pérdida por escorrentía del fósforo que no se ve justificado con una buena producción [18].

Además de considerar que el fósforo que la planta absorbe, es aquel que está en forma de ion fosfato monoácido  $\text{HPO}_4^{-2}$  y el ion fosfato diácido  $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ , por lo cual, el fertilizante tanto orgánico como mineral debe adquirir estas formas químicas para poder ser usado en el cultivo, esto se traduce en la cantidad de fertilizante empleada y su eficacia de acción. No obstante, una fertilización sobreestimada en los suelos impone desafíos en el manejo de pérdidas agroambientales de fósforo, ya que la reducción de las pérdidas de P en Kg/h al año, a los valores adecuados para el medio ambiente, se convertirá a largo plazo, en una menor biodisponibilidad del fósforo para el cultivo [19].

Los métodos empleados para determinar las concentraciones de fósforo, se basan principalmente, en relaciones entre el contenido de fósforo presente en el suelo como en aguas de drenaje para cualquier ecosistema agrícola, poniendo de manifiesto la importancia de técnicas de análisis que evalúen la capacidad de liberación de P por el suelo, de manera eficiente [16].

## 2.2. Formas de fósforo en los suelos

El fósforo se encuentra en el suelo en cuatro depósitos: disuelto en la solución del suelo, que corresponde a una fracción pequeña; adsorbido en los minerales del suelo; precipitado como fosfato de aluminio, hierro y calcio; y formando parte de la materia orgánica [12]. De ellas, las formas extraíbles son el fosfato adsorbido y el soluble, este es el que se determina por extracción con Olsen, en suelos calcáreos. El fósforo extractable, representa una pequeña porción del P total en el suelo, e incluye al P orgánico, considerado como un reservorio edáfico de fósforo, y el P inorgánico, independiente de su labilidad, no obstante, el P inorgánico lábil es el que las plantas absorben del suelo [20].

## 2.3. Métodos de análisis de fósforo en suelos

Existen actualmente numerosos métodos de extracción, cada uno con características específicas, sin embargo, la variabilidad de los resultados que presentan los laboratorios para un mismo método es alta [21]. Varios artículos de investigación publicados detallan las diferencias en las pruebas de P del suelo [22], [23], [24]. En relación a ello, se pueden obtener resultados comparables, sí los procedimientos de análisis y los protocolos del método se cumplen de manera rigurosa [25], [26].

En la Tabla I, se enlistan algunos métodos oficiales de extracción usados como base de recomendaciones agronómicas, los cuales se fundamentan en el uso de extractantes químicos con una capacidad de extracción del analito que simule a la extracción por las raíces de la planta [16], [27].

TABLA I  
MÉTODOS AGRONÓMICOS DE CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO EN EL SUELO

Método	Extractante	Suelo: disolución	Tiempo de agitación	Referencia
Olsen	0,5 M NaHCO <sub>3</sub> pH 8,5	1:20	30 min	Olsen et al. (1954)
Colwell	0,5 M NaHCO <sub>3</sub> pH 8,5	1:100	16 h	Colwell (1963)
Bray I	0,025 M HCl + 0,03 M NH <sub>4</sub> F (suelos ácidos)	1:7	1 min	Bray y Kurtz (1945)
Bray II	0,10 M HCl + 0,03 M NH <sub>4</sub> F (suelos neutros y alcalinos)	1:7	40 seg	Bray y Kurtz (1945)

TABLA I  
CONTINUACIÓN.....MÉTODOS AGRONÓMICOS DE CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO EN EL SUELO

Método	Extractante	Suelo: disolución	Tiempo de agitación	Referencia
<b>Dyer</b>	2% ácido cítrico pH 2	-	-	Dyer (1894)
<b>Troug</b>	0,002 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> tamponado a pH 3 con (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1:200	30 min	Troug (1930)
<b>Morgan</b>	0,5 M HOAc + 0,7 M NaOAc pH 4,8	6:30	30 min	Morgan (1941)
<b>Morgan modificado</b>	1,25 M NH <sub>4</sub> OAc + 0,03 M NH <sub>4</sub> F pH 4,8	5:25	15 min	McIntosh (1969)
<b>Mehlich 3</b>	0,2 M NH <sub>4</sub> Cl + 0,2 M HOAc + 0,015 M NH <sub>4</sub> F + 0,012 M HCl pH 2,5	-	-	Mehlich (1984)
<b>Egnér-Riehm</b>	3,5 M C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> N + HOAc pH 3,75	1:20	120 min	Egnér et al. (1960)

Nota: Algunos ejemplos de los métodos agronómicos de extracción, relación suelo: extractante y tiempo de agitación requerido [16].

Un método químico, por sí solo, no puede integrar en conjunto factores como la cinética de desorción de P, cantidad y capacidad de los suelos, que tienen influencia directa sobre la cantidad de P absorbida [28]. La solución ácida de Bray I, suele ser usada en la determinación de suelos ácidos, mientras que la solución de Olsen, se usa en suelos neutros y alcalinos[29], este método es adecuado para la estimación del P biodisponible, siendo uno de los métodos analíticos de mayor uso en varios países de Europa y América del Norte [30].

Se han propuesto muchas soluciones químicas para extraer formas potenciales de P en los suelos. Probablemente el agua fue el primer extractante con el que se pudo determinar el P en suelos. Las bajas concentraciones de P del suelo extraídas por agua, principalmente P en forma disuelta, sumado a las dificultades relacionadas con el análisis químico limitan el uso del agua como extractante. Bray y Kurtz propusieron una combinación de HCl y NH<sub>4</sub>F para eliminar las formas de P fácilmente solubles en ácido principalmente fosfatos de Al y Fe.

Posterior a ello, Mehlich introduce una combinación de ácidos HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, generando el Mehlich 1, para extraer P en suelos, en donde los iones sulfato en esta solución ácida tiene la capacidad de disolver fosfatos de Al y Fe además del P



adsorbido en superficies coloidales del suelo. Más tarde, Mehlich modifica su método y desarrolla el Mehlich 3 con capacidad extractante multielemental, entre ellos el P y otros elementos en suelos ácidos y neutros. El Extractante Mehlich 3 es una combinación de ácidos (acético y nítrico), sales (fluoruro de amonio y amonio nitrato) y el agente quelante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) [31].

Actualmente se usa la solución de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) 0,5 M a pH 8,5 para extraer fósforo de suelos calcáreos, alcalinos y neutros. Este extractante disminuye el calcio en solución, mediante precipitación de carbonato cálcico, favoreciendo la disolución de los fosfatos de calcio [31], [32]. Cabe mencionar que cuando se agrega una solución extractora al suelo, hay cuatro reacciones básicas mediante las cuales se elimina el P de la fase sólida del suelo:

- 1) acción disolvente de los ácidos,
- 2) reemplazo de aniones para mejorar la desorción,
- 3) precipitación de cationes que se unen a P, y
- 4) hidrólisis de cationes que se unen a P.

Por lo tanto, es necesaria la selección de un método que determine la concentración de P en el suelo ya que ésta depende de las formas químicas del P en el suelo, así para suelos ácidos y neutros, los fosfatos de Al y Fe son la fuente principal de P. Tanto Bray 1 como Mehlich 3 son aptos para su uso, Mehlich 3 también puede eliminar las formas disponibles de macronutrientes (Ca, Mg, K y Na) y micronutrientes (Cu, Zn, Fe y Mn) [33].

Un extracto acuoso elimina las formas disueltas de fósforo, pero muy poca de las formas minerales y adsorbidas. Los fosfatos de calcio son los principales minerales en suelos alcalinos y calcáreos, mientras que los neutros y ligeramente ácidos a pH 6 a 7, pueden contener además fosfatos de Al. El extractante Olsen puede eliminar fosfatos de Ca y fosfatos adsorbidos en superficies de Ca y Mg siendo apto para suelos ácidos como calcáreos. Las propiedades del suelo que afectan la selección de la prueba de P adecuada y los métodos recomendados se describen en la tabla II [34].

TABLA II  
PROPIEDADES DEL SUELO Y MÉTODOS RECOMENDADOS

TIPO DE SUELO	pH	Minerales	Método
<b>Ácido</b>	< 6,0	Al-P, Fe-P y Mn-P	Bray I, Mehlich 1, Mehlich 3, Agua, *IIP y **AER
<b>Ligeramente ácido a ligeramente alcalino</b>	6,0 a 7,2	Al-P, Fe-P, Mn-P, Mg-P y Ca-P	Bray I, Mehlich 1, Mehlich 3, Olsen, Agua, IIP y AER
<b>Alcalino, calcáreo</b>	>7,2	Ca-P y Mg-P	Olsen, Agua, IIP y AER

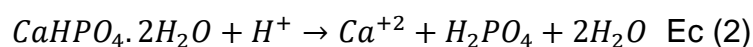
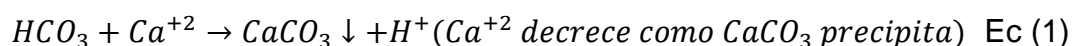
*\*(IIP) Papel impregnado con óxido de hierro*

*\*\* (AER) Resina de intercambio aniónico*

Nota: Propiedades del suelo que afectan la selección de la prueba de fósforo adecuada y los métodos recomendados [34]

### 2.3.1. Extractante Olsen y Olsen Modificado

El método de Olsen  $\text{NaHCO}_3$  extrae las formas de P vinculadas a la fase sólida en complejos con el Ca, Fe o Al y los fosfatos cálcicos más solubles. Existe una cierta remoción de P en los suelos porque la disolución del suelo es inferior a pH 8,5 de la solución extractante, la cual se liga con el  $\text{OH}^-$ ; en los suelos calcáreos el pH de la disolución del suelo y la solución extractora es similar, por tanto, solo se elimina el P adsorbido, por sustitución por  $\text{HCO}_3^-$ . Debido a la precipitación de  $\text{CaCO}_3$  entre los iones  $\text{Ca}^{2+}$  en la disolución del suelo y los iones  $\text{CO}_3^{2-}$  producidos por la protólisis del  $\text{HCO}_3^-$  se produce la liberación de P y los fosfatos de calcio más débiles se solubilizan. Ecs. (1), (2). Por medio de la acción de los iones  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{OH}^-$  en combinación, el extractante Olsen desorbe el P a partir del  $\text{CaCO}_3$  y de las superficies de hidróxidos de Fe y Al. Si el área de superficie específica es relativamente grande, la superficie mineral tendrá suficientes sitios reactivos disponibles para que se adsorban los iones fosfato y bicarbonato, ya que existe una competencia entre el bicarbonato y el fosfato por los sitios reactivos en los óxidos minerales del suelo [35].



Sin embargo, en suelos completamente meteorizados donde el P está fuertemente asociado con hidróxidos de Fe y Al, las interacciones biológicas juegan un papel

importante en la obtención de P por los cultivos. Técnicas que utilizan extractantes ácidos, como Bray I, tienen una mayor precisión en la medición del P desorbible de esas superficies. El método de Olsen puede medir el P lábil en diferentes grupos de suelos y lo relaciona con la capacidad tampón, lo que lo convierte en una medida confiable del P biodisponible [32].

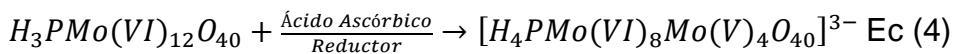
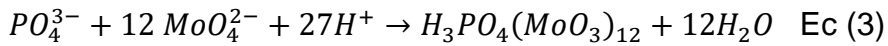
La solución de Olsen modificada, suma a su composición un agente quelatante y acomplejante como el EDTA (ácido etilendiaminotetracético) y en algunos casos un floculante ( $\text{NaHCO}_3$  0,5 M, EDTA 0,01 M, superfloc 127 0,01%, pH 8,5), esta nueva formulación es utilizada en países como Costa Rica[36], Nueva Zelanda[37], Guatemala[38] y Ecuador[9], con pocos estudios de correlación como extractante. Este tipo de soluciones son conocidos como agentes de extracción universal ya que pueden extraer más de un nutriente en el suelo, así, el Olsen modificado es capaz de extraer, a más del P, también K, Ca, Mg, Zn, Cu, Mn, Fe debido a que con un único proceso de extracción se pueden determinar la mayoría de los macro y micronutrientes necesarios para evaluar el estado de fertilidad de un suelo [36].

### **2.3.2. Método colorimétrico de azul de molibdeno**

La determinación colorimétrica para la cuantificación de fósforo implica la técnica fotométrica del azul de molibdeno formada por la reducción del molibdodifosfato, basándose en el método de Fiske y Subbarow, éste es un proceso complejo y definitivamente heterogéneo. Originalmente presentó dos inconvenientes fundamentales: La baja estabilidad de color de la reacción y la necesidad de un paso previo de desproteinización a la muestra. Se genera la conversión fósforo soluble por la formación de un complejo de azul, de la forma de fósforo a ortofosfato disuelto y la determinación del fósforo por colorimetría.

El molibdato de amonio y el tartrato de potasio y antimonio, son reactivos usados en dicha técnica, reaccionando en un medio ácido con el ortofosfato formando el ácido fosfomolibdico, un heteropoliácido, que se reduce por el ácido ascórbico a molibdeno de color azul oscuro. En esta prueba, sólo la forma ortofosfato produce un color azul [39].

La reacción del método de azul de molibdeno se presenta en dos fases; en la primera se genera la formación de un ion Keggin alrededor del anión analito, mientras que en la segunda se reduce este heteropoliácido formando un producto de color azul intenso. Las fases que se mencionan se muestran en las Ecs. (3), (4) [40].



El método de azul de molibdeno necesita un ácido fuerte, una fuente de Mo(VI) y un agente reductor en solución acuosa. De las concentraciones del ácido y del molibdato depende la formación del heteropoliácido y su reducción. El ortofosfato forma iones Keggin de composición  $[X^{n+}Mo_{12}O_{40}]^{(8-n)-}$  siendo X el heteroátomo. En el caso del ortofosfato, esta especie se conoce como ácido 12-molibdofosfórico (12-MPA). Un pH de 0 a 1 formará una solución estable sin riesgo de una reducción de Mo(VI). En la actualidad existen varios reductores y muchas condiciones de reacción, que facilitan una amplia variedad de máximos de absorción y absorptividades molares reportadas [40].

## 2.4. Interferencias del método

Los arseniatos al igual que los fosfatos reaccionan con el molibdato formando complejos del mismo color azul al que se forma con el fosfato [41], si la concentración de hierro es superior a 100 mg/l también podrían producir interferencias positivas [42]. Los silicatos y sulfuros ( $Na_2S$ ) no suponen un problema en concentraciones de 1.0 a 10 mg/l P [43].

### 2.4.1. Consideraciones de la técnica de análisis de fósforo

El tiempo y la velocidad de agitación, así como el pH de la solución extractante, son factores de suma importancia que se deben tomar en consideración en la cuantificación de los analitos en estudio [44]. Al ser liberado el fósforo en la solución extractora, este precipita o se re-adsorbe en las superficies minerales, siendo la suma de estos procesos la estimación de la concentración de fósforo resultante,

por tanto, estudios previos, han demostrado que la velocidad de agitación, la concentración del extractante, el pH de la solución, y por supuesto el tiempo de agitación afectan la respuesta de la concentración de fósforo extraíble, así al aumentar cualquiera de estos factores, la concentración del P extraído también aumenta su concentración [35].

## 2.5. Espectrofotometría ultravioleta visible

La técnica analítica espectrofotometría UV-visible es usada para medir la concentración de un compuesto en solución, basado en el hecho que las moléculas presentan la característica de absorber radiación electromagnética siendo la cantidad de luz absorbida dependiente de la concentración. Las mediciones se realizan en un espectrofotómetro que selecciona la longitud de onda de luz, la misma que al pasar a través de la solución mide la luz absorbida por ésta [45].

La base de la espectroscopía hace referencia a la capacidad de las moléculas para absorber radiación, incluida la radiación del espectro UV-visible. La longitud de onda de la radiación absorbida y su eficiencia de absorción dependerá de la estructura atómica y de las condiciones del medio como pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica constituyéndose en una técnica valiosa para la determinación y caracterización de moléculas [46].

Las moléculas absorben energía lumínica y la almacenan como energía interna,

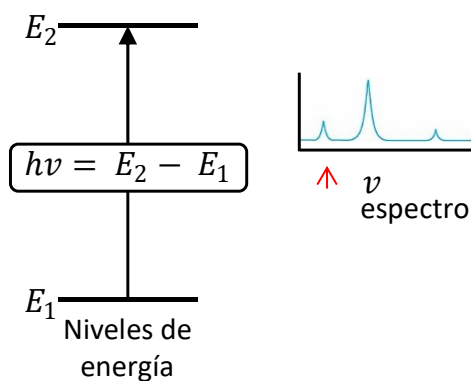


Fig. 2.1. Espectro electromagnético, frecuencias ultravioleta y visible [46]

permitiendo ciclos vitales como la fotosíntesis en plantas y bacterias. Cuando la luz es absorbida por una molécula se produce un salto desde un estado energético basal  $E_1$ , a un estado excitado  $E_2$ ; entonces sólo se absorbe la energía que permite el salto al estado excitado [47]. Cada molécula tiene un conjunto de estados excitados o bandas que la distinguen de otras moléculas. Por tanto, la absorción que presenta una molécula a diferentes longitudes de onda, su espectro de

absorción, caracteriza una señal de identidad de la misma. Finalmente, en la forma excitada, la molécula liberará la energía absorbida hasta su estado energético basal [48].

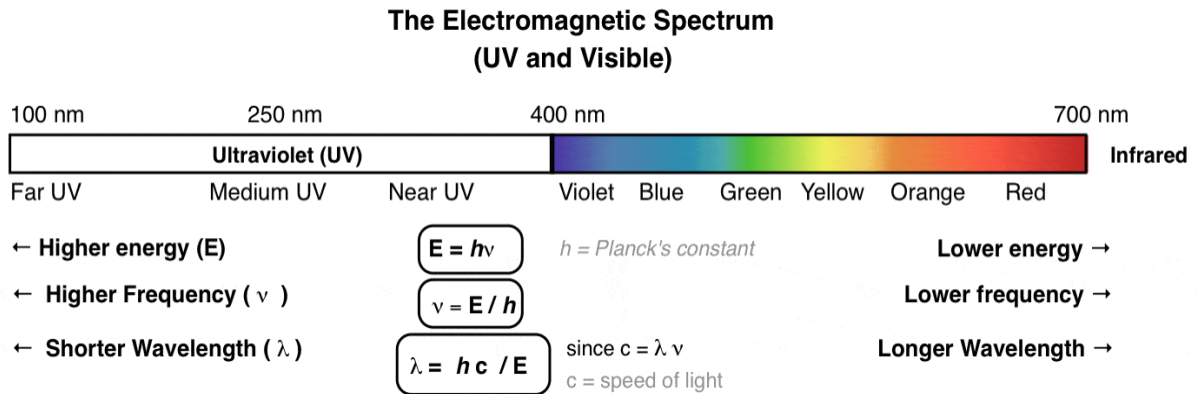


Fig. 2.2. Espectro electromagnético, frecuencias ultravioleta y visible [49]

### 2.5.1. Parámetros del espectrofotómetro

La ley de Bouguer-Lambert-Beer, se estudió de diversas formas independientes entre sí. Por primera vez en 1729 por el matemático y astrónomo francés Pierre Bouguer, en 1760 por el filósofo y matemático alemán Johann Heinrich Lambert y finalmente, en 1852 por el físico y matemático alemán August Beer.

Esta ley es un método matemático utilizado para expresar cómo la materia absorbe la luz [50].

La ley de Beer en óptica, establece que la cantidad de luz que emana de una muestra puede disminuir debido a los siguientes fenómenos físicos:

1. La concentración
2. La distancia del camino óptico
3. El coeficiente de absorción o atenuación.

La relación anterior se expresa en la ecuación (5):

$$A = -\epsilon cd Ec \quad (5)$$

Donde,

A = Absorbancia

$\epsilon$  = Coeficiente molar de extinción

d = Recorrido (en cm)

c = Concentración molar

Cuando la luz pasa a través de un medio que la absorbe, la cantidad de luz absorbida en cualquier volumen es igual a la intensidad de la luz incidente multiplicada por el coeficiente de absorción. La intensidad de un haz de luz incidente a menudo se reduce significativamente cuando pasa a través de un medio absorbente [51].

La transmitancia es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector después de atravesar la muestra y la cantidad de luz que incidió sobre ella.

Ecuación (6)

$$T = 10^{\varepsilon cd} \quad T = 10^{-A} \text{ Ec (6)}$$

Donde,

T = Transmitancia

$\varepsilon$  = Coeficiente molar de extinción

c = Concentración molar del absorbente

d = Recorrido en cm

Aunque es posible trazar la transmitancia versus la concentración, la relación no es lineal.

Sin embargo, el logaritmo negativo en base 10 de la transmitancia es lineal con la concentración [50].

Así, la absorbancia se determina en la ecuación (7):

$$A = -\log_{10} \left( \frac{1}{T} \right) \quad A = -\log_{10}(T) \text{ Ec (7)}$$

La tabla III, presenta algunas de las características relevantes en el espectrofotómetro ultravioleta visible, tomados del brochure de Perkin Elmer, marca del equipo usado en este proyecto.

TABLA III  
ASPECTOS Y CARACTERÍSTICAS CLAVE RELACIONADOS CON EL ESPECTROFOTÓMETRO

EL LAMBDA 25	Usado en la mayoría de las aplicaciones UV/Vis de rutina y pruebas reglamentarias
Rango o alcance (nm)	190–1100
Rango de absorbancia	3,2A (linealidad 0,99r <sup>2</sup> )
Operación de doble haz	Sí
Ancho de banda (nm)	1 (fijo)
Modos de operación	Escaneo, Programa de longitud de onda, unidad de tiempo, Tasa, cuantitativo, Cantidad de escaneo
Aplicaciones	Pruebas UV/Vis de rutina
	Análisis de líquidos
	Farmacopea y pruebas reglamentarias.

Nota. Características del espectrofotómetro lambda 25 [52]

## 2.6. Validación de Métodos Analíticos

La validación corresponde a la exposición de evidencia objetiva, destinada a confirmar que se cumplen los requisitos de un método para su aplicación y uso previsto, cuyo objetivo consiste en exponer un análisis fiable, veraz y controlado [53]; es decir, para confirmar la veracidad y exactitud de los resultados de un método de ensayo. La validación determina las características de desempeño de un método identificando y especificando las restricciones que se aplican al método validado, y además evalúa la idoneidad de la técnica usada, por medio de parámetros de validación, entre ellos: la veracidad, precisión, linealidad, límite de detección y de cuantificación, entre otros [54].

### 2.6.1. Selectividad / Especificidad.

Aunque los términos selectividad y especificidad suelen ser confundidos, ambos difieren significativamente, de acuerdo a las guías normativas.

La selectividad analítica se refiere a: “el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar” [1].

La especificidad diagnóstica es un término mayormente usado en el área farmacéutica.



### **2.6.2. Límites de detección y cuantificación**

Guardan relación con la concentración del analito requerida para expresar un resultado, cualitativo o cuantitativo que sea significativo.

El límite de detección (LD) es la señal más baja que con cierta confianza puede ser detectable ya que significa la presencia del analito en la disolución, aunque no necesariamente significa que puede ser cuantificado, el límite de cuantificación (LC), por otro lado, corresponde a la menor cantidad de un analito que se puede determinar cuantitativamente con cierto grado de confianza [55].

### **2.6.3. Linealidad**

definida como la capacidad de un método analítico para producir una respuesta del instrumento linealmente proporcional a la concentración del analito en la muestra, dentro de un rango específico. Esta propiedad se expresa como la pendiente de la recta de regresión y su varianza, o como el coeficiente de determinación  $r^2$  y el coeficiente de correlación  $r$ .

La pendiente  $b$  es una medida de la sensibilidad: cuanto mayor sea la respuesta del instrumento a los cambios en la concentración del analito, mayor será la sensibilidad. En la gráfica de calibración, el valor de  $r^2$  suele ser cercano a 1. Si  $r^2$  es menor a 0,9 se constituye en una advertencia de que la relación no es lineal o que, debe repetirse o revisarse el procedimiento, y dependerá del método analítico para determinar el valor de  $r^2$  aceptable para continuar con el análisis. Por otro lado, es importante mencionar que valores altos de  $r^2$  no necesariamente implican significado de linealidad [56].

El término linealidad incluye la relación proporcional entre la concentración del analito y su respuesta, así como, el rango satisfactorio de las concentraciones del analito, siendo necesario definir la linealidad abarcando todo el rango de interés. La determinación se realiza tanto en una solución estándar del analito como en una muestra de prueba. La cantidad de estándares o de muestra está comprendida entre 3 a 10 determinaciones y el rango de concentración se selecciona dependiendo del analito presente en la muestra. Los resultados pueden mostrarse de forma gráfica, donde se presente la ecuación de regresión lineal, así como el

coeficiente de correlación el cual indica el grado de relación entre absorbancia y concentración [57].

#### **2.6.4. Intervalo de trabajo**

El intervalo de trabajo, está dado por un rango dentro del cual el método brinda resultados con una incertidumbre aceptable, el LC corresponde al límite inferior del intervalo, en tanto que el límite superior corresponde a la concentración que no presente anomalías en la sensibilidad analítica, y en el caso de espectroscopía UV/vis no presente efecto meseta en sus valores de absorbancia [1].

#### **2.6.5. Repetibilidad**

El objeto de la repetición en el análisis es determinar la variabilidad típica, teniendo en consideración cuenta todas las variaciones que se podrían presentar en las condiciones operativas del método en contextos de rutina, con lo cual, se podrán obtener medidas fiables de características de desempeño del método, como el sesgo y la precisión [1].

#### **2.6.6. Precisión intermedia**

La precisión está definida por la concordancia entre los resultados de análisis obtenidos en condiciones específicas. Generalmente expresada como la desviación estándar de los resultados analíticos. Los valores de desviación estándar más bajos indican una buena precisión mientras que valores altos indican una baja precisión de los resultados. La precisión se puede juzgar en términos de repetibilidad y reproducibilidad [55]. La reproducibilidad también se puede determinar como la reproducibilidad intermedia al cambiar dos o más factores; excepto la muestra, y la reproducibilidad teórica calculada mediante la ecuación de Horwitz. Para determinar la precisión mediante un diseño experimental basado en la evaluación de la repetibilidad se preparan muestras estándar en tres concentraciones diferentes dentro de un determinado rango; bajo, medio y alto; cada una con tres réplicas en las mismas condiciones; mismo laboratorio, mismo método, mismo operador; utilizando el mismo equipamiento, dentro de intervalos cortos de tiempo. Se calcula la desviación estándar (SD) y el coeficiente de

variación (CV%). Los resultados de los estudios de precisión se expresan como CV, que para métodos espectrofotométricos debe ser  $CV \leq 3 \%$  [1], [58].

#### **2.6.7. Veracidad**

Corresponde al grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y un valor de referencia asignado, el cual puede ser un MRC, MRI, remanentes de pruebas de actitud o ensayos interlaboratorios. La veracidad puede estar determinada por el sesgo o el porcentaje de recuperación respecto al valor asignado [59].

Las diferencias sistemáticas significativas en relación con los valores de referencia aceptados se reflejan en valores de sesgo más grandes, y los valores de sesgo más pequeños indican una mayor veracidad del método.

La recuperación se refiere al porcentaje de la cantidad de analito presente o agregado al material de prueba que se extrae y cuantifica [48].

#### **2.6.8. Robustez**

La robustez puede medirse durante la validación o previa a la misma determinando uno o varios factores, en el último caso varios parámetros se introducen a la vez para garantizar la estimación del efecto global de cada uno. La robustez se define como la “Medida de la capacidad de un método analítico de no ser afectado considerablemente por variaciones pequeñas pero deliberadas de los principales parámetros del método analítico” [60]

# CAPÍTULO 3

## 3. METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo de investigación

El presente proyecto abordó una investigación de tipo experimental cuantitativa y documental. Se consideraron tres muestras de suelos, de los Ingenios Valdez, San Carlos y AGROAZUCAR, ubicados en las ciudades de Milagro, Marcelino Maridueña y La Troncal, respectivamente. Se seleccionó tres niveles; bajo, medio y alto en contenido de fósforo.

#### 3.1.1. Población:

Suelo agrícola de lotes de los Ingenios Valdez, San Carlos y AGROAZUCAR.

#### 3.1.2. Muestra:

Las muestras recolectadas fueron de aproximadamente 2 Kg, en cada ingenio, con una profundidad de 0–30 cm, obtenidas de un muestreo estratificado, cuya característica principal seleccionó la concentración de fósforo en tres niveles, bajo, medio y alto, en relación del rango de trabajo.

#### 3.1.3. Técnica:

Para la determinación de fósforo asimilable se utilizó Olsen Modificado a pH 8,5 como método de extracción; y el método del Azul de molibdeno para el desarrollo del color, determinándose la concentración del analito mediante la técnica de espectrofotometría ultravioleta visible, a una longitud de onda de 680 nm.

### 3.2. Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, ya que en el laboratorio se van a desarrollar una serie de pruebas analíticas con las cuales se desarrolla el proceso de validación; cuantitativa, ya que los resultados obtenidos son numéricos, utilizados para un diagnóstico estadístico de datos medibles y verificables. Es una investigación documental, puesto que se realizó una rigurosa revisión bibliográfica

con la que se han proporcionado los datos más relevantes que afectan este trabajo de investigación.

### 3.3. Metodología

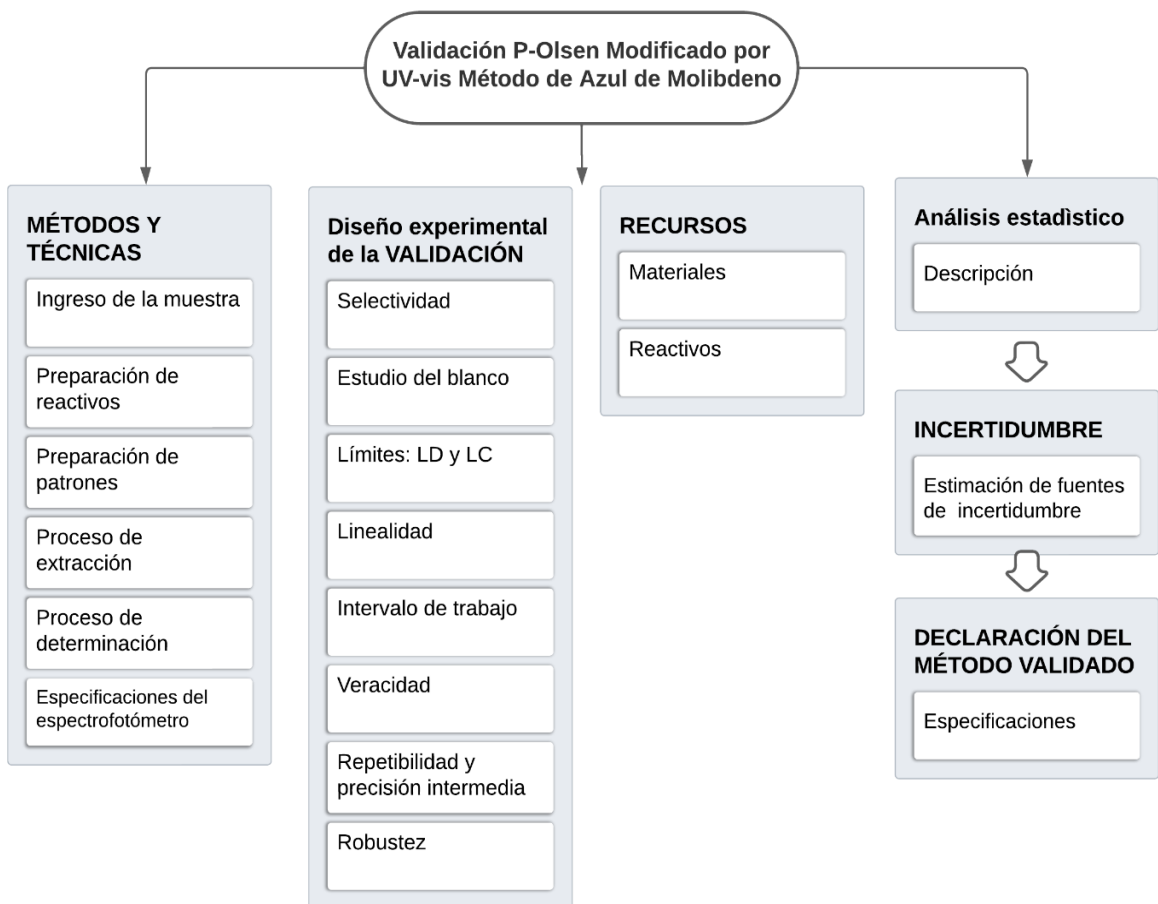
#### 3.3.1. Definición de variables

Variable independiente: Concentración de fósforo en mg/l.

Variable dependiente: Absorbancia a 680 nm.

### 3.4. Recolección de datos

#### 3.4.1. Métodos y técnicas



#### 3.4.2. Ingreso de la muestra

a) *Secado y molienda*: Las muestras ingresadas al laboratorio, se colocaron en bandejas de acero inoxidable y se secaron en una estufa con recirculación

de aire forzado a 60 °C para garantizar que esté totalmente seca; posteriormente se molieron en un molino tipo triturador de mandíbulas y luego fueron tamizadas.

b) *Codificación e identificación*: La codificación para este proceso particular presenta los siguientes componentes; el primero V23: proceso de validación en el año 2023; pP: corresponde al parámetro de validación, en este caso fósforo (P); m# el número secuencial de la muestra y la descripción de su procedencia y nivel de concentración.

- ✓ v23pPm1: Proceso de validación año 2023, parámetro P, muestra de suelo del Ingenio San Carlos, concentración baja de fósforo.
- ✓ v23pPm 2: Proceso de validación año 2023, parámetro P, muestra de suelo del Ingenio Valdez, concentración media de fósforo.
- ✓ v23pPm 3: Proceso de validación año 2023, parámetro P, muestra de suelo del Ingenio AGROAZUCAR, concentración alta de fósforo.
- ✓ Los materiales de referencia de la RELASE, mantienen su código original, siendo este:
  - MR1
  - MR4
  - MR5

Estas muestras representan los tres niveles de determinación analítica, siendo estos de acuerdo a sus concentraciones:

- MR5 nivel bajo
- MR1 nivel medio
- MR4 nivel alto

Para su asignación en el software del equipo de medición las muestras fueron ingresadas como:

P-Intf-0#: Muestra con fósforo + interferente, seguido de un número secuencial

Intf-0#: Sólo interferente

Nb-0#: Nivel bajo, seguido de un número secuencial, del 01-06 o del 01-10 dependiendo de la prueba.

Nm-0#: Nivel medio, seguido de un número secuencial, del 01-06 o del 01-10 dependiendo de la prueba.

Na-0#: Nivel alto, seguido de un número secuencial, del 01-06 o del 01-10 dependiendo de la prueba.

Para los estudios de selectividad/especificidad los interferentes corresponden a concentraciones conocidas de Fe y de As. En el estudio del blanco el Nb corresponde a un blanco de reactivos fortificado con una concentración de 0,05 mg/l P; el Nm a 0,10 mg/l P; y el Na 0,15 mg/l P.

En la determinación de exactitud, el Nb corresponde a MRI5; Nm corresponde a MRI1; Na corresponde a MRI4. Mientras que para las pruebas de repetibilidad, reproducibilidad y robustez el Nb corresponde a v23pPm1; Nm corresponde a v23pPm1; Na corresponde a v23pPm1.

c) *Preservación*: Las muestras se preservaron en fundas medianas tipo ziploc, para protegerlas de la humedad y posible contaminación, se rotularon con marcador de tinta indeleble, con los códigos asignados, siendo almacenadas en la estantería de la bodega de muestras, en condiciones de temperatura y humedad ambiente, donde permanecerán por un año, luego de este tiempo sus propiedades deberán ser verificadas.

### **3.4.3. Preparación de reactivos:**

#### **1) Solución extractora modificada de NaHCO<sub>3</sub> (OLSEN MODIFICADO). 0,5 N NaHCO<sub>3</sub>, 0,01 M EDTA.**

Se disolvieron 84 g de NaHCO<sub>3</sub> y 7,44g de la sal disódica de EDTA en agua desionizada, llevando la solución a un volumen de 2 litros y luego se ajustó el pH a 8,5 con perlas de hidróxido de sodio colocadas directamente.

#### **2) Solución A. Reactivo concentrado:**

Se Pesó 1 g de tartrato de potasio y antimonio en un frasco volumétrico de 1 litro, agregando alrededor de 400 ml de agua destilada, se añadieron 165 ml de ácido sulfúrico concentrado, despacio mientras se mezclaba la solución, enfriar la

solución. Disolver 7,5g de Molibdato de amonio en aproximadamente 300 ml de agua destilada, añadir la solución ácida de tartrato y aforar a 1 litro con agua desionizada.

*Nota: Esta solución es sensitiva al calor y a la luz por lo que debe ser almacenada en un recipiente ámbar y en refrigeración.*

### 3) Solución B. Reactivo de color para fósforo:

El día que se va a utilizar esta solución, se diluyeron 150 ml de solución A con 1 g de goma de acacia o arábica y 1 g de ácido ascórbico a un litro de solución con agua desionizada.

*Nota: Esta solución forma espuma, lo cual dificulta su aforo, para ello se recomienda agregar unas gotas de alcohol etílico PA antes de aforar la solución.*

#### 3.4.4. Preparación de Patrón de Fósforo

A partir del estándar de 1000 mg/l de fósforo se preparó una solución madre de 50 mg/l P de la cual se prepararon 50 ml de siete soluciones patrón, todas enrasadas con la solución de Olsen modificado, como se describe en la Tabla IV.

TABLA IV  
PREPARACIÓN DE PATRONES: CONCENTRACIÓN EN LAS SOLUCIONES PATRÓN Y EN EL SUELO, PARA FÓSFORO

Estándar	Sol. Madre Volumen (ml)	Concentración en solución (mg/l)	Concentración en el suelo (mg/l)
BLANCO	0,0	0,0	0,0
Patrón 1	0,3	0,3	3,0
Patrón 2	0,6	0,6	6,0
Patrón 3	0,9	0,9	9,0
Patrón 4	1,8	1,8	18,0
Patrón 5	3,6	3,6	36,0
Patrón 6	6,8	6,8	68,0
Patrón 7	10,0	10,0	100,0

Nota: Volumen de la solución madre a tomar para la preparación de 7 patrones de trabajo



#### **3.4.5. Proceso de Extracción:**

- ✓ En una balanza analítica se pesaron 2,5 gr de suelo en un contenedor de boca ancha, adicionando la solución extractante de Olsen Modificado con un dispensador 25 ml.
- ✓ Se agitó a una velocidad de 180 pulsos por minuto durante 10 minutos.
- ✓ El extracto resultante se filtró con papel filtro cuantitativo, recolectándose el producto en tubos de ensayo de 25 ml de capacidad.

#### **3.4.6. Proceso de determinación: Método colorimétrico de azul de molibdeno.**

En tubos de ensayo de 25 ml de capacidad, se colocó 1 ml del extracto obtenido, se dispensaron 4ml de agua desionizada, y 5ml de solución B (complejo de molibdato de amonio y ácido ascórbico), se agitó por varios segundos en un agitador Vortex, dejando en reposo las soluciones por un lapso mínimo de 60 minutos, sin exponer las mismas al calor o la luz directa.

Previamente se habría realizado el mismo procedimiento con cada una de las soluciones patrón, tomando como blanco 1 ml de la solución de Olsen modificado, y 1 ml de cada uno de los puntos de calibración de la curva.

#### **3.4.7. Especificaciones del espectrofotómetro**

Se determinó la absorbancia en el Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25, tomando en consideración las siguientes especificaciones:

- ✓ Longitud de onda: 680 nm.
- ✓ Celda: de vidrio de óptico con cubierta de PTFE - 10 mm.
- ✓ Línea base: sin corrección
- ✓ Curva/factor: Lineal
- ✓ Intercepto: si
- ✓ Slit: 1 nm.

Los resultados finales fueron calculados por simple regresión lineal mediante la ecuación (8)

$$y = a + b \cdot x, \text{ Ec (8)}$$

donde la variable  $x$  son las concentraciones y la variable  $y$  las lecturas en absorbancia de la curva; los valores de las muestras se obtienen reemplazando la lectura obtenida en absorbancia en la ecuación de regresión, esta operación es proporcionada por el software del equipo y fue verificada por los cálculos respectivos en Microsoft Excel.

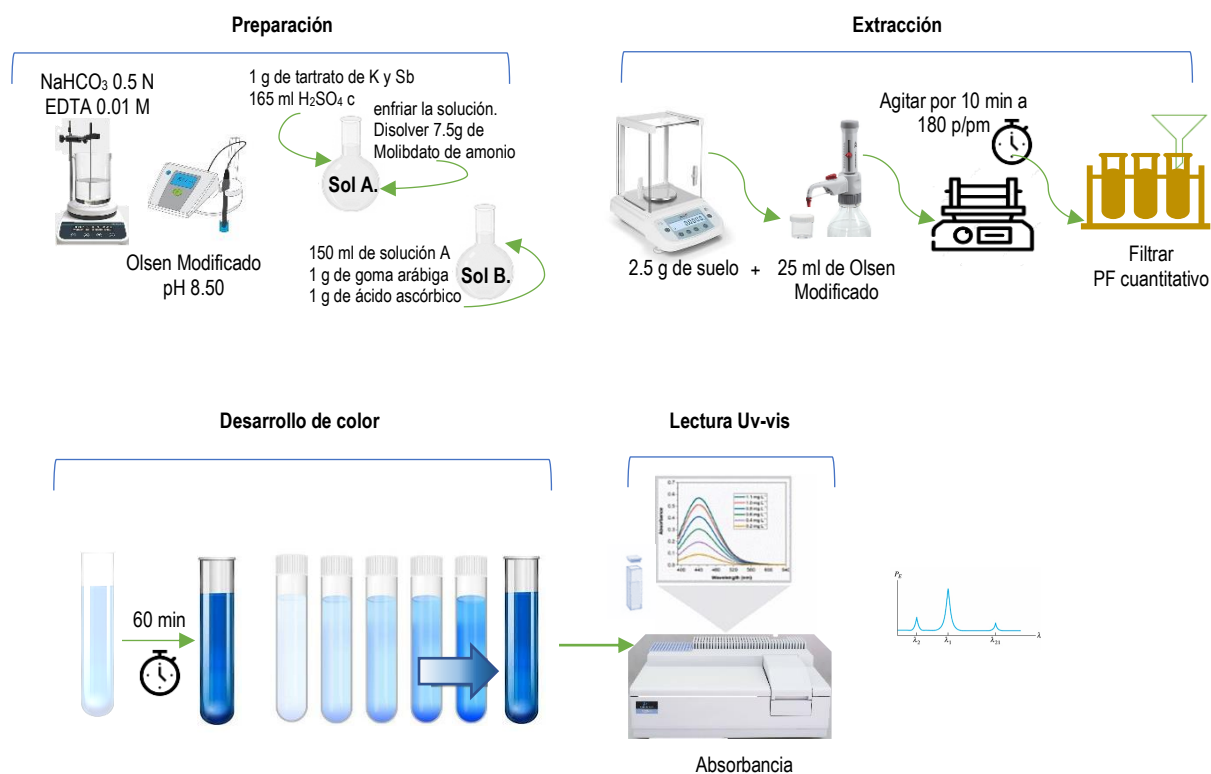


Fig. 3.3. Diagrama de flujo de proceso: preparación de reactivos, extracción, desarrollo de color y determinación por espectroscopía ultravioleta visible.

### 3.5. Diseño experimental de la Validación del Método

#### 3.5.1. Selectividad / Especificidad:

**Selectividad:** Se examinó el efecto de interferencias, determinando el grado de inhibición, su detección y cuantificación mediante una fortificación con los analitos Fe y As.

*Día 1:* El analista 1, realizó 6 repeticiones, sobre dos blancos de reactivos fortificado, la primera con 10 mg/l Fe, y la segunda con 0,4 mg/l As, determinando sus concentraciones por espectroscopía uv-vis.

**Especificidad:** Se determinó que el método es específico para el analito fósforo, cuantificando su presencia en una muestra fortificada.

*Día 1:* Un analista, determinó una muestra de un blanco de reactivo fortificado con 4 mg/l P, se realizaron 6 repeticiones, determinando sus concentraciones por espectroscopía UV-VIS.

**Selectividad:** Criterio de aceptación: Recuperación de los interferentes  $\leq$  LD.

**Especificidad:** Criterio de aceptación: Recuperación  $\geq$  90%.

### 3.5.2. Estudio del blanco

Se cuantificó el contenido de fósforo en un blanco de reactivos, para determinar el límite de detección teórico.

*Día 1:* Se analizó un blanco fortificado con concentraciones de:

- 0,10 mg/l P, correspondiente al límite de detección teórico ( $LD_t$ ),
- 0,05 mg/l P; 50% por debajo  $LD_t$ ,
- 0,15 mg/l P; 50% por arriba  $LD_t$ ,
- se realizan 6 repeticiones. Un analista, tres muestras.

Criterio de aceptación: Recuperación  $\geq$  50%.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración fortificada}} \times 100\% \quad \text{Ec (9)}$$

### 3.5.3. Límite de detección y límite de cuantificación

**Límite de detección:** Se estableció que el método determine un límite de detección teórico de 0,1 mg/l P correspondiente al 50% del valor asignado al primer punto en el rango de trabajo.

*Día 2:* El analista 1 realizó 10 repeticiones de un blanco de reactivo fortificado con una concentración de 0,2 mg/l P, leídas en el espectrofotómetro ultravioleta visible. Estadístico a evaluar:

$$LD = \bar{x} + 3 \times s_{\delta} \quad \text{Ec (10)}$$

**Límite de cuantificación:** Se estableció un límite de cuantificación correspondiente al valor asignado como primer punto en el rango de trabajo.

*Día 2:* Sobre los resultados obtenidos con el LD, se establece el límite de cuantificación del método, leídas en el espectrofotómetro ultravioleta visible.

Estadístico a evaluar:

$$LC = \bar{x} + 10 \times s_{\delta} \text{ Ec (11)}$$

Tanto en el LD y LC se determina el porcentaje de recuperación de cada lectura.

#### **3.5.4. Linealidad**

**Linealidad del instrumento:** Se obtuvo la gráfica de función de la concentración con un  $r^2 \geq 0,995$  analizando un blanco y 7 puntos de calibración primeramente con concentraciones de 0,2 a 10 mg/l P en solución. No obstante, este rango es modificado a 0,3 como límite inferior, con base a los resultados obtenidos del LC.

*Día 2:* Se realizaron 3 curvas de calibrado en concentraciones de 0,3; 0,6; 0,9; 1,8; 3,6; 6,8 y 10 mg/l P.

El analista 1 determinó las absorbancias de cuatro curvas de calibrado, cada una con un blanco y siete patrones.

Estadístico a evaluar:

Coeficiente de correlación ( $r$ ), análisis de regresión y estimación lineal.

Análisis de regresión para cada curva de calibrado y sus residuos.

Se determinan, además, rangos máximos y mínimos para los valores de la ordenada e intercepto.

#### **Linealidad del método:**

*Día 3:* Se realizaron tres lecturas independientes, tres curvas de calibrado en concentraciones de 0,3; 0,6; 0,9; 1,8; 3,6; 6,8 y 10 mg/l P. Un analista, cada curva de calibrado con un blanco y siete patrones.

Estadístico a evaluar: Se obtiene un valor de pendiente e intercepto, coeficientes de determinación ( $r^2$ ) y la función lineal; con lo cual se establecen los límites máximos y mínimos de aceptación de la curva de calibrado.

#### **3.5.5. Intervalo de trabajo:**

Se estableció un intervalo de trabajo de 0,3 – 10,0 mg/l en las soluciones estándar.

*Día 3:* Con base a los resultados obtenidos en la linealidad se determina si el intervalo de trabajo cumple con los requisitos.

Criterio de aceptación:

Recuperación  $\geq$  al 90% en todo el rango de trabajo. Análisis de residuales con una distribución aleatoria, evaluando la ausencia de tendencias sistemáticas.

### **3.5.6. Veracidad**

Se cumplió con al menos entre el 80-110 % de recuperación [59] en los resultados de las pruebas interlaboratorios (Anexo A).

*Día 4:* Se realizan 6 réplicas de cada muestra por cada uno de los siguientes niveles;

- bajo: 17,13 mg/ml P
- medio: 40,59 mg/ml P
- alto: 62,46 mg/ml P

- ✓ Las muestras corresponden a tres de las muestras de referencia de la intercomparación con la RELASE

Se realiza la prueba de homogeneidad de varianza test de Cochran, estableciéndose:

- ✓ La hipótesis nula ( $H_0$ ): No existe diferencias significativas entre varianzas.
- ✓ Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una varianza es diferente significativamente frente a las demás.
- ✓ Aceptada la hipótesis nula ( $H_0$ ), se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor, cuyos datos de interés son promedios de los cuadrados dentro de grupo y entre grupos, de las varianzas de repetibilidad y reproducibilidad, respectivamente.

Criterio de aceptación:

Recuperación entre el 80-110 % y aceptación de la  $H_0$

### **3.5.7. Repetibilidad y precisión intermedia**

**Repetibilidad:** Se obtuvo una estimación de la precisión que refleja todas las fuentes de variación del método bajo las mismas condiciones,

*Día 5:* Se realizaron 6 réplicas de las tres muestras de trabajo, variando las lecturas de las muestras desde el proceso de pesaje hasta las lecturas del analito, manteniendo constante: el día, analista,

**Reproducibilidad:** Se obtuvo una estimación de la precisión que refleja todas las fuentes de variación que se producirán en el laboratorio en condiciones de rutina con tres analistas y entre días.

*Día 6 y Día 7:* Se realizaron 6 réplicas bajo condiciones de repetibilidad para cada material, se suman al proceso los analistas 2 y 3 realizándose las determinaciones según lo siguiente:

- ✓ 1 día: 1er analista 6 réplicas (ensayo de repetibilidad)
- ✓ 2 día: 2do analista 6 réplicas
- ✓ 3 día: 3er analista 6 réplicas

**Repetibilidad:** Estadístico a evaluar: Desviación estándar %RSD

**Reproducibilidad:** Estadístico a evaluar: Desviación estándar %RSD de reproducibilidad y análisis de ANOVA, de acuerdo a las Ecs (12), (13), (14)

$$\%RDS_r = \frac{\sqrt{\sigma_{repetibilidad}}}{concentración\ del\ nivel} \times 100\% \quad Ec\ (12)$$

$$\sigma_{reproducibilidad\ total} = \frac{\sigma_{reprod} - \sigma_{repet}}{n_{nivel}} + \sigma_{repet} \quad Ec\ (13)$$

$$\%RDS_R = \frac{\sqrt{\sigma_{reproducibilidad\ total}}}{concentración\ del\ nivel} \times 100\% \quad Ec\ (14)$$

TABLA V  
ANÁLISIS DE LA VARIANZA ANOVA

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Entre grupos	$GLE = K - 1$	$SCE = \sum n_i(x_i - \bar{x})^2$	$CME = SCE/GLE$	$CME/CMI$
Intra grupos	$GLI = N - K$	$SCI = \sum \sum (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$ o $SCT - SCE$	$CMI = SCI/GLI$	
TOTAL	$GLT = N - 1$	$SCT = \sum \sum (x_{ij} - \bar{x})^2$		

Nota: Determinación de la varianza, fuentes de variación y prueba de F.

### **3.5.8. Robustez**

Se aplica 1 variable, con el propósito de demostrar la robustez del método y determinar cuáles son los puntos críticos dentro del proceso de análisis, se determinó el efecto de un cambio de condición en los resultados de la medida, el tiempo de lectura, de esta manera se leyeron un grupo de muestras a una hora, y el mismo grupo se volvió a leer a la siguiente hora.

✓ *Tiempo de lectura: mayor a una hora*

*Día 6:* Leer las mismas tres muestras a 1 hora y luego a las 2 horas, registrar los resultados obtenidos.

Criterio de aceptación:

Prueba de significación t-student para variables.

### **3.6. Recursos**

#### **3.6.1. Materiales**

- ✓ Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25.
- ✓ Balanza de analítica ( $\pm 0.0001\text{g}$ )
- ✓ Agitador mecánico de desplazamiento EBERBACH (velocidad 180 osc/min)
- ✓ Molino
- ✓ Potenciómetro ORIBA
- ✓ Agitador Magnético
- ✓ Agitador Vortex
- ✓ Cronómetro ( $\pm 0,1\text{seg.}$ )
- ✓ Dispensadores Brand de 25ml
- ✓ Sorbona Labconco
- ✓ Matraces volumétricos clase A, de 50, y 1000ml
- ✓ Tubos de ensayo de 25 ml de capacidad
- ✓ Micropipeta Eppendorf Research de 1000  $\mu\text{l.}$  (volumen variable)
- ✓ Pipeta automática Transferpette S Brand de 10000  $\mu\text{l.}$  (volumen variable)
- ✓ Envases de polipropileno con tapa rosca de 50ml de capacidad.
- ✓ Embudos de polietileno medida o capacidad

- ✓ Espátula de acero inoxidable (20mm)
- ✓ Papel filtro cuantitativo CHM F2040 125 mm (LIBRE DE CENIZAS)

### **3.6.2. Reactivos**

- ✓ Agua desionizada ( $CE \leq 1 \mu\text{s/cm}$ )
- ✓ Bicarbonato de sodio GR. Supelco, cas: 144-55-8
- ✓ EDTA GR. Sal disódica dihidratada, pureza mínima del 99% cas: 60-00-4
- ✓ Hidróxido de sodio, perlas GR. Supelco cas: 1310-73-2
- ✓ Molibdato de amonio tetrahidratado G.R. cas: 12054-85-2
- ✓ Tartrato de potasio y antimonio G.R. cas: 28300-74-5
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado G.R. cas: 7664-93-9
- ✓ Ácido ascórbico G.R. Fisher scientific cas: 50-81-7
- ✓ Goma de acacia o arábica G.R. cas: 9000-01-5
- ✓ Solución Patrón Supelco referible a SRM de NIST, en agua: Estándar de  $1000 \mu\text{g.ml}^{-1}$  de P,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  en  $\text{H}_2\text{O}$
- ✓ Soluciones buffer pH 4, 7 y 10 Trazables a SRM de NIST y PTB

### **3.7. Análisis estadístico**

El tratamiento estadístico para la interpretación de los resultados es la estadística descriptiva y la estadística Inferencial, análisis de varianza y estimación de la incertidumbre del método.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Excel y el software R, y se sometieron a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para determinar el efecto del tratamiento y las diferencias significativas entre los tratamientos separados mediante la prueba post hoc de Tukey en  $p \leq 0,05$ .

El tipo de tratamiento estadístico utilizado para la interpretación de los resultados es la estadística inferencial, usando el software R-studio versión 4.3.2 que es un entorno y lenguaje de programación con un enfoque al análisis estadístico.

### **3.8. Incertidumbre**

El cálculo para la determinación de la incertidumbre asociada a la medición se realizó tomando en consideración las directrices proporcionadas por la guía



Eurachem para determinación de la incertidumbre, en base al siguiente proceso por etapas;

Etapa I

- ✓ Especificación el mesurando

Etapa II

- ✓ Identificación de las fuentes de incertidumbre

Etapa III

- ✓ Simplificación: agrupación de fuentes cubiertas con datos existentes
- ✓ Cuantificación de los componentes agrupados
- ✓ Cuantificación de los componentes restantes
- ✓ Conversión de los componentes en DS

Etapa IV

- ✓ Cálculo de la incertidumbre combinada
- ✓ Revisión, de ser necesario reevaluación de los componentes mayores
- ✓ Cálculo incertidumbre expandida
- ✓ Expresión de los resultados.

Se calculó la Incertidumbre estándar combinada ( $\mu$ ), mediante la ecuación referenciada en la guía Eurachem:

$$uc^2 = \sqrt{ua^2 + ub^2} \quad \text{Ec (15)}$$

Seguidamente, se calculó la incertidumbre expandida ( $U$ ), multiplicando por el factor de cobertura  $k=2$ .

$$up = kuc \quad \text{Ec (16)}$$

### **3.9. Declaración del método validado**

La declaración del método validado incluye a manera de resumen lo siguiente:

- ✓ Método
- ✓ Alcance
- ✓ Referencia de la normativa utilizada
- ✓ Resultados y criterios de aceptación
- ✓ Observaciones y comentarios
- ✓ Declaración expresa del método Validado, incluyendo la incertidumbre de medida.

# CAPÍTULO 4

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Validación del método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible

El trabajo de validación en el presente proyecto, consideró los lineamientos planteados en la norma ISO/IEC 17025:2017; de esta manera se preservan todos los registros usados y generados en este proceso de validación, los cuales se encuentran detallados en el apartado 7 de Apéndices y Anexos. Los cuales evidencian la cuantificación del contenido de fósforo en tres muestras de suelos, mediante espectrofotometría ultravioleta visible y Olsen Modificado como extractante, objeto de este estudio. Cumpliendo lo establecido en base a las siguientes características de desempeño.

#### 4.1.1. Selectividad / Especificidad

Dos de los interferentes mencionados en la literatura en la determinación de fósforo por el método de azul de molibdeno, son el Fe y el As [41], [61] , este último comparte junto al fósforo las mismas características químicas por lo que se prepararon soluciones fortificadas con estos analitos considerados interferentes.

Se preparó una solución de 4 mg/l de P con 10 mg/l de Fe. Los resultados obtenidos no mostraron una señal de respuesta frente el analito Fe, el cual se leyó tanto en la solución de P con Fe y en una solución que únicamente contenía Fe, donde el resultado promedio fue de -0,081 mg/l; mientras que el P obtuvo una recuperación del 95%, bajo un criterio de aceptación de entre el 80-110%, como se observa en la tabla VI.

TABLA VI

DETERMINACIÓN DE INTERFERENTES EN EL PARÁMETRO ESPECIFICIDAD, CONTENIDO DE Fe

Parámetro	Fortificado/ mg/ml p	Resultado mg/l	% recuperación	Criterio de aceptación % de recuperación	Cumple / no cumple
<b>P</b>	4	3,783	94,6	80-110 %	Cumple
<b>Fe</b>	100	-0,081	-0,08	< LD	Cumple

Nota: Promedios obtenidos y porcentajes de recuperación en blancos de reactivo fortificados con Fe y P.

Además, se preparó una solución de As con una concentración de 0,2 mg/l, y una solución de P y As, en concentración de 4 mg/l P y 0,2 mg/l As. La respuesta del fortificado con arsénico, dio una recuperación del 108%, y la solución P-As mostró una recuperación del 102%, al mismo tiempo se midió una concentración de fósforo libre de As para determinar la influencia del arsénico sobre el fósforo, pudiéndose determinar que la recuperación del P fue del 98%, lo que indica que el porcentaje en exceso de la solución P-As, efectivamente corresponde a la respuesta de la concentración de arsénico añadida al analito de interés.

Sin embargo, es importante mencionar que, los efectos de interferencia del arseniato, se pueden reducir diluyendo la muestra antes de agregar el reactivo [62], [63]. Otro estudio realizado en varias provincias del Ecuador, entre ellas Guayas señala que las concentraciones de arsénico en suelos agrícolas oscilan entre 0.08–0,20 mg kg<sup>-1</sup> en el suelo [64]. Siendo esta concentración, inferior al límite de cuantificación declarado para este método, como se explicará más adelante. La tabla que precede muestra los resultados obtenidos en las lecturas de fósforo a una concentración de 4 mg/l, más la adición de un segundo interferente como el arsénico.

TABLA VII

DETERMINACIÓN DE INTERFERENTES EN EL PARÁMETRO ESPECIFICIDAD, CONTENIDO DE As

Parámetro	Fortificado/ mg/l p	Resultado mg/l	% recuperación	Criterio de aceptación % de recuperación	Cumple / no cumple
<b>As</b>	0,2	0,22	107,6	< LD	No Cumple
<b>P</b>	4,0	3,91	97,7	80-110 %	Cumple
<b>P+As</b>	4,0	4,08	102,06	-	-

Nota: Promedios obtenidos y porcentajes de recuperación en blancos de reactivo fortificados con As y P.

#### 4.1.2. Estudio de blanco

El estudio del blanco tiene como objetivo brindar una aproximación a los valores mínimos que el método pudiera cuantificar, siendo el límite de detección teórico de aproximadamente 0,2 mg/l para la determinación de fósforo [39], [61] se procedió a preparar tres blancos de reactivos fortificados con una concentración que corresponda al 50% de este límite, es decir 0,10 mg/l P como punto medio; una solución de 0,05 mg/l de P como punto bajo, y una solución de 0,15 como punto alto.

El criterio de aceptación para este estudio fue una recuperación  $\geq 50\%$ , en el que se obtuvieron los resultados presentados en la tabla VIII, la cual muestra que los dos primeros niveles no cumplen con el criterio de aceptación, el tercer nivel presentó valores homólogos con excepción de la repetición #6, la cual fue eliminada bajo criterio de rechazo de datos anómalos de Q-Dixon, con lo cual cada una de las cinco observaciones del nivel 3 cumple con el criterio de aceptación.

TABLA VIII  
EVALUACIÓN DEL ESTUDIO DEL BLANCO POR MEDIO DEL PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

Identificación	Lectura promedio mg/ml P	DS	% CV	% Recuperación	Criterio de aceptación
<b>0,05 mg/l P</b>	0,015	0,02	140,4	-14 a 90,8	
<b>0,10 mg/l P</b>	0,089	0,04	43,1	46,6 a 137,9	$\geq 50\%$ de recuperación
<b>0,15 mg/l P*</b>	0,129	0,03	26,8	73,5 a 132,3 73,5 a 80,9*	

\*% de Recuperación eliminando un dato aberrante

Nota: Estadísticos descriptivos de blancos fortificados con P y sus respectivos porcentajes de recuperación.

#### 4.1.3. Límite de detección y cuantificación

La guía Eurachem, menciona que se puede determinar el LD y LC con una fortificación de una baja concentración del analito [1], [54] debido a ello y con base a los resultados obtenidos en el estudio del blanco, se determinó que el método puede estimar una concentración al 50% del nivel 3, es decir 0,3 ppm, para confirmar esta aseveración se fortifica un blanco de reactivo con una concentración de 0,2 mg/l P.

Los resultados obtenidos, luego de la determinación de 10 réplicas del blanco fortificado, determinaron un LD de 0,23 mg/l P y 0,28 mg/l P. Estos resultados modifican la concentración establecida previamente, dentro del plan de validación y cuyo nuevo límite inferior es de 0,3 mg/l P.

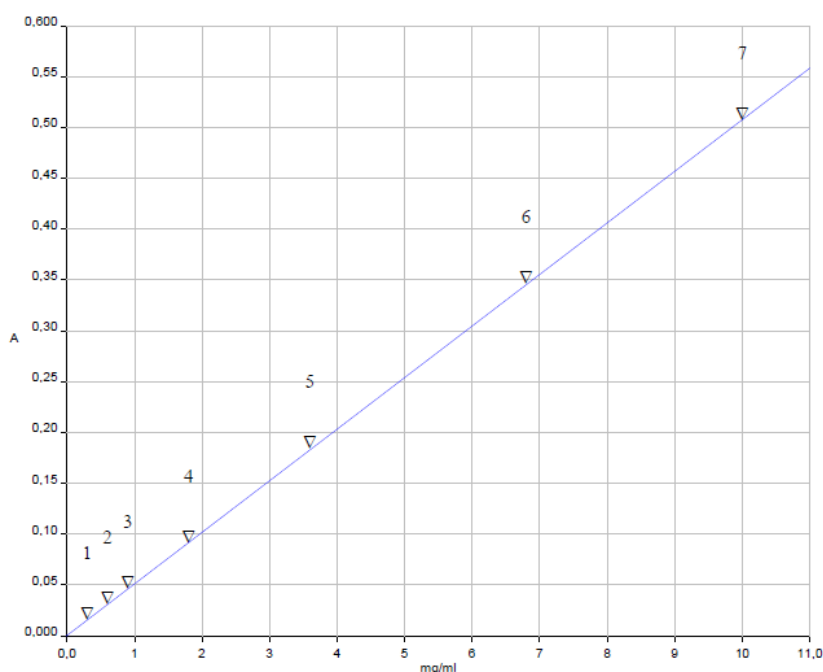
TABLA IX  
DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Concentración	$\bar{X}$	DS	CV	LD	LC
				$\bar{\bar{x}}+3 \times So'$	$\bar{\bar{x}}+10 \times So'$
0,2 mg/l	0,21257	0,00655	3,0812	<b>0,23</b>	<b>0,28</b>

Nota: Estadísticos descriptivos y LD y LC obtenidos a partir de una concentración baja de P

#### 4.1.4. Curva de calibración

Calibration Curve



Spectrum Name: P-VALIDA  
 Description:  $y = 2.531409e-04 + 5.074825e-02 \cdot x$   
 Comments: RE = 1.010282e-03, CC = 9.999878e-01  
 Date Created: Tue Dec 12 15:13:40 2023

Fig. 4.4. Curva de calibrado obtenida en el espectrofotómetro ultravioleta y visible

Uno de los primeros requisitos que sugiere la guía Eurachem, es una examinar visualmente la curva generada, identificar el rango lineal aproximado y los límites

superior e inferior del intervalo de trabajo, por ello se presenta una de las curvas obtenidas para la determinación de la linealidad con la ecuación de la curva.

TABLA X  
CURVAS DE CALIBRADO Y PRUEBA DE F

Curva de calibrado	Coeficiente de correlación determinado por <i>Rstudio</i>	Coeficiente de correlación determinado por Microsoft <i>Excel</i>	F
C1	0,998119	0,999696	1590,3
C2	0,999989	0,999916	39687,4
C3	0,999924	0,999988	269416,3

Nota: coeficientes de correlación determinados por Excel, RStudio y la prueba de F

El valor de F crítica corresponde a 1,66E-08, por lo que al ser F tabulada mayor a F crítica se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$  de que Si existe relación entre la concentración y la absorbancia, como lo muestra la tabla VIII.

La tabla XI, muestra los componentes de una función respuesta que se obtuvieron a partir del software RStudio, cuyas observaciones o medidas coinciden con las realizadas en Excel, con lo que se valida el análisis estadístico en este proceso. Esta tabla muestra los coeficientes tanto para la ordenada como para la pendiente; el error típico, la suma de cuadrados y el “estadístico t” cuya respuesta al ser mayor que el de la probabilidad son indicativos de que no hay significancia, ya que la probabilidad para la ordenada es mayor a 0,05. Los límites inferior y superior en la ordenada son un indicativo de que línea pasa por cero, al ser este un valor negativo y el otro positivo, los límites superior e inferior de la pendiente son mayor a cero, otro indicativo de la respuesta lineal.

TABLA XI  
FUNCIÓN RESPUESTA OBTENIDA A PARTIR DEL SOFTWARE RSTUDIO

	Curva de calibrado	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	$\Sigma$ de cuadrados	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
pendiente	C1	0,05575	0,0014	0,2850	39,878	1,66E-08
	C2	0,05351	0,0003	0,2626	199,22	1,08E-12
	C3	0,05076	0,0001	0,2362	519,05	3,45E-15
ordenada	C1	-0,00096	0,0063	0,0011	-0,15156	0,8845
	C2	0,00030	0,0012	3,97E-05	0,24652	0,8135
	C3	0,00019	0,0004	5,26E-06	0,43639	0,6778

	Curva de calibrado	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
pendiente	C1	0,052	0,059
	C2	0,053	0,054
	C3	0,051	0,051
ordenada	C1	-0,016	0,015
	C2	-0,003	0,003
	C3	-0,001	0,001

Nota: Se presentan los datos reportados por medio de RStudio.

La aleatoriedad de los residuos también nos ratifica la respuesta lineal de la curva, estos datos se encuentran en la tabla siguiente y en su respectiva gráfica de residuales, donde se muestran los puntos de los residuos distribuidos de forma aleatoria en todo el rango de trabajo.

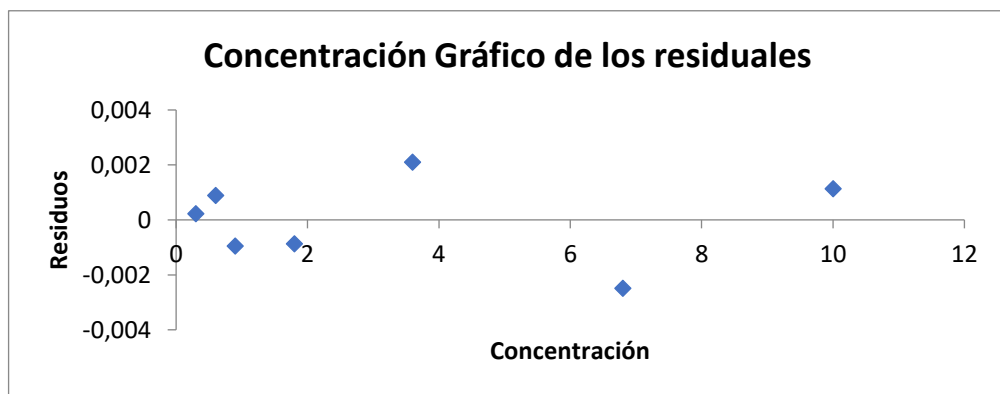


Fig. 4.5. Gráfico de residuales, en la prueba de linealidad.

**TABLA XII**  
**ANÁLISIS DE LOS RESIDUOS**

<i>Observación</i>	<i>Pronóstico Absorbancia</i>	<i>Residuos</i>	<i>Residuos estándares</i>
1	0,0002	-0,0002	-0,2227
2	0,0154	0,0001	0,0923
3	0,0306	-0,0002	-0,2848
4	0,0459	0,0003	0,3762
5	0,0916	-0,0014	-1,5626
6	0,1829	0,0015	1,7113
7	0,3453	0,0007	0,7646
8	0,5078	-0,0008	-0,8742

Nota: Resultados de los residuales de la curva 3

Los resultados obtenidos en las curvas de calibrado, llevan a determinar los límites de control mediante los cuales se acepta una nueva curva, basados en los valores de la pendiente, ordenada al origen y el coeficiente de correlación, obteniéndose los límites detallados en la tabla XIII.

**TABLA XIII**  
**LÍMITES DE ACEPTACIÓN PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN**

	<i>Pendiente (b)</i>	<i>Ordenada (a)</i>	<i>Coeficiente de determinación (r<sup>2</sup>)</i>
Promedio	0,05334	-0,00016	0,99869
Límite Máx.	0,05587	0,01129	1,00000
Límite Mín.	0,05081	-0,01160	0,99624
t(2GL)	4,303		

Nota: Promedios y límites máximos y mínimos de b, a y r<sup>2</sup>

#### **4.1.5. Exactitud**

La exactitud en las muestras de suelo analizadas en los niveles bajo, medio y alto, se determinó por medio del % de recuperación que, de acuerdo a la AOAC, en el rango de 1 a 10 ppm (mg/l) corresponde a una recuperación de entre el 80 y 110%, lo cual se verifica en la tabla XIV, de resultados de exactitud donde se obtuvieron recuperaciones entre el 92 y 106%, encontrándose dentro del rango óptimo de



recuperación. Con ello se demuestra la exactitud del método de análisis de fósforo en muestras de suelos extraído con Olsen modificado y cuantificado con el método colorimétrico de azul de molibdeno.

TABLA XIV  
DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD

Identificación	Nivel de concentración de P	Valor asignado por RELEASE mg/ml P	Valor promedio en ensayo de exactitud mg/ml P	DS	%RSD	% Recup.
<b>MRI 5</b>	bajo	17,13	15,87	0,72	4,51	92,7
<b>MRI 1</b>	medio	40,59	43,20	0,87	2,01	106,4
<b>MRI 4</b>	alto	62,46	57,36	0,77	1,34	91,8

Nota: Estimación de la exactitud en tres materiales realizados en una comparación de RELEASE

La tabla XV, muestra los porcentajes de recuperación en base a la concentración de la muestra, que va desde una concentración del 100% con una recuperación del 98 al 102%, hasta concentraciones de 1 ppb donde la recuperación aceptada es menor y oscila entre los 40 a 120 %.

TABLA XV  
RECUPERACIÓN ESPERADA EN FUNCIÓN A LA CONCENTRACIÓN

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	Media Recuperación %
100	1	100%	98-102
10	10 <sup>-1</sup>	10%	
1	10 <sup>-2</sup>	1%	97-103
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,1%	95-105
0,001	10 <sup>-4</sup>	100 ppm (mg/Kg)	90-107
0,0001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm (mg/Kg)	80-110
0,00001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm (mg/Kg)	
0,000001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb (µg/Kg)	
0,0000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb (µg/Kg)	60-115
0,00000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb (µg/Kg)	40-120

Nota: Tabla extraída del programa de métodos verificados por pares de la AOAC. Manual de políticas y procedimientos [65]

A más de los porcentajes de recuperación, se establecieron las siguientes hipótesis:  
La hipótesis nula ( $H_0$ ): No existe diferencias significativas entre varianzas.

Hipótesis alternativa ( $H_1$ ): Al menos una varianza es diferente significativamente frente a las demás.

Atendiendo que el valor de F calculada para cada uno de los niveles es menor al F crítico se acepta la  $H_0$ , confirmando que no existen diferencias significativas entre varianzas, según lo muestra la tabla siguiente.

TABLA XVI  
ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA LA DETERMINACIÓN DE VERACIDAD

MRI	nivel	Promedio	Varianza	F	Probabilidad	Valor crítico para F
MRI 5	bajo	15,87	0,513	2,89695	0,1195763	4,9646
		16,60	0,599			
MRI 1	medio	43,54	0,752	0,81080	0,3890525	
		42,86	2,635			
MRI 4	alto	57,36	0,592	2,55137	0,1412826	
		58,53	2,654			

Nota; Niveles, promedios, varianza y prueba de F en la determinación de veracidad

#### 4.1.6. Repetibilidad

La repetibilidad de las muestras de trabajo, tabla XVII, está determinada por el CV o %RSD obtenido en cada uno de los niveles, así, el nivel bajo, con un promedio estimado de 6,57, obtuvo un 3,39 %de RSD, el nivel medio, un RSD de 1,25 y el nivel alto 1,70, cada uno de estos porcentajes se encuentran dentro del RSD esperado de 11, 7,3 y 5,3 respectivamente para cada nivel, determinando de esta manera la repetibilidad del método.

TABLA XVII  
DETERMINACIÓN DE LA REPETIBILIDAD

Identificación	Nivel de concentración de P	Valor obtenido en ensayo de repetibilidad mg/ml P	DS	% RSD	%RSD <sub>r</sub> de repetibilidad
v23pPm1	bajo	6,57	0,22	3,39	11
v23pPm2	medio	37,58	0,47	1,25	7,3
v23pPm3	alto	70,72	1,20	1,70	5,3

Nota: Repetibilidad de muestras de suelos en tres niveles, con sus %RSD

TABLA XVIII  
PRECISIÓN ESPERADA (REPETIBILIDAD) EN FUNCIÓN A LA CONCENTRACIÓN DEL ANALITO

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	RSD <sub>r</sub> %
100	1	100%	1,3
10	10 <sup>-1</sup>	10%	1,9
1	10 <sup>-2</sup>	1%	2,7
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,1%	3,7
0,001	10 <sup>-4</sup>	100 ppm (mg/Kg)	5,3
0,0001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm (mg/Kg)	7,3
0,00001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm (mg/Kg)	11
0,000001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb (µg/Kg)	15
0,0000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb (µg/Kg)	21
0,00000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb (µg/Kg)	30

Nota: Tabla extraída del programa de métodos verificados por pares de la AOAC. Manual de políticas y procedimientos [65]

#### 4.1.7. Reproducibilidad

La prueba de reproducibilidad, tablas XIX y XX, muestra en cada nivel, que no existen diferencias significativas entre los grupos, que, en este caso, corresponden a los días y analistas, ya que se leyeron 3 grupos de muestras en todos los niveles un día, un analista, para esta prueba, se realizó un análisis de la varianza de un solo factor, y se comprobó por medio de la prueba de Tukey que no existen diferencias significativas, como lo muestran los resultados obtenidos por RStudio en el Apéndice H.

TABLA XIX  
DETERMINACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD

Muestra	F=MSe/MSd	F0,05	<i>p-value</i>	Significación	s <sup>2</sup> d	se <sup>2</sup>	s <sup>2</sup> t
	Fcalculado	Fcritico	<i>a = 0,05</i>	estadística?			
71,9 mg/l P	2,58	3,68	1,09E-01	<b>No</b>	2,5693	0,6763	3,2456

Si  $F > F_{0,05}$ , existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos  
Si  $F < F_{0,05}$ , es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

TABLA XX  
DETERMINACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD

Identificación	Nivel de concentración de P	Valor obtenido en ensayo de reproducibilidad mg/ml P	DS	% RSD	%RSD <sub>R</sub>
v23pPm1	bajo	6,57	0,27	3,89	16
v23pPm2	medio	37,58	0,87	1,49	11
v23pPm3	alto	70,72	0,36	2,19	8

De igual manera la tabla XX, muestra los valores de %RSD que fueron menores a los de RSD<sub>R</sub>, obteniéndose valores de 3,89%; 1,49% y 2,19%, mientras que el RSD de reproducibilidad fue de 16, 11, 8, para los niveles bajo, medio y alto, respectivamente, como lo muestra la tabla XXI.

TABLA XXI  
DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA PREVISTA DE LA REPRODUCIBILIDAD (PRSDR)

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	RSD <sub>R</sub> %
100	1	100%	2
10	10 <sup>-1</sup>	10%	3
1	10 <sup>-2</sup>	1%	4
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,1%	6
0,001	10 <sup>-4</sup>	100 ppm (mg/Kg)	8
0,0001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm (mg/Kg)	11
0,00001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm (mg/Kg)	16
0,000001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb (µg/Kg)	22
0,0000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb (µg/Kg)	32
0,00000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb (µg/Kg)	45

Nota: Tabla extraída del programa de métodos verificados por pares de la AOAC. Manual de políticas y procedimientos [65]

#### 4.1.8. Robustez del método

La prueba t-student realizada a un grupo de muestras de los tres niveles luego de una hora, que es el tiempo estipulado para las lecturas de las muestras determinó

que, Si existen diferencias significativas entre los grupos, por tanto, se concluye que el método es estable dentro de la hora de lectura programada, fuera de ese tiempo los valores asignados ya tienen validez analítica.

No obstante, se recomienda realizar pruebas posteriores para determinar el tiempo de estabilidad de la solución de lectura.

#### **4.2. Veracidad del método analítico y validez del resultado**

La veracidad del método está sustentada con el ensayo de exactitud, donde se usaron las muestras determinadas previamente en un ensayo de la RELASE y cuyo informe se encuentra en el Anexo A, de este documento, donde se muestran los valores que fueron tomados como referentes para dicho ensayo, también se encuentra un certificado que avala la participación de CINCAE en dicho ensayo y que lo califica como satisfactorio en las pruebas de fósforo en cinco muestras de varias concentraciones, de las cuales se escogieron tres, que se usaron como material de referencia, y cuyos resultados cumplieron con los criterios establecidos para determinar la veracidad de cada una de las muestras, que representan tres niveles a lo largo del rango de trabajo, con ello se cumplió el objetivo de determinar la veracidad del método.

Intervalo de trabajo:

✓ Los resultados obtenidos de veracidad, repetibilidad y de precisión intermedia indican que el método de análisis de fósforo en suelos con extractante Olsen Modificado y determinado colorimétricamente trabaja de forma adecuada en el intervalo de trabajo de entre 3,0 a 100,0 mg/kg de fósforo en suelos.

✓ Se evaluó el intervalo de trabajo con los parámetros de veracidad, repetibilidad y precisión intermedia de los niveles bajo, medio y alto de fósforo en suelos cañeros de los ingenios San Carlos, Valdez y Agroazucar, haciendo uso una curva de calibración de entre 0,3 a 10,0 mg/l que con los factores de pesaje y dilución comprende a valores de 3,0 a 100,0 mg/kg de fósforo en el suelo. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron de 92,75; 106,45 y 91,8% para materiales de referencia producto de una intercomparación en la RELASE, estos porcentajes de recuperación se encuentran dentro de los límites de entre 80 a 110% para las concentraciones del orden de la ppm colocados como objetivos de validación.

✓ La repetibilidad se evaluó con un analista en tres niveles de concentración de fósforo en suelos 6,57; 37,58 y 70,72 mg/kg de suelo y que se consideraron como niveles bajo, medio y alto respectivamente, los resultados se evaluaron como coeficiente de variación de 3,99; 1,25 y 1,70 % que se encuentran dentro del 5% determinado como máximo en los objetivos de validación.

✓ La reproducibilidad se evaluó con tres analistas en tres niveles de concentración de fósforo en suelos, los mismos de repetibilidad y se evaluó el coeficiente de variación entre días y analistas para cada nivel, con una concentración promedio de 6,52; 37,86; 71,90 mg/Kg de suelo obteniéndose los coeficientes de variación de 3,89; 1,49 y 2,19% que de acuerdo a la concentración del analito el valor máximo es de 16, 11 y 8% respectivamente, lo cual indica que existe reproducibilidad del método en los tres niveles; además, se realizó una prueba de F en la cual se determinaron la F-crítica de 2,55; 2,78 y 2,58 para los niveles bajo, medio y alto comparada con la f tabulada de 3,68 no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los tres niveles de concentración de suelo para el fósforo

#### **4.3. Cálculo de la incertidumbre de medida.**

Al obtener un valor referencial para cada nivel de trabajo, se determinó la incertidumbre de medida, tomando en consideración todas las fuentes de interés que pudieron aportar a la incertidumbre, como las soluciones patrón cuyos respectivos certificados se encuentran en el anexo B, los certificados de análisis de reactivos en el anexo C y los certificados de calibración de materiales y equipos en el anexo E, además de los resultados obtenidos en la validación como el sesgo, correlación lineal, repetibilidad y reproducibilidad, todos estos factores influyentes en la determinación de la incertidumbre de medida, y cuyos cálculos y resultados, se encuentran en el apéndice J del presente documento, estableciéndose las siguientes incertidumbres para cada una de las muestras:

Nivel Bajo	6,57± 0,40 mg/Kg
Nivel Medio	37,58 ± 0,644 mg/Kg
Nivel Alto	70,72 ± 1,768 mg/Kg

# CAPÍTULO 5

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- ✓ Se desarrolló la metodología para la validación del método analítico de P por espectroscopía ultravioleta visible con extractante Olsen Modificado, verificando el cumplimiento de cada parámetro, conforme en lo establecido en el plan de validación.
- ✓ Se evidenció en el estudio de selectividad que existe una interferencia del arsénico en el análisis de fósforo, con el método de azul de molibdeno, en la concentración de 0,2 mg/l As, que numéricamente es menor al límite de detección; sin embargo, se recomienda realizar un estudio más amplio del tema en el que se puede incluir la cuantificación del arsénico en las muestras de suelo, utilizando una metodología de mayor selectividad, como la de horno grafito. También se puede precipitar el arsénico en las muestras a analizar previo a la cuantificación, para determinar en ambos casos si existen desvíos significativos al usar la técnica original o con las variaciones propuestas. Por otro lado, realizar un barrido que permita determinar una longitud de onda que minimice o elimine el efecto del As por este método.
- ✓ Se comprobó la veracidad del método, a través de los MRI proporcionados por la RELASE con valores asignados en la intercomparación del año 2022, obteniéndose el porcentaje de recuperación para los niveles bajo, medio y alto de 92,7%; 106,4% y 91,8% respectivamente, establecidos en el plan de validación y que están conforme de acuerdo a Guidelines for Standard Method Performance Requirements, 2016 AOAC International.
- ✓ Luego de realizar y cumplir con el plan de validación para el estudio del blanco, LC, LD, linealidad de la curva, veracidad, repetibilidad y reproducibilidad del método, se determinó un rango de trabajo aplicable de 3 a 100 mg/Kg P para muestras de suelos extraídas con Olsen modificado y cuantificadas por espectrofotometría ultravioleta visible a 680 nm.

- ✓ Se determinó la incertidumbre del método, asignando valores a los resultados de tres muestras de suelos, las cuales servirán de control en el trabajo rutinario del laboratorio químico del CINCAE.



## 6. REFERENCIAS

- [1] Magnusson B and Ôrnemark U, *Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods - A laboratory guide to method validation and related topics*, 2nd ed. 2014. Accessed: Nov. 08, 2023. [Online]. Available: [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
- [2] Carrero Alejandro *et al.*, “Comparación de dos métodos de extracción de fósforo disponible en un suelo ácido,” *Avances en Química*, vol. 10, pp. 29–33, 2015, [Online]. Available: [www.saber.ula.ve/avancesenquimica](http://www.saber.ula.ve/avancesenquimica)
- [3] Bernier René and Undurraga Pablo, “Análisis de suelos. Metodología e interpretación,” in *Serie Actas N<sup>o</sup> 16. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA. Prácticas para el manejo sustentable de los recursos naturales en la recuperación de los suelos degradados*, Carrasco Jiménez Jorge, Squella Nardicci Fernando, and Undurraga Díaz Pablo, Eds., Santiago de Chile, 2002, pp. 1–137.
- [4] B. Fan *et al.*, “Leached phosphorus apportionment and future management strategies across the main soil areas and cropping system types in northern China,” *Science of The Total Environment*, vol. 805, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150441.
- [5] R. Recena *et al.*, “Assessing the phosphorus demand in European agricultural soils based on the Olsen method,” *J Clean Prod*, vol. 379, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.134749.
- [6] A. Muntwyler *et al.*, “Modelling phosphorus dynamics in four European long-term experiments,” *Agric Syst*, vol. 206, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.agsy.2022.103595.
- [7] FAO, “La contaminación del suelo: Una realidad oculta,” Roma, 2019.
- [8] Valverde Omar and Calvache Marcelo, “Calibración y correlación de tres métodos de análisis químico de fósforo en suelos cultivados con papa (*Solanum tuberosum*), en cuatro localidades de la sierra ecuatoriana,” *Rumipamba, Revista de Difusión Científica de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador*, vol. XXI, no. 1, pp. 1–14, 2007.
- [9] Aucatoma Bolívar, Cuesta Cristina, Ramos Luis, Quishpillo Nadinec, Alcívar León Cristina, and Echeverría Armando, “Elaboración de un material de referencia interno para análisis de macroelementos en suelos del Ecuador,” *Ecuador es Calidad: Revista Científica Ecuatoriana*, vol. 9, no. 2, pp. 1–11, 2022, doi: <https://doi.org/10.36331/revista.v9i2.144>.
- [10] Jaramillo Rusbel, “La Red Nacional de Laboratorios de Suelos refuerza calidad para productores ecuatorianos,” *Revista Científica Ecuador es Calidad*, vol. 5, no. 1, Sep. 2018.
- [11] CINCAE, “INFORME ANUAL 2017,” *Fundación para la Investigación Azucarera del Ecuador FIADE. El Triunfo*, Ecuador, pp. 41–44, 2018.
- [12] R. Wuenscher, H. Unterfrauner, R. Peticzka, and F. Zehetner, “A comparison of 14 soil phosphorus extraction methods applied to 50 agricultural soils from Central Europe,” *Plant Soil Environ*, vol. 61, no. 2, pp. 86–96, 2015, doi: 10.17221/932/2014-PSE.
- [13] D. Cordell, J. O. Drangert, and S. White, “The story of phosphorus: Global food security and food for thought,” *Global Environmental Change*, vol. 19, no. 2, pp. 292–305, May 2009, doi: 10.1016/J.GLOENVCHA.2008.10.009.
- [14] K. C. van Dijk, J. P. Lesschen, and O. Oenema, “Phosphorus flows and balances of the European Union Member States,” *Science of The Total Environment*, vol. 542, pp. 1078–1093, Jan. 2016, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2015.08.048.

- [15] Rosen Julia, “Los agricultores afrontan una crisis del fósforo. La solución empieza en el suelo,” *Natl Geogr Mag*, 2020, Accessed: Nov. 13, 2023. [Online]. Available: <https://www.nationalgeographic.es/ciencia/2020/10/agricultores-afrontan-crisis-de-fosforo-solucion-empieza-en-el-suelo>
- [16] Horta Monteiro Maria do Carmo, “La disponibilidad de fósforo evaluado por el método Olsen en suelos ácidos de Portugal: significado agronómico y ambiental,” Universidad de Córdoba, 2005.
- [17] J. Wang, Q. Chen, S. Huang, Z. Wang, and D. Li, “Cyanobacterial organic matter (COM) positive feedback aggravates lake eutrophication by changing the phosphorus release characteristics of sediments,” *Science of The Total Environment*, vol. 892, p. 164540, Sep. 2023, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2023.164540.
- [18] B. Xi *et al.*, “Long-term phosphorus accumulation and agronomic and environmental critical phosphorus levels in Haplic Luvisol soil, northern China,” *J Integr Agric*, vol. 15, no. 1, pp. 200–208, Jan. 2016, doi: 10.1016/S2095-3119(14)60947-3.
- [19] H. M. J. Vos, G. F. Koopmans, L. M. E. Ferron, O. Oenema, and J. W. van Groenigen, “Do earthworms increase grass biomass production and phosphorus uptake under field conditions?,” *Applied Soil Ecology*, vol. 180, p. 104598, Dec. 2022, doi: 10.1016/J.APSOIL.2022.104598.
- [20] D. Tinoco-Varela and J. S. Bayuelo-Jiménez, “Phosphorus forms and distribution in Andisol under contrasting land-use systems in central Mexico,” *Terra Latinoamericana*, vol. 39, Jan. 2021, doi: 10.28940/TERRA.V39I0.881.
- [21] S. Higgins *et al.*, “Stocktake study of current fertilisation recommendations across Europe and discussion towards a more harmonised approach,” *Eur J Soil Sci*, vol. 74, no. 5, Sep. 2023, doi: 10.1111/ejss.13422.
- [22] T. J. Mattila and J. Rajala, “Do different agronomic soil tests identify similar nutrient deficiencies?,” *Soil Use Manag*, vol. 38, no. 1, pp. 635–648, Jan. 2022, doi: 10.1111/sum.12738.
- [23] J. Neyroud and P. Lischer, “Do different methods used to estimate soil phosphorus availability across Europe give comparable results?,” *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, vol. 166, no. 4, pp. 422–431, Aug. 2003, doi: 10.1002/jpln.200321152.
- [24] K. Steinfurth *et al.*, “Thresholds of target phosphorus fertility classes in European fertilizer recommendations in relation to critical soil test phosphorus values derived from the analysis of 55 European long-term field experiments,” *Agric Ecosyst Environ*, vol. 332, p. 107926, Jul. 2022, doi: 10.1016/J.AGEE.2022.107926.
- [25] P. S. Nair, T. J. Logan, A. N. Sharpley, L. E. Sommers, M. A. Tabatabai, and T. L. Yuan, “Interlaboratory Comparison of a Standardized Phosphorus Adsorption Procedure,” *J Environ Qual*, vol. 13, no. 4, pp. 591–595, Oct. 1984, doi: 10.2134/jeq1984.00472425001300040016x.
- [26] I. Amadou, M. P. Faucon, and D. Houben, “New insights into sorption and desorption of organic phosphorus on goethite, gibbsite, kaolinite and montmorillonite,” *Applied Geochemistry*, vol. 143, p. 105378, Aug. 2022, doi: 10.1016/J.APGEOCHEM.2022.105378.
- [27] P. Zalba, O. Bravo, N. M. Amiotti, and N. Peinemann, “Métodos alternativos para determinar las disponibilidades de fósforo en suelos agrícolas,” *Revista Argentina de la Ciencia del Suelo*, 2002.
- [28] M. M. S. Rossi, “Adsorción y desorción de fósforo en suelos del área central de la región Pampeana,” Universidad nacional de Córdoba, Córdoba, 2011.
- [29] E. Yujra Ticona and R. Miranda Casas, “Evaluación de la metodología Bray-Kurtz y Olsen para la determinación de fósforo disponible en suelos,” *Revista de la carrera de ingeniería agronómica UMSA*, vol. 5(1), 2019.

- [30] H. Lambers, “Phosphorus Acquisition and Utilization in Plants,” *Annu. Rev. Plant Biol.* 2022, vol. 73, pp. 17–42, 2022, doi: 10.1146/annurev-arplant-102720.
- [31] Suñer Liliana, “Formas de fósforo edáfico como indicadores del efecto de las prácticas de manejo en la región pampeana Argentina,” Universidade da Coruña, Coruña, Argentina, 2015.
- [32] M. D. C. Horta and J. Torrent, “The Olsen P method as an agronomic and environmental test for predicting phosphate release from acid soils,” *Nutr Cycl Agroecosyst*, vol. 77, no. 3, pp. 283–292, Mar. 2007, doi: 10.1007/s10705-006-9066-2.
- [33] R. Ye, A. L. Wright, J. M. McCray, K. R. Reddy, and L. Young, “Sulfur-induced changes in phosphorus distribution in Everglades Agricultural Area soils,” *Nutr Cycl Agroecosyst*, vol. 87, no. 1, pp. 127–135, May 2010, doi: 10.1007/s10705-009-9319-y.
- [34] M. A. Elrashidi, “Selection of an Appropriate Phosphorus Test for Soils,” *Natural Resources Conservation Service*, 2003.
- [35] M. Amini, J. Antelo, S. Fiol, and R. Rahnemaie, “Estimation of phosphate extractability in flooded soils: Effect of solid-solution ratio and bicarbonate concentration,” *Chemosphere*, vol. 303, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135188.
- [36] G. Cabalceta and E. Molina, “Niveles críticos de nutrientes en suelos de Costa Rica utilizando la solución extractora MEHLICH 3,” 2006. [Online]. Available: [www.mag.go.cr/revagr/inicio.htm](http://www.mag.go.cr/revagr/inicio.htm)[www.cia.ucr.ac.cr](http://www.cia.ucr.ac.cr)
- [37] W. M. H. Saunders, C. G. Sherrell, and I. M. Gravett, “Calibration of olsen bicarbonate phosphorus soil test for pasture on some New Zealand soils,” *New Zealand Journal of Agricultural Research*, vol. 30, no. 3, pp. 387–394, Jan. 1987, doi: 10.1080/00288233.1987.10421899.
- [38] Alfaro Villatoro María Antonieta, Monzón de Mata Carlos Esteban, Piril Virginia, and Pérez Batz Edin Saul, “Evaluación de metodologías de extracción , para el análisis químico de suelos de los departamentos de Zacapa y Chiquimula en el Laboratorio de Suelos y Plantas de ICTA.” CRIA Programa de consorcios de Investigación Agropecuaria, Guatemala, 2019.
- [39] Carrasco Cáñez María Guadalupe and García Alegría Alejandro Monserrat, “Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta visible,” *Biotecnia Revista de Ciencias Biológicas y de la salud*, vol. XVII (1), pp. 32–39, 2015, [Online]. Available: [www.biotecnia.uson.mx](http://www.biotecnia.uson.mx)
- [40] E. A. Nagul, I. D. McKelvie, P. Worsfold, and S. D. Kolev, “The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: Opening the black box,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 890. Elsevier B.V., pp. 60–82, Aug. 26, 2015. doi: 10.1016/j.aca.2015.07.030.
- [41] M. A. Zezzi-Arruda and R. J. Poppi, “SPECTROPHOTOMETRY | Inorganic Compounds,” *Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition*, pp. 351–358, Jan. 2005, doi: 10.1016/B0-12-369397-7/00720-2.
- [42] M. de las N. López Peña, A. Narros Sierra, and M. del M. De la Fuente García-Soto, “Determinación de fosfato mediante análisis por Inyección en flujo,” Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, 2019.
- [43] Gómez Salazar María Camila, “Validación del método del ácido ascórbico para la determinación de fósforo total y ortofosfato en agua potable, natural y residual,” Montería-Córdoba, Colombia, 2019.

- [44] Bazzano A, Mangarelli A, and Barboza N, “Determinación de fósforo disponible en suelos. Método espectrofotométrico.” 2017.
- [45] L. García Borges, T. María, P. Prieto, L. Valdés, and D. Iii, “Validación del método ultravioleta para determinar fósforo en suero,” *Revista Cubana de Farmacia*, vol. 43, no. 4, pp. 45–52, 2009, [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu45>
- [46] Vera Nuñez Lucero del Carmen and Tamo Cornejo Junior Oliver, “Biosíntesis y Caracterización de Nanopartículas de Plata (AgNPs) con *Thelypteris glandulosolanosa* (RAQUI-RAQUI),” Universidad Nacional de San Agustín , Arequipa, Perú, 2018.
- [47] K. Zia, T. Siddiqui, S. Ali, I. Farooq, M. S. Zafar, and Z. Khurshid, “Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Medical and Dental Applications: A Comprehensive Review,” *European Journal of Dentistry*, vol. 13, no. 1. Georg Thieme Verlag, pp. 124–128, 2019. doi: 10.1055/s-0039-1688654.
- [48] González Martínez Elizabeth, “Validación parcial del método espectrofotométrico del ácido vanabdomolibdofosfórico para la determinación del contenido de fósforo total en productos de fermentación de microorganismos eficientes,” Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Facultad de Química Farmacia, Cuba, 2016.
- [49] Ashenhurst James, “Introduction to UV-Vis Spectroscopy,” Master Organic Chemistry. Accessed: Nov. 29, 2023. [Online]. Available: <https://www.masterorganicchemistry.com/2016/09/16/introduction-to-uv-vis-spectroscopy/>
- [50] Carmona Diego, “LEY DE BOUGUER-LAMBERT-BEER.”
- [51] D. Saetta, K. Buddenhagen, W. Noha, E. Willman, and T. H. Boyer, “Ultraviolet/visible absorbance trends for beverages under simulated rinse conditions and development of data-driven prediction model,” *Food Control*, vol. 146, p. 109530, Apr. 2023, doi: 10.1016/J.FOODCONT.2022.109530.
- [52] PerkinElmer and Inc, “Brochure - LAMBDA 25/35/45,” Waltham, MA 02451 USA, 2011. [Online]. Available: [www.perkinelmer.com](http://www.perkinelmer.com)
- [53] P. Konieczka, “The role of and the place of method validation in the quality assurance and quality control (QA/QC) system,” *Crit Rev Anal Chem*, vol. 37, no. 3, pp. 173–190, Jul. 2007, doi: 10.1080/10408340701244649.
- [54] S. L. R Ellison LGC *et al.*, *Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches Eurachem*. 2007.
- [55] C. Pérez López, *Técnicas de muestreo estadístico*. Ibergarceta, 2010.
- [56] E. Zagal and A. Sadzawka, “Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos,” 2007.
- [57] M. Odalys Rodríguez-Gámez, J. E. Vilasó-Cadre, and L. I. Aguilera-Rodríguez, “Validación por verificación del método colorimétrico de la antrona para la cuantificación de ramnolípidos Verifying Validation of the Anthrone Colorimetric Method for Rhamnolipids Quantification,” 2013.
- [58] FDA, “FOOD AND DRUG ADMINISTRATION OFFICE OF REGULATORY AFFAIRS ORA Laboratory Manual Volume II Methods, Method Verification and Validation Sections in This Document,” 2020.
- [59] I. Taverniers, E. Van Bockstaele, and M. De Loose, “Analytical Method Validation and Quality Assurance,” in *Pharmaceutical Sciences Encyclopedia*, Wiley, 2010, pp. 1–48. doi: 10.1002/9780470571224.pse396.
- [60] Ahumada Diego, Paredes Cristhian, Abella Johanna, and González Ivonne, *Validación de Métodos en Análisis Químico Cuantitativo*, vol. 1. Bogotá, Colombia, 2023. [Online]. Available: [www.inm.gov.co](http://www.inm.gov.co)

- [61] M. C. Corral-Escárcega, E. RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL-GUERRERO, J. DE GYVES MARCINIÁK, G. González Sánchez, and M. de L. Ballinas-Casarrubias, "Spectrophotometric determination of inorganic arsenic (III) and (V) in water using the molybdenum blue method," *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, vol. 35, no. Special Issue 3, pp. 73–80, 2019, doi: 10.20937/RICA.2019.35.esp03.09.
- [62] S. Blomqvist, K. Hjellström, and A. Sjösten, "Interference from arsenate, fluoride and silicate when determining phosphate in water by the phosphoantimonymolybdenum blue method," *Int J Environ Anal Chem*, vol. 54, no. 1, pp. 31–43, Dec. 1993, doi: 10.1080/03067319308044425.
- [63] N. K. Ibnul and C. P. Tripp, "A simple solution to the problem of selective detection of phosphate and arsenate by the molybdenum blue method," *Talanta*, vol. 238, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.talanta.2021.123043.
- [64] X. L. Otero *et al.*, "Arsenic in rice agrosystems (water, soil and rice plants) in Guayas and Los Ríos provinces, Ecuador," *Science of the Total Environment*, vol. 573, pp. 778–787, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.08.162.
- [65] AOAC International, "Appendix F: Guidelines for standard Method Performance Requirements," 2016.

## 7. Apéndices y anexos

### Apéndice A: Selectividad / Especificidad

#### Concentration Results

Date: 11/12/2023 Time: 9:00:42  
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
Method: P-VALIDA  
Ordinate mode: Single wavelength  
Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
Result Filename: Sel-Espe.RCO  
Autozero performed: 11/12/2023 8:48:31  
Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration		
680,0	0,0	BLANCO	0,0004	1,0000	-0,084	mg/ml
680,0	0,0	Pat1	0,0177	1,0000	0,2431	mg/ml
680,0	0,0	Pat2	0,0207	1,0000	0,3007	mg/ml
680,0	0,0	Pat3	0,0352	1,0000	0,5762	mg/ml
680,0	0,0	Pat4	0,0965	1,0000	1,7425	mg/ml
680,0	0,0	Pat5	0,2072	1,0000	3,8471	mg/ml
680,0	0,0	Pat6	0,3764	1,0000	7,0656	mg/ml
680,0	0,0	Pat7	0,5259	1,0000	9,9094	mg/ml
680,0	0,0	P-intf1	0,2017	1,0000	3,7427	mg/ml
680,0	0,0	P-intf2	0,2048	1,0000	3,8017	mg/ml
680,0	0,0	P-intf3	0,2066	1,0000	3,8359	mg/ml
680,0	0,0	P-intf4	0,2049	1,0000	3,8038	mg/ml
680,0	0,0	P-intf5	0,2014	1,0000	3,7385	mg/ml
680,0	0,0	P-intf6	0,2035	1,0000	3,7781	mg/ml
680,0	0,0	Interf1	0,0015	1,0000	-0,065	mg/ml
680,0	0,0	Interf2	0,0014	1,0000	-0,065	mg/ml
680,0	0,0	Interf3	0,0004	1,0000	-0,084	mg/ml
680,0	0,0	Interf4	0,0001	1,0000	-0,091	mg/ml
680,0	0,0	Interf5	0,0001	1,0000	-0,091	mg/ml
680,0	0,0	Interf6	0,0001	1,0000	-0,090	mg/ml

Fig. 7.6. Resultados del parámetro selectividad/especificidad. Interferente hierro

Pat: Patrones

P-intf: Solución fortificada de 4mg/l P

Interf: Solución fortificada de 10 mg/l de Fe

## Concentration Results

---

Date: 12/12/2023 Time: 10:36:18  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: S-E-As.RCO  
 Autozero performed: 12/12/2023 8:42:08  
 Analyst: KARINA FAJARDO


---

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration	Sample Info
680,0	0,0	P-Intf01	0,2265	1,0000	4,2256 mg/ml As
680,0	0,0	P-Intf02	0,2234	1,0000	4,1693 mg/ml As
680,0	0,0	P-Intf03	0,2209	1,0000	4,1211 mg/ml As
680,0	0,0	P-Intf04	0,2207	1,0000	4,1181 mg/ml As
680,0	0,0	P-Intf05	0,2218	1,0000	4,1390 mg/ml As
680,0	0,0	P-Intf06	0,2188	1,0000	4,0826 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs01	0,0365	1,0000	0,6755 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs02	0,0364	1,0000	0,6725 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs03	0,0362	1,0000	0,6689 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs04	0,0369	1,0000	0,6829 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs05	0,0379	1,0000	0,7020 mg/ml As
680,0	0,0	IntfAs06	0,0392	1,0000	0,7261 mg/ml As

---


Fig. 7.7. Resultados del parámetro selectividad/especificidad. Interferente Arsénico.

P-intf: Solución fortificada de 4mg/l P  
 Interf: Solución fortificada de 0,4 mg/l de As

	<b>MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LABORATORIOS DE QUÍMICA</b> <b>VALIDACIÓN DE P-OLSEN</b> <b>REGISTRO DE DATOS PRIMARIOS</b>	Código: GT.RG.ESPOL-VAL-P.RDP.01
		Fecha: 2023-11-30
		Versión: 01

**SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD**

MATERIALES 	Marca	Modelo	Serie	Capacidad	Incertidumbre	Fecha de calibración	próx calib	certificado
Dispensador olsen	Brand	DISPENSETTE	05C2431	2,5 - 25 ml	0,0036	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-012-23
Dispensador agua	Brand	DISPENSETTE	05C2428	2,5 - 25 ml	0,00038	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-013-23
Pipeta automática	Eppendorf	Reasearch plus	K38646D	100-1000 uL	1,3	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-007-23
Pipeta automática	Brand	Transferpette S	21H27793	1000-10000 uL	0,012	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-006-23
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37023	50 ml	0,0059	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-007-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37022	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-006-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37021	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-005-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37020	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-004-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37019	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-003-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37018	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-002-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37017	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-001-24

REACTIVOS 	Marca	Lote	Concentración	Conductividad eléctrica µS/cm	Incertidumbre	Fecha de elaboración	Caducidad
Solución patrón: Estándar fósforo (P)	Supelco	BCCG4086	1002 mg/l	n/a	± 4 mg/l	n/a	2024-06-01
Solución patrón: Estándar Hierro (Fe)	Supelco	BCCH9889	1000 mg/l	n/a	± 4 mg/l	n/a	2025-11-01
Solución patrón: Estándar Arsénico (As)	ACC Standard	220095029	1000 ug/ml	n/a	± 0,24 %	n/a	2025-09-01
Olsen Modificado	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-12
Solución A	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2024-06-08
Solución B	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11

**Selectividad / Especificidad** Día 1: Analizar 6 blancos fortificados con 4 mg/l P y 100 mg/l Fe y 6 blancos fortificados con 100 mg/l Fe

Determinación de P: 4mg/l  
 Determinación de Fe: 100 mg/l  
 Determinación de As: 1 mg/l

Réplica	PARÁMETRO	Fortificado/ mg/ml P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P</b>	4,0	3,7427	93,6	≥ 90 % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	Karina Fajardo
2			3,8017	95,0		CUMPLE		
3			3,8359	95,9		CUMPLE		
4			3,8038	95,1		CUMPLE		
5			3,7385	93,5		CUMPLE		
6			3,7781	94,5		CUMPLE		
X			<b>3,78</b>	<b>94,59</b>				
DS			<b>0,04</b>					
CV			<b>1,00</b>					

Réplica	PARÁMETRO	Interferencia mg/ml Fe	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>Fe</b>	100,0	-0,0650	-0,07	≥ LD % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	Karina Fajardo
2			-0,0650	-0,07		CUMPLE		
3			-0,0840	-0,08		CUMPLE		
4			-0,0910	-0,09		CUMPLE		
5			-0,0910	-0,09		CUMPLE		
6			-0,0900	-0,09		CUMPLE		
X			<b>-0,08</b>	<b>-0,08</b>				
DS			<b>0,01</b>					
CV			<b>-15,64</b>					

Réplica	PARÁMETRO	Fortificado/ mg/ml P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P</b>	4,0	4,2256	105,6	≥ 90 % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	Karina Fajardo
2			4,1693	104,2		CUMPLE		
3			4,1211	103,0		CUMPLE		
4			4,1181	103,0		CUMPLE		
5			4,0826	102,1		CUMPLE		
6			3,7781	94,5		CUMPLE		
X			<b>4,08</b>	<b>102,06</b>				
DS			<b>0,16</b>					
CV			<b>3,85</b>					

Réplica	PARÁMETRO	Interferencia mg/ml As	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>As</b>	1,0	0,6755	67,55	≥ LD % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	Karina Fajardo
2			0,6725	67,25		CUMPLE		
3			0,6689	66,89		CUMPLE		
4			0,6829	68,29		CUMPLE		
5			0,7020	70,20		CUMPLE		
6			0,7261	72,61		CUMPLE		
X			<b>0,69</b>	<b>68,80</b>				
DS			<b>0,02</b>					
CV			<b>3,21</b>					

**CONDICIONES AMBIENTALES**



	temperatura	25°C
	Humedad	67%

Fig. 7.8. Registro de datos primarios para el parámetro de selectividad/especificidad.



## Apéndice B: Estudio del Blanco

### Concentration Results


Date: 11/12/2023 Time: 12:58:24  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: EstBlanc.RCO  
 Autozero performed: 11/12/2023 12:51:17  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0 Nb-1	0,0061	1,0000	0,0330 mg/ml
680,0	0,0 Nb-2	0,0050	1,0000	0,0114 mg/ml
680,0	0,0 Nb-3	0,0040	1,0000	-0,007 mg/ml
680,0	0,0 Nb-4	0,0049	1,0000	0,0095 mg/ml
680,0	0,0 Nb-5	0,0067	1,0000	0,0454 mg/ml
680,0	0,0 Nb-6	0,0042	1,0000	-0,004 mg/ml
680,0	0,0 Nm-1	0,0111	1,0000	0,1292 mg/ml
680,0	0,0 Nm-2	0,0068	1,0000	0,0466 mg/ml
680,0	0,0 Nm-3	0,0092	1,0000	0,0937 mg/ml
680,0	0,0 Nm-4	0,0115	1,0000	0,1379 mg/ml
680,0	0,0 Nm-5	0,0072	1,0000	0,0545 mg/ml
680,0	0,0 Nm-6	0,0081	1,0000	0,0711 mg/ml
680,0	0,0 Na-1	0,0101	1,0000	0,1103 mg/ml
680,0	0,0 Na-2	0,0104	1,0000	0,1169 mg/ml
680,0	0,0 Na-3	0,0107	1,0000	0,1213 mg/ml
680,0	0,0 Na-4	0,0103	1,0000	0,1145 mg/ml
680,0	0,0 Na-5	0,0101	1,0000	0,1105 mg/ml
680,0	0,0 Na-6	0,0147	1,0000	0,1984 mg/ml


Fig. 7.9. Resultados del Estudio del Blanco

Nb: nivel bajo fortificado con 0,05 mg/l P  
 Nm: nivel medio, fortificado con 0,10 mg/l P  
 Na: nivel alto, fortificado con 0,15 mg/l P

**ESTUDIO DE BLANCO**

MATERIALES 	Marca	Modelo	Serie	Capacidad	incertidumbre	Fecha de calibración	próx calib	certificado
Dispensador olsen	Brand	DISPENSETTE	05C2431	2,5 - 25 ml	0,0036	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-012-23
Dispensador agua	Brand	DISPENSETTE	05C2428	2,5 - 25 ml	0,00038	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-013-23
Pipeta automática	Eppendorf	Reasearch plus	K38646D	100-1000 uL	1,3	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-007-23
Pipeta automática	Brand	Transferpette S	21H27793	1000-10000 uL	0,012	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-006-23
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37023	50 ml	0,0059	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-007-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37022	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-006-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37021	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-005-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37020	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-004-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37019	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-003-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37018	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-002-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37017	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-001-24

REACTIVOS 	Marca	Lote	Concentración	Conductividad eléctrica µS/cm	incertidumbre	Fecha de elaboración	Caducidad
Solución patrón: Estándar fósforo (P)	Supelco	BCCG4086	1000 mg/l	n/a	± 4 mg/l	n/a	2024-06-01
Olsen Modificado	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11
Solución A	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-11-29	2024-05-27
Solución B	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11
Agua desionizada	n/a	n/a	n/a	0,91	n/a	n/a	n/a

**Estudio de blanco**

Día 1:

Analizar 6 blancos fortificados con 0,05 mg/l de P (50% por debajo de LD teórico)

Analizar 6 blancos fortificados con 0,10 mg/l de P (LD teórico)

Analizar 6 blancos fortificados con 0,15 mg/l de P (50% por encima de LD teórico)

**LD TEÓRICO: 0,1 mg/l P**

Réplica	Blanco mg/l P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de análisis	Responsable
1	0,05	0,0330	66,0	≥ 50 % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	<i>Kuriana Fajardo</i>
2		0,0114	22,8		NO CUMPLE		
3		-0,0070	-14,0		NO CUMPLE		
4		0,0095	19,0		NO CUMPLE		
5		0,0454	90,8		CUMPLE		
6		-0,0040	-8,0		NO CUMPLE		
X		0,0147	29,4				
DS		0,02					
CV		140,44					
1	0,10	0,1292	129,2	≥ 50 % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	<i>Kuriana Fajardo</i>
2		0,0466	46,6		NO CUMPLE		
3		0,0937	93,7		CUMPLE		
4		0,1379	137,9		CUMPLE		
5		0,0545	54,5		CUMPLE		
6		0,0711	71,1		CUMPLE		
X		0,0888					
DS		0,04					
CV		43,12					
1	0,15	0,1103	73,5	≥ 50 % de recuperación	CUMPLE	2023-12-11	<i>Kuriana Fajardo</i>
2		0,1169	77,9		CUMPLE		
3		0,1213	80,9		CUMPLE		
4		0,1145	76,3		CUMPLE		
5		0,1105	73,7		CUMPLE		
6		0,1984	132,3		CUMPLE		
X		0,1287					
DS		0,03					
CV		26,75					

**CONDICIONES AMBIENTALES**



	temperatura	21,2°C
	Humedad	68%

Fig. 7.10. Registro de datos primarios para el parámetro de estudio del blanco.

## Apéndice C: Límites de detección y de cuantificación


### Concentration Results

Date: 12/12/2023 Time: 14:48:33  
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
Method: P-VALIDA  
Ordinate mode: Single Wavelength  
Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
Result Filename: LD-LC-01.RCO  
Autozero performed: 12/12/2023 14:46:45  
Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0 Bf-01	0,0106	1,0000	0,2159 mg/ml
680,0	0,0 Bf-02	0,0101	1,0000	0,2062 mg/ml
680,0	0,0 Bf-03	0,0101	1,0000	0,2064 mg/ml
680,0	0,0 Bf-04	0,0104	1,0000	0,2108 mg/ml
680,0	0,0 Bf-05	0,0105	1,0000	0,2141 mg/ml
680,0	0,0 Bf-06	0,0107	1,0000	0,2181 mg/ml
680,0	0,0 Bf-07	0,0102	1,0000	0,2066 mg/ml
680,0	0,0 Bf-08	0,0102	1,0000	0,2072 mg/ml
680,0	0,0 Bf-09	0,0105	1,0000	0,2139 mg/ml
680,0	0,0 Bf-10	0,0112	1,0000	0,2265 mg/ml


Fig. 7.11. Resultados de LD y LC

Bf: Blanco de reactivo fortificado con 0,2 mg/l P

	<b>MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LABORATORIOS DE QUÍMICA</b> <b>VALIDACIÓN DE P-OLSEN</b>		Código: GT.RG.ESPOL.VAL-P.RDP.03
	<b>REGISTRO DE DATOS PRIMARIOS</b>		Fecha: 2023-11-30 Versión: 01

**LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

MATERIALES 	Marca	Modelo	Serie	Capacidad	incertidumbre	Fecha de calibración	próx calib	certificado
Dispensador olsen	Brand	DISPENSETTE	05C2431	2,5 - 25 ml	0,0036	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-012-23
Dispensador agua	Brand	DISPENSETTE	05C2428	2,5 - 25 ml	0,00038	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-013-23
Pipeta automática	Eppendorf	Reasearch plus	K38646D	100-1000 uL	1,3	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-007-23
Pipeta automática	Brand	Transferpette S	21H27793	1000-10000 uL	0,012	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-006-23
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37023	50 ml	0,0059	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-007-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37022	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-006-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37021	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-005-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37020	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-004-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37019	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-003-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37018	50 ml	0,0058	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-002-24
Matríz volumétrico	Pirex	Clase A	E-37017	50 ml	0,0057	2024-01-03	2029-01-03	CGC-0037-001-24

REACTIVOS 	Marca	Lote	Concentración	Conductividad eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	incertidumbre	Fecha de elaboración	Caducidad
Solución patrón: Estándar fósforo (P)	Supelco	BCCG4086	1000 mg/l	n/a	$\pm 4$ mg/l	n/a	2024-06-01
Olsen Modificado	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-12	2023-12-15
Solución A	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2024-06-08
Solución B	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-12	2023-12-13
Agua desionizada	n/a	n/a	n/a	0,91	n/a	n/a	n/a

**LD y LC**

Día 1: Leer 10 blancos fortificados con 2mg/l P y determinar la DS de los datos

Réplica	Blanco mg/l P	Absorbancia	concentración	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de análisis	Responsable
1	lectura 1	0,0106	0,2159	108,0	$\geq 50$ % de recuperación	CUMPLE	12/12/2023	KFV
2	lectura 2	0,0101	0,2062	103,1		CUMPLE		
3	lectura 3	0,0101	0,2064	103,2		CUMPLE		
1	lectura 4	0,0104	0,2108	105,4		CUMPLE		
2	lectura 5	0,0105	0,2141	107,1		CUMPLE		
3	lectura 6	0,0107	0,2181	109,1		CUMPLE		
7	lectura 7	0,0102	0,2066	103,3		CUMPLE		
8	lectura 8	0,0102	0,2072	103,6		CUMPLE		
9	lectura 9	0,0105	0,2139	107,0		CUMPLE		
10	lectura 10	0,0112	0,2265	113,3		CUMPLE		

$\bar{x}$	0,0105	0,2126
DS	0,0003	0,007
CV	3,23	3,08
<b>LD</b> $\bar{x}+3 \times S_{\bar{x}}$	<b>0,011</b>	<b>0,23</b>
<b>LC</b> $\bar{x}+10 \times S_{\bar{x}}$	<b>0,0138</b>	<b>0,28</b>

**CONDICIONES AMBIENTALES**


	Temperatura	22.2°C
	Humedad	60%

Fig. 7.12. Registro de datos primarios para el parámetro de LD y LC.

## Apéndice D: Linealidad

### CALIBRATION

Date: 11/12/2023 Time: 14:44:35  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,2000 mg/ml	0,0158
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,4000 mg/ml	0,0287
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,6000 mg/ml	0,0415
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,1011
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1993
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 7,2000 mg/ml	0,4046
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5393

Equation:  $y = 6.950408e-03 + 5.385114e-02 * x$

Residual error: 0,005560

Correlation coefficient: 0,999696

Calibration Curve

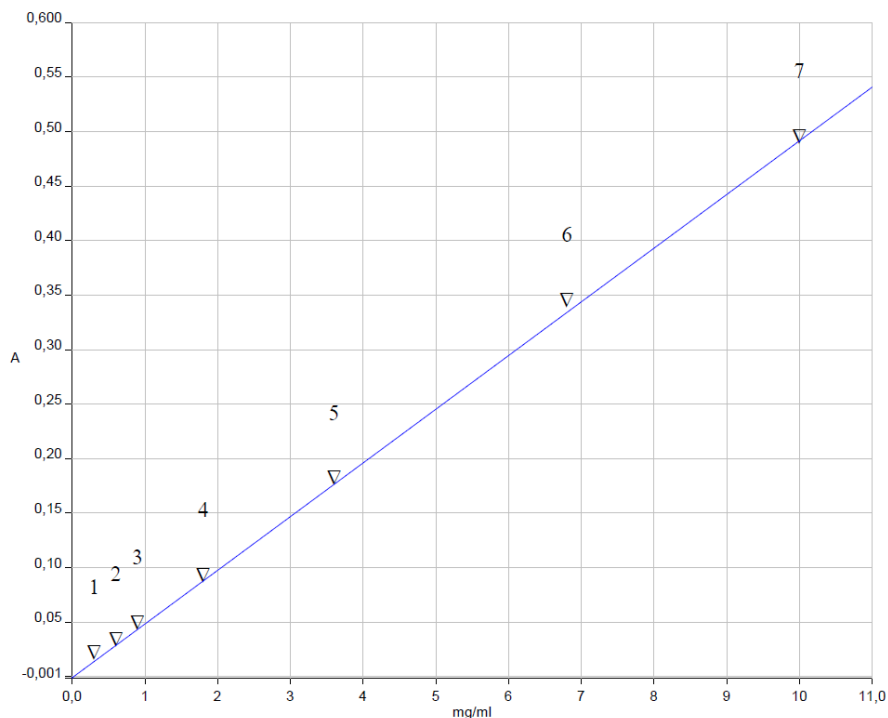


Fig. 7.13. Determinación de linealidad. Curva 1

Resumen

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiplo	0,998118844
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup> :	<b>0,996241227</b>
R <sup>2</sup> ajustado	0,995614764
Error típico	0,013387026
Observaciones	8

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,284995394	0,284995394	<b>1590,265406</b>	1,66189E-08
Residuos	6	0,001075275	0,000179212		
Total	7	0,286070669			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad Superior 95%	Inferior 95%
Intercepción	-0,00095841	0,00632381	-0,15155885	0,884504659	-0,01643222
Pendiente	0,055748637	0,001397975	39,87813193	<b>1,66189E-08</b>	0,052327915

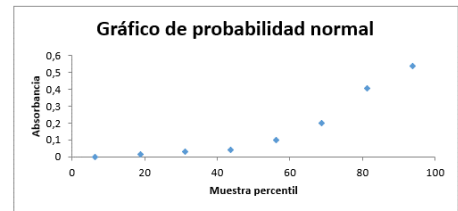
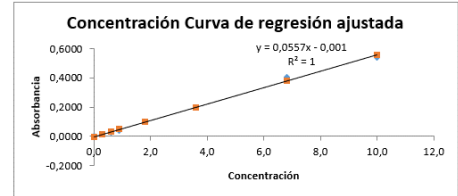
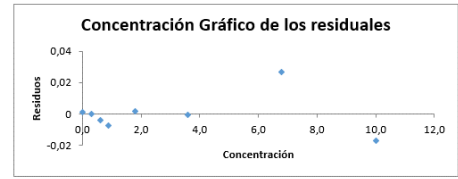
**Pasa por 0 Es >0**

Análisis de los residuales

Observación	Pronóstico Absorbancia	Residuos	Residuos estándares
1	-0,00095841	0,000958411	0,07732873
2	0,01576618	3,38195E-05	0,002728706
3	0,032490772	-0,00379077	-0,30585592
4	0,049215363	-0,00771536	-0,622508981
5	0,099389136	0,001710864	0,138039961
6	0,199736682	-0,00043668	-0,035233411
7	0,37813232	0,02646768	2,135527431
8	0,556527958	-0,01722796	-1,390026516

Resultados de datos de probabilidad

Percentil	Absorbancia
6,25	0
18,75	0,0158
31,25	0,0287
43,75	0,0415
56,25	0,1011
68,75	0,1993
81,25	0,4046
93,75	0,5393



LINEALIDAD ANOVA - RStudio

```

RStudio Console Output:
> cor.test(Absorbancia,Concentración)

Pearson's product-moment correlation

data: Absorbancia and Concentración
t = 39.878, df = 6, p-value = 1.662e-08
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.9891902 0.9996738
sample estimates:
 cor
0.9981188

> Curval=lm(Absorbancia~Concentración)
> summary(Curval)

Call:
lm(formula = Absorbancia ~ Concentración)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.0172280 -0.0047719 -0.0002014  0.0011465  0.0264677

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -0.0009584  0.0063238  -0.152   0.885
Concentración  0.0557486  0.0013980  39.878 1.66e-08 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.01339 on 6 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9962, Adjusted R-squared:  0.9956
F-statistic: 1590 on 1 and 6 DF, p-value: 1.662e-08

> plot(Absorbancia~Concentración)
> abline(Curval)
> #Y real
> #Y estimado
> #Residual= Y real - Y estimado
> Curval$residuals
  Absorbancia Concentración
1  0.00000          0.0
2  0.01580          0.3
3  0.02870          0.6
4  0.04150          0.9
5  0.10110         1.8
6  0.19930         3.6
7  0.40460         6.8
8  0.53930        10.0

> Curval$coefficients
(Intercept) Concentración
-0.0009584106  0.0557486369

> Curval$residuals
  1  2  3  4
9.584106e-04 3.381952e-05 -3.790772e-03 -7.715363e-03
  5  6  7  8
1.710864e-03 -4.366821e-04 2.646768e-02 -1.722796e-02
  
```

Environment: R 4.3.2, Global Environment, 79 MiB

Data: Curval (List of 12), R\_ANOVA (8 obs. of 2 variables)

Fig. 7.14. Linealidad. Curva 1. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2

## CURVA 2

### CALIBRATION

Date: 12/12/2023 Time: 8:42:09  
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
Method: P-VALIDA  
Ordinate mode: Single wavelength  
Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,3000 mg/ml	0,0169
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,6000 mg/ml	0,0331
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,9000 mg/ml	0,0486
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,0955
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1903
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 6,8000 mg/ml	0,3692
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5331

Equation:  $y = 3.829567e-04 + 5.349955e-02 * x$

Residual error: 0,002805

Correlation coefficient: 0,999916

Calibration Curve

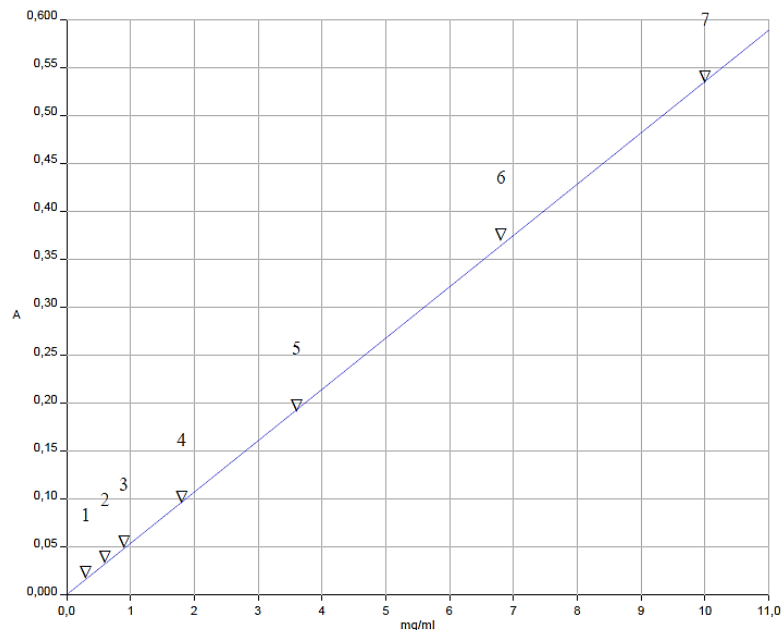


Fig. 7.15. Determinación de linealidad. Curva 2.

Resumen

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,999924418
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,999848842
R <sup>2</sup> ajustado	0,999823648
Error típico	0,002572258
Observaciones	8

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,26259246	0,26259246	39687,44148	1,07937E-12
Residuos	6	3,96991E-05	6,61651E-06		
Total	7	0,262632159			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	0,00029955	0,001215092	0,246524626	0,813493785	-0,00267367	0,003272774
Pendiente	0,05351265	0,000268615	199,2170713	1,07937E-12	0,052853373	0,054169927

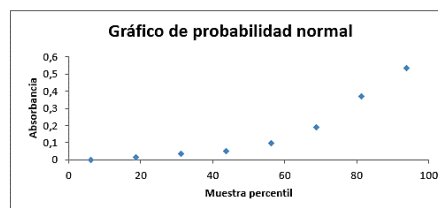
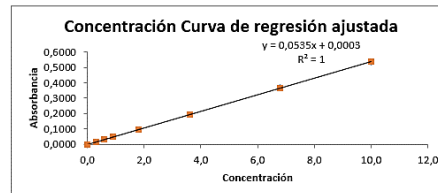
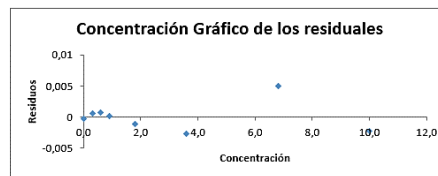
Pasa por 0 Es >0

Análisis de los residuales

Observación	Predicción Absorbancia	Residuos	Residuos estandarizados
1	0,00029955	-0,00029955	-0,125784863
2	0,016353345	0,000546655	0,229547215
3	0,03240714	0,00069286	0,290940531
4	0,048460935	0,000139065	0,058395086
5	0,0962232	-0,00112232	-0,471276243
6	0,19294509	-0,00264509	-1,110706385
7	0,36418557	0,00501443	2,105622009
8	0,53542605	-0,00232605	-0,976737349

Resultados de datos de probabilidad

Percentil	Absorbancia $\alpha$
6,25	0
18,75	0,0169
31,25	0,0331
43,75	0,0486
56,25	0,0955
68,75	0,1903
81,25	0,3692
93,75	0,5331



```

R 4.3.2 - C:/Users/Ps. Karina Fajardo/Desktop/Respaldo 2023/KARINA/ESPOL/R STUDIO CURSO/LINEALIDAD ANOVA/
File Edit Code View Plots Session Build Debug Profile Tools Help
Source Environment History Connections Tutorial
R - Global Environment
Data
  Curva1 List of 12
  Curva2 List of 12
  R_ANOVA 8 obs. of 2 variables
  R_LINEALIDAD2 8 obs. of 2 variables
Files Plots Packages Help Viewer Presentation
Zoom Export Publish
Pearson's product-moment correlation
data: Absorbancia and Concentración
t = 519.05, df = 6, p-value = 3.451e-15
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.9999357 0.9999891
sample estimates:
 cor
0.9999889
> Curva2=lm(Absorbancia~Concentración)
> summary(Curva2)

Call:
lm(formula = Absorbancia ~ Concentración)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.355e-03 -3.747e-04 -5.651e-05  4.103e-04  1.484e-03

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.930e-04  4.423e-04   0.436   0.678
Concentración 5.076e-02  9.779e-05 519.053 3.45e-15 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.0009364 on 6 degrees of freedom
Multiple R-squared:  1.    Adjusted R-squared:  1
F-statistic: 2.694e+05 on 1 and 6 DF, p-value: 3.451e-15

> abline(Curva2)
> #Y real
> #Y estimado
> #Residual=Y real - Y estimado
> Curva2$residuals
Absorbancia Concentración
1 0.0000 0.0
2 0.0155 0.3
3 0.0304 0.6
4 0.0462 0.9
5 0.0902 1.8
6 0.1844 3.6
7 0.3460 6.8
8 0.5070 10.0

> Curva2$coefficients
(Intercept) Concentración
0.0001930344 0.0507564885
> Curva2$residuals
1 2 3 4
-1.930344e-04 8.001908e-05 -2.469275e-04 3.261260e-04
-1.354714e-03 1.483607e-03 6.628435e-04 -7.579198e-04
  
```

Fig. 7.16. Linealidad. Curva 2. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2



### CURVA 3

#### CALIBRATION

-----  
Date: 12/12/2023 Time: 15:09:46  
Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
Method: P-VALIDA  
Ordinate mode: Single wavelength  
Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
Analyst: KARINA FAJARDO

---

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,3000 mg/ml	0,0155
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,6000 mg/ml	0,0304
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,9000 mg/ml	0,0462
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,0902
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1844
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 6,8000 mg/ml	0,3460
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5070

---

Equation:  $y = 2.531409e-04 + 5.074825e-02 * x$

Residual error: 0,001010

Correlation coefficient: 0,999988

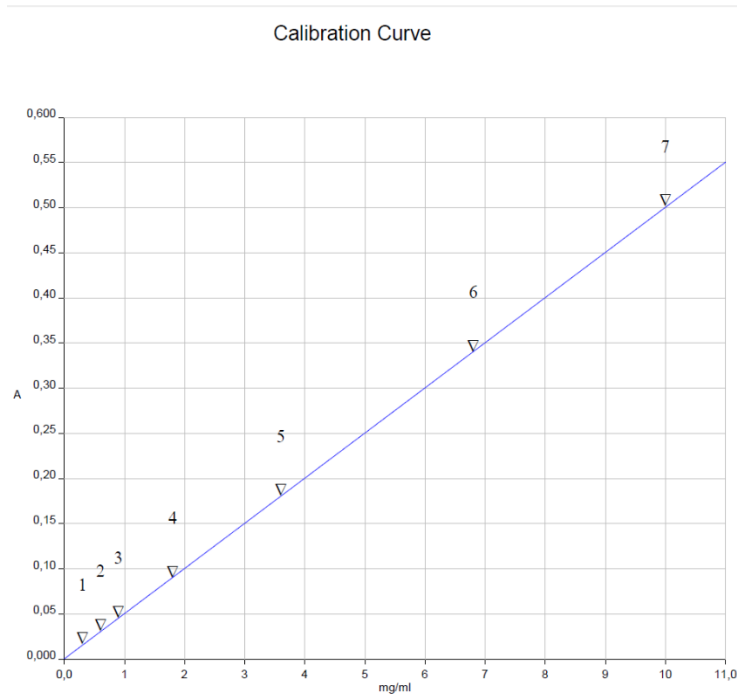


Fig. 7.17. Determinación de linealidad. Curva 3.

Resumen

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltip	0,999988865
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,99997773
R <sup>2</sup> ajustado	0,999974018
Error típico	0,000936406
Observaciones	8

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,236239478	0,236239478	269416,3339	3,45149E-15
Residuos	6	5,26114E-06	8,76857E-07		
Total	7	0,236244739			

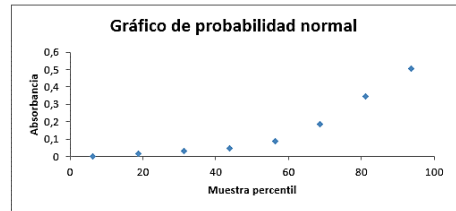
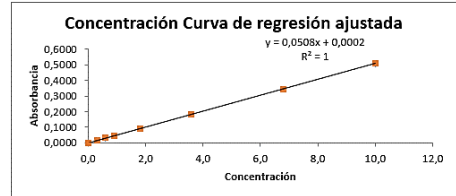
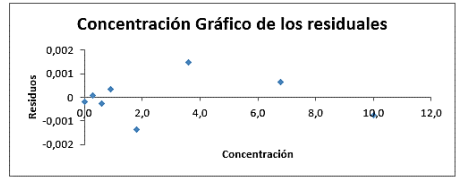
	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad inferior	Superior 95%
Intercepción	0,000193034	0,000442343	0,43639086	0,677818389	-0,00088934
Pendiente	0,050756489	9,77867E-05	519,0533054	3,45149E-15	0,050517213

Análisis de los residuos

Observación	Pronóstico Absorbancia	Residuos	Residuos estándares
1	0,000193034	-0,00019303	-0,222660776
2	0,015419981	8,00191E-05	0,092300211
3	0,030646927	-0,00024693	-0,284825288
4	0,045873874	0,000326126	0,376178943
5	0,091554714	-0,00135471	-1,562631788
6	0,182916393	0,001483607	1,71130711
7	0,345337156	0,000662844	0,764575062
8	0,50775792	-0,00075792	-0,874243474

Resultados de datos de probabilidad

Percentil	Absorbancia
6,25	0
18,75	0,0155
31,25	0,0304
43,75	0,0462
56,25	0,0902
68,75	0,1844
81,25	0,346
93,75	0,507



LINEALIDAD ANOVA - RStudio

```

File Edit Code View Plots Session Build Debug Profile Tools Help
Source Console Terminal Background Jobs
R 4.3.2 - C:/Users/Ps. Karina Fajardo/Desktop/Respaldo 2023/KARINA/ESPOL/R STUDIO CURSO/LINEALIDAD ANOVA/
Pearson's product-moment correlation

data: Absorbancia and Concentración
t = 199.22, df = 6, p-value = 1.079e-12
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.9995638 0.9999869
sample estimates:
 cor
0.9999244

> Curva3=lm(Absorbancia-Concentración)
> summary(Curva3)

Call:
lm(formula = Absorbancia ~ Concentración)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.0026451 -0.0014233 -0.0000802  0.0005832  0.0050144

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(<|t|)
(Intercept) 0.0002996  0.0012151  0.247    0.813
Concentración 0.0535126  0.0002686 199.217 1.08e-12 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.002572 on 6 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9998, Adjusted R-squared:  0.9998
F-statistic: 3.969e+04 on 1 and 6 DF, p-value: 1.079e-12

> plot(Absorbancia-Concentración)
> abline(Curva3)
> #Y real
> #Y estimado
> #Residual= Y real - Y estimado
> Curva3$model

Absorbancia Concentración
1      0.0000      0.0
2      0.0169      0.3
3      0.0331      0.6
4      0.0486      0.9
5      0.0955      1.8
6      0.1903      3.6
7      0.3692      6.8
8      0.5331     10.0

> Curva3$coefficients
(Intercept) Concentración
0.0002995502 0.0535126499

> Curva3$residuals

      1      2      3      4
-0.0002995502 0.0005466549 0.0006928599 0.0001390649
      5      6      7      8
-0.0011223201 -0.0026450900 0.0050144302 -0.0023260496
  
```

Environment History Connections Tutorial

Data

- Curva1 List of 12
- Curva2 List of 12
- Curva3 List of 12
- R\_ANOVA 8 obs. of 2 variables
- R\_LINEALIDAD2 8 obs. of 2 variables
- R\_LINEALIDAD3 8 obs. of 2 variables

Files Plots Packages Help Viewer Presentation

Fig. 7.18. Linealidad. Curva 3. Análisis estadístico Excel y RStudio versión R.4.3.2

	<b>MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LABORATORIOS DE QUÍMICA</b>	Código: GT.RG.ESPOL.VAL-P.RDP.04
	<b>VALIDACIÓN DE P-OLSEN</b>	Fecha: 2023-11-06
	<b>REGISTRO DE DATOS PRIMARIOS</b>	Versión: 01

**LINEALIDAD**

MATERIALES	Marca	Modelo	Serie	Capacidad	incertidumbre	Fecha de calibración	próx calib	certificado
Dispensador olsen	Brand	DISPENSETTE	05C2431	2,5 - 25 ml	0,0036	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-012-23
Dispensador agua	Brand	DISPENSETTE	05C2428	2,5 - 25 ml	0,0038	21/10/2023	2024-10-21	CGC-6386-013-23
Pipeta automática	Eppendorf	Research plus	K38646D	100-1000 uL	1,3	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-007-23
Pipeta automática	Brand	Transferpette S	21H27793	1000-10000 uL	0,012	2023-10-21	2024-10-21	CGC-6386-006-23

REACTIVOS	Marca	Lote	Concentración	Conductividad eléctrica µS/cm	incertidumbre	Fecha de elaboración	Caducidad
Solución patrón: Estándar fósforo (P)	Supelco	BCCG4086	1000 mg/l	n/a	± 4 mg/l	n/a	2024-06-01
Olsen Modificado	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11
Solución A	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11
Solución B	Elaborado en el Laboratorio Químico de CINCAE			n/a	n/a	2023-12-11	2023-12-11
Agua desionizada	n/a	n/a	n/a	0,98	n/a	n/a	n/a
				0,94			
				0,89			

Día 1:

**Linealidad**

Realizar 3 curvas de calibrado en concentraciones de 0,2; 0,4; 0,6; 1,8; 3,6; 7,2 y 10 mg/l P  
 Con base a la determinación del LC, Realizar 3 curvas de calibrado en las concentraciones de 0,3; 0,6; 0,9; 1,8; 3,6; 6,8 y 10 mg/l P

Patrón	Concentración	Absorbancia	Curva de calibrado	C1
Blanco	0,0	0,0000		
Pat 1	0,3	0,0158	Date: 11/12/2023 Time: 14:44:35	
Pat 2	0,6	0,0287	Equation: y = 6.950408e-03 + 5.385114e-02 * x	
Pat 3	0,9	0,0415	Residual error: 0,00556	
Pat 4	1,8	0,1011	Correlation coefficient: 0,999696 <b>coincide con el calculado en excel</b>	
Pat 5	3,6	0,1993		
Pat 6	6,8	0,4046		
Pat 7	10	0,5393		

**ESTIMACIÓN LINEAL**

pendiente	0,055748637	-0,000958411	ordenada
error	0,001397975	0,00632381	error de ord
r <sup>2</sup>	0,996241227	0,013387026	error de y
F	1590,265406	6	GL
suma de cuadrados	0,284995394	0,001075275	suma de cuadrados

**CONDICIONES AMBIENTALES**

Temperatura	21.6°C
Humedad	59%

Patrón	Concentración	Absorbancia	Curva de calibrado	C2
Blanco	0,0	0,0000		
Pat 1	0,3	0,0169	Date: 12/12/2023 Time: 08:42:09	
Pat 2	0,6	0,0331	Equation: y = 3.829567e-04 + 5.349955e-02 * x	
Pat 3	0,9	0,0486	Residual error: 0,002805	
Pat 4	1,8	0,0955	Correlation coefficient: 0,999916 <b>cumple criterio: ≥ 0,995</b>	
Pat 5	3,6	0,1903		
Pat 6	6,8	0,3692		
Pat 7	10	0,5331		

**ESTIMACIÓN LINEAL**

b	0,053513	0,000300	a
sb	0,000269	0,001215	sa
r <sup>2</sup>	0,999849	0,002572	syx
F	39687,44148	6	GL
suma de cuadrados	0,26259246	3,96991E-05	suma de cuadrados

**CONDICIONES AMBIENTALES**

Temperatura	22.2°C
Humedad	60%

Patrón	Concentración	Absorbancia	Curva de calibrado	C3
Blanco	0,0	0,0000		
Pat 1	0,3	0,0155	Date: 12/12/2023 Time: 15:09:46	
Pat 2	0,6	0,0304	Equation: y = 2.531409e-04 + 5.074825e-02 * x	
Pat 3	0,9	0,0462	Residual error: 0,001010	
Pat 4	1,8	0,0902	Correlation coefficient: 0,999988 <b>cumple criterio: ≥ 0,995</b>	
Pat 5	3,6	0,1844		
Pat 6	6,8	0,3460		
Pat 7	10	0,5070		

**ESTIMACIÓN LINEAL**

b	0,050756	0,000193	a
sb	0,000098	0,000442	sa
r <sup>2</sup>	0,999978	0,000936	syx
F	269416,3339	6	GL
suma de cuadrados	0,236239478	5,26114E-06	suma de cuadrados

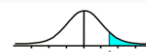
**CONDICIONES AMBIENTALES**

Temperatura	22.2°C
Humedad	60%

**Establecimiento de límites**

	b	a	r <sup>2</sup>	Sb	Sa
c1	0,05575	-0,00096	0,99624	0,00140	0,00632
c2	0,05351	0,00030	0,99985	0,00027	0,00122
c3	0,05076	0,00019	0,99998	0,00010	0,00044
Promedio	0,05334	-0,00016	0,99869	0,00059	0,00266
Máx	0,05575	0,00030	0,99998		
mín	0,05076	-0,00096	0,99624		
t(3GL)	4,3027				
	b-prom	a-prom	r <sup>2</sup> -prom	Sb-prom	Sa-prom
Promedio	0,05334	-0,00016	0,99869	0,00	0,00
Máx	0,05587	0,01129	1,00000	t*Sb-prom	0,00
mín	0,05081	-0,01160	0,99624	t*Sa-prom	0,01

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.95	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321

Fig. 7.19. Registro de datos primarios para el parámetro de Linealidad.

## Apéndice F: Veracidad

Date: 12/01/2024 Time: 14:51:49  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: Exatit.RCO  
 Autozero performed: 12/01/2024 14:46:31  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0 Nb-01	0,0818	1,0000	1,5196 mg/ml
680,0	0,0 Nb-02	0,0889	1,0000	1,6529 mg/ml
680,0	0,0 Nb-03	0,0884	1,0000	1,6445 mg/ml
680,0	0,0 Nb-04	0,0876	1,0000	1,6298 mg/ml
680,0	0,0 Nb-05	0,0797	1,0000	1,4796 mg/ml
680,0	0,0 Nb-06	0,0859	1,0000	1,5966 mg/ml
680,0	0,0 Nm-01	0,2356	1,0000	4,4312 mg/ml
680,0	0,0 Nm-02	0,2315	1,0000	4,3536 mg/ml
680,0	0,0 Nm-03	0,2351	1,0000	4,4214 mg/ml
680,0	0,0 Nm-04	0,2290	1,0000	4,3057 mg/ml
680,0	0,0 Nm-05	0,2342	1,0000	4,4047 mg/ml
680,0	0,0 Nm-06	0,2236	1,0000	4,2050 mg/ml
680,0	0,0 Na-01	0,3108	1,0000	5,8553 mg/ml
680,0	0,0 Na-02	0,3046	1,0000	5,7373 mg/ml
680,0	0,0 Na-03	0,3047	1,0000	5,7388 mg/ml
680,0	0,0 Na-04	0,3027	1,0000	5,7025 mg/ml
680,0	0,0 Na-05	0,2984	1,0000	5,6195 mg/ml
680,0	0,0 Na-06	0,3059	1,0000	5,7614 mg/ml


Fig. 7.20. Determinación de Exactitud en muestras de una intercomparación con RELASE

Nb: 17,13

Nm: 40,59

Na: 62,46

\*A los valores presentados se debe considerar el factor de dilución de 10, correspondiente a la extracción suelo-Olsen Modificado 2,5:25

	<b>MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LABORATORIOS DE QUÍMICA</b> <b>VALIDACIÓN DE P-OLSEN</b>	Código: GT.RG.ESPOLVAL-P.RDP.06
	REGISTRO DE DATOS PRIMARIOS	Fecha: 2023-11-06
		Versión: 01

**EXACTITUD**

**REGISTRO DE PESOS**

código	Réplica	identificación	Concentración mg/ml P	Peso gr	fecha de análisis	Responsable	OBSERVACIONES
Nb-01	1	<b>P - nivel bajo M5</b>	17,13	2,5002	2024-01-12	KMFV	Muestras de la intercomparación de la RELASE
Nb-02	2						
Nb-03	3						
Nb-04	4						
Nb-05	5						
Nb-06	6						
Nm-01	1	<b>P - nivel medio M1</b>	40,59	2,5001			
Nm-02	2						
Nm-03	3						
Nm-04	4						
Nm-05	5						
Nm-06	6						
Na-01	1	<b>P - nivel alto M4</b>	62,46	2,5001			
Na-02	2						
Na-03	3						
Na-04	4						
Na-05	5						
Na-06	6						

**CURVA DE CALIBRADO**

Patrón	Concentración	Absorbancia	Curva de calibrado	LÍMITES DE ACEPTACIÓN PARA LA CURVA	
Pat 1	0,3	0,0152	Date: 12/01/2024 Time: 14:46:31	<b>Máx</b>	<b>mín</b>
Pat 2	0,6	0,0319	Equation: $y = 1.564553e-04 + 5.281492e-02 * x$	b	0,05869786
Pat 3	0,9	0,0526	Residual error: 0,003429	a	0,011291692
Pat 4	1,8	0,1030	Correlation coefficient: 0,999871	r <sup>2</sup>	1
Pat 5	3,6	0,1893	<b>ESTIMACIÓN LINEAL</b> b 0,05276      0,00215 a sb 0,00046      0,00220 sa r <sup>2</sup> 0,99963      0,00411 syx F 13432,5      5 GL suma de cuasad 0,22663      8,43601E-05 suma de cuasad	Valores de a, b y r <sup>2</sup> en azul se ACEPTA la curva	
Pat 6	6,8	0,3570		<b>CONTINUAR ANÁLISIS</b>	
Pat 7	10	0,5323			

**LECTURA DE MUESTRAS**

Estad.	Identificación	Concentración mg/ml P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel bajo MR5</b>	17,13	15,196	88,7	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2			16,529	96,5				
3			16,445	96,0				
4			16,298	95,1				
5			14,796	86,4				
6			15,966	93,2				
X	P - nivel bajo MR5	17,13	15,87	92,7	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
DS			0,72					
CV			4,51					

Estad.	Identificación	Concentración mg/ml P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel medio MR1</b>	40,59	44,312	109,2	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2			43,536	107,3				
3			44,214	108,9				
4			43,057	106,1				
5			44,047	108,5				
6			42,050	103,6				
X	P - medio MR1	40,59	43,20	106,4	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
DS			0,87					
CV			2,01					

Estad.	Identificación	Concentración mg/ml P	Resultado	% Recuperación	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel alto MR4</b>	62,46	58,553	93,7	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2			57,373	91,9				
3			57,388	91,9				
4			57,025	91,3				
5			56,195	90,0				
6			57,614	92,2				
X	P - nivel alto MR4	62,46	57,36	91,8	80 - 110 % de recuperación	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
DS			0,77					
CV			1,34					

**CONDICIONES AMBIENTALES**


	Temperatura	23,4°C
	Humedad	57%

Fig. 7.21. Registro de datos primarios para Exactitud.

## Apéndice G: Repetibilidad

### CALIBRATION

Date: 12/01/2024 Time: 11:16:30  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,3000 mg/ml	0,0115
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,6000 mg/ml	0,0265
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,9000 mg/ml	0,0415
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,1003
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1962
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 6,8000 mg/ml	0,3708
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5461

Equation:  $y = -4.518142e-03 + 5.518571e-02 * x$

Residual error: 0,003271  
 Correlation coefficient: 0,999892


### Concentration Results

Date: 12/01/2024 Time: 11:39:14  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: Repetib.RCO  
 Autozero performed: 12/01/2024 11:35:40  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0	Nb-01	0,0317	1,0000 0,6570 mg/ml
680,0	0,0	Nb-02	0,0308	1,0000 0,6394 mg/ml
680,0	0,0	Nb-03	0,0329	1,0000 0,6777 mg/ml
680,0	0,0	Nb-04	0,0299	1,0000 0,6237 mg/ml
680,0	0,0	Nb-05	0,0331	1,0000 0,6820 mg/ml
680,0	0,0	Nb-06	0,0319	1,0000 0,6594 mg/ml
680,0	0,0	Nm-01	0,2000	1,0000 3,7053 mg/ml
680,0	0,0	Nm-02	0,2051	1,0000 3,7981 mg/ml
680,0	0,0	Nm-03	0,1991	1,0000 3,6904 mg/ml
680,0	0,0	Nm-04	0,2042	1,0000 3,7814 mg/ml
680,0	0,0	Nm-05	0,2042	1,0000 3,7816 mg/ml
680,0	0,0	Nm-06	0,2046	1,0000 3,7899 mg/ml
680,0	0,0	Na-01	0,3825	1,0000 7,0137 mg/ml
680,0	0,0	Na-02	0,3856	1,0000 7,0696 mg/ml
680,0	0,0	Na-03	0,3955	1,0000 7,2489 mg/ml
680,0	0,0	Na-04	0,3857	1,0000 7,0717 mg/ml
680,0	0,0	Na-05	0,3894	1,0000 7,1375 mg/ml
680,0	0,0	Na-06	0,3757	1,0000 6,8893 mg/ml

Fig. 7.22. Resultados de ensayo de Repetibilidad y Reproducibilidad en tres niveles. Día 1. Analista 1

\*A los valores presentados se les debe considerar el factor de dilución de 10, correspondiente a la extracción suelo-Olsen Modificado 2,5:25

	<b>MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LABORATORIOS DE QUÍMICA</b> <b>VALIDACIÓN DE P-OLSEN</b>	Código: GT.RG.ESPOL.VAL-P.RDP.07
	REGISTRO DE DATOS PRIMARIOS	Fecha: 2023-11-06 Versión: 01

**REPETIBILIDAD**

**REPETIBILIDAD**



Día 5:  
 \*Realizar la curva de calibrado  
 \*Analizar una muestra del nivel bajo, una muestra del nivel medio y una muestra del nivel alto; realizar 6 réplicas por cada nivel.

**REGISTRO DE PESOS**

código	Réplica	identificación	Concentración Referencial	Peso gr	fecha de análisis	Responsable	OBSERVACIONES
Nb-01	1	v23pPm1	6,0	2,5000	2024-01-12	Karina Fajardo V	Muestras de los ingenios
Nb-02	2			2,5000			
Nb-03	3			2,5001			
Nb-04	4			2,5000			
Nb-05	5			2,5000			
Nb-06	6			2,5000			
Nm-01	1	v23pPm2	40	2,5002			
Nm-02	2			2,5000			
Nm-03	3			2,5000			
Nm-04	4			2,5001			
Nm-05	5			2,5000			
Nm-06	6			2,5000			
Na-01	1	v23pPm3	70	2,5000			
Na-02	2			2,5002			
Na-03	3			2,5000			
Na-04	4			2,5002			
Na-05	5			2,5000			
Na-06	6			2,5001			

**CURVA DE CALIBRADO**

Patrón	Concentración	Absorbancia	Curva de calibrado	LÍMITES DE ACEPTACIÓN PARA LA CURVA	
Pat 1	0,3	0,0115	Date: 12/01/2024 Time: 11:16:30	<b>Máx</b>	<b>mín</b>
Pat 2	0,6	0,0265	Equation: $y = -4.518142e-03 + 5.518571e-02 * x$	b	0,055869786
Pat 3	0,9	0,0415	Residual error: 0,003271	a	0,011291692
Pat 4	1,8	0,1003	Correlation coefficient: 0,999892	r <sup>2</sup>	1
Pat 5	3,6	0,1962	<b>ESTIMACIÓN LINEAL</b>		
Pat 6	6,8	0,3708	b	0,055189331	-0,004520565 a
Pat 7	10	0,5461	sb	0,000363529	0,001757982 sa
			r <sup>2</sup>	0,999783108	0,003280118 syx
			F	23047,92861	5 GL
			suma de cuadrad	0,247976704	5,37959E-05 suma de cuadrad

Valores de a, b y r<sup>2</sup> en azul se ACEPTA la curva

**CONTINUAR ANÁLISIS**

**LECTURA DE MUESTRAS**

Réplica	PARÁMETRO	Resultado	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel bajo</b>	6,570	CV< 11%	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2		6,394				
3		6,777				
4		6,237				
5		6,820				
6		6,594				
X		6,57				
DS		0,22				
CV		3,39				

Réplica	PARÁMETRO	Resultado	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel medio</b>	37,053	CV< 7,3%	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2		37,981				
3		36,904				
4		37,814				
5		37,816				
6		37,899				
X		37,58				
DS		0,47				
CV		1,25				

Réplica	PARÁMETRO	Resultado	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel alto</b>	70,137	CV< 5,3%	CUMPLE	2024-01-12	Karina Fajardo
2		70,696				
3		72,489				
4		70,717				
5		71,375				
6		68,893				
X		70,72				
DS		1,20				
CV		1,70				



CONDICIONES AMBIENTALES	
	Temperatura 21.7°C
	Humedad 59%

Fig. 7.23. Registro de datos primarios para el Repetibilidad.

## Apéndice H: Precisión intermedia: Reproducibilidad

### Reproducibilidad día2

#### CALIBRATION

Date: 15/01/2024 Time: 10:21:00  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Analyst: TANYA GUILLEN

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,3000 mg/ml	0,0153
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,6000 mg/ml	0,0317
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,9000 mg/ml	0,0456
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,0929
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1903
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 6,8000 mg/ml	0,3536
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5251

Equation:  $y = -6.690156e-04 + 5.246846e-02 * x$

Residual error: 0,001696  
 Correlation coefficient: 0,999968

#### Concentration Results

Date: 15/01/2024 Time: 10:25:14  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: Reprodu2.RCO  
 Autozero performed: 15/01/2024 10:20:59  
 Analyst: TANYA GUILLEN

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0	Nb-01 0,0343	1,0000	0,6655 mg/ml
680,0	0,0	Nb-02 0,0333	1,0000	0,6474 mg/ml
680,0	0,0	Nb-03 0,0320	1,0000	0,6219 mg/ml
680,0	0,0	Nb-04 0,0316	1,0000	0,6150 mg/ml
680,0	0,0	Nb-05 0,0306	1,0000	0,5965 mg/ml
680,0	0,0	Nb-06 0,0338	1,0000	0,6560 mg/ml
680,0	0,0	Nm-01 0,1974	1,0000	3,7744 mg/ml
680,0	0,0	Nm-02 0,1968	1,0000	3,7628 mg/ml
680,0	0,0	Nm-03 0,2037	1,0000	3,8951 mg/ml
680,0	0,0	Nm-04 0,1993	1,0000	3,8122 mg/ml
680,0	0,0	Nm-05 0,2051	1,0000	3,9208 mg/ml
680,0	0,0	Nm-06 0,1994	1,0000	3,8137 mg/ml
680,0	0,0	Na-01 0,3614	1,0000	6,9013 mg/ml
680,0	0,0	Na-02 0,3836	1,0000	7,3238 mg/ml
680,0	0,0	Na-03 0,3833	1,0000	7,3175 mg/ml
680,0	0,0	Na-04 0,3813	1,0000	7,2798 mg/ml
680,0	0,0	Na-05 0,3801	1,0000	7,2573 mg/ml
680,0	0,0	Na-06 0,3802	1,0000	7,2594 mg/ml

Fig. 7.24. Resultados del ensayo de Reproducibilidad en tres niveles. Día 2. Analista 2

\*A los valores presentados se les debe considerar el factor de dilución de 10, correspondiente a la extracción suelo-Olsen Modificado 2,5:25



## Reproducibilidad día3

CALIBRATION

Date: 16/01/2024 Time: 14:59:18  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Analyst: BOLÍVAR AUCATOMA

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value
680,0	0,0	P-VALIDA.A01 0,3000 mg/ml	0,0157
680,0	0,0	P-VALIDA.A02 0,6000 mg/ml	0,0310
680,0	0,0	P-VALIDA.A03 0,9000 mg/ml	0,0465
680,0	0,0	P-VALIDA.A04 1,8000 mg/ml	0,0924
680,0	0,0	P-VALIDA.A05 3,6000 mg/ml	0,1854
680,0	0,0	P-VALIDA.A06 6,8000 mg/ml	0,3468
680,0	0,0	P-VALIDA.A07 10,000 mg/ml	0,5152

Equation:  $y = 4.450254e-05 + 5.136452e-02 * x$

Residual error: 0,001334  
 Correlation coefficient: 0,999979  
 Concentration Results

Date: 16/01/2024 Time: 15:07:07  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: ReprodA3.RCO  
 Autozero performed: 16/01/2024 14:59:18  
 Analyst: BOLÍVAR AUCATOMA

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration
680,0	0,0	Nb-01 0,0340	1,0000	0,6613 mg/ml
680,0	0,0	Nb-02 0,0348	1,0000	0,6768 mg/ml
680,0	0,0	Nb-03 0,0316	1,0000	0,6145 mg/ml
680,0	0,0	Nb-04 0,0353	1,0000	0,6864 mg/ml
680,0	0,0	Nb-05 0,0353	1,0000	0,6870 mg/ml
680,0	0,0	Nb-06 0,0345	1,0000	0,6700 mg/ml
680,0	0,0	Nm-01 0,1934	1,0000	3,7636 mg/ml
680,0	0,0	Nm-02 0,1913	1,0000	3,7231 mg/ml
680,0	0,0	Nm-03 0,1926	1,0000	3,7480 mg/ml
680,0	0,0	Nm-04 0,1902	1,0000	3,7017 mg/ml
680,0	0,0	Nm-05 0,1971	1,0000	3,8374 mg/ml
680,0	0,0	Nm-06 0,1973	1,0000	3,8403 mg/ml
680,0	0,0	Na-01 0,3739	1,0000	7,2785 mg/ml
680,0	0,0	Na-02 0,3611	1,0000	7,0299 mg/ml
680,0	0,0	Na-03 0,3825	1,0000	7,4461 mg/ml
680,0	0,0	Na-04 0,3770	1,0000	7,3392 mg/ml
680,0	0,0	Na-05 0,3847	1,0000	7,4880 mg/ml
680,0	0,0	Na-06 0,3627	1,0000	7,0608 mg/ml

Fig. 7.25. Resultados del ensayo de Reproducibilidad en tres niveles. Día 3. Analista 3

\*A los valores presentados se les debe considerar el factor de dilución de 10, correspondiente a la extracción suelo-Olsen Modificado 2,5:25



**LECTURA DE MUESTRAS**

Réplica	PARÁMETRO	D1 A1	D2 A2	D3 A3	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel bajo</b>	6,570	6,655	6,613	CV< 16% ANOVA	CUMPLE	2024-01-12	Kerina Fajardo
2		6,394	6,474	6,768				
3		6,777	6,219	6,145				
4		6,237	6,150	6,864				
5		6,820	5,965	6,870				
6		6,594	6,560	6,700				
<b>X</b>		<b>6,57</b>	<b>6,34</b>	<b>6,66</b>				
<b>DS</b>		<b>0,22</b>	<b>0,27</b>	<b>0,27</b>				
<b>CV</b>		<b>3,39</b>	<b>4,22</b>	<b>4,06</b>				

Réplica	PARÁMETRO	D1 A1	D2 A2	D3 A3	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel medio</b>	37,053	37,744	37,636	CV< 11% ANOVA	CUMPLE	2024-01-15	Kerina Fajardo
2		37,981	37,628	37,231				
3		36,904	38,951	37,480				
4		37,814	38,122	37,017				
5		37,816	39,208	38,374				
6		37,899	38,137	38,403				
<b>X</b>		<b>37,58</b>	<b>38,30</b>	<b>37,69</b>				
<b>DS</b>		<b>0,47</b>	<b>0,64</b>	<b>0,58</b>				
<b>CV</b>		<b>1,25</b>	<b>1,68</b>	<b>1,54</b>				

Réplica	PARÁMETRO	D1 A1	D2 A2	D3 A3	Criterio de aceptación	Cumple / No cumple	fecha de elaboración	Responsable
1	<b>P - nivel alto</b>	70,137	69,013	72,785	CV< 8% ANOVA	CUMPLE	2024-01-16	Kerina Fajardo
2		70,696	73,238	70,299				
3		72,489	73,175	74,461				
4		70,717	72,798	73,392				
5		71,375	72,573	74,880				
6		68,893	72,594	70,608				
<b>X</b>		<b>70,72</b>	<b>72,23</b>	<b>72,74</b>				
<b>DS</b>		<b>1,20</b>	<b>1,60</b>	<b>1,92</b>				
<b>CV</b>		<b>1,70</b>	<b>2,22</b>	<b>2,64</b>				


CONDICIONES AMBIENTALES		CONDICIONES AMBIENTALES	
	Temperatura	22,5°C	20,5°C
	Humedad	63%	66%

Fig. 7.26. CONTINUACIÓN...Registro de datos primarios para el parámetro de Reproducibilidad.

## Apéndice I: ANOVA

### Nivel bajo

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
D1 A1	6	39,392	6,57	0,0495
D2 A2	6	38,023	6,34	0,0714
D3 A3	6	39,960	6,66	0,0733

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,3305	2	0,1652	2,55275	0,11112798	3,6823
Dentro de los grupos	0,9710	15	0,0647			
Total	1,3015	17				

#### Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSe/MSd Fcalculado	F0.05 Fcritico	p-value a = 0.05	Significación estadística?	s <sup>2</sup> d	se <sup>2</sup>	s <sup>2</sup> t
6,52 mg/l P	2,78	3,68	9,39E-02	<b>No</b>	0,3241	0,0962	0,4204

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 significante

Fig. 7.27. Parámetro de Reproducibilidad, nivel bajo. Análisis de la varianza en Excel

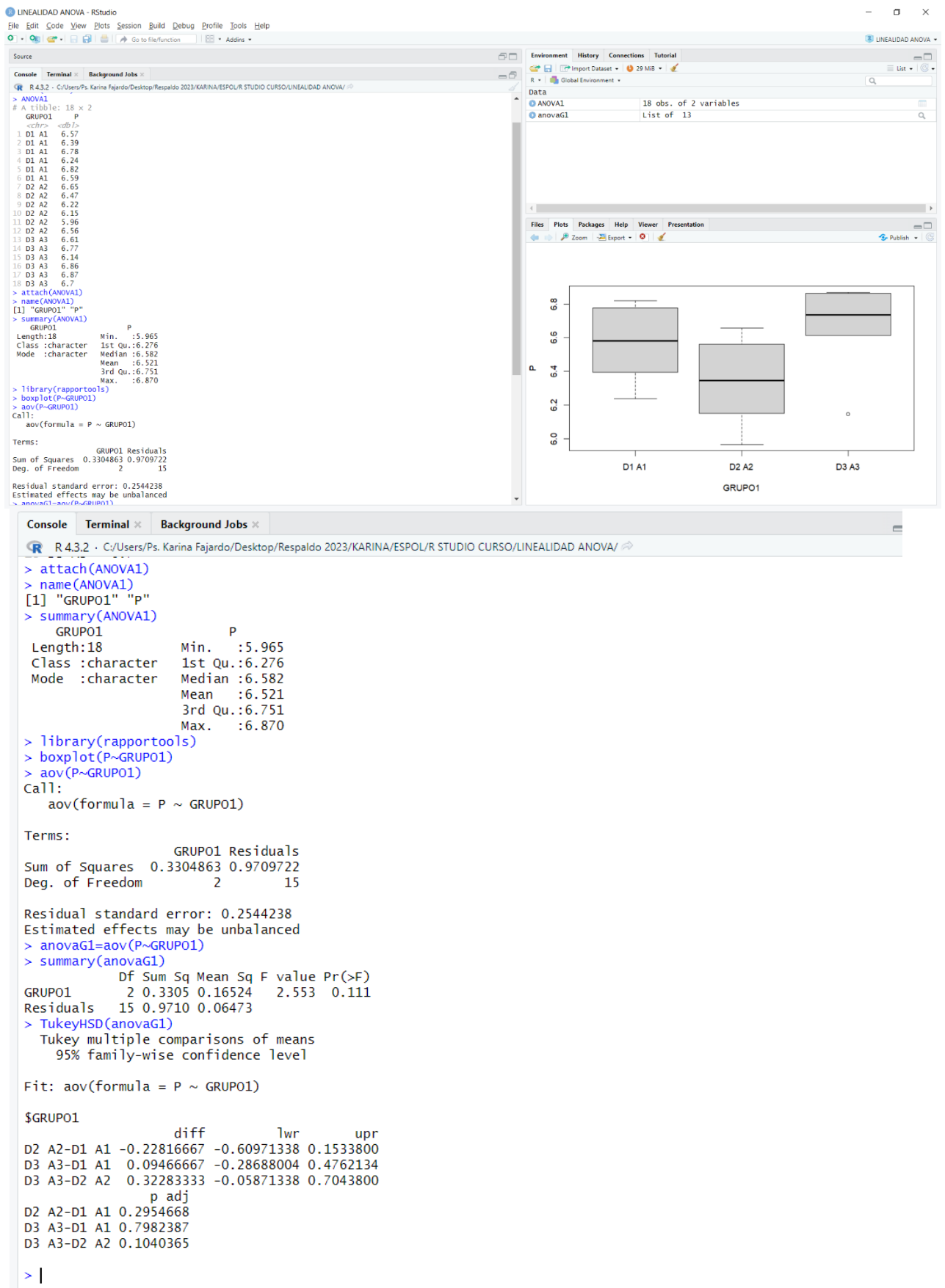


Fig. 7.28. Parámetro de Reproducibilidad nivel bajo. Análisis de la varianza en RStudio

## Nivel medio

Análisis de varianza de un factor

### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
D1 A1	6	225,467	37,58	0,2215
D2 A2	6	229,790	38,30	0,4134
D3 A3	6	226,141	37,69	0,3374

### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,8032	2	0,9016	2,78172	0,09385658	3,6823
Dentro de los grupos	4,8618	15	0,3241			
Total	6,6650	17				

Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSe/MSd	F0.05	p-value	Significación estadística?	s <sup>2</sup> d	se <sup>2</sup>	s <sup>2</sup> t
	Fcalculado	Fcritico	a = 0.05				
37,86 mg/l P	2,78	3,68	9,39E-02	No	0,3241	0,0962	0,4204

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

Fig. 7.29. Parámetro de Reproducibilidad, nivel medio. Análisis de la varianza en Excel

```

Console Terminal Background Jobs
R 4.3.2 · C:/Users/Ps. Karina Fajardo/Desktop/Respaldo 2023/KARINA/ESPOL/R STUDIO CURSO/LINEALIDAD ANOVA/
[workspace loaded from C:/Users/Ps. Karina Fajardo/Desktop/Respaldo 2023/KARINA/ESPOL/R STUDIO RData]

> attach(ANOVA2)
> names(ANOVA2)
[1] "GRUPO2" "P"
> summary(ANOVA2)
  GRUPO2          P
Length:18      Min.   :36.90
Class :character 1st Qu.:37.52
Mode  :character Median :37.81
                Mean  :37.86
                3rd Qu.:38.13
                Max.  :39.21

> boxplot(P~GRUPO2)
> aov(P~GRUPO2)
Call:
aov(formula = P ~ GRUPO2)

Terms:
          GRUPO2 Residuals
Sum of Squares 1.803211 4.861763
Deg. of Freedom      2      15

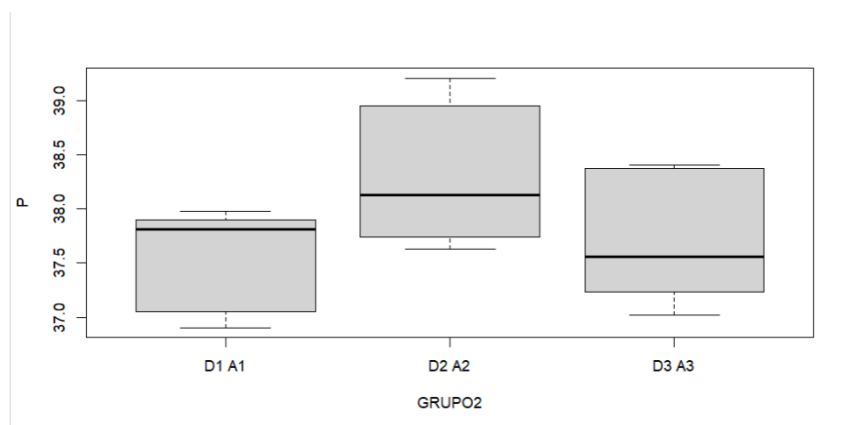
Residual standard error: 0.5693132
Estimated effects may be unbalanced
> anovaG2=aov(P~GRUPO2)
> summary(anovaG2)
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
GRUPO2      2  1.803  0.9016   2.782 0.0939 .
Residuals  15  4.862  0.3241
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

> TukeyHSD(anovaG2)
  Tukey multiple comparisons of means
    95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = P ~ GRUPO2)

$GRUPO2
      diff      lwr      upr    p adj
D2 A2-D1 A1  0.7205000 -0.1332706 1.574271 0.1050988
D3 A3-D1 A1  0.1123333 -0.7414373 0.966104 0.9379096
D3 A3-D2 A2 -0.6081667 -1.4619373 0.245604 0.1874843

```



## Nivel alto

Análisis de varianza de un factor

### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
D1 A1	6	424,307	70,72	1,4474
D2 A2	6	433,391	72,23	2,5662
D3 A3	6	436,425	72,74	3,6945

### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	13,2539	2	6,6269	2,5792	0,108956	3,6823
Dentro de los grupos	38,5401	15	2,5693			
Total	51,7940	17				

Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSe/MSd	F0.05	p-value	Significación estadística?	s <sup>2</sup> d	se <sup>2</sup>	s <sup>2</sup> t
	Fcalculado	Fcritico	a = 0.05				
71,9 mg/l P	2,58	3,68	1,09E-01	No	2,5693	0,6763	3,2456

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

Fig. 7.31. Parámetro de Reproducibilidad, nivel alto. Análisis de la varianza en Excel



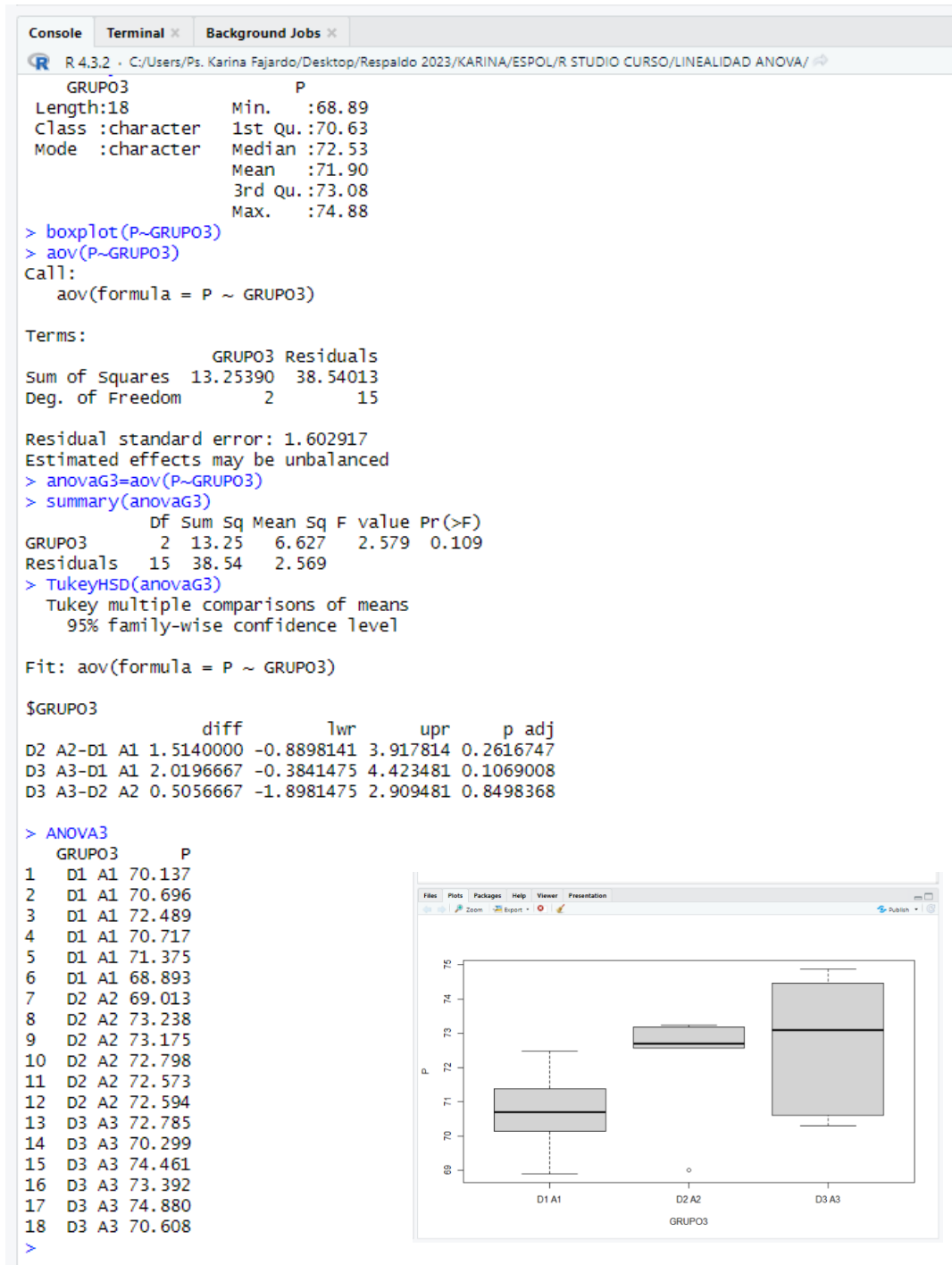


Fig. 7.32. Parámetro de Reproducibilidad nivel alto. Análisis de la varianza en RStudio

## Apéndice J: Estimación de la incertidumbre de la medición

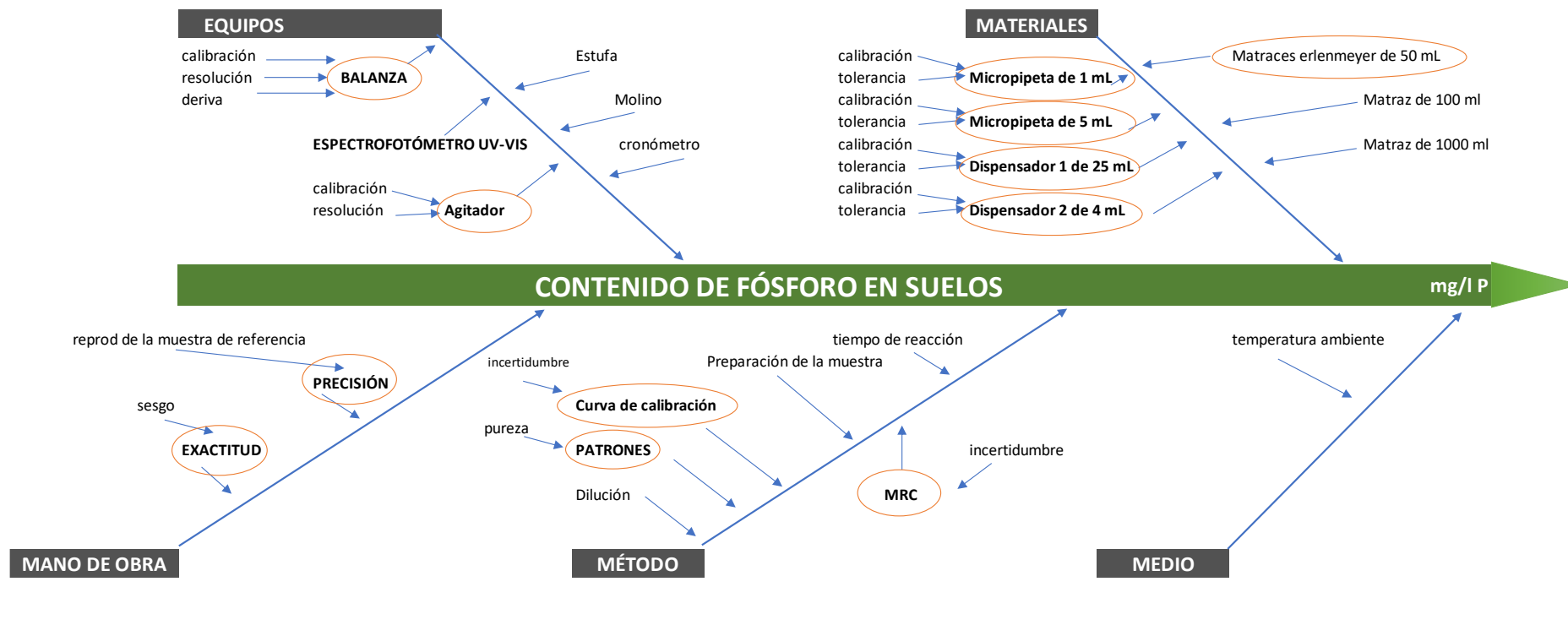


Fig. 7.33. Determinación de la incertidumbre: Diagrama de Ishikawa

**Registro de cálculo de incertidumbre**

PARÁMETRO	FÓSFORO		P mg/l				
MÉTODO	AZUL DE MOLIBDENO		(PESO DE MUESTRA+EXTRACCIÓN+REACTIVOS COLOR)/PESO MUESTRA				
RANGO BAJO: 6,52 mg/l							
FACTORES	MAGNITUD	VALOR DECLARADO/MEDIDO	TIPO DE INCERTIDU MBRE	DISTRIBUCIÓN	DIVISOR	U <sub>i</sub>	unidad
<b>EQUIPOS</b>						<b>0,028</b>	
Balanza	2,5						
resolución		0,0001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,0000577	g
certificado de calibración		0,00009	B	normal	2	0,000045	g
deriva		0,00007	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	3,849E-05	
Micropipeta	1						
resolución		0,001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,00057735	ul
certificado de calibración (1 ml)		0,0013	B	normal	2	0,00065	ul
deriva		-0,0012	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	-0,00069282	ul
Micropipeta	5						
resolución		0,01000	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (5 ml)		0,006	B	normal	2	0,003	ml
deriva		0,01	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,003319764	ml
Dispensador 1	25						
resolución		0,01	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (25 ml)		0,0036	B	normal	2	0,0018	ml
deriva		0,003	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,001934123	ml
Dispensador 2	4						
resolución		0,01	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (4 ml)		0,00038	B	normal	2	0,00019	ml
<b>MATERIALES</b>						<b>0,0317</b>	
Matraz aforado	25						
resolución		0,05	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,028867513	ml
certificado de calibración (25 ml)		0,00570	B	normal	2	0,00285	ml
N/A							
<b>MÉTODO</b>						<b>0,141554046</b>	
MRI5	6,57						
incertidumbre		0,28	B	normal	2	0,1393684	mg/l
Curva de calibración	0,096						
incertidumbre		0,0004	A	normal	2	0,000186046	-
Patrones	1000,2						
pureza		0,0039992	B	normal	2	0,0019996	%
<b>MANO DE OBRA</b>						<b>0,134955107</b>	
Exactitud	6,57						
sesgo		-0,0068	A	normal	2	-0,003389013	%
Precisión	6,57						
Reproducibilidad		0,2767	A	normal	2	0,13834412	%
<b>RESUMEN</b>							
FACTORES	U <sub>i</sub>	U <sub>c</sub>					
EQUIPOS	0,0282402	0,0008					
MATERIALES	0,0317175	0,0010					
MÉTODO	0,1415540	0,0200					
MANO DE OBRA	0,1349551	0,0182					
μc		0,200					
U		0,400					
%U		3,05					
		<b>6,57</b>	<b>3,05 %</b>				

RESUMEN		
FACTORES	U <sub>i</sub>	U <sub>c</sub>
EQUIPOS	0,0282402	0,0008
MATERIALES	0,0317175	0,0010
MÉTODO	0,1415540	0,0200
MANO DE OBRA	0,1349551	0,0182
$\mu_c$		0,200
U		0,400
%U		3,05

**6,57** 3,05 %

RESUMEN		
FACTORES	U <sub>i</sub>	U <sub>c</sub>
EQUIPOS	0,0282402	0,0008
MATERIALES	0,0317175	0,0010
MÉTODO	0,0394395	0,0016
MANO DE OBRA	0,3167978	0,1004
$\mu_c$		0,322
U		0,644
%U		4,90

**37,58** 4,90 %

RESUMEN		
FACTORES	U <sub>i</sub>	U <sub>c</sub>
EQUIPOS	0,0282402	0,0008
MATERIALES	0,0317175	0,0010
MÉTODO	0,0540097	0,0029
MANO DE OBRA	0,8810837	0,7763
$\mu_c$		0,884
U		1,768
%U		13,45

**70,72** 13,45 %

Fig. 7.36. Determinación de la incertidumbre en el niveles bajo, medio y alto

## Apéndice K: Robustez

### Concentration Results

Date: 18/01/2024 Time: 14:50:18  
 Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1  
 Method: P-VALIDA  
 Ordinate mode: Single wavelength  
 Slit: UV/VIS: 1.00 nm  
 Baseline: No correction ( 0,00 0,00 )  
 Result Filename: Robustez.RCO  
 Autozero performed: 18/01/2024 14:44:48  
 Analyst: KARINA FAJARDO

Wavelength(s)	Sample ID	Ordinate	Factor	Concentration	Sample Info
680,0	0,0	Nb-r1	0,0369	1,0000	0,7650 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r2	0,0250	1,0000	0,5380 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r3	0,0352	1,0000	0,7324 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r4	0,0356	1,0000	0,7390 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r5	0,0356	1,0000	0,7396 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r6	0,0357	1,0000	0,7425 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r1	0,2058	1,0000	3,9881 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r2	0,2129	1,0000	4,1240 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r3	0,2083	1,0000	4,0366 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r4	0,2098	1,0000	4,0648 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r5	0,2026	1,0000	3,9276 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nm-r6	0,2042	1,0000	3,9583 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r1	0,3825	1,0000	7,3607 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r2	0,3855	1,0000	7,4181 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r3	0,3858	1,0000	7,4248 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r4	0,3866	1,0000	7,4384 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r5	0,3779	1,0000	7,2725 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Na-r6	0,3849	1,0000	7,4065 mg/ml 1 hora
680,0	0,0	Nb-r1	0,0287	1,0000	0,6085 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nb-r2	0,0283	1,0000	0,6005 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nb-r3	0,0285	1,0000	0,6045 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nb-r4	0,0282	1,0000	0,5974 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nb-r5	0,0315	1,0000	0,6606 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nb-r6	0,0297	1,0000	0,6276 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r1	0,1922	1,0000	3,7287 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r2	0,1973	1,0000	3,8259 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r3	0,1996	1,0000	3,8705 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r4	0,1994	1,0000	3,8663 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r5	0,1947	1,0000	3,7772 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Nm-r6	0,1963	1,0000	3,8077 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r1	0,3712	1,0000	7,1454 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r2	0,3765	1,0000	7,2473 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r3	0,3704	1,0000	7,1297 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r4	0,3705	1,0000	7,1316 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r5	0,3678	1,0000	7,0807 mg/ml 2 hora
680,0	0,0	Na-r6	0,3795	1,0000	7,3030 mg/ml 2 hora

Fig. 7.35. Resultados para el parámetro de Robustez

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	1 hora	2 horas
Media	7,4275	6,16516667
Varianza	0,0129759	0,05793657
Observaciones	6	6
Coeficiente de correlación de	-0,03491427	
Diferencia hipotética de las m	0	
Grados de libertad	5	
<b>Estadístico t</b>	<b>11,4578535</b>	
P(T<=t) una cola	4,4356E-05	
Valor crítico de t (una cola)	2,01504837	
P(T<=t) dos colas	8,8712E-05	
<b>Valor crítico de t (dos colas)</b>	<b>2,57058184</b>	

Fig. 7.36. Prueba de significancia para el parámetro de Robustez

## **Apéndice L: Declaración de Validación del Método.**

### **DECLARACIÓN DE APTITUD DE MÉTODO VALIDADO**

Luego de realizado todo el proceso de validación del **método colorimétrico para la determinación de fósforo disponible en matriz suelos, con extractante Olsen Modificado, en el laboratorio químico del CINCAE**, basado en la metodología de la RELASE, se concluye que se han logrado y cumplido con los objetivos de validación previamente establecidos. Este método es APTO para la determinación del contenido de fósforo asimilable en matriz de suelo por el método espectrofotométrico, en un rango de trabajo es de 3 - 100 mg/l, correspondientes a 3 – 10 mg/Kg en el suelo, con las siguientes incertidumbres:

Nivel Bajo	6,57± 0,40 mg/Kg
Nivel Medio	37,58 ± 0,644 mg/Kg
Nivel Alto	70,72 ± 1,768 mg/Kg

**Dr. Bolívar Aucatoma**

**Jefe del Laboratorio**

**Karina Fajardo Vera**

**Analista**

**Anexo A: Informe de Intercomparación de RELASE (extracto)**

**SOCIEDAD ECUATORIANA DE LA CIENCIA  
DEL SUELO**

**Red de laboratorios de Suelos del Ecuador**

**ENSAYO DE INTERCOMPARACIÓN  
ORGANIZADO POR LA RED DE  
LABORATORIOS DE ANÁLISIS DE  
SUELOS DEL ECUADOR (RELASE)**

**Quito, 12 de abril de 2023**

**4.3 Métodos de ensayo**

La siguiente Tabla muestra las metodologías a ser utilizadas para el análisis de cada parámetro y las unidades en la cuales se reportaron. No obstante, se debe tomar en cuenta que no todos los laboratorios emplearon peso de suelo para los análisis. Por lo que, las unidades serán en peso/peso (p/p) o peso/volumen (p/v).



## Promedios y desviación estándar

Cód	Procedencia	$\bar{X}$	% DS	Z-SCORE
		P mg/Kg	P mg/Kg	
M1	El Oro	40,59	2,80	S
M2	Cerecita	40,75	3,84	S
M3	Manabí	47,50	4,14	S
M4	San Lorenzo	62,46	7,33	S
M5	La Troncal	17,13	1,83	S
M6	Quinindé	13,90	5,39	NS

### 8. Bibliografía

Henriquez, C., Bertsch, F., & Salas, R. (1995). Fertilidad de suelos: Manual de laboratorio. Asociación Costarricense Ciencias del Suelo. San José, Costa Rica.

ISO/IEC. 17025. (2017). Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. UNE-EN ISO/IEC, 17025.

Miller, J. N., & Miller, J. C. (2002). Estadística y quimiometría para química analítica (No. 543.062: 519.23 MIL).

Eurachem/CITAC Working Group, Williams, A., Ellison, S. L. R., & Rosslein, M. (2000). Quantifying uncertainty in analytical measurement. Eurachem.

Gallego, R. S. (2003). Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos (Vol. 4). Publicacions de la Universitat Jaume I.

Fecha de Emisión del Informe: 12 de abril del 2023



Elaborado por:  
Ing. Cristina Cuesta  
Agrocalidad



Aprobado por:  
Mgs. Patricia Garrido  
Agrocalidad

Quito, 12 de abril de 2023

## Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario

Se confiere el presente certificado por la participación en el Ensayo Interlaboratorio de la RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SUELOS (RELEASE) 2022 en matriz de suelo, organizado por Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario de Ecuador\_AGROCALIDAD, al laboratorio:

### Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador

#### Parámetros Satisfactorios:

pH (M1, M2, M3, M5, M6), Carbono Orgánico (M1, M2, M3, M4), Fósforo (M1, M2, M3, M4, M5), Potasio (M1, M2, M3, M4, M5), Calcio (M1), Magnesio (M1, M3, M5), Zinc (M1, M2, M3, M5), Cobre (M1, M4, M5, M6), Manganeso (M1, M2, M3, M4, M5, M6), Hierro (M1, M5).



PATRICIA DE LOS  
ANGELES GARRIDO  
GARRIDO

**Mgs. Patricia Garrido**  
Directora de Diagnóstico Vegetal  
Agrocalidad



LUIS ALVARADO  
RAMOS GUBERNERO

**Dr. Luis Ramos**  
Coordinador General de Laboratorios  
Agrocalidad



**Gobierno  
del Ecuador**

GUILLERMO LASSO  
PRESIDENTE

## Anexo B: Certificado de análisis de estándar de fósforo



www.sigmaldrich.com

### Certificate of Analysis – Certified Reference Material

#### Phosphorus Standard for AAS

**TraceCERT®**  
Traceable Certified Reference Materials

**Product no.:** 51474  
**Lot no.:** BCCG4086  
**Description of CRM:** Phosphoric acid (pure material) in high-purity water (18.20 MΩ·cm, 0.22 μm filtered).  
**Expiry date:** JUL 2024 (unopened bottle in aluminized bag)  
**Storage:** Store at 5°C-25°C  
**Density (certified) at 20°C:** 1000.0 kg m<sup>-3</sup> ± 0.5 kg m<sup>-3</sup>

Constituent	Certified values at 20°C and expanded uncertainties, $U = k \cdot u$ ( $k = 2$ ) <sup>[1][2]</sup>	
Phosphorus	1002 mg kg <sup>-1</sup> ± 4 mg kg <sup>-1</sup>	1002 mg L <sup>-1</sup> ± 4 mg L <sup>-1</sup>

**Metrological traceability:** Directly traceable to NIST SRM 84I, Potassium Hydrogen Phthalate. <sup>[3]</sup>  
**Measurement method:** Acidimetric titration  
**Intended use:** Calibration of AAS, ICP spectrophotometry or any other analytical technique.  
**Instructions for handling and correct use:** The bottle's temperature must be 20°C. Shake well before every use. If storage of a partially used bottle is necessary (at the user's risk), the cap should be tightly sealed and the bottle should be stored at reduced temperature (e.g. refrigerator) to minimize transpiration rate.  
**Health and safety information:** Please refer to the Safety Data Sheet for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.  
**Packaging:** 250 mL HDPE bottle  
**Accreditation:** Sigma-Aldrich Production GmbH is accredited by the Swiss accreditation authority SAS as registered reference material producer SRMS 0001 in accordance with ISO 17034 and registered testing laboratory STS 0490 according to ISO/IEC 17025.<sup>[4][5]</sup>  
**Certificate issue date:** 15 SEP 2021



ISO 17034  
SRMS 0001



ISO/IEC 17025  
STS 0490



ISO 9001  
005356 QM08

*S. Matt*

S. Matt – CRM Operations

*Dr. P. Zell*

Dr. P. Zell – Approving Officer

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland;  
 Tel +41-81-755-2511; Fax +41-81-756-5449; www.sigmaldrich.com  
 Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 1 of 3

Certificate version 01



#### Certification process details:

The certified value of the content (mg/kg) is determined using acidimetric titration. The mean value is based on seven individual measurements. All measurements are traced gravimetrically to an internationally accepted reference material e.g. from NIST (USA) or BAM (Germany).

#### Homogeneity assessment:

Due to the production process, a homogeneous solution derives. Nevertheless a small homogeneity contribution is included into the calculation of content uncertainty of this CRM.

#### Density Measurement:

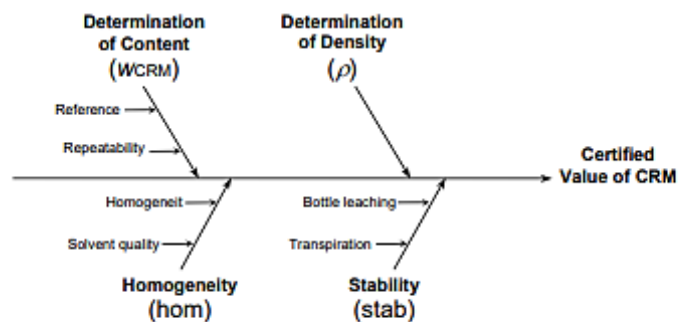
The density measurement is carried out under the scope of the ISO/IEC 17025 accreditation according to ISO 15212-1<sup>[6]</sup> and using the digital density meter DMA 4500M from Anton Paar with an oscillating U-tube installed. The measurement uncertainty is calculated according to Eurachem/CITAC Guide and reported as combined expanded uncertainty at the 95% confidence level, using a coverage factor of  $k = 2$ .

#### Uncertainty evaluation:

The uncertainty contributions are illustrated by the following cause-effect diagram:

Typical relative contributions are:

$u(W_{CRM})$	0.1 – 0.3 %
$u_{hom}$	< 0.03 %
$u_{stab}$	< 0.2 %
$u(\rho)$	< 0.05 %



The combined standard uncertainty is calculated by combination of the standard uncertainties of the input estimates according to Eurachem/CITAC Guide "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" and ISO 17034.<sup>[2][4]</sup>

Expanded uncertainty is then calculated to a confidence level of 95%, typically by multiplying with a confidence level factor of  $k=2$ .

---

**References:**

- [1] ISO Guide 35:2017, "Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability"
- [2] Eurachem/CITAC Guide, 3<sup>rd</sup> Ed. (2012), "Quantifying uncertainty in analytical measurement"
- [3] Eurachem/CITAC Guide, 2<sup>nd</sup> Ed. (2019), "Metrological Traceability in chemical measurement"
- [4] ISO 17034:2016, "General requirements for the competence of reference material producers"
- [5] ISO/IEC 17025:2017, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories"
- [6] DIN EN ISO 15212-1:1998, Oscillation-type density meters - Part 1: Laboratory instruments

**Certificate of analysis revision history:**

Certificate version	Certificate issue date	Reason for version
01	15 SEP 2021	Initial version

**Disclaimer:**

The purchaser must determine the suitability of this product for its particular use. Sigma-Aldrich Production GmbH makes no warranty of any kind, express or implied, other than its products meet all quality control standards set by Sigma-Aldrich Production GmbH. We do not guarantee that the product can be used for a special application.

---

The vibrant M, Supelco, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.  
© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



**Anexo C: Certificado de análisis de reactivos para determinación de P  
BICARBONATO DE SODIO.**



## Certificate of Analysis

1.06329.1000 Sodium hydrogen carbonate for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur  
Batch K54538929

	Spec. Values		Batch Values	
Appearance of solution	passes test		passes test	
Identity	passes test		passes test	
Assay (acidimetric; calculated on dried substance)	99.7 - 100.3	%	100.3	%
Assay (acidimetric)	99.0 - 101.0	%	100.3	%
Insoluble matter	≤ 0.015	%	< 0.005	%
Carbonate (CO <sub>3</sub> )	passes test		passes test	
Chloride (Cl)	≤ 0.002	%	≤ 0.002	%
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 0.0150	%	≤ 0.0150	%
Phosphate and Silicate (as SiO <sub>2</sub> )	≤ 0.005	%	≤ 0.005	%
Sulfur compounds (as SO <sub>4</sub> )	≤ 0.003	%	≤ 0.003	%
Total nitrogen (N)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Ammonium (NH <sub>4</sub> )	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Heavy metals (ACS)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
As (Arsenic)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Ca (Calcium)	≤ 0.0100	%	≤ 0.0100	%
Cu (Copper)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Fe (Iron)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
K (Potassium)	≤ 0.005	%	≤ 0.005	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.005	%	≤ 0.005	%
Pb (Lead)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Iodine reducing matter (as I)	≤ 0.0065	%	≤ 0.0065	%
Loss on drying (Silica gel)	≤ 0.20	%	< 0.01	%

Corresponds to ACS, Reag. Ph Eur

Date of release (DD.MM.YYYY) 14.07.2022  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.07.2027

Claudia Wiegand  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

## EDTA (ácido etilen diaminotetracético)

EDTA, Disodium Salt, Dihydrate, Crystal  
BAKER ANALYZED® A.C.S. Reagent  
(ethylenedinitrilo)tetraacetic acid, disodium salt,  
dihydrate)

 avantor™



Material No.: 8993-01  
Batch No.: 23L0561022  
Manufactured Date: 2022-11-04  
Retest Date: 2029-11-02  
Revision No.: 0

### Certificate of Analysis

Meets ACS Reagent Chemical Requirements.

Test	Specification	Result
Assay (C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> · 2H <sub>2</sub> O)	99.0 – 101.0 %	100.0 %
pH of 5% Solution at 25°C	4.0 – 6.0	4.3
Nitritotriacetic Acid (by polarography)	≤ 0.1 %	< 0.1 %
Heavy Metals (as Pb)	≤ 0.005 %	< 0.003 %
Iron (Fe)	≤ 0.01 %	0.01 %
ACS – Insoluble Matter	≤ 0.005 %	< 0.001 %

For Laboratory, Research, or Manufacturing Use  
Meets Reagent Specifications for testing USP/NF monographs

Country of Origin: USA  
Packaging Site: Paris Mfg Ctr & DC

  
Michelle Bales  
Sr. Manager, Quality Assurance

For questions on this Certificate of Analysis please contact Technical Services at 855.282.6867 or +1.610.386.1700  
Avantor Performance Materials, LLC

100 Matsonford Rd, Suite 200, Radnor, PA 19087. U.S.A. Phone 610.386.1700  
Page 1 of 1

# HIDRÓXIDO DE SODIO



## Certificate of Analysis

1.06498.1000 Sodium hydroxide pellets for analysis EMSURE®  
Batch B1835498

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (acidimetric, NaOH)	≥ 99.0	%	99.4	%
Carbonate (as Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	≤ 1.0	%	0.3	%
Chloride (Cl)	≤ 0.012	%	≤ 0.012	%
Phosphate (PO <sub>4</sub> )	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Silicate (SiO <sub>2</sub> )	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Sulfate (SO <sub>4</sub> )	≤ 0.010	%	≤ 0.010	%
Total nitrogen (N)	≤ 0.0003	%	≤ 0.0003	%
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Al (Aluminium)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
As (Arsenic)	≤ 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Ca (Calcium)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Cu (Copper)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Fe (Iron)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
K (Potassium)	≤ 0.050	%	0.005	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Ni (Nickel)	≤ 0.00025	%	≤ 0.00025	%
Pb (Lead)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Zn (Zinc)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 25.06.2020  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.06.2023

Dr. Dimitrij Ryvlin  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Merck KGaA  
Corporation with General Partners  
Frankfurter Straße 250  
84293 Darmstadt, Germany

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt,  
Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and  
Canada.

Page 1 of 1

SALSA - Version 968754 /5900007506270/ Date: 25.06.2020



# MOLIBDATO DE AMONIO



**LOBA**  
**Chemie**  
LABORATORY REAGENTS  
& FINE CHEMICALS

ISO 9001-2015 CERTIFIED

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

**Product Name** : AMMONIUM MOLYBDATE TETRAHYDRATE AR/ACS  
**Lot No.** : B34473Z2103 **Analyzed On** : 09-Mar-2021  
**Mol. Formula** : (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O **Mol. Weight** : 1235.86  
**Code No.** : 01271 **CAS No.** : 12054-85-2  
**Mfg. Date** : Mar-2021 **Exp. Date** : Feb-2026  
**HAZ. / P.G.** : - **UN No.** : -

Sr.	Tests	Specifications	Results
1	Appearance	White crystalline powder	White crystalline powder
2	Assay	99.3 - 101.8%	99.37%
3	Assay (as MoO <sub>3</sub> )	81 - 83%	81.19%
4	Identity	To pass as per USP	Passes test
5	Insoluble matter	Max 0.005%	<0.005%
6	Chloride (Cl)	Max 0.002%	0.002%
7	Arsenate, phosphate, silicate (PO <sub>4</sub> )	Max 0.001%	0.001%
8	Nitrate (NO <sub>3</sub> )	Passes test	Passes test
9	Phosphate (PO <sub>4</sub> )	Max 0.0005%	0.0005%
10	Heavy metals (by ICP-OES)	Max 0.001%	0.000036%
11	Magnesium (Mg)	Max 0.005%	0.00064%
12	Sodium (Na)	Max 0.01%	0.00056%
13	Potassium (K)	Max 0.01%	0.0015%
14	Sulphate (SO <sub>4</sub> )	Max 0.02%	0.02%
15	Magnesium & alkali salts	Max 0.02%	<0.02%

**CONCLUSION** - This above product complies as per the specifications of **LOBA CHEMIE PVT. LTD.**

### LOBA CHEMIE PVT. LTD.

Works : Plot No. D-22, MIDC, Tarapur Industrial Area, Tarapur, Boisar, Taluka- Palghar, Dist. Palghar, Pin-401506  
Tel: 91.02525-663630/39/34

Regd Office : 107 Wode House Road, Jehanghir Villa, Colaba, Mumbai-400005

Tel: 91.22.6663 6663, Fax: 91.22.22151099

[info@lobachemie.com](mailto:info@lobachemie.com) | [www.lobachemie.com](http://www.lobachemie.com)

LOBA/QC/FM/01

04/10.03.2021

# ÁCIDO SULFÚRICO



ISO 9001-2008 REGISTERED

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name : - SULPHURIC ACID FOR SYNTHESIS  
Mol. Formula : - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Mol. Weight : - 98.08  
Code no. : - 00287  
CAS no. : - 7664-93-9  
Lot no. : - LM02661903  
Mfg date : - MAR-2019  
Exp date : - FEB-2024

Analyzed on: - 16/03/19

Sr. no.	Tests	Specifications	Results
1	Description	A clear colourless, oily liquid	A clear colourless, oily liquid
2	Assay (alkalimetric)	90.0 – 91.0%	90.73%
3	Density (d <sub>20</sub> <sup>4</sup> /4°C)	1.815 – 1.821	1.816
4	Nitrate (NO <sub>3</sub> )	Max. 0.00002%	0.00001%
5	Test for oily & fatty substances	Passes test	Passes test

*This above product complies as per the specifications of LOBA CHEMIE PVT. LTD.*

*This document has been produced electronically and it is valid without signature.*

Loba Chemie Pvt. Ltd.

Works : Plot No. D-22, MIDC, Tarapur Industrial Area, Boisar, Taluka- Palghar, District - Palghar, Pin - 401506 Tel: 91 02525- 663630/8446055330  
Regd office : 107 Wode House Road, Jehanghir Villa, Colaba, Mumbai – 400005 Tel: 91 22 6663 6663, Fax: 91 22 22151099

*info@lobachemie.com . www.lobachemie.com*

LOBA/QC/FM/01

Rev.: 02/01.07.2017

## Anexo D: Informe técnico de espectrofotómetro ultravioleta visible



Informe Técnico de Mantenimiento Preventivo	
Fecha:	10 de noviembre de 2023
Código del informe:	MZIM - 7A1123
Cliente:	CINCAE
Atención:	Dr. Bolívar Aucatoma
Dirección:	Km 49.6 Vía Durán-Tambo, El Triunfo
Teléfono:	0985164222
Ciudad:	Guayaquil
Equipo:	Espectrofluorómetro Ultravioleta Visible
Fabricante:	Perkin Elmer
Modelo:	Lambda 25
Número de serie:	501S12031111
Laboratorio	Química
Fecha de revisión:	7 de noviembre de 2023
Problema reportado:	Mantenimiento preventivo
Trabajo a realizar:	Mantenimiento preventivo

Condiciones ambientales del laboratorio	
Temperatura ambiente	24.9 °C
Humedad relativa	59.9 % HR

Criterios de evaluación	
OK	El equipo funciona de acuerdo a lo recomendado por el fabricante
NO OK	El equipo no funciona de acuerdo a lo recomendado por el fabricante.
*	Se indica que hay una nota al pie de la tabla.

Medición de voltajes del regulador del equipo			
Parámetro	Valor mínimo (Voltios)	Valor máximo (Voltios)	Estado
Voltaje de fase 1 (AC)	34.21	42.84	OK
Voltaje de neutro (AC)	0.552	0.648	OK
Voltaje de tierra (AC)	0.534	0.587	OK (< 5V) <sup>1</sup>
Voltaje total 1 (AC)	106.4	106.9	OK (<10%)
<sup>1</sup> El voltaje debe ser menor a 5V según norma de instalaciones eléctricas.			
<sup>2</sup> La variación es menor al 10%, que es lo que el fabricante recomienda.			

Pruebas antes del mantenimiento	
Encendido del equipo y test de inicio	O.K.
Lectura de filtros certificados	O.K.*
Trabajo con el software	O.K.
Revisión del estado físico del equipo	O.K.
*El anexo 1 contiene las mediciones realizadas.	

Revisión del sistema óptico	
Revisión de espejos	O.K.
Revisión de monocromador (Fotografía 1)	O.K.
Revisión de la rueda de filtros	O.K.
Revisión del detector	O.K.
Limpieza del sistema óptico	O.K.



Fotografía 1

Revisión del sistema eléctrico	
Revisión de la fuente de alimentación.	O.K.
Revisión de la lámpara halógena (Fotografía 2)	O.K.
Revisión de la lámpara de deuterio (Fotografía 2)	O.K.
Revisión de los motores de espejos	O.K.



Fotografía 2

Mantenimiento del sistema electrónico	
Revisión y limpieza de la placa de control (Fotografía 3)	O.K.
Revisión y limpieza de la fuente de poder	O.K.
Revisión y limpieza del detector	O.K.



Fotografía 3

Mantenimiento sistema mecánico	
Revisión y limpieza de los engranajes de la rueda de filtros	O.K.
Revisión del mecanismo de la tapa del compartimento de muestras	O.K.
Revisión y limpieza del compartimento de muestra	O.K.

Limpieza del equipo
---------------------

Limpieza interna	O.K.
Limpieza del compartimento de muestra	O.K.*
Limpieza externa	O.K.

Pruebas de funcionamiento después del mantenimiento	
Encendido del equipo y test de inicio	O.K.
Lectura de filtros certificados	O.K.*
Verificación de la longitud de onda	O.K.*
Validación (Imágenes 1, 2 y 3)	O.K.**

\*El anexo 1 contiene las mediciones realizadas.  
\*\*Los certificados de los filtros usados se encuentran en el Anexo 2

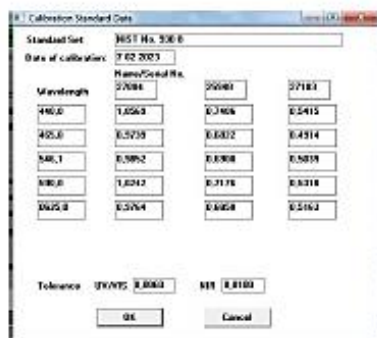


Imagen 1



Imagen 2



Imagen 3

#### Recomendaciones

- Se recomienda mantener limpio el compartimento de muestras.

#### Conclusiones

- El equipo está operativo.



---

Dr. Bolívar Aucatoma  
Responsable del laboratorio de  
Química CINCE

---

Ing. Mauricio Zhingre  
Departamento Técnico  
InstruLabQ

# Anexo E: Certificados de calibración y/o caracterización BALANZA ANALÍTICA



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO  
ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



## CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN Certificate of Calibration N° CGC-6386-017-23

**Cliente:**  
Customer

FIADE FUNDACIÓN DE  
INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR  
DEL ECUADOR

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

**Dirección:**  
Address

CALLE ELIZALDE 114 Y  
PICHINCHA

**Teléfono:**  
Phone Number

85164222

**Persona de Contacto:**  
Contact Person

Bolivar Aucatoma

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.

**Objeto:**  
Item

BALANZA ANALITICA



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historico de Intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografias

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca<sup>(1)</sup>:**  
Manufacturer

NO ESPECIFICA

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Modelo:**  
Model

FA2204b

**No. de Serie:**  
Serial Number

018928

**Identificación:**  
Identification

01255

**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location

LABORATORIO DE QUÍMICA

**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt

2023-10-26

**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date

2023-10-26

**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date

2024-10

**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician

Alex Ubilla

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue

Ing. Savino Pineda / 2023-10-31

Gerente Técnico

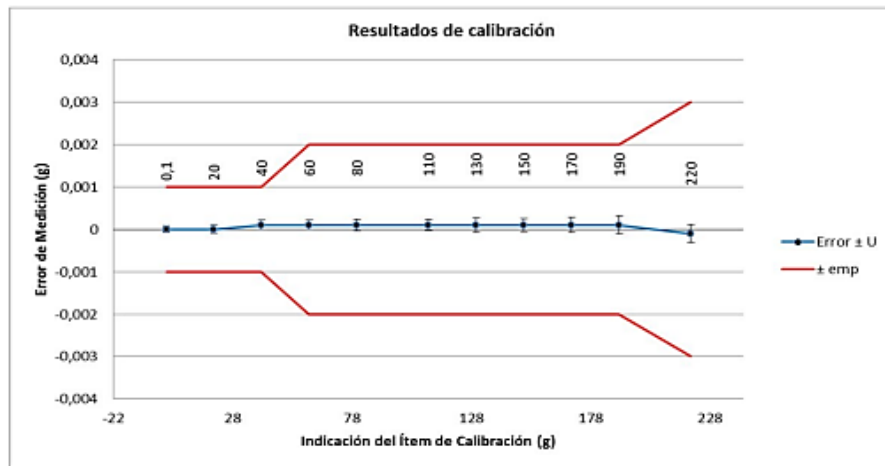
Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-10-31 16:09:37



## Ensayo de Errores de Indicación

Test for errors of indication

Carga de Prueba <i>Test Load</i>	Indicación Ítem <i>Item Reading</i>	Valor Patrón <i>Standard Value</i>	Error de Medición (e) <i>Measurement Error (e)</i>	Incertidumbre (U) <i>Uncertainty (U)</i>	E.M.P. <i>M.P.E.</i>	Factor de Cobertura (k) <i>Coverage factor</i>	Cumplimiento <i>Compliance</i>
g	g	g	g	g	g		
0,05	0,0500	0,050000	0,000000	0,000082	± 0,0010	2,00	Cumple
0,1	0,1000	0,100000	0,000000	0,000082	± 0,0010	2,00	Cumple
20	20,0000	20,000000	0,000000	0,000090	± 0,0010	2,00	Cumple
40	40,0000	39,999990	0,000100	0,000110	± 0,0010	2,00	Cumple
60	60,0000	59,999990	0,000100	0,000110	± 0,0020	2,00	Cumple
80	80,0000	79,999990	0,000100	0,000140	± 0,0020	2,00	Cumple
110	110,0000	109,999990	0,000100	0,000130	± 0,0020	2,00	Cumple
130	130,0000	129,999990	0,000100	0,000170	± 0,0020	2,00	Cumple
150	150,0000	149,999990	0,000100	0,000150	± 0,0020	2,00	Cumple
170	170,0000	169,999990	0,000100	0,000180	± 0,0020	2,00	Cumple
190	190,0000	189,999990	0,000100	0,000210	± 0,0020	2,00	Cumple
220	220,0000	220,000100	-0,000100	0,000210	± 0,0030	2,00	Cumple



Errores Máximos Permitidos <i>Maximum Permissible Errors</i>	
Para cargas de prueba, m: <i>For test loads, m:</i>	emp <i>mpe</i>
g	g
m ≤ 50	0,001
50 < m ≤ 200	0,002
m > 200	0,003

# MULTIPARÁMETRO



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO  
ISO/IEC 17025:2017  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR  
para descargar  
informe original  
con firma  
electrónica en pdf

## CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN Certificate of Calibration N° CGC-7003-001-23

**Cliente:**  
Customer  
FIADE FUNDACIÓN DE  
INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR  
DEL ECUADOR

**Dirección:**  
Address  
AV CONSTITUCION 100 Y AV  
JOAQUIN ORRANTIA

**Teléfono:**  
Phone Number  
85164222

**Persona de Contacto:**  
Contact Person  
Bolívar Aucatoma

**Objeto:**  
Item  
MULTIPARAMETRO

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historico de Intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:**  
Manufacturer  
HORIBA SCIENTIFIC

**Modelo:**  
Model  
F-74

**No. de Serie<sup>(1)</sup>:**  
Serial Number  
NO ESPECIFICA

**Identificación:**  
Identification  
137

**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location  
LABORATORIO DE QUÍMICA

**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt  
2023-11-17

**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date  
2023-11-17

**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date  
2024-11

**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician  
Eduardo Moya

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue  
Ing. Savino Pineda / 2023-11-20

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-11-20 15:25:11



Escanee este QR  
 para descargar  
 informe original  
 con firma  
 electrónica en pdf

**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-7003-001-23**

**Calibración (pH)**

Calibration (pH)

**Método de Calibración:** Comparación directa con Materiales de Referencia Certificados

Calibration Method

**Documento de Referencia:** CEM QU-003:2008 (Edición Digital 1)

Reference Document

**Procedimiento de Calibración:** PEC.EL.11

Calibration Procedure

**Resultados del Ajuste**

Adjustment Results

Valor de Prueba	Temperatura Antes	Valor MRC	Lectura Antes	Temperatura Después	Valor MRC	Lectura Después
Test Value	Temperature Before	CRM Value	As Found	Temperature After	CRM Value	As Left
4,000	25,2 °C	4,006	4,05	25,2 °C	4,006	4,01
7,000	25,1 °C	7,001	7,03	25,1 °C	7,001	7,01
10,000	25,2 °C	10,006	10,04	25,2 °C	10,006	10,01

**Resultados de la Calibración**

Calibration Results

Valor de Prueba	Valor MRC (x)	Indicación Item (y)	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura	Temperatura (t)
Test Value	CRM Value (x)	Item Reading (y)	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature (t)
Unidades de pH	Unidades de pH	Unidades de pH	Unidades de pH	Unidades de pH	k	°C
4,005	4,006	4,01	0,004	0,012	2,00	25,1
7,000	7,000	7,01	0,010	0,012	2,00	25,1
10,012	10,006	10,01	0,004	0,012	2,00	25,2

**Recta de Regresión:**  $y = 1,0000 x + 0,0060$   
 Regression Line

**Coefficiente de Determinación:**  $r^2 = 1,0000$   
 Coefficient of Determination

**Calibración (Conductividad)**

Calibration (Conductivity)

**Método de Calibración:** Comparación directa con Materiales de Referencia Certificados

Calibration Method

**Documento de Referencia:** OIML R 68:1985

Reference Document

**Procedimiento de Calibración:** PEC.EL.12

Calibration Procedure



**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
*Certificate of Calibration*  
**N° CGC-7003-001-23**

**Resultados de la Calibración**  
*Calibration Results*

Unidad de Medida <i>Unit of Measurement</i>	Valor de Prueba <i>Test Value</i>	Valor MRC (x) <i>CRM Value (x)</i>	Indicación Ítem (y) <i>Item Reading (y)</i>	Error de Medición (e) <i>Measurement Error (e)</i>	Incertidumbre (U) <i>Uncertainty (U)</i>	Factor de Cobertura (k) <i>Coverage factor</i>	Temperatura (t) <i>Temperature (°C)</i>
µS/cm	5	4,35	5,03	0,68	0,62	2,00	25,1
µS/cm	10	9,46	10,08	0,62	0,62	2,00	25,1
µS/cm	100	99,6	100,6	1,0	2,1	2,00	25,1

**Recta de Regresión:**  $y = 1,0034 x + 0,5241$   
*Regression Line*

**Coefficiente de Determinación:**  $r = 1,0000$   
*Coefficient of Determination*

**Notas**  
*Notes*

- MRC: Material de Referencia Certificado.
- Se reporta el promedio de tres mediciones por cada valor de prueba.
- La indicación del patrón o el valor del MRC y el error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).

**Para conductímetros:**

- La recta de regresión considera los valores del MRC (x) y del ítem de calibración (y) en µS/cm.
- De acuerdo al intervalo de medida autorizado por el cliente para el ajuste (en caso de haberse realizado), se debe considerar la influencia que tiene esta compensación en valores diferentes a dicho intervalo. Por ejemplo, si el ítem de calibración fue ajustado en rango alto, los resultados obtenidos en rango bajo pueden verse afectados o viceversa. El laboratorio no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado del ítem calibrado.

*- CRM: Certified Reference Material*

*- The average of three measurements in each test value is reported.*

*- The standard reading or CRM value and measurement error (best estimate of the true value) are shown with the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).*

*For Conductivity Meters:*


*- The regression line considers the values of the MRC (x) and of the calibration item (y) in µS/cm.*

*- According to the measurement interval authorized by the customer for the adjustment (if any), the influence of this compensation on values other than that interval must be considered. For example, if the calibration item was adjusted in a high range, low range results may be affected or vice versa. The laboratory is not responsible for any damages that may arise from the improper use of the calibrated item.*

**FO.PEC.11-03 Rev. 01**

# AGITADOR RECÍPROCO

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CGC-6386-019-23

						
<b>IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE</b>						
NOMBRE:	FIADE FUNDACIÓN DE INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR DEL ECUADOR					
DIRECCIÓN:	CALLE ELIZALDE 114 Y PICHINCHA					
TELÉFONO:	85184222					
PERSONA(S) DE CONTACTO:	BOLIVAR ALCATOMA					
<b>IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN</b>						
ÍTEM:	AGITADOR RECÍPROCO	UNIDAD DE MEDIDA:	rpm			
MARCA:	SIEMENS	RESOLUCIÓN:	1			
MODELO:	LOGOI TD	INTERVALO DE MEDIDA <sup>(1)</sup> :	(80 a 280) rpm			
SERIE:	S ZVADNU0038085	UBICACIÓN <sup>(2)</sup> :	LABORATORIO DE QUÍMICA			
CÓDIGO <sup>(3)</sup> :	100					
<b>EQUIPAMIENTO UTILIZADO</b>						
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO
EL.ET.054	TACOMETRO	MITUTOYO	PH 200LC	B 1289508P	2024-01-18	CC-0020-052-23
EL.PT.048	TERMOMIGROMETRO	ELICROM	EC-900	NO ESPECIFICA	2024-01-08	CC-3853-005-23
<b>DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA</b>						
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del NIST (National Institute of Standards and Technology - Estados Unidos) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).						
<b>CALIBRACIÓN</b>						
MÉTODO:	COMPARACIÓN DIRECTA CON PATRONES DE REFERENCIA					
PROCEDIMIENTO:	PEC.ELPG					
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE QUÍMICA					
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	25,5 °C	±0,4 °C				
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	58,0 %HR	±0,3 %HR				
<b>RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN</b>						
Unidad de Medida	Lectura Ítem	Lectura Patrón	Error de Medición	Incertidumbre	Factor de cobertura (k)	
rpm	200	198,8	1,4	1,7	2,00	
<b>OBSERVACIONES</b>						
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración.						
NOTA: La lectura del patrón y el error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).						
<sup>(1)</sup> Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.						
<sup>(2)</sup> Información tomada de las especificaciones del ítem de calibración (proporcionada por el fabricante).						
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Alex Ubillé					
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2023-10-26	FECHA DE EMISIÓN:	2023-10-30			
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2023-10-26	FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2024-10			



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:




Ing. Savino Pinola  
Gerente Técnico



Firma electrónica

**DOCUMENTOS DE RESPALDO AL CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No:  
CGC-6386-019-23  
TACÓMETRO**

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-0020-052-23

		 					
<b>IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE</b>							
NOMBRE:	ELICROM CIA. LTDA.						
DIRECCIÓN:	CDLA. GUAYAQUIL, CALLE 1RA. MZ 21 SL 10						
TELÉFONO:	2282007						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	CAMILO MORENO						
<b>IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN</b>							
ÍTEM:	TACOMETRO DE NO CONTACTO	UNIDAD DE MEDIDA:	rpm (Revoluciones por minuto)				
MARCA:	MITUTOYO	RESOLUCIÓN:	0.1 : 1				
MODELO:	PH-200LC	INTERVALO DE MEDIDA <sup>1)</sup> :	(8 a 20000)				
SERIE:	B1289506P	UBICACIÓN <sup>1)</sup> :	BODEGA CUSTODIA DE PATRONES				
CÓDIGO <sup>1)</sup> :	EL.ET.054						
<b>EQUIPAMIENTO UTILIZADO</b>							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
EL.PT.1412	CALIBRADOR MULTIFUNCIÓN	TRANSMILLE	3041A	L1577L19	2023-11-07	CC-2301-031-22	
EL.PT.1412.01	ESTACIÓN DE TRABAJO PINZAS AMPERIMÉTRICAS	TRANSMILLE	EA015	112986C20	2024-11-02	AC-28079	
EL.PT.385	TERMOMGRÓMETRO	CENTER	342	190801459	2023-03-30	CC-1187-005-22	
<b>DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA</b>							
Los resultados de calibración contenidos en este informe son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del NPL (National Physical Laboratory – Reino Unido) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INM).							
<b>CALIBRACIÓN</b>							
MÉTODO:	COMPARACIÓN DIRECTA CON LUZ ESTROBOSCÓPICA EN ESTACIÓN DE TRABAJO Y CALIBRADOR MULTIFUNCIÓN						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	GUÍA: CALIBRACIÓN DE TACÓMETROS ÓPTICOS (INM-COLOMBIA)						
PROCEDIMIENTO:	PEC.EL.44						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE ELÉCTRICA Y ÓPTICA (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	22,2 °C	±0,2 °C					
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	51,8 %HR	±0,4 %HR					
<b>RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN</b>							
Lectura Ítem	Lectura Patrón	Error de Medición		Incertidumbre		emp <sup>1)</sup>	Cumplimiento
rpm	rpm	rpm	s <sup>1)</sup>	rpm	s <sup>1)</sup>	rpm	
240,0	240,0	0,0	0,0000	1,5	0,0019	0,5	Cumple
1000	1000,0	0,0	0,0000	1,0	0,0098	2,0	Cumple
5000	5000,0	0,0	0,000	1,1	0,010	10,0	Cumple
10000	10000,0	0,0	0,000	1,5	0,015	20,0	Cumple
20000	20000,0	0,0	0,000	1,9	0,015	40,0	Cumple
<b>OBSERVACIONES</b>							
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración.							
NOTA: La lectura del patrón y el error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.5 de la GUM).							
<sup>1)</sup> Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.							
<sup>2)</sup> Información tomada de las especificaciones del ítem de calibración (proporcionada por el fabricante).							
<b>INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD</b>							
Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si cumple los siguientes criterios: a) La mejor estimación e del error de medición es menor o igual al error máximo permitido:  e  ≤ emp b) La incertidumbre expandida de medición asociada a la estimación e es menor o igual a un tercio del error máximo permitido (emp): U ≤ emp/3.							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Dario Cepilo						
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2023-01-13	FECHA DE EMISIÓN:	2023-01-18				
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2023-01-18	FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2024-01-18				



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:

Ing. Sergio Pineda  
Gerente Técnico



Firma electrónica

# TERMOHIGRÓMETRO



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CC-3853-005-23**



<b>Cliente:</b> <i>Customer</i>	ELICROM CIA. LTDA.	Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)
<b>Dirección:</b> <i>Address</i>	CDLA. GUAYAQUIL, CALLE 1RA. MZ 21 SL 10	
<b>Teléfono:</b> <i>Phone Number</i>	2282007	
<b>Persona de Contacto:</b> <i>Contact Person</i>	Camilo Moreno	Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.
<b>Objeto:</b> <i>Item</i>	TERMOHIGRÓMETRO 	This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)
<b>Marca:</b> <i>Manufacturer</i>	ELICROM	
<b>Modelo:</b> <i>Model</i>	EC900	In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.
<b>No. de Serie<sup>(1)</sup>:</b> <i>Serial Number</i>	NO ESPECIFICA	
<b>Identificación:</b> <i>Identification</i>	EL.PT.046	
<b>Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:</b> <i>Item Location</i>	BODEGA CUSTODIA DE PATRONES	
<b>Fecha de Recepción:</b> <i>Date of Receipt</i>	2023-07-05	
<b>Fecha de Calibración:</b> <i>Calibration Date</i>	2023-07-06	
<b>Próxima Fecha de Calibración:</b> <i>Due Date</i>	2024-01	
<b>Técnico Responsable:</b> <i>Responsible Technician</i>	Dario Carpio	

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:** Ing. Savino Pineda / 2023-07-07  
*Person authorizing / Date of Issue*

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-07-07 14:45:42

# DISPENSADOR (OLSEN MODIFICADO)



Escanee este QR para descargar Informe original con firma electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-012-23**

**Cliente:**  
Customer

FIADE FUNDACIÓN DE INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR DEL ECUADOR

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

**Dirección:**  
Address

CALLE ELIZALDE 114 Y PICHINCHA

**Teléfono:**  
Phone Number

85184222

**Persona de Contacto:**  
Contact Person

Bolivar Aucatoma

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.

**Objeto:**  
Item

DISPENSADOR



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historio de Intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:**  
Manufacturer

BRAND

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Modelo:**  
Model

DISPENSETTE

**No. de Serie:**  
Serial Number

05C2431

**Identificación:**  
Identification

118

**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location

LABORATORIO DE QUÍMICA

**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt

2023-10-20

**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date

2023-10-21

**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date

2024-10

**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician

Alexander Cedeno

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue

Ing. Savino Pineda / 2023-10-25

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090523155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-10-25 12:28:36





Escanee este QR  
 para descargar  
 informe original  
 con firma  
 electrónica en pdf

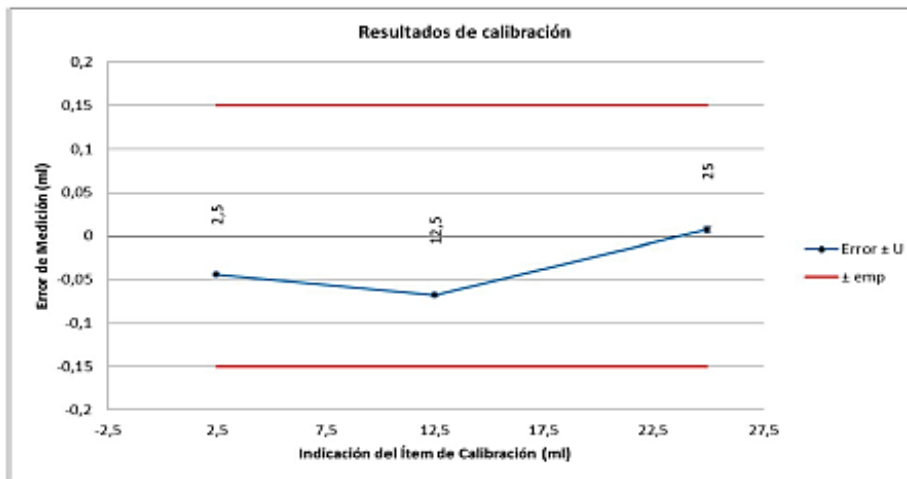
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
*Certificate of Calibration*  
**N° CGC-6386-012-23**



**Resultados de la Calibración**

*Calibration Results*

Valor de Prueba <i>Test Value</i>	Volumen Medido <i>Measured Volume</i>	Error de Medición (e) <i>Measurement Error (e)</i>	Incertidumbre (U) <i>Uncertainty (U)</i>	Factor de Cobertura (k) <i>Coverage factor</i>	Temperatura <sup>10)</sup> <i>Temperature</i>	E.M.P. <i>M.P.E.</i>	Cumplimiento <i>Compliance</i>
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
25	25,0070	0,0070	0,0036	2,00	21,2	0,15	Cumple
12,5	12,4317	-0,0683	0,0018	2,00	21,2	0,15	Cumple
2,5	2,45535	-0,04465	0,00039	2,00	21,2	0,15	Cumple



**Notas**

*Notes*

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.

- Reference Temperature: 20 °C

- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).

- Ten measurements have been performed for each test value.

# DISPENSADOR (AGUA)



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR  
para descargar  
informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-013-23**



**Cliente:**  
Customer

FIADE FUNDACIÓN DE  
INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR  
DEL ECUADOR

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

**Dirección:**  
Address

CALLE ELIZALDE 114 Y  
PICHINCHA

**Teléfono:**  
Phone Number

85164222

**Persona de Contacto:**  
Contact Person

Bolivar Aucatoma

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.

**Objeto:**  
Item

DISPENSADOR



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historico de intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:**  
Manufacturer

BRAND

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Modelo:**  
Model

DISPENSETTE

**No. de Serie:**  
Serial Number

05C2428

**Identificación:**  
Identification

115

**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location

LABORATORIO DE QUÍMICA

**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt

2023-10-20

**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date

2023-10-21

**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date

2024-10

**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician

Alexander Cedeno

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue

Ing. Savino Pineda / 2023-10-25

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, c=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-10-25 15:33:19



Escanee este QR para descargar el informe original con firma electrónica en pdf

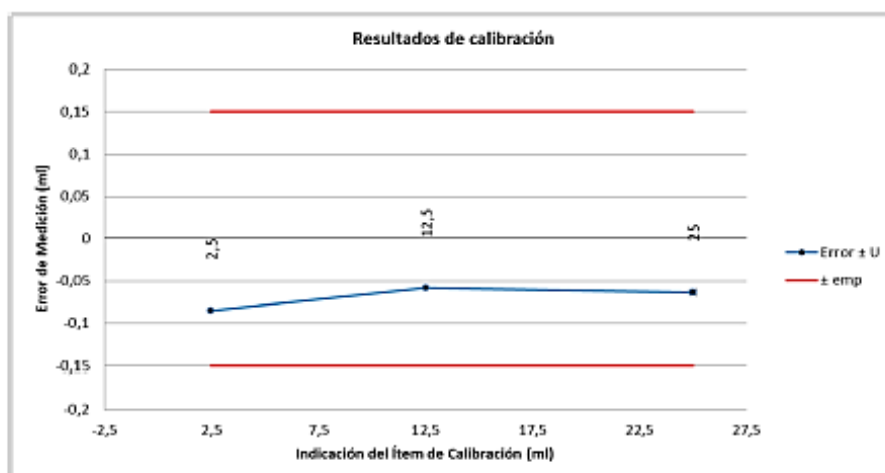
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
 N° CGC-6386-013-23



**Resultados de la Calibración**

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
25	24,9368	-0,0632	0,0036	2,00	21,2	0,15	Cumple
12,5	12,4417	-0,0583	0,0018	2,00	21,2	0,15	Cumple
2,5	2,41524	-0,08476	0,00038	2,00	21,2	0,15	Cumple



**Notas**

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.8 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

# PIPETA AUTOMATICA 100 - 1000 µl



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-007-23**

**Cliente:** FIADE FUNDACIÓN DE INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR DEL ECUADOR  
**Dirección:** CALLE ELIZALDE 114 Y PICHINCHA  
**Teléfono:** 85184222  
**Persona de Contacto:** Bolivar Aucatoma  
**Objeto:** PIPETA DE PISTON

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historio de intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:** EPPENDORF  
**Modelo:** RESEARCH PLUS  
**No. de Serie:** K38846D  
**Identificación:** 129  
**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:** LABORATORIO DE QUÍMICA  
**Fecha de Recepción:** 2023-10-20  
**Fecha de Calibración:** 2023-10-21  
**Próxima Fecha de Calibración:** 2024-10  
**Técnico Responsable:** Alexander Cedeno

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:** Ing. Savino Pineda / 2023-10-26  
*Person authorizing / Date of Issue*

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-10-26 19:18:54



Escanee este QR para descargar Informe original con firma electrónica en pdf

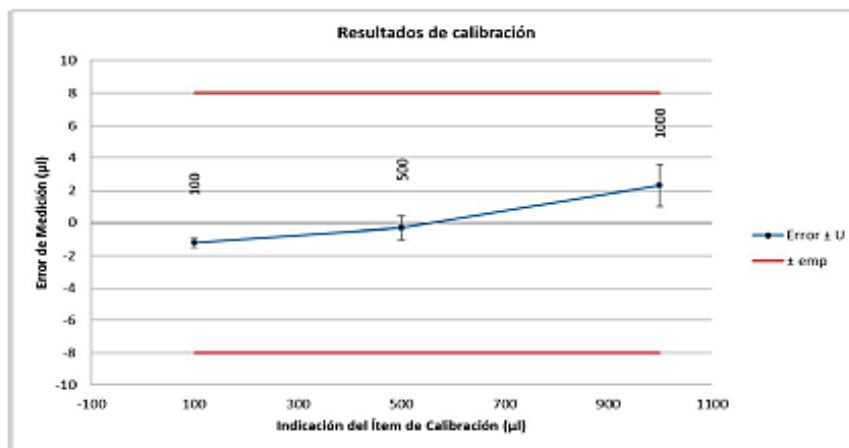
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-007-23**



**Resultados de la Calibración**

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
$\mu\text{l}$	$\mu\text{l}$	$\mu\text{l}$	$\mu\text{l}$		$^{\circ}\text{C}$	$\mu\text{l}$	
1000	1002,3	2,3	1,3	2,01	21,1	8	Cumple
500	499,70	-0,30	0,72	2,02	21,1	8	Cumple
100	98,78	-1,22	0,27	2,06	21,1	8	Cumple



**Notas**

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.

- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

# PIPETA AUTOMÁTICA DE 1 – 10 ml



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-006-23**



**Cliente:**  
Customer

FIADE FUNDACIÓN DE  
INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR  
DEL ECUADOR

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

**Dirección:**  
Address

CALLE ELIZALDE 114 Y  
PICHINCHA

**Teléfono:**  
Phone Number

85164222

**Persona de Contacto:**  
Contact Person

Bolivar Aucatoma

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.

**Objeto:**  
Item

PIPETA DE PISTON



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historio de intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:**  
Manufacturer

BRAND

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Modelo:**  
Model

TRANSFERPETTE S

**No. de Serie:**  
Serial Number

21H27793

**Identificación<sup>(1)</sup>:**  
Identification

NO ESPECIFICA

**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location

LABORATORIO DE QUÍMICA

**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt

2023-10-20

**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date

2023-10-21

**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date

2024-10

**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician

Alexander Cedeno

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue

Ing. Savino Pineda / 2023-10-25

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=030523155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2023-10-25 12:26:41



Escanee este QR  
 para descargar  
 Informe original  
 con firma  
 electrónica en pdf

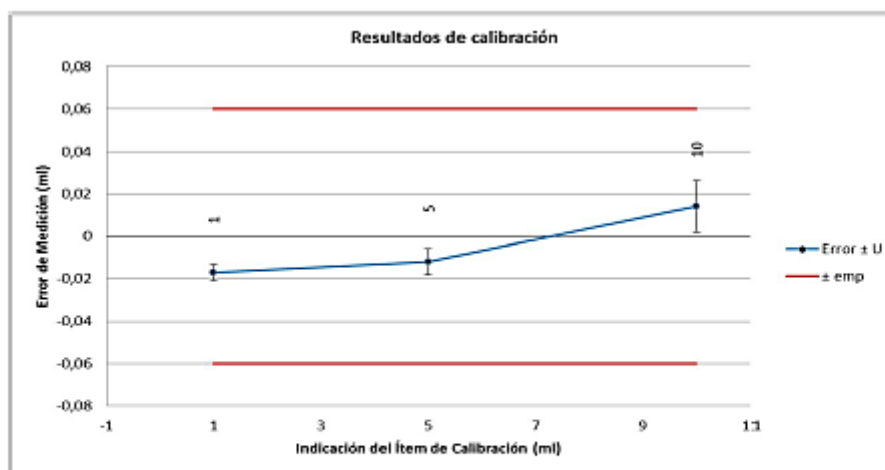
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-6386-006-23**



**Resultados de la Calibración**

Calibration Results

Valor de Prueba Test Value	Volumen Medido Measured Volume	Error de Medición (e) Measurement Error (e)	Incertidumbre (U) Uncertainty (U)	Factor de Cobertura (k) Coverage factor	Temperatura <sup>(a)</sup> Temperature	E.M.P. M.P.E.	Cumplimiento Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
10	10,014	0,014	0,012	2,00	21,1	0,05	Cumple
5	4,9880	-0,0120	0,0050	2,00	21,1	0,05	Cumple
1	0,9828	-0,0172	0,0037	2,25	21,1	0,05	Cumple



**Notas**

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.8 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.8).
- Ten measurements have been performed for each test value.

# MATRACES VOLUMÉTRICOS 50 ml



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-001-24**

**Cliente:**  
Customer  
**Dirección:**  
Address  
**Teléfono:**  
Phone Number  
**Persona de Contacto:**  
Contact Person  
**Objeto:**  
Item

FIADE FUNDACIÓN DE  
INVESTIGACIONES DEL AZÚCAR  
DEL ECUADOR  
AV CONSTITUCION 100 Y AV  
JOAQUIN ORRANTIA  
85164222  
Bolívar Aucatoma  
MATRAZ AFORADO

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.



Escanee este QR y encuentre:  
Etiqueta electrónica  
Certificados originales en pdf  
Historico de Intervenciones  
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

**Marca:**  
Manufacturer  
**Modelo:**  
Model  
**No. de Serie<sup>(1)</sup>:**  
Serial Number  
**Identificación:**  
Identification  
**Ubicación del Objeto<sup>(1)</sup>:**  
Item Location  
**Fecha de Recepción:**  
Date of Receipt  
**Fecha de Calibración:**  
Calibration Date  
**Próxima Fecha de Calibración:**  
Due Date  
**Técnico Responsable:**  
Responsible Technician

PYREX  
5680  
NO ESPECIFICA  
E-37017  
NO ESPECIFICA  
2024-01-03  
2024-01-03  
-  
Ronald Arias

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

**Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:**  
Person authorizing / Date of Issue  
Ing. Savino Pineda / 2024-01-04

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090623155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC  
Fecha: 2024-01-04 07:52:33



## Identificación: E-37017



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
 Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR  
 para descargar  
 informe original  
 con firma  
 electrónica en pdf

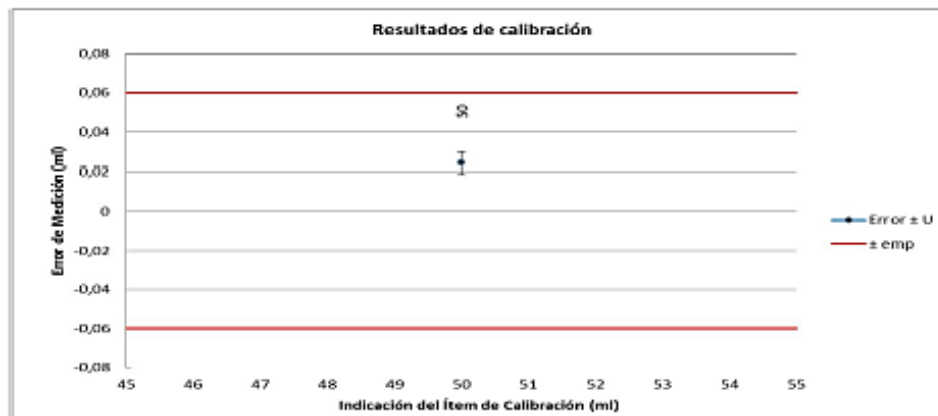
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-001-24**



### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba Test Value	Volumen Medido Measured Volume	Error de Medición (e) Measurement Error (e)	Incertidumbre (U) Uncertainty (U)	Factor de Cobertura (k) Coverage factor	Temperatura <sup>(a)</sup> Temperature	E.M.P. M.P.E.	Cumplimiento Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	Compliance
50	50,0242	0,0242	0,0057	2,00	21,7	0,05	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

# Identificación: E-37018



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
*Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017*

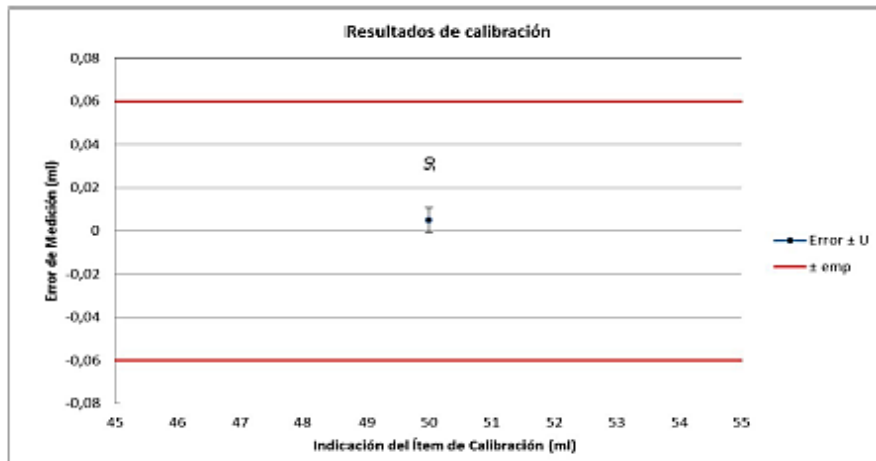


**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
*Certificate of Calibration*  
**N° CGC-0037-002-24**

**Resultados de la Calibración**

*Calibration Results*

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (K)	Temperatura <sup>ref</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
<i>Test Value</i>	<i>Measured Volume</i>	<i>Measurement Error (e)</i>	<i>Uncertainty (U)</i>	<i>Coverage factor</i>	<i>Temperature</i>	<i>M.P.E.</i>	<i>Compliance</i>
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
50	50,0048	0,0048	0,0058	2,00	21,7	0,05	Cumple



**Notas**

*Notes*

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

## Identificación: E-37019



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017

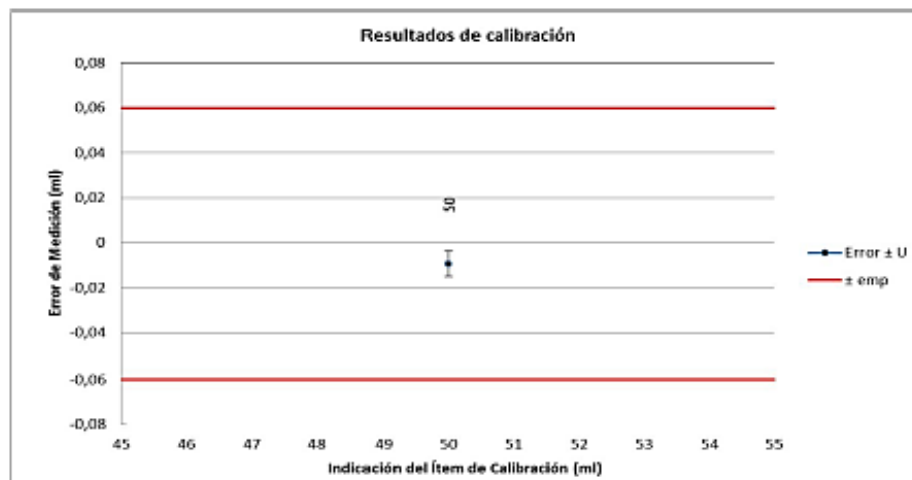
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-003-24**



### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	Compliance
50	49,9907	-0,0093	0,0057	2,00	21,7	0,06	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.

- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

## Identificación: E-37020



Escanee este QR  
para descargar  
informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017

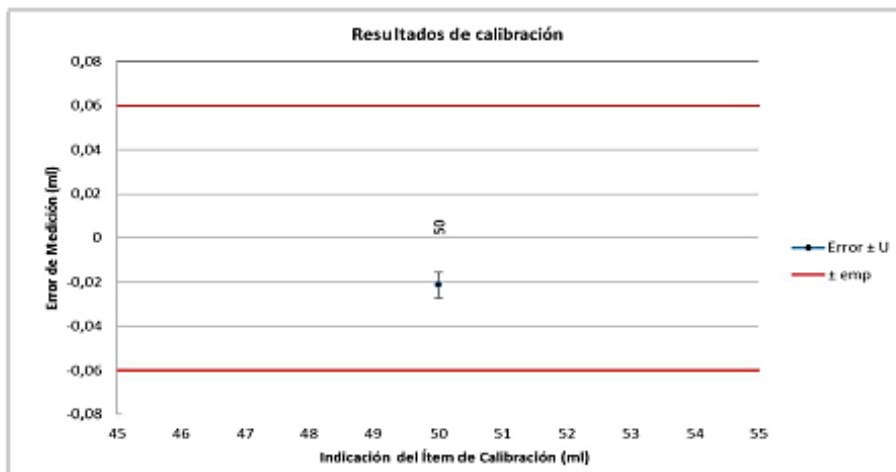
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-004-24**



### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(2)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	Compliance
50	49,9796	-0,0214	0,0058	2,00	21,7	0,06	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.

- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

## Identificación: E-37021



Escanee este QR  
para descargar  
Informe original  
con firma  
electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017

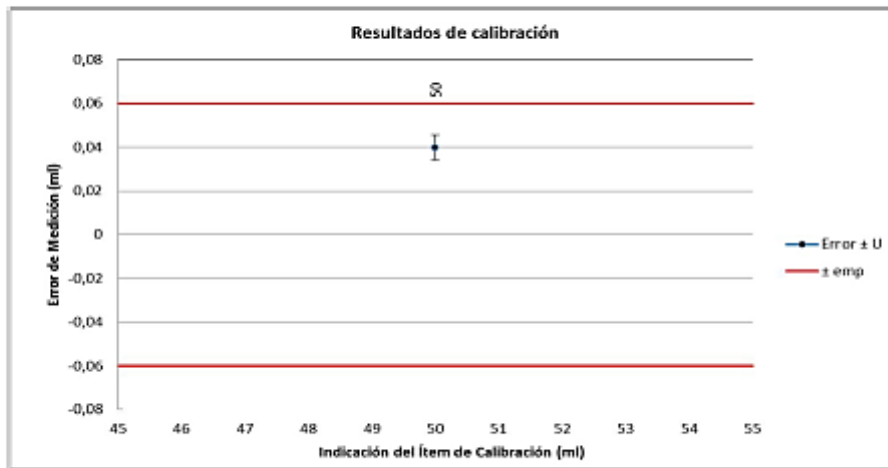
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-005-24**



### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
50	50,0399	0,0399	0,0058	2,00	21,7	0,05	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

## Identificación: E-37022



Escanee este QR para descargar el informe original con firma electrónica en pdf

**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
 Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017

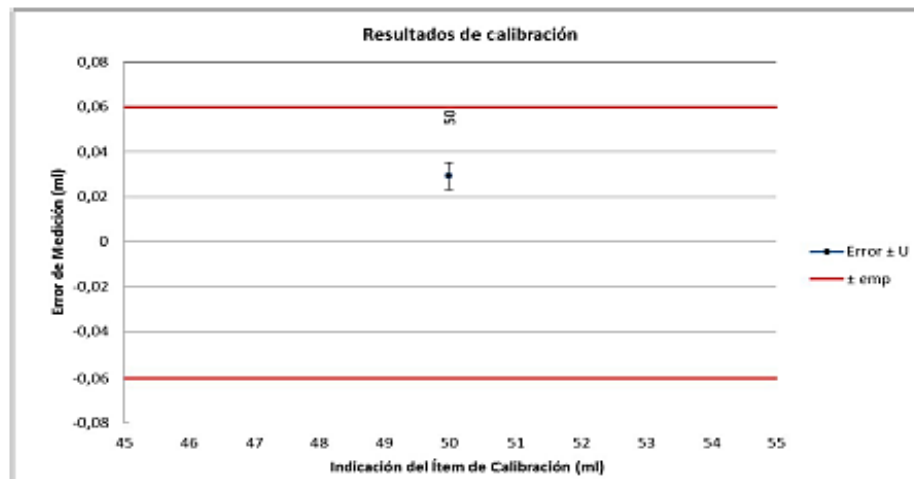


**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-006-24**

### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (K)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	Compliance
50	50,0292	0,0292	0,0058	2,00	21,7	0,06	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.

## Identificación: E-37023



**LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO**  
**ISO/IEC 17025:2017**  
 Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR  
 para descargar  
 Informe original  
 con firma  
 electrónica en pdf

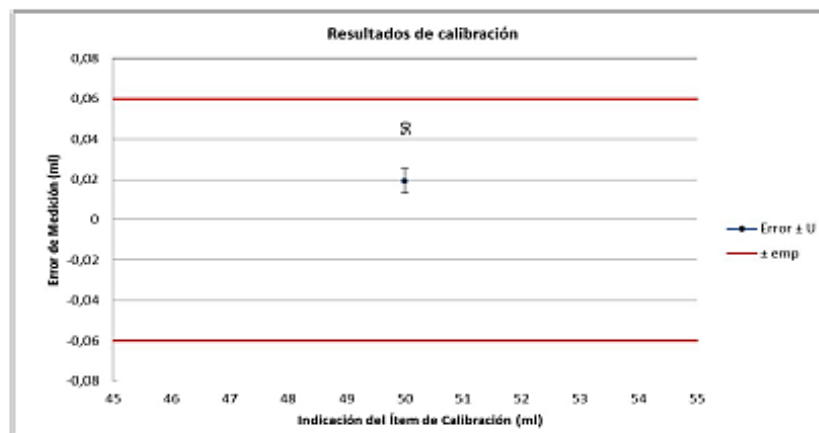
**CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN**  
 Certificate of Calibration  
**N° CGC-0037-007-24**



### Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba	Volumen Medido	Error de Medición (e)	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura <sup>(a)</sup>	E.M.P.	Cumplimiento
Test Value	Measured Volume	Measurement Error (e)	Uncertainty (U)	Coverage factor	Temperature	M.P.E.	Compliance
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
50	50,0193	0,0193	0,0059	2,00	21,7	0,05	Cumple



### Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.