

ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS:
DETERMINACIÓN DE AZUFRE. DIGESTIÓN POR VÍA HÚMEDA POR
TURBIDIMETRÍA Y DETERMINACIÓN DE FÓSFORO. DIGESTIÓN POR VÍA HÚMEDA
POR MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO.

ERIKA ANDREA MORA VALENCIA.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO

2018

ESTANDARIZACIÓN DE LOS MÉTODOS:
DETERMINACIÓN DE AZUFRE. DIGESTIÓN POR VÍA HÚMEDA POR
TURBIDIMETRÍA Y DETERMINACIÓN DE FÓSFORO. DIGESTIÓN POR VÍA HÚMEDA
POR MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO.

ERIKA ANDREA MORA VALENCIA.

MODALIDAD: PRÁCTICA EMPRESARIAL.
TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
TÍTULO DE QUÍMICO

DIRECTORA:
RUTH JOHANA RODRÍGUEZ LÓPEZ
QUIMICA

CODIRECTOR:
CESAR AUGUSTO MUJICA MARTINEZ
Dr. EN CIENCIAS NATURALES

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO

2018

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No. 324 del 11 de octubre de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

RUTH JOHANA RODRÍGUEZ

Directora

CESAR AUGUSTO MUJICA MARTINEZ

Codirector

DAVID ARTURO PERDOMO

Jurado

FREDDY PANTOJA TIMARÁN

Jurado

San Juan de Pasto, 28 de febrero del 2019.

Dedicatoria

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Mi madre Inés Valencia, por creer en mí y porque siempre me apoyaste. Mi Padre Bernardo Mora por enseñarme como superar obstáculos y forjar mi carácter.

Mi hermano, Wilmer Mora, por estar conmigo, y apoyarme siempre, eres el pilar más fuerte y el ser en el que más puedo confiar.

Mi Amiga casi hermana, Viviana Torres, Por siempre estar para mí, por compartir buenos y malos momentos, por recorrer este camino codo a codo y apoyarme en momentos difíciles.

Todos mis amigos, Ingrid, Diana, David, Juan Pablo por compartir los buenos y malos momentos, por enseñarme y estudiar conmigo.

Agradecimientos

A los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño y a todo el personal del mismo por acogerme y ayudarme en mi formación.

Al Laboratorio de Bromatología y Abonos orgánicos, por brindarme el espacio para trabajar y aprender, Especialmente a Sandra Espinoza, que por todos sus años de experiencia, es un modelo a seguir y sus enseñanzas no serán olvidadas.

A mi Directora Ruth Johana Rodríguez López y a mi Codirector Cesar Augusto Mujica, por dirigir este proyecto y por ayudarme en mi formación como profesional en química.

A los profesores, profesionales y laboratoristas del programa de Química por toda su ayuda y atención prestada.

A toda mi familia especialmente a mi madre y hermano mayor, por su cariño y apoyo incondicional y por enseñarme en cada momento a ser una persona de bien, con principios y valores.

A mis compañeros de carrera por los buenos momentos vividos en esta gran etapa de mi vida.

Realización de la práctica

Esta práctica empresarial se llevó a cabo en el laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos de los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, dicha práctica comenzó en el semestre B del 2017 bajo la dirección de la química Ruth Johana Rodríguez, Especialista en calidad en laboratorios de análisis y bajo la asesoría de la técnica Sandra Espinoza.

Durante el desarrollo de la práctica, tuve la oportunidad de realizar el curso Teórico-Práctico para la Capacitación en Aseguramiento de Calidad, Validación y Cálculo de Incertidumbre en Parámetros Físicoquímicos bajo los Lineamientos de la Norma NTC ISO/IEC 17025:2005; el aprendizaje de control de calidad, buenas prácticas de manejo, el desarrollo de trabajo interno, la implementación de seguimientos de control a los métodos y la continua enseñanza por parte de compañeros del laboratorio, fueron muy enriquecedores hacia mi formación como química y me mostraron la importancia de que un profesional químico esté involucrado en este tipo de laboratorios y el impacto que puede generar en la región, debido a que el laboratorio presta servicios no solo a personas que están dentro de la universidad, sino a todo público en general y no solo de nuestra región, por lo que esta práctica me mostro un concepto distinto a lo que esperaba de un profesional de química, por lo que estoy muy agradecida de y orgullosa de que en la universidad exista este espacio, donde no solo realiza un trabajo con la comunidad en general si no que brinda espacios de aprendizaje a los estudiantes de la universidad de varias carreras y apoya en su formación como profesionales.

Resumen

Se realizó la estandarización y validación de los métodos para la determinación de azufre por turbidimetría y fósforo por método del ácido ascórbico, mediante digestión por vía húmeda, en forrajes, abonos orgánicos, concentrados y materias primas, por espectrofotometría UV-Visible; practica realizada en el Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos de la Universidad de Nariño. Para la validación de estos métodos se evaluaron los parámetros linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango, recuperación, exactitud, precisión y estimación de incertidumbre.

De acuerdo a los resultados encontrados se determinó que el método implementado para la determinación de fósforo, es adecuado y confiable para la cuantificación de fósforo total, y cumple con los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio, $\%CV \leq 5\%$. El porcentaje de recuperación promedio fue de 101,8% para el forraje V-01 y 101,1% para el abono orgánicos V-02. Las curvas de calibración dieron como resultado coeficientes de determinación R^2 de 0,998 el cual se acepta al ser mayor al criterio mínimo de $R^2=0,997$.

De la misma forma, para la determinación de azufre por el método turbidimétrico, los resultados demostraron que el método es confiable para la cuantificación de azufre total y puede cumplir con los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio; se encontró que los $\%CV \leq 5\%$. Los porcentajes de recuperación para métodos turbidimétricos deben estar en el rango de 90-115%. Para la determinación de fósforo los datos de porcentaje de recuperación promedio fueron de 100,1% para el forraje V-01 y 103,6% para el abono orgánicos V-02. Las curvas de calibración arrojaron resultados de coeficientes de determinación promedio de R^2 de 0,998; el criterio de aceptación establecido para este método es de $R^2 \geq 0,994$.

Abstract

This work consisted in the standardization and validation of the methods for the determination of sulfur by turbidimetry and phosphorus by the ascorbic acid method, by means of wet digestion, in forages, organic fertilizers, concentrates and raw materials, by UV-Visible spectrophotometry; this work was carried out in the Laboratory of Organic Bromatology and Fertilizers of the University of Nariño. For the validation of these methods, the parameters linearity, limit of detection, limit of quantification, range, recovery, accuracy, precision and estimation of uncertainty were evaluated.

According to the results, was determined that the method implemented for the determination of total phosphorus is adequate and reliable for the quantification of total phosphorus, and meets the acceptance criteria established by the laboratory, $RSD \leq 5\%$. The average percentage of recovery was 101,8% for the forage V-01 and 101,1% for the organic fertilizer V-02. The calibration curves gave results for the coefficients of determination R^2 of 0,998 which is greater than the minimum criterion of $R^2 = 0,997$ and therefore are accepted.

In the same way, for the determination of sulfur by the turbidimetric method, the results indicate that the method is reliable for the quantification of total sulfur and can meet the acceptance criteria established by the laboratory; it was found that $RSD \leq 5\%$. The percentages of recovery for turbidimetric methods should be within the 90-115% range. For the determination of phosphorus, the average percentage of recovery was 100,1% for the forage V-01 and 103,6% for the organic fertilizer V-02. The calibration curves resulted in determination coefficients R^2 of 0,998; the acceptance criterion established for this method is $R^2 \geq 0,994$.

Tabla de contenido

Introducción	2
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
Marco referencial	3
Marco legal	3
Marco contextual	4
Antecedentes	4
Marco teórico.....	5
Sistema de gestión de calidad.....	5
NTC ISO/IEC 17025:2017.....	5
Estandarización y validación de un método	6
Estandarización	6
Validación de un método.....	7
Límite de detección (LDM) y Límite de cuantificación (LCM)	7
Rango lineal	8
Rango de trabajo.....	8
Precisión.....	8
Repetibilidad	9
Reproducibilidad	9
Exactitud	9
Veracidad	9
Incertidumbre de resultados.....	10
Componentes de la incertidumbre.....	10
Diagrama causa y efecto.	11
Tipos de incertidumbre.....	11
Evaluación de la incertidumbre estándar.....	11
Evaluación de incertidumbre tipo A.....	12
Evaluación de incertidumbre tipo B.....	13
Tipos de distribuciones.....	13
Distribución normal.....	13
Distribución rectangular	14
Distribución triangular	14
Incertidumbre estándar combinada $uc(y)$	15

Incertidumbre expandida U	15
Muestras y la importancia de azufre y fósforo en estas matrices.	15
Forrajes.....	15
Presencia de azufre en forrajes.....	15
Deficiencias de azufre en forrajes.	16
Necesidades de los cultivos.....	16
Presencia de fósforo en forrajes	17
La deficiencia de fósforo en forrajes.....	17
El exceso de fósforo en forrajes	17
Concentrado para cerdos	18
Abonos, fertilizantes y correctores del suelo.....	18
Torta de soya.....	19
Obtención de extracto con digestión por vía húmeda: principio del método.	19
Determinación de fósforo: principio del método del ácido ascórbico.....	20
Determinación de azufre: principio del método turbidimétrico.	20
Materiales y métodos	21
Materiales.....	21
Clasificación de matrices.....	21
Determinación de azufre.....	22
Determinación de fósforo	23
Estandarización y validación	25
Rango lineal y Rango de trabajo.	25
Límite de detección y límite de cuantificación.	25
Precisión.....	25
Exactitud	26
Calculo de incertidumbre.	26
Resultados y discusión.....	27
Estandarización y validación del método colorimétrico ácido ascórbico para la determinación de fósforo.....	27
Curva de calibración.....	27
Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método	27
Rango dinámico lineal.....	28
Precisión.....	29
Reproducibilidad	29
Repetibilidad	29

Exactitud	32
Recuperación.....	32
Carta de control	33
Estimación de Incertidumbre.....	36
Identificación de las Fuentes de Incertidumbre.....	36
Expresión de Resultados	38
Estandarización y validación del método turbidimétrico para la determinación de azufre.....	40
Curva de calibración.....	40
Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método	41
Rango dinámico de linealidad	41
Precisión.....	42
Reproducibilidad	42
Repetibilidad	42
Exactitud	44
Recuperación.....	45
Carta de control.....	46
Estimación de incertidumbre.....	48
Identificación de las fuentes de incertidumbre.....	48
Expresión de Resultados	52
Conclusiones	53
Recomendaciones	54
Bibliografía	55
Anexos	59

Lista de Tablas

Tabla 1: División de Spenser:	16
Tabla 2: Materiales, Equipos y Reactivos usados en toda la práctica empresarial.	21
Tabla 3: Tipo de matrices utilizadas, origen y clasificación.	21
Tabla 4: Patrones de azufre	22
Tabla 5: Curva patrón azufre	23
Tabla 6: Patrones de fósforo	24
Tabla 7: curva patrón de fósforo	24
Tabla 8: Límite de detección y cuantificación del método.	28
Tabla 9: Determinación rango dinámico lineal para la determinación de fósforo.	28
Tabla 10: Precisión para fósforo total en términos de reproducibilidad.	29
Tabla 11: Análisis ANOVA determinación de fósforo. Muestras de control interno.	30
Tabla 12: Contin. Análisis ANOVA determinación de fósforo. Muestras de control interno.	31
Tabla 13: Porcentaje de error; determinación de fósforo muestras de control interno.	32
Tabla 14 : Porcentaje de Recuperación Muestra V-01.....	33
Tabla 15: Porcentaje de Recuperación Muestra V-02.....	33
Tabla 16: Determinación rango de trabajo determinación de azufre.	41
Tabla 17: Precisión en términos de reproducibilidad. Determinación de azufre.	42
Tabla 18: Determinación de DPR, y análisis mediante análisis ANOVA.	43
Tabla 19: Porcentaje de error determinación de fósforo muestras de control interno	45
Tabla 20: Resultados % de recuperación del método en muestra de control interno V-01.	45
Tabla 21: Resultados % de recuperación del método en muestra de control interno V-02.	45
Tabla 22: resumen de incertidumbre para el análisis de azufre total.	49
Tabla 23: muestras parciales	70
Tabla 24 Tamaño de la muestra	70
Tabla 25: Tipo de matrices utilizadas, origen y clasificación.	73
Tabla 26: Factores de dilución de las muestras para determinación de azufre y fósforo.	73
Tabla 27: Fuentes de incertidumbre fósforo.	76
Tabla 28: Fuentes de incertidumbre determinación de azufre.	77
Tabla 29: Resumen cálculo de incertidumbre de la masa molar de KH_2PO_4	88
Tabla 30: incertidumbres puntos de la curva.	90
Tabla 31: incertidumbre debida a la preparación de la solución de trabajo	92
Tabla 32: Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica	93
Tabla 33: Resumen cálculo de incertidumbre de la masa molar de K_2SO_4	96
Tabla 34: incertidumbres puntos de la curva.	98
Tabla 35: Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica	101
Tabla 36: Corrección Muestras de Base seca parcial a Base seca.	102
Tabla 37: Absorbancias determinación de fósforo.....	103
Tabla 38: Datos absorbancias matrices determinación de fósforo.....	103
Tabla 39: Absorbancias determinación de azufre.	104
Tabla 40: Datos absorbancias matrices determinación de azufre.	104

Lista de figuras

Figura 1: Rango lineal y de trabajo de una curva de calibración.....	8
Figura 2: Distribución Normal.....	14
Figura 3: Distribución Rectangular.....	14
Figura 4: Distribución Triangular.....	15
Figura 5: Curva de calibración para la determinación de fósforo.....	27
Figura 6: Carta de control muestra de control interno V-01.....	46
Figura 7: Carta de control muestra de control interno V-02.....	47
Figura 8: Diagrama Causa-Efecto determinación de azufre.....	48
Figura 9: Porcentaje de contribución de incertidumbre.....	52
Figura 10: Obtención del extracto para determinación de fósforo y azufre.....	72
Figura 11: informe calibración de materiales de control interno.....	73
Figura 12: Determinación de azufre por método turbidimétrico.....	74
Figura 13: Determinación de fósforo método ácido ascórbico.....	75

Lista de anexos

Anexo 1: RESOLUCIÓN 00020058 DEL 31 DE ENERO DEL 2018.	60
Anexo 2: Instructivo de limpieza de material.	64
Anexo 3: Muestreo de las diferentes matrices. Principios generales.....	68
Anexo 4: Metodología para la obtención del extracto para determinación de fósforo y azufre... ..	72
Anexo 5: Clasificación de matrices, factores de dilución y reporte Corpoica.....	73
Anexo 6: Metodología para determinación de azufre.....	74
Anexo 7: Metodología para la determinación de fósforo.	75
Anexo 8: Fuentes de incertidumbre determinación de fósforo.....	76
Anexo 9: Fuentes de incertidumbre determinación de azufre	77
Anexo 10: Certificados de análisis muestras de control interno V-01 y V-02.	78
Anexo 11: Certificados de calibración.....	80
Anexo 12: Certificados de calidad de reactivos.....	85
Anexo 13: Cálculo de Incertidumbre	87
Anexo 14: Corrección Muestras de Base seca parcial a Base seca.....	102
Anexo 15: Datos Absorbancias.....	103
Anexo 16: anexo fotográfico de equipos	105

Glosario

ANOVA: Análisis de varianza estadístico en el cual se comparan más de dos medias entre sí.

BLANCO DEL MÉTODO (BK): Muestra que sin contener analito pasa a través de todos los pasos del método.

CALIBRACIÓN: Proceso para asegurar que la señal de la medición dada por un equipo o instrumento es correcta.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN: Desviación estándar dividida por la media. Su expresión porcentual es la desviación estándar relativa %CV.

CONDICIONES DE REPETIBILIDAD: Condiciones en las que un mismo operador o analista obtiene resultados de ensayos independientes para métodos iguales, con los mismos equipos e idénticas muestras a analizar.

CURVA DE CALIBRACIÓN: Resultado de la estandarización que muestra gráficamente como la señal del método cambia respecto a la cantidad de analito.

DETERMINACIÓN: Análisis de una muestra que busca la identidad, la concentración o las propiedades del analito.

ENSAYO: Operación realizada de acuerdo a un determinado procedimiento el cual consiste en determinar cualitativa y/o cuantitativamente las propiedades de un producto o proceso.

EVALUACIÓN DE INCERTIDUMBRE TIPO A: Es el método de evaluación de la incertidumbre por medio del análisis estadístico de una serie de observaciones, se utiliza cuando se realizan n observaciones independientes entre sí de una de las magnitudes de entrada X_i bajo las mismas condiciones de medida.

EVALUACIÓN DE INCERTIDUMBRE TIPO B: Es el método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de una serie de observaciones y se utiliza cuando la estimación x_i de una magnitud de entrada X_i no ha sido obtenida a partir de observaciones repetidas si no de certificados de calibración.

EXACTITUD: Grado de concordancia entre el resultado del ensayo y un valor de referencia.

ESTANDARIZACIÓN: Proceso para establecer la relación entre la cantidad de analito y la señal del método.

EXACTITUD DE UNA MEDICIÓN: Proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero del mesurando.

INCERTIDUMBRE: La incertidumbre de una medición es un parámetro asociado con el resultado de esa medición, que caracteriza la dispersión de los valores que se podrían atribuir razonablemente al mensurando.

INCERTIDUMBRE ESTANDAR: Es la incertidumbre del resultado de una medición expresado como una desviación estándar.

INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA: Es la incertidumbre estándar del resultado de una medición cuando el resultado se obtiene de los valores de otras cantidades, y es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, los cuales son las varianzas o covarianzas de estas otras cantidades ponderadas de acuerdo a cómo el resultado de la medición varía con cambios en estas cantidades.

INCERTIDUMBRE EXPANDIDA: Es una cantidad que define un intervalo alrededor del resultado de una medición, y que se espera abarque una fracción grande de la distribución de valores que se podrían atribuir razonablemente al mensurando.

INTERFERENCIAS: Son perturbaciones que alteran una, varias o todas las etapas del proceso analítico y por consiguiente a los resultados analíticos, que se ven afectados por errores sistemáticos.

INTERVALO DE TRABAJO, RANGO: Diferencia en magnitud entre la mayor y menor concentración de analito que puede determinarse satisfactoriamente con adecuada linealidad, exactitud y precisión.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: Es la menor cantidad de analito que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada, para un nivel dado de confianza.

LÍMITE DE DETECCIÓN: Es la menor cantidad de analito que puede ser distinguida del ruido de fondo, para un nivel dado de confianza.

LINEALIDAD: Capacidad del método para producir resultados proporcionales, directamente o mediante una transformación matemática, a la concentración del analito en las muestras, dentro de un determinado rango.

MÉTODO DE ANALISIS: Medio o ruta para analizar una muestra para un analito específico en una matriz específica.

MUESTRA: Parte del sistema que se somete a análisis.

PRECISIÓN: Indica el grado de concordancia entre los datos obtenidos para réplicas de una misma muestra, aplicando el mismo procedimiento experimental bajo condiciones preestablecidas

REGRESIÓN LINEAL: Técnica matemática para ajustar una ecuación, a una tendencia lineal, obtenida experimentalmente.

REPETIBILIDAD: Grado de concordancia entre resultados de sucesivas mediciones del mismo mensurando, mediciones efectuadas con aplicación de la totalidad de las mismas condiciones de medida.

TURBIDIMETRÍA: Turbidimetría es un método analítico basado en la dispersión de partículas suspendidas en líquidos.

VARIANZA: Medida de dispersión de datos, se define como el cuadrado de la desviación estándar.

Abreviaturas y acrónimos

°C	Grado Celsius
RSD	Desviación estándar relativa
%E	Porcentaje de error
ΔT	Cambio de Temperatura
AD	Adicionado
ANOVA	Análisis de varianza
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASTM	American Society for Testing and Materials
BK	Blanco de proceso
CV	Coeficiente de Variación
DPR	Diferencia porcentual relativa
Ha	Hectárea
ISO	Organización Internacional de Normalización (EN: International Organization for Standardization)
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
ICONTEC	Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación
IEC	International Electrotechnical Commission
kg	Kilogramo
L	Litro
LDM	Límite de detección del método
LCM	Límite de cuantificación del método
M	Muestra
mg	Miligramo
mL	Mililitro
N	Número medio de observaciones repetidas al reportar los resultados
n_b	Número medio de observaciones del blanco
NIST	National Institute of Standards and Technology (ES, Instituto Nacional de Estándares y Tecnología)
nm	Nanómetro
NTC	Norma Técnica Colombiana
ONAC	Organismo Nacional de Acreditación de Colombia.
R^2	Coeficiente de determinación
Ref	Referencia
S	Desviación estándar
S_0	Desviación estándar estimada de los resultados individuales en o cerca de una concentración de cero
t_{cal}	t calculado
t_{crit}	t crítico
U	Incertidumbre
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
\bar{x}	Valor medio (media aritmética)
x_{ref}	Valor de referencia
[]	Concentración

Introducción

El Departamento de Nariño se caracteriza por ser una región donde su economía depende mucho del sector agropecuario, por lo que el mantenimiento de cultivos, ganado y el uso de fertilizantes y concentrados, son indispensables para que el sector se mantenga como uno de los pilares de la economía de la región. Desde hace algunas décadas, las personas que se dedican a este sector han valorado el uso de técnicas de análisis para revisar el estado de sus cultivos y/o productos, por lo que buscan laboratorios donde se puedan obtener resultados confiables, que les ayude a tomar decisiones en cuanto al cuidado de los mismos.

El Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos de la Universidad de Nariño, como prestador de servicios de análisis químico a la comunidad en general, debe garantizar el aseguramiento de calidad mediante metodologías estandarizadas adecuadas a las condiciones del laboratorio, además de asegurar personal calificado, protocolos e instrumentos confiables para la entrega de resultados; así mismo, el Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos, cuenta con resolución 003540 de 8 de noviembre del 2010 que le otorga registro como laboratorio de control de calidad de fertilizantes y acondicionadores de suelo de uso agrícola y Resolución 003699 de 26 de septiembre de 1994 que le otorga registro como laboratorio de control de calidad de alimentos para consumo animal y conforme a los requerimientos ICA, el laboratorio debe estandarizar y validar los métodos para la prestación del servicio con el fin de garantizar los resultados emitidos.

Esta práctica tiene como propósito estandarizar y validar los métodos para la determinación de azufre y fósforo, para contribuir tanto al plan de acción en respuesta a la visita técnica del ICA y para continuar bajo los lineamientos de calidad vigentes establecidos y que el laboratorio pueda renovar el registro que los califica como Laboratorio reconocido a nivel Nacional.

Objetivos

Objetivo general

Estandarizar y validar los métodos: Determinación de fósforo. Digestión por vía húmeda por método del ácido ascórbico y determinación de azufre. Digestión por vía húmeda por turbidimetría.

Objetivos específicos

Estandarizar los métodos determinación de fósforo. Digestión por vía húmeda por método ácido ascórbico y determinación de azufre. Digestión por vía húmeda por turbidimetría.

Actualizar los protocolos de los métodos para la determinación de fósforo. Digestión por vía húmeda por método ácido ascórbico y determinación de azufre. Digestión por vía húmeda por turbidimetría, implementados en el Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos.

Validar los métodos analíticos para la determinación de fósforo. Digestión por vía húmeda por método ácido ascórbico y determinación de azufre. Digestión por vía húmeda por turbidimetría, bajo los lineamientos establecidos en el sistema de calidad del laboratorio y la norma NTC-ISO/IEC 17025:2005.

Realizar el cálculo de incertidumbre para la determinación de fósforo. Digestión por vía húmeda por método ácido ascórbico y determinación de azufre. Digestión por vía húmeda por turbidimetría.

Marco referencial

Marco legal

En Colombia los laboratorios de ensayo y calibración que prestan servicio a la comunidad en general se ven reglamentados por normas que se encargan de asegurar al consumidor que los resultados proporcionados por dichos establecimientos sean válidos, confiables y cumplan con un nivel de calidad aceptado para la prestación de los servicios que ofrecen. Algunas de estas leyes, normas y resoluciones encargadas de regular el cumplimiento de calidad de estos servicios se describen a continuación:

RESOLUCIÓN 003823 DEL 4 DE SEPTIEMBRE DEL 2013, por medio de la cual establece los requisitos para el reconocimiento del sector agropecuario, los requisitos para acceder a las convocatorias del ICA como laboratorios autorizados y conformar la red nacional de laboratorios de ensayo/prueba y/o diagnóstico, competencia del ICA y se dictan las otras disposiciones. (Resolución_N°3823, 2013)

RESOLUCIÓN 003540 DEL 8 DE NOVIEMBRE DEL 2010, por medio de la cual se otorga registro como laboratorio de control de calidad de fertilizantes y acondicionadores de suelo de uso agrícola al LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y ABONOS ORGÁNICOS de la Universidad de Nariño. (Resolución_N°3540, 2010)

RESOLUCIÓN 003699 DEL 26 DE SEPTIEMBRE DE 1994, por medio de la cual se otorga registro como laboratorio de control de calidad de alimentos para animales al LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y ABONOS ORGÁNICOS de la Universidad de Nariño. (Resolución_3699, 1994)

RESOLUCIÓN 00020058 DEL 31 DE ENERO DEL 2018, por medio de la cual se modifican los artículos 2, 10 y 23 de la Resolución 003823 del 4 de septiembre del 2013 y se deroga la Resolución 9001 de 2016. (Anexo 1). (Resolución_N°20058, 2018)

LA NORMA ISO 9001:2015 de sistemas de gestión de la calidad proporciona la infraestructura, procedimientos, procesos y recursos necesarios para ayudar a las organizaciones a

controlar y mejorar su rendimiento y conducirles hacia la eficiencia, servicio al cliente y excelencia en el producto. (ISO_9001, 2015)

NTC ISO/IEC 17025:2017 establece los requisitos generales para la competencia en la realización de ensayos o de calibraciones, incluido el muestreo. Cubre los ensayos y las calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados y métodos desarrollados por el propio laboratorio. (ISO/IEC_17025, 2017)

Marco contextual

Esta práctica empresarial se realizó en la Universidad de Nariño, específicamente en el Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos, el cual tiene como misión realizar análisis fisicoquímico de muestras de consumo animal, forrajes y abonos orgánicos.

Antecedentes

(Cuéllar, Lora, & Munévar, 2000, pág. 80) En su trabajo de investigación para la determinación de azufre en tejido foliar, mediante el método turbidimétrico modificado por Cenipalma a partir del procedimiento de Tabatabai y Bremner (1970), donde obtuvo coeficientes de variación menores del 10,9% y desviaciones estándar menores al 0,2%.

(Tabatabai & Bremner, 1970, pág. 2) Mediante método turbidimétrico, con el reactivo cloruro de bario-gelatina, analizó distintos tipos de plantas, encontrando que el método propuesto en su trabajo tiene desviaciones estándar menores al 0,01% y recuperaciones entre el 90 y 99,6%.

Mientras que (Hunt, 1980), realizó un análisis turbidimétrico vs una análisis gravimétrico para la determinación del azufre total en pequeñas cantidades de material vegetal, encontró que los coeficientes de variación oscilan entre 1,4 y 2,9% entre los dos métodos, indicando que los dos métodos son buenos para la cuantificación de azufre en plantas, adicionalmente mediante el método turbidimétrico en el cual, el reactivo turbidimétrico está compuesto por cloruro de Bario-tween 80 reporta porcentajes de recuperación de azufre que oscilan los entre el 98 y 100,9% para varios tipos de material vegetal.

(Martinez, 2016, pág. 36) En su investigación para la validación parcial del método espectrofotométrico del ácido vanadomolibdofosfórico para la determinación del contenido de

fósforo total en productos de fermentación de microorganismos eficientes, encontró desviaciones estándar menores de 0,002, con varianzas pequeñas, y coeficientes de variación menores del 2,5%. (Cañez & García, 2015, pág. 36) Realizaron la validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría UV-Vis con una exactitud del método de 99,12%. Su investigación mostró que el método arroja %CV menores al 3%, un coeficiente de determinación R^2 del 0,999 y un límite de cuantificación de 0,58 mg/L.

Marco teórico

Sistema de gestión de calidad

Según la norma ISO 9001:2015 un sistema de calidad es un conjunto de acciones planificadas que garantizan la calidad de un bien, producto o servicio, que satisface las necesidades y expectativas de los clientes. Estos sistemas de calidad son establecidos para mejorar el desempeño, coordinación y producción de objetivos que están dirigidos por la organización que presta el servicio hacia los intereses de los clientes (ISO_9001, 2015, pág. 17).

La implementación de estos sistemas de calidad se realiza dentro de un marco de trabajo que sirva de referente para que la estructuración del sistema de calidad no sea incompleta o arbitraria. De acuerdo a la norma ISO 9001:2015 para establecer estos sistemas de calidad se han diseñado especificaciones estándares y normas internacionales que permiten acreditar la calidad del servicio prestado por las organizaciones, enfocándose en el desarrollo, implementación y la evaluación interna y externa del sistema de calidad, además de la obtención de resultados confiables y certeros (ISO_9001, 2015, pág. 19).

Entre estos estándares y normas, las más utilizadas son las manejadas por la Organización Internacional de Normalización (ISO), y dentro de los Laboratorios de Ensayo y Calibración se encuentra la norma NTC ISO/IEC 17025:2017. (ICONTEC, 2017)

NTC ISO/IEC 17025:2017

Esta norma contiene todos los requisitos que los laboratorios de ensayo y calibración tienen que cumplir si quieren demostrar que operan bajo un sistema de calidad y tienen la capacidad de generar resultados validos técnicamente, y aunque es afín a las normas NTC ISO 9001:2017, está

enfocada en el sistema de calidad en los temas de competencia técnica pertinentes a las operaciones de laboratorio. (ISO_9001, 2015)

Esta norma está diseñada de forma que se aplique a cualquier tipo de laboratorio que realicen actividades de ensayo y/o calibración. Para desarrollar sistemas de calidad tanto administrativos como técnicos con esta norma, se requiere que el sistema de calidad implementado tenga un mayor grado de competencia técnica que permita un conocimiento de la trazabilidad e incertidumbre de los procedimientos utilizados para su posterior calificación y competencia del personal, además, de poseer un esquema de aprobación para el uso de equipos de medida, prueba y calibración, para finalmente realizar un informe de resultados.

Para lograr una acreditación frente a la norma técnica Colombiana ISO/IEC 17025:2017 y poder llegar a establecer, implementar y mantener un sistema de calidad, el laboratorio debe documentar las políticas, sistemas, programas, procedimientos e instrucciones para que de esta manera se asegure la veracidad de los resultados de ensayo o calibración. Una de las actividades que no se puede dejar a un lado, es el control de los documentos de cualquier laboratorio, puesto que los documentos que se manejan en cada una de sus labores hacen parte de su sistema de calidad (ICONTEC, 2017).

Estandarización y validación de un método

Estandarización

Según (Coy, 2006, pág. 5), la estandarización de un método analítico se define como la demostración mediante resultados de análisis, de la aprobación del comportamiento de un método con los requerimientos específicos de un laboratorio o entidad, por tanto, el método estandarizado debe ser sometido a un seguimiento sistemático por medio de “cartas o gráficas de control de calidad” y con ensayos particularmente diseñados con el propósito de ajustar los puntos débiles o los que no han quedado cubiertos en ésta estandarización.

Mediante la aplicación del protocolo de estandarización se desea obtener en forma experimental y para las condiciones particulares del laboratorio los valores de los parámetros que servirán como criterios de confianza del método analítico; esta información complementa los datos ya existentes para parámetros como: exactitud, precisión, linealidad, límite de detección, sensibilidad.

Validación de un método

De acuerdo a la norma (ISO_9000, 2015, pág. 29), la validación de un método es la confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto. Conforme a la ISO/IEC 17025:2017 la validación es la confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico (ICONTEC, 2017, pág. 14); la confirmación se realiza mediante unas características de desempeño, entre las cuales se encuentran, límite de detección (LDM) y límite de cuantificación (LCM), veracidad (recuperación), precisión (repetibilidad y reproducibilidad) e incertidumbre de medida. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 14)

Límite de detección (LDM) y Límite de cuantificación (LCM)

En un método analítico, la cantidad o concentración mínima de una sustancia o analito que puede ser determinado con confianza se denomina Límite de cuantificación, mientras que, la concentración mínima detectable es el límite de detección. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 20) . p.21 el límite de detección de un método, debe basarse en el análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de medición obteniendo resultados calculados con la misma ecuación que para las muestras de ensayo, en este caso, se puede usar el blanco de proceso. Adicionalmente, es importante establecer el nivel de concentración más bajo en la cual el método tiene un desempeño aceptable para una aplicación típica en el laboratorio, este concepto se lo conoce como el límite de cuantificación (LCM).

Para el cálculo de estos dos parámetros se multiplica la desviación estándar S'_0 (ecuación 3) por un factor adecuado al método. Este factor según (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 24) será de “ $3S'_0$ ” para LDM y de “ $10S'_0$ ” para LCM, guiándose en los criterios de adecuación al uso.

$$LDM: 3S'_0 \qquad \text{Ecuación 1}$$

$$LCM: 10S'_0 \qquad \text{Ecuación 2}$$

Debido al procedimiento de corrección por blanco realizado en los métodos, es necesario hacer un ajuste a la ecuación de desviación estándar de acuerdo a (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 23). p.23. con la siguiente ecuación.

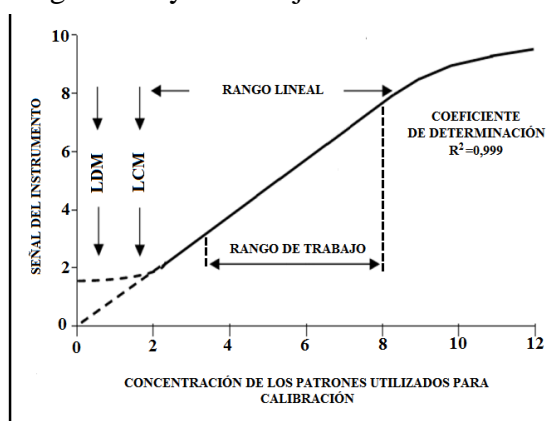
$$S'_0 = s \times \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde n es el número de réplicas promediadas de medida y n_b es el número de blancos para calcular la corrección por blanco.

Rango lineal

De acuerdo a (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 29) el rango lineal es el rango comprendido desde la menor concentración que se mide desde el LCM hasta la pérdida de linealidad dentro de todo el rango dinámico de respuesta del analito en el método para su determinación, como se muestra en la Figura 1.

Figura 1: Rango lineal y de trabajo de una curva de calibración.



Nota. Recuperado de “Guía Eurachem”, (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 29).

Rango de trabajo

El rango de trabajo, es el intervalo en donde el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable, donde el extremo inferior se define por el LCM, y el límite superior corresponde a las concentraciones en las cuales no se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica del método (Coy, 2006, pág. 5); Dentro de una validación se debe demostrar que el método se puede implementar en este intervalo de trabajo. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 29).

Precisión

La precisión representa la cercanía de los resultados entre sí, se puede expresar entre parámetros estadísticos como la desviación estándar. Medidas de precisión que representan la precisión que se pueden obtener son la repetibilidad y la reproducibilidad de medición. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 35)

Repetibilidad

Es la medida de la variabilidad de los resultados cuando una medición es llevada a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo; esta medida supone reportar la variación más pequeña en los resultados. Para este parámetro se analizó promedio \bar{x} , desviación estándar s , coeficiente de variación %CV y porcentaje de error %E. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 35)

Reproducibilidad

Es la medida de variabilidad de los resultados cuando una medición se lleva a cabo ya sea por distintos laboratorios, días, analistas o equipos, usando el mismo método. Para el estudio de este parámetro se analiza una serie de datos obtenidos mediante promedio \bar{x} , desviación estándar s , coeficiente de variación %CV y porcentaje de error %E. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 36)

Exactitud

La 'exactitud' de medición expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia, (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 31). Indica que la validación de métodos trata de investigar la exactitud de los resultados evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre resultados individuales. Por lo tanto, normalmente la exactitud se estudia como dos componentes: 'veracidad' y 'precisión'. Además, una expresión cada vez más común de exactitud es "incertidumbre de medición", la cual proporciona un solo valor.

Veracidad

Según (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 31). 'Veracidad' de medición es una expresión de la proximidad de la media de un número infinito de resultados (producidos con el método) a un valor de referencia. Puesto que no es posible realizar un número infinito de mediciones, no se puede medir la veracidad. Sin embargo, se puede realizar una evaluación práctica de la veracidad. Por lo general, esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de 'sesgo' que según este autor se puede expresar en términos de % de recuperación relativa.

Según (Coy, 2006, pág. 10) la recuperación es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra. Se expresa como porcentaje y se calcula con la ecuación 4:

$$R(\%) = \frac{(C_{(m+ad)} * V_{(m+ad)}) - (C_{(m)} * V_{(m)})}{(C_{(ad)} * V_{(ad)})} \times 100$$

Ecuación 4

Donde:

$C_{(m+ad)}$ es la concentración calculada de la muestra más el adicionado,

$C_{(m)}$ es la concentración real de la muestra,

$C_{(ad)}$ es la concentración del adicionado,

$V_{(m+ad)}$ es el volumen total de muestra más adicionado,

$V_{(m)}$ es el volumen de la muestra y

$V_{(ad)}$ es el volumen del adicionado.

Según el instructivo de calidad que siguen los Laboratorios Especializados este porcentaje de recuperación tiene que estar dentro del rango de 90-115% para ser aceptado. (Instructivo de Aseguramiento de calidad del Laboratorio LBE-PRS-IN-16)

Incertidumbre de resultados

Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando. En la práctica, la incertidumbre de un resultado puede surgir de algunas posibles fuentes como por ejemplo la definición incompleta del mensurando, el muestreo, efecto matriz, interferencias, condiciones ambientales, incertidumbre de equipos y/o materiales, valores de referencia, aproximaciones y errores incorporadas al método de medida, procedimiento y variaciones aleatorias. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 43)

Componentes de la incertidumbre

Según (Ellison, S; Williams, A, 2012, pág. 33) para estimar la incertidumbre global, puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarla de forma separada para obtener la contribución de esa fuente, para organizar cada fuente de incertidumbre y su contribución es necesario realizar un diagrama de causa y efecto. Cuando se expresa como desviación estándar, uno de los componentes de incertidumbre se conoce como **incertidumbre estándar**; para un resultado de medida y, la incertidumbre total se expresa como **incertidumbre estándar**

combinada ($u_c(y)$), que representa una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por la combinación de todos los componentes de la incertidumbre.

Para la mayor parte de los propósitos en química analítica, se debería utilizar la **incertidumbre expandida** U , la cual proporciona un intervalo donde se cree está el valor del mensurando con un mayor nivel de confianza. U se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$, con un **factor de cobertura** k , el cual se elige dependiendo del nivel de confianza que se desea. Para un nivel aproximado de confianza del 95%, $k = 2$.

Diagrama causa y efecto.

Un diagrama de Causa y Efecto es la representación de varios elementos (causas) de un sistema, que pueden contribuir a un problema (efecto). En este caso, el efecto es la cuantificación del analito, mientras que las causas son todos los factores que generan incertidumbre, ya sea de pesaje, paralaje o medida en el método y muestra un resumen del funcionamiento del método. (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 42)

Tipos de incertidumbre

Evaluación de la incertidumbre estándar

Según (Miranda & Campo, s.f., pág. 4) en la mayor parte de los casos, el mensurando Y no se mide directamente, sino que se determina a partir de otras n cantidades x_1, x_2, \dots, x_n a través de una relación funcional f :

$$Y = f(x_1, x_2, \dots, x_N) \quad \text{Ecuación 5}$$

Las cantidades de entrada x_1, x_2, \dots, x_N sobre las que depende la cantidad de salida Y , pueden ser también mensurados por sí mismos y depender a su vez de otras cantidades que incluyan factores de corrección por efectos sistemáticos y que lleven a relaciones funcionales en extremo complicadas que nunca se escribirán. Más aún, f se puede determinar experimentalmente u obtenerse a partir de un cálculo numérico. Las cantidades x_1, x_2, \dots, x_N se pueden dividir en dos tipos:

- Cantidades cuyos valores e incertidumbres se determinan directamente en la medición actual, los cuales se pueden obtener de una sola observación, de mediciones repetidas o de juicios basados en la experiencia.

- Cantidades cuyos valores e incertidumbres se introducen en la medición a través de fuentes externas, como cantidades asociadas a patrones de medición calibrados, materiales de referencia certificados, o datos de referencia obtenidos de manuales. En una estimación, el mensurando Y denotado por y , se calcula con la ecuación (5) utilizando estimaciones de entrada x_1, x_2, \dots, x_N . Así pues, la estimación explícita es $Y = f(x_1, x_2, \dots, x_N)$. En algunos casos, la estimación puede evaluarse con la ecuación:

$$y = \bar{Y} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n f(x_{1,k}, x_{2,k}, \dots, x_{N,k}) \quad \text{Ecuación 6}$$

lo cual no es sino una media aritmética de n determinaciones independientes Y_k de Y , donde $X_{i,k}$ es la observación k de X_i , y cada determinación tiene la misma incertidumbre. Esta forma de promediar y de la ecuación 6 y no de la forma $y = f(\bar{X}_1, \bar{X}_2, \dots, \bar{X}_N)$, con $\bar{X}_i = (\sum_{k=1}^n X_{i,k})/n$, es preferible cuando la función f no es lineal. En el caso lineal, ambas son equivalentes.

La desviación estándar estimada, asociada con la estimación de la cantidad y , llamada la incertidumbre estándar combinada y denotada por $u_c(y)$, se calcula de la desviación estándar estimada que se asocia a cada estimación X_i , denominada incertidumbre estándar y designada con $u(x_i)$, esta última cantidad se puede calcular con una distribución de valores posibles de la cantidad X_i , la cual a su vez se obtiene de una serie de observaciones o de una distribución conocida a priori. La evaluación tipo A de la incertidumbre se basa en el primer caso (una distribución de frecuencias), mientras que la evaluación tipo B de la incertidumbre resulta de una distribución establecida a priori. Ambas reflejan el conocimiento del proceso de medición. (Miranda & Campo, s.f., pág. r)

Evaluación de incertidumbre tipo A

De resultados experimentales de observaciones repetidas. La incertidumbre típica es igual a la desviación típica:

$$u(x) = \frac{s(X)}{\sqrt{n}}. \quad \text{Ecuación 7}$$

Evaluación de incertidumbre tipo B

Cuando se tiene una estimación x_i de una cantidad X_i que no se ha obtenido de observaciones repetidas, la varianza estimada $u^2(x_i)$ o la incertidumbre estándar $u(x_i)$ se evalúan por un juicio científico basado en toda la información disponible acerca de la variabilidad de X_i . Entre ésta se pueden incluir:

- Datos de mediciones anteriores.
- Experiencia o conocimiento general acerca del comportamiento y propiedades de materiales de referencia, patrones o instrumentos.
- Especificaciones del fabricante.
- Datos provistos en calibraciones u otros certificados.
- Incertidumbres asignadas a datos de referencia tomados de manuales.

Por conveniencia, cuando $u^2(x_i)$ y $u(x_i)$ se calculan con estos procedimientos se conocen en ocasiones como la varianza tipo B y la incertidumbre estándar B. (Miranda & Campo, s.f., pág. 5)

Tipos de distribuciones

La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

Distribución normal

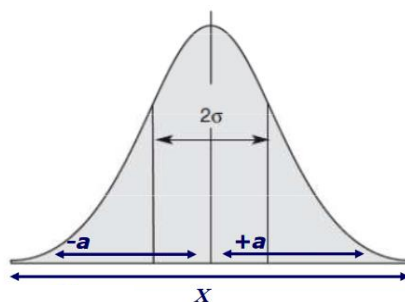
Los resultados de una medición repetida afectada por magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen en buena aproximación una distribución normal. En particular, la distribución de la media de una serie de mediciones repetidas se aproxima a una normal independientemente de la distribución de las lecturas individuales. También, la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal. Se utiliza cuando se dispone:

- De un intervalo de confianza ($x \pm a$) con indicación del nivel de confianza, por ejemplo 95% u otro. La incertidumbre típica se calcula por ejemplo para un nivel de confianza del 95 % como:

$$u(x) = \frac{a}{2}$$

Ecuación 8

Figura 2: Distribución Normal.



Nota. Recuperado de: (Muñoz, 2012, pág. 29)

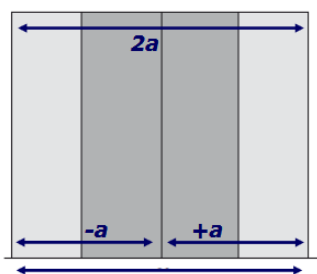
Distribución rectangular

En una distribución rectangular, cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad o sea, la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo. Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica sobre las tolerancias de un instrumento. En general, cuando exclusivamente hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de variabilidad de evaluación de tipo B de la incertidumbre típica. Se utiliza cuando, por ejemplo, se dan límites ($\pm a$) sin especificar el nivel de confianza y se espera que todos los valores sean igualmente probables.

Ejemplo. $t = (t_0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ ($a=0,5$)

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}} = \frac{0,5}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Figura 3: Distribución Rectangular.



Nota: Recuperado de: (Muñoz, 2012, pág. 30)

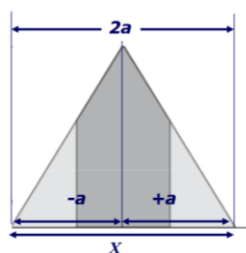
Distribución triangular

Si además del conocimiento de los límites superiores e inferiores hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular. Se utiliza cuando la información es menos limitada que para una rectangular y se puede suponer que los

valores cercanos al valor central son más probables que los valores extremos. La incertidumbre típica se calcula como:

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Figura 4: Distribución Triangular.



Nota: Recuperado de: (Muñoz, 2012, pág. 31)

Incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$

Incertidumbre estándar del resultado y de una medida cuando el resultado se obtiene a partir de los valores de un número de otras magnitudes, igual a la raíz cuadrada de una suma de términos, siendo los términos las varianzas o covarianzas de estas magnitudes ponderadas de acuerdo con la variación de los resultados de medida de cada magnitud. (Ellison, S; Williams, A, 2012, pág. 11)

Incertidumbre expandida U

Cantidad que define un intervalo sobre el resultado de una medición que se puede esperar incluya una gran fracción de la distribución de valores que pueden atribuirse razonablemente al mensurando. Puede ser considerada como una probabilidad de cobertura o nivel de confianza del intervalo. Una incertidumbre expandida U se calcula a partir de una incertidumbre estándar combinada u_c y un factor de cobertura k mediante la ecuación:

$$U = k \times u_c \quad \text{Ecuación 11}$$

(Ellison, S; Williams, A, 2012, pág. 12)

Muestras y la importancia de azufre y fósforo en estas matrices.

Forrajes

Presencia de azufre en forrajes.

El azufre por mucho tiempo no fue considerado como un nutriente esencial para el crecimiento vegetal, pero actualmente el azufre es tan importante en la producción de cultivos, que se ha

convertido en el cuarto macronutriente más reconocido, junto con el nitrógeno, fósforo y potasio. El azufre tiene diversas funciones en las plantas: presencia de azufre en algunos aminoácidos, que hacen parte de los bloques de construcción de las proteínas y la mayor parte del azufre absorbido por las plantas, aproximadamente el 90%, se utiliza para ese propósito. (Sela, 2017)

Deficiencias de azufre en forrajes.

Las deficiencias de azufre son más probables en los suelos arenosos con bajo nivel de materia orgánica (menos del 2%) y bajo condiciones de alta precipitación. Sin embargo, incluso en suelos con alto contenido de materia orgánica, a menudo, la descomposición de la materia orgánica y el proceso de mineralización no son lo suficientemente rápidos para cumplir con el requerimiento de azufre del cultivo. Cuando esto ocurre, y si el agua de riego no contiene azufre en un nivel adecuado, se tiene que aplicar fertilizantes o enmiendas de azufre. El azufre es inmóvil en las plantas y no es fácilmente translocado de las hojas más maduras a las hojas jóvenes. Por lo tanto, la deficiencia de azufre aparece primero en las hojas más jóvenes. Los síntomas de deficiencia de azufre aparecen como clorosis en hojas jóvenes (color verde pálido a amarillo). Las plantas deficientes son más pequeñas y su crecimiento es lento. Los síntomas pueden variar entre especies de plantas, por ejemplo, en el cultivo de maíz, la deficiencia de azufre aparece como clorosis internerval en las hojas jóvenes; en el trigo, la planta entera se vuelve pálida mientras que las hojas más jóvenes son más cloróticas. (Duggan, Torres, & Lemos, 2008, págs. 1-3)

Necesidades de los cultivos.

En la agricultura, los cultivos y sus productos, varían considerablemente en sus requerimientos de azufre. La tabla reportada por (Colacelli, 1999) llamada la división de Spenser, divide a los cultivos en 3 grupos, de los cuales se hace referiremos a dos, debido a que en la región nariñense son más comunes esta clase de productos.

Tabla 1: División de Spenser:

Grupo II: Incluye cultivos con moderados requerimientos (10 a 50 Kg/ha).	
	Requerimiento de azufre (Kg/ha) (*)
Caña de azúcar	20-40
Tréboles y pastos	10-40
Grupo III: Incluye cereales, forrajeras y otros cultivos con bajos requerimientos de azufre (5 a 25 kg/ha)	
	Requerimiento de azufre (Kg/ha) (*)
Remolacha azucarera	15-25
Cereales forrajeros	10-20

(*) La dosis depende del rendimiento.

Nota: Recuperada de: (Colacelli, 1999)

Presencia de fósforo en forrajes

El fósforo es un macro-elemento esencial para el crecimiento de las plantas, participa en los procesos metabólicos, tales como la fotosíntesis, la transferencia de energía y la síntesis y degradación de los carbohidratos, se encuentra en el suelo en compuestos orgánicos y en minerales, sin embargo, la cantidad del fósforo disponible en el suelo es muy baja en comparación con la cantidad total del fósforo en el suelo, por lo tanto, en muchos casos, los fertilizantes de fósforo deben ser aplicados para satisfacer los requerimientos nutricionales del cultivo.

Las plantas pueden absorber solamente el fósforo disuelto en la solución del suelo, y puesto que la mayor parte del fósforo en el suelo existe en compuestos químicos estables, sólo una pequeña cantidad de fósforo está disponible para la planta en cualquier momento dado, al absorber el fósforo de la solución del suelo por las raíces, parte del fósforo absorbido a la fase sólida del suelo es liberado a la solución del suelo, para mantener un equilibrio químico, en suelos ácidos el fósforo tiende a reaccionar con aluminio, hierro y manganeso, mientras que, en suelos alcalinos, la fijación dominante es con el calcio; el rango de pH óptimo para la disponibilidad máxima del fósforo es de 6.0-7.0. (Duggan, Torres, & Lemos, 2008, pág. 2)

La deficiencia de fósforo en forrajes

Los síntomas de la deficiencia del fósforo incluyen retrasos en el crecimiento de la planta, coloración púrpura oscura de las hojas más viejas, retraso en el crecimiento de las raíces y el florecimiento. En la mayoría de las plantas estos síntomas aparecen cuando la concentración del fósforo en las hojas es inferior al 0,2% (Duggan, Torres, & Lemos, 2008, pág. 3)

El exceso de fósforo en forrajes

El exceso de fósforo interviene, en su mayor parte, con la absorción de otros elementos, tales como el hierro, el manganeso y el zinc. La fertilización excesiva con fósforo es común y muchos agricultores aplican innecesariamente altas cantidades de fertilizantes de fósforo, especialmente cuando se utilizan fertilizantes compuestos de NPK o cuando se acidifica el agua de riego con ácido fosfórico. La concentración admisible de fósforo en soluciones de nutrientes es de 30-50 ppm, aunque se comprobó que se puede reducirla a 10-20 ppm. En las soluciones de nutrientes que fluye continuamente, la concentración de fósforo puede ser incluso tan bajo como 1-2 ppm. (Duggan, Torres, & Lemos, 2008, pág. 3)

Concentrado para cerdos

Alimento completo para cerdos, es el producto alimenticio resultante de la mezcla final de materias primas de origen vegetal, animal, vitaminas, minerales y aminoácidos, definidas en las normas correspondientes; además, puede contener aditivos no nutricionales aprobados por la autoridad competente. Esta clase de productos de acuerdo a la NTC 1839:1999 son capaces de satisfacer todos los requerimientos nutricionales de esta especie, para una determinada edad y propósito, como única fuente de alimento (ICONTEC, 1999, pág. 3).

El azufre por su parte, está presente en los aminoácidos azufrados cistina, cisteína y metionina. (INATEC, 2016) Las proteínas, principal constituyente celular, están formadas por una secuencia de más de 20 aminoácidos en diferentes combinaciones, estas proteínas ingresan con los alimentos y en el aparato digestivo se fragmentan en aminoácidos que son absorbidos y luego forman nuevas moléculas de proteínas. Los aminoácidos esenciales son los que el cerdo no puede sintetizar o lo hace con dificultad siendo los principales la lisina, treonina, triptófano, metionina y cistina, por lo que su consumo es necesario en la dieta. En el cerdo una deficiencia de algún aminoácido dará lugar a una mala tasa de crecimiento, conversión o un mal resultado reproductivo. (Sundrum, Schneider, & Richter, 2005, pág. 4)

Según (Gallo, y otros, 2014, pág. 7) las necesidades en proteínas y aminoácidos son proporcionalmente más elevadas en el animal joven, disminuyendo paulatinamente a medida que aumenta en edad, por lo que es importante en cerdos jóvenes, una dieta rica en proteínas que contengan estos aminoácidos, para garantizar un crecimiento saludable del cerdo.

Abonos, fertilizantes y correctores del suelo

Se llama fertilizante o abono a cualquier sustancia orgánica o inorgánica, natural o sintética que aporte a las plantas uno o varios de los elementos nutritivos indispensables para su desarrollo vegetativo normal. Las plantas extraen su alimento del agua del suelo y el oxígeno, hidrógeno y carbono del aire, pero para completar su alimentación necesita utilizar ciertas sustancias químicas simples del suelo, son los llamados nutrientes vegetales. Los fertilizantes y abonos se encargan de entregar y devolver a la tierra los nutrientes necesarios para el adecuado crecimiento de plantas, árboles, prados y arbustos. Todos los suelos poseen una cierta cantidad de nutrientes vegetales provenientes de la parte mineral del suelo, (arena, arcilla, etc.) y del humus generado por el reciclaje de materias vegetales y animales caídas sobre la superficie (hojas, flores, raíces muertas, etc.). Cuando se cultivan las plantas, el equilibrio se altera, porque el proceso de reciclaje natural

de los elementos esenciales del suelo es más lento de lo que demora la planta en utilizarlos. Debido a esto, el cuidado de plantas tanto para el consumo humano como animal, está estrechamente relacionado con los aditivos que el agricultor usa para el correcto crecimiento de la planta, es preciso conocer no solamente la condición de la planta, sino también la clase de fertilizante necesario para el cultivo y el problema que se quiere solucionar con este. (Rodríguez, y otros, 2006, págs. 6-8)

Torta de soya

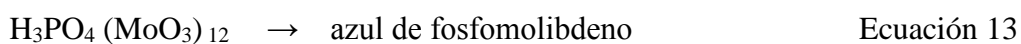
También conocida como pasta o harina de soya, es el subproducto del procesamiento del frijol de soya. Posee un alto contenido de proteína y aporta aminoácidos esenciales para el ganado lechero, como lisina, metionina y treonina, en un bulto de 40 kg se garantiza el 46 % de aporte de proteína (Oviedo & Pérez, 2013, pág. 26) no obstante, la torta es deficiente en calcio y fósforo, por lo que en algunos países agregan estos minerales al procesamiento de alimentos de consumo animal que tienen como base este tipo de materias primas para subir su porcentaje. Más del 90 % del frijol de soya que se produce en el mundo se emplea para alimentar a los animales, debido a que es la fuente de proteína más importante y eficiente del mundo para alimentación del ganado. Asimismo, presenta el mejor patrón de aminoácidos de origen vegetal. (ContextoGanadero., 2016)

Obtención de extracto con digestión por vía húmeda: principio del método.

Según (Motsara & Roy, 2008, págs. 80-81) el método de digestión húmeda consiste en la descomposición de materia orgánica y la disolución de las partes sólidas de la muestra, por medio de ácidos solos o una mezcla de estos, clásicamente ácido nítrico-perclórico concentrados en proporción 8:4, la cual se lleva cabo en erlenmeyer sobre placas de cerámica calientes. El ácido perclórico (HClO_4) se usa principalmente para aumentar la eficacia de la oxidación de la muestra. El ácido perclórico en algunas ocasiones, causa una explosión cuando entra en contacto directo con la muestra. Por lo tanto, se considera deseable la digestión previa de la muestra con HNO_3 , seguido del tratamiento con el ácido perclórico.

Determinación de fósforo: principio del método del ácido ascórbico.

La digestión por vía húmeda de las matrices permite analizar el contenido de P total por medio del método del ácido ascórbico; el cual consiste en la reacción de molibdato de amonio con fósforo como orto fosfato que junto con el tartrato de antimonio y potasio como catalizador, en un medio ácido forma un heteropoliácido (ácido fosfomolibdico) de color amarillo pálido (McKelvie, Peat, & Worsfold, 1995, pág. 6) como lo muestra la ecuación 12, que es reducido por la presencia de ácido ascórbico a un complejo azul de molibdeno intensamente coloreado (ecuación 13) sólo las formas de ortofosfato forman dicho color azul en esta prueba. (Doris, 2004, pág. 3). La intensidad de la coloración es proporcional a la concentración de analito presente en la muestra y susceptible de determinación colorimétrica a una longitud de onda de 660 nm. (McKelvie, Peat, & Worsfold, 1995, pág. 9)



(Reducción con ácido ascórbico)

Determinación de azufre: principio del método turbidimétrico.

El fundamento de este método se centra en la formación de partículas pequeñas que causan dispersión de la luz cuando una fuente de radiación incide sobre dichas partículas, el grado de turbidez o dispersión de la luz es proporcional a la cantidad de partículas formadas por la presencia del analito en la muestra. Este método se basa en la precipitación de azufre presente en la muestra en forma de sulfato (SO_4^{2-}) mediante la adición de cloruro de bario para formar sulfato de bario (Ecuación 18), dicho precipitado forma turbiedad en el medio acuoso, la cual puede ser medida en un espectrofotómetro visible a 420 nm. (Acosta, 2015, pág. 19)



Cartas de control

Son gráficos que sirven para monitorear y controlar el desempeño de un método en el tiempo y así detectar posibles problemas en la medida de la magnitud.

Materiales y métodos

Materiales

A continuación se muestran los equipos, materiales y reactivos usados durante esta práctica.

Tabla 2: Materiales, Equipos y Reactivos usados en toda la práctica empresarial.

Materiales	Equipos	Reactivos
Balón aforado 50 mL, 100 mL, 1L	Balanza analítica	Ácido acético glacial CH_3COOH
Dispensador de volumen variable 10 mL.	Espectrofotómetro UV- VIS Perkin Elmer Lambda 11.	Ácido ascórbico $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$
Dosificador de 2 mL	Plancha de calentamiento	Ácido clorhídrico HCl
Embudo de filtración	Vórtex.	Ácido nítrico HNO_3
Erlenmeyer 125 mL		Ácido perclórico HClO_4
Gradilla		Ácido sulfúrico H_2SO_4
Pipeta graduada 10 mL		Cloruro de Bario $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Pipeta aforada 1 mL, 2 mL, 10 mL		Gelatina
Tubo de ensayo 25 x 150		Molibdato de amonio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Tartrato de antimonio y potasio K $[\text{SbO}] \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$

Nota. *Todos los reactivos usados en este método son grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

*Toda el agua utilizada, tanto en preparación de reactivos como análisis debe ser de clase I

*La limpieza de todo material se lleva a cabo según el instructivo de limpieza de material de vidrio y elementos LBE-PRS-IN-01 (Anexo 2)

*Todo material utilizado es de referencia clase A.

Clasificación de matrices.

Para la presente práctica se analizaron muestras naturales, comerciales y de control interno, las cuales se clasificaron en la siguiente tabla.

Tabla 3: Tipo de matrices utilizadas, origen y clasificación.

Origen de la muestra.	Código muestra	Tipo de muestra	Clasificación
Muestras de control interno	V-01	MRCH	Forraje
	V-02	MRCIAO	Abono
Muestras naturales	V-03	Trébol	Forraje
	V-04	Kikuyo	Forraje
Muestra comercial	V-05	Abono orgánico animal	Abono
	V-06	Abono orgánico vegetal	Abono
	V-07	Torta de soya	Materia prima
	V-08	Concentrado de cerdos	Concentrado

Nota. Fuente: Esta investigación: La preparación, recolección y adecuación de las muestras se describe en el Anexo 3.

Determinación de azufre.

Obtención de extractos: Se pesó $1,0000 \pm 0,0001$ g de muestra en un erlenmeyer y con una mezcla de ácidos se destruye la materia orgánica para la obtención de una solución con el analito de interés, el procedimiento se muestra en el Anexo 4, posteriormente se realiza el procedimiento de análisis.

Procedimiento de preparación de estándares.

Solución patrón de 1000 mg/L de azufre.

Se pesó 5,434 g de sulfato de potasio K_2SO_4 , se disolvió a 1 L de solución.

Solución patrón de 100 mg/L de azufre.

Se tomó 10 mL de la solución patrón de 1000 mg/L de azufre y se aforó a 100 mL.

Curva patrón de azufre.

Se preparó los patrones de azufre que se indican a continuación, adicionando 1,0 mL de HCl 6N y aforando a 100 mL.

Tabla 4: Patrones de azufre

V (mL) S 100 mg/L	[] final S (mg/L)
0,0	0,0
1,0	1,0
2,0	2,0
4,0	4,0
6,0	6,0
8,0	8,0
10,0	10,0
12,0	12,0
14,0	14,0

Nota. Fuente: Esta investigación

Se tomó 10 mL de cada uno de los patrones en tubos de ensayo y se sigue el mismo procedimiento de análisis que con las muestras; Se construyó la curva patrón, graficando Concentración vs Absorbancia.

Tabla 5: Curva patrón azufre

[] final S (mg/L)
0,00
0,74
1,43
2,86
4,29
5,71
7,14
8,57
10,00

Nota. Fuente: Esta investigación

Procedimiento de análisis

A cada tubo se agregó 2 mL del extracto, adicionalmente un blanco de patrones. Se adicionó 8 mL de agua clase 1 (o la dilución que requiera la muestra, Anexo 5) y se agitó.

Se adicionó 2 ml de la solución inicial ácida de azufre y agitó. Se adicionó 2 mL del reactivo turbidimétrico. (Preparación de reactivos en Anexo 6) Se agitó y se dejó en reposo por 35 minutos.

Se agitó y realizó la determinación en el espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11 entre los 40 y 60 minutos, a una longitud de onda de 420 nm.

Determinación de fósforo

Obtención de extractos: Se pesó $1,0000 \pm 0,0001$ g de muestra en un erlenmeyer y con una mezcla de ácidos se destruye la materia orgánica para la obtención de una solución con el analito de interés, el procedimiento exacto se muestra en el Anexo 4, posterior mente se realiza el procedimiento de análisis.

Procedimiento de preparación de estándares

Solución patrón de 50 mg/L de fósforo.

Se pesó 0,2195 g de fosfato Monopotásico cristalizado KH_2PO_4 , previamente secado durante 1 hora a 105°C . Se disolvió a un litro de solución.

Curva patrón de fósforo.

Se preparó 100 mL de los patrones de fósforo que se indican a continuación

Tabla 6: **Patrones de fósforo**

V (mL) Patrón P 50 mg/L	V final (mL)	[] final P (mg/L)
0,0	100,0	0,0
2,0	100,0	1,0
4,0	100,0	2,0
8,0	100,0	4,0
10,0	100,0	5,0
12,0	100,0	6,0
16,0	100,0	8,0
20,0	100,0	10,0

Nota. Fuente: Esta investigación

Se agregó 9 mL de solución de desarrollo de color (Preparación en Anexo 7) en tubos de ensayo, se agregó 1 mL de cada uno de los patrones, se agitó y se siguió el mismo procedimiento para la determinación de las muestras. Se construyó la curva patrón, graficando concentración vs absorbancia

Tabla 7: **curva patrón de fósforo**

Concentración final (mg P/L)	Abs
0,0	
0,1	
0,2	
0,4	
0,5	
0,6	
0,8	
1,0	

Nota. Fuente: Esta investigación

Procedimiento de análisis

En un tubo de ensayo se agregó 9 mL de la solución para desarrollo de color. Se adicionó 1 mL del extracto diluido (o la dilución que corresponda según la muestra en el Anexo 5) y se agitó. Se preparó el blanco con 9 mL de solución coloreadora y 1 mL de agua clase 1 y se agitó. Después de 15 minutos, se realizó la lectura a una longitud de onda de 660 nm, en el espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11.

Estandarización y validación

La estandarización y validación de los parámetros analíticos azufre y fósforo se realizó siguiendo la guía de validación de métodos analíticos Eurachem (Morillas P.P. y colaboradores., 2016, pág. 12) y el Instructivo de validación de métodos analíticos LBE-PRS-IN-05.

Rango lineal y Rango de trabajo.

Para determinar el rango lineal de cada método, (Anexo 6, Anexo 7), se realizó la lectura de patrones de calibración de 6-10 concentraciones en el rango de interés del método, incluido un blanco de reactivo. Se graficó la respuesta de absorbancia (eje y) en función de la concentración (eje x) y se examinó el límite superior e inferior del intervalo de trabajo del instrumento. Posteriormente, se analizó el rango de trabajo midiendo un blanco y patrones de calibración los cuales fueron preparados por duplicado y se realizó las determinaciones por triplicado de las concentraciones analizadas en el rango lineal, se graficó la respuesta de absorbancia (eje y) en función de la concentración (eje x) y mediante el coeficiente de determinación se confirma la linealidad de la curva de calibración; además se determina el cálculo de desviación estándar relativa como criterio de aceptación $RSD < 5\%$ como adecuados y $RSD < 10\%$ como aceptables y se recomienda repetir las determinaciones si su $RSD > 15\%$.

Límite de detección y límite de cuantificación.

La determinación de LDM y LCM se llevó a cabo mediante el análisis de cinco blancos de análisis por duplicado para cada metodología (Anexo 6, Anexo 7), se calculó (S'_0) a partir de S siguiendo la ecuación 3, para incluir la corrección por blanco incluida en el método, posteriormente se calculó el límite de detección por la ecuación 1, mientras que, el límite de cuantificación se calculó por medio de la ecuación 2.

Precisión

La precisión se determinó en términos de reproducibilidad y repetibilidad en muestras de control interno, muestras comerciales, naturales (Anexo 5) y patrones de diferentes concentraciones en el intervalo de trabajo y siguiendo la metodología de cada procedimiento (Anexo 4, Anexo 6 y Anexo 7). La repetibilidad se calculó con 5 réplicas por duplicado para cada matriz, trabajando con el mismo equipo, analista y un periodo de tiempo corto; se determinó la

desviación estándar de los resultados de cada material y se analizó la repetibilidad en términos de desviación estándar de los resultados de ANOVA para cada material.

Exactitud

La exactitud se determinó en términos de % de error, desviación estándar y % de recuperación en muestras de control interno, adicionados (Anexo 5) y patrones de diferentes concentraciones en el intervalo de trabajo 5 veces por duplicado siguiendo la metodología de cada procedimiento, realizando un duplicado por día, se determinó la exactitud en términos de error, aceptando % de error y desviaciones estándar por debajo del 5%. El porcentaje de recuperación se determinó al menos 5 veces por duplicado de las muestras de control interno V-01 y V-02 no adicionadas y adicionadas con el analito de interés dentro del intervalo de trabajo de los métodos.

Calculo de incertidumbre.

Con los resultados estadísticos producto de la validación de los métodos y considerados trazables, los equipos, material de vidrio volumétrico y reactivos, se realizó un análisis de causa – efecto para cada parámetro, teniendo en cuenta cada paso de los procedimientos de los Anexo 6 y Anexo 7 y encontrando cada fuente de incertidumbre como lo muestra el Anexo 8 y Anexo 9 por cada mesurando objeto de estudio de esta práctica empresarial.

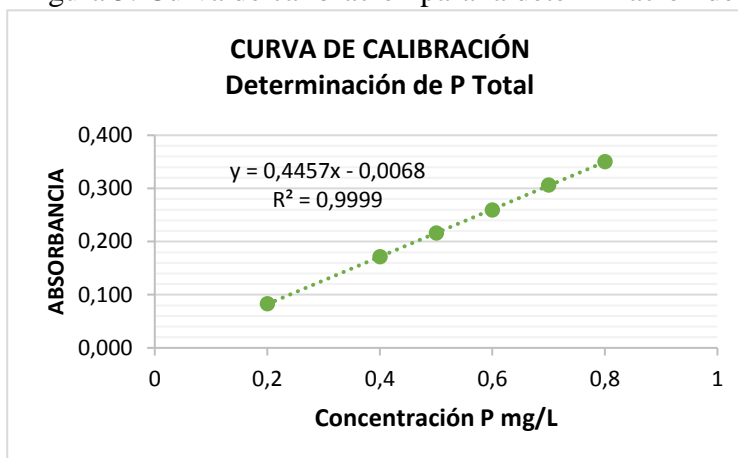
Resultados y discusión

Estandarización y validación del método colorimétrico ácido ascórbico para la determinación de fósforo.

Curva de calibración

Con el método estandarizado para la determinación de fósforo, se realizó la curva de calibración con patrones de 0,10; 0,20; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80 mg P/L, los resultados se muestran en la Figura 5.

Figura 5: Curva de calibración para la determinación de fósforo.



Nota. Fuente: Esta investigación

Linealidad: Para comprobar o evaluar la relación lineal entre la señal y la concentración se determinó la ecuación de regresión lineal y se calculó: la pendiente, el intercepto y el coeficiente de determinación (R^2), de la línea de regresión o curva de calibración ajustada mediante el método de los mínimos cuadrados (Figura 5) y se determinó que el coeficiente de correlación es adecuado si se compara con el criterio teórico de aceptación mayor o igual a 0,997.

Como medida de verificación de la linealidad, se obtuvo que el coeficiente de determinación (R^2) de la gráfica es de 0,999; cumpliendo con el criterio de aceptación para la verificación de linealidad de 0,997 para el método.

Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método

Según las ecuaciones 1 y 2 se determinó el límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM) respectivamente, los resultados se indican en la Tabla 8.

Tabla 8: Límite de detección y cuantificación del método.

Parámetro	[mg P /L]
Promedio Blanco	0,0973
s	0,0125
S'	0,0154
LDM	0,046
LCM	0,154

Nota. Fuente esta investigación

Este límite de detección es adecuado debido a que en muestras naturales como forrajes según (Fonseca, Vargas, Pontigo, & Portillo, 1984, pág. 4) poseen niveles de fósforo de más de 100 mg P/L, en cuanto a los niveles de fosforo en abonos, un abono fosforado tiene al menos un 30% de P por muestra, y en cuanto a materias primas y concentrados, por lo general son fortificados en este tipo de minerales por lo cual el método es apto para la determinación de fosforo ya que el límite de cuantificación nos permite encontrar de forma confiable concentraciones muy pequeñas de este analito.

Rango dinámico lineal

Para comprobar el rango dinámico lineal del método se comprobó experimentalmente el LCM 0,154 mg P/L y a partir de este valor puede trabajar con criterios estadísticos confiables de forma lineal hasta 1,200 mg P/L, así como se evidencia en la Tabla 9.

Tabla 9: Determinación rango dinámico lineal para la determinación de fósforo.

Concentración P mg/L	0,154	0,200	0,500	0,8	1,000	1,200
Promedio	0,159	0,200	0,485	0,778	1,012	1,210
Desviación estándar	0,002	0,005	0,008	0,007	0,026	0,018
%CV	1,440	2,645	1,632	0,908	2,545	1,524
%E	3,339	0,053	3,100	2,809	1,230	0,816
R ² (Puntos de curva 0,2; 0,5; 0,8; 1,0; y 1,2 mg/L)						0,9989
R ² (Puntos de curva 0,2; 0,5 y 0,8 mg/L)						0,9998

Nota. Fuente: esta investigación.

De acuerdo a la Tabla 9, observamos que la linealidad decae con concentraciones mayores de 0,8 mg/L del analito, lo cual lo evidenciamos realizando el cálculo del coeficiente de determinación tanto para los puntos de curva comprendidos desde 0,05-0,8 mg/L y 0,05-1,2 mg/L, por lo que se concluye que el rango de trabajo y curva de calibración adecuada y con resultados apropiados para la determinación de este analito será comprendido con las concentraciones de 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 y 0,8 mg P/L.

Precisión

Para determinar la precisión se analizaron los términos de repetibilidad y reproducibilidad del método.

Reproducibilidad

Para determinar la precisión en términos de reproducibilidad, se analizó los resultados obtenidos durante la práctica junto con resultados de otro analista tanto de un patrón y las muestras de control interno V-01 y V-02. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Precisión para fósforo total en términos de reproducibilidad.

P mg/L	Fuente De Variación	media	varianza	F calculado	F crítico
0,6	Analista 1	0,5753	0,0002	2,1152	3,1789
	Analista 2	0,5944	0,0001		
V-01	Analista 1	0,1373	0,0000	0,5238*	0,3146
	Analista 2	0,1418	0,0001		
V-02	Analista 1	1,1715	0,0089	0,8524*	0,3146
	Analista 2	1,0906	0,0104		

Nota. El análisis para reproducibilidad se rechaza debido a que $F_{calculado} > F_{crítico}$. Fuente esta investigación

Según los resultados obtenidos de precisión de fósforo total en términos de reproducibilidad (Tabla 10), no hay diferencia estadística significativa entre los valores de la media y la varianza entre el analista 1 y analista 2 para el patrón de referencia 0,6 mg P/L; se recomienda realizar más determinaciones para las muestras V-01 y V-02 por cada analista para mejorar los resultados obtenidos y que estadísticamente puedan ser comparados en el desarrollo de la metodología implementada.

Repetibilidad

La repetibilidad se determinó teniendo en cuenta ocho matrices (Tabla 3). La validación se realizó, mediante la determinación de fosforo 5 veces por duplicado de BK, Patrones y muestras V-01, V-02, V-03, V-04, V-05, V-06, V-07 y V-08, además se calculó la diferencia porcentual relativa (DPR) $(\text{rango/promedio}) * 100$. El análisis de los resultados se muestra en la tabla 11 y 12.

Tabla 11: Análisis ANOVA determinación de fósforo. Muestras de control interno.

MR	Fuente de variación	Fósforo g/100 g	\bar{x}	% DPR	\bar{X}	S	%CV	F cal	F crit. (95%)
V-01	Rep. 1	0,146 0,145	0,15	0,77	0,141	0,0093	6,576	0,0985	5,3176
	Rep. 2	0,135 0,132	0,13	2,46					
	Rep. 3	0,133 0,135	0,13	1,68					
	Rep. 4	0,150 0,162	0,16	7,65					
	Rep. 5	0,138 0,138	0,14	0,00					
V-02	Rep. 1	1,151 1,173	1,16	1,91	1,077	0,0692	6,421	0,1038	5,3176
	Rep. 2	1,177 1,281	1,23	8,39					
	Rep. 3	0,977 1,045	1,01	6,73					
	Rep. 4	1,041 1,030	1,04	1,10					
	Rep. 5	1,038 1,021	1,03	1,60					
V-03	Rep. 1	0,324 0,344	0,33	5,87	0,293	0,0250	8,501	0,1178	5,3176
	Rep. 2	0,293 0,301	0,30	2,63					
	Rep. 3	0,269 0,272	0,27	1,29					
	Rep. 4	0,271 0,272	0,27	0,41					
	Rep. 5	0,294 0,290	0,29	1,22					
V-04	Rep. 1	0,709 0,726	0,72	2,33	0,657	0,0552	8,392	0,0375	5,3176
	Rep. 2	0,667 0,727	0,70	8,56					
	Rep. 3	0,801 0,723	0,59	0,03					
	Rep. 4	0,587 0,588	0,61	2,76					
	Rep. 5	0,619 0,602	0,67	3,55					

Continuación.

Tabla 12: Contin. Análisis ANOVA determinación de fósforo. Muestras de control interno.

MR	Fuente de variación	Fósforo g/100 g	\bar{x}	% DPR	\bar{X}	S	%CV	F cal	F crit. (95%)
V- 05	Rep. 1	0,309 0,307	0,31	0,71	0,322	0,0112	3,486	0,0387	5,3176
	Rep. 2	0,313 0,322	0,32	2,85					
	Rep. 3	0,321 0,338	0,33	5,06					
	Rep. 4	0,337 0,315	0,33	6,76					
	Rep. 5	0,333 0,324	0,33	2,70					
V- 06	Rep. 1	1,011 0,978	0,99	3,40	0,956	0,0391	4,091	0,0413	5,3176
	Rep. 2	0,889 0,906	0,90	1,88					
	Rep. 3	0,924 0,990	0,96	6,86					
	Rep. 4	0,955 0,961	0,96	0,58					
	Rep. 5	0,988 0,960	0,97	2,83					
V- 07	Rep. 1	0,932 0,927	0,93	0,60	0,794	0,0797	10,032	0,0001	5,3176
	Rep. 2	0,746 0,757	0,75	1,51					
	Rep. 3	0,743 0,731	0,74	1,52					
	Rep. 4	0,805 0,835	0,82	3,64					
	Rep. 5	0,745 0,717	0,73	3,78					
V- 08	Rep. 1	0,726 0,742	0,73	2,29	0,6766	0,0524	7,744	0,0788	5,3176
	Rep. 2	0,716 0,727	0,72	1,53					
	Rep. 3	0,604 0,638	0,62	5,46					
	Rep. 4	0,613 0,624	0,62	1,81					
	Rep. 5	0,697 0,673	0,69	3,49					

Nota. Fuente: esta investigación.

Los resultados muestran que el 82% de los DPR están por debajo del 5% mientras que el 18% restante no supera el 10%, lo cual demuestra que la repetibilidad entre duplicados es buena y los coeficientes de variación para cada matriz están por debajo del 10%. El análisis de distribución ANOVA muestra que los F calculados son menores al F crítico al 95%, indicando que el método es repetible en este tipo de matrices. Por lo tanto se concluye que el método presenta una precisión aceptable con respecto a los resultados obtenidos.

Exactitud

Para la determinación de exactitud se realizó el cálculo de porcentaje de error (Tabla 13) del análisis de concentración de las muestras de control interno V-01 y V-02 en el transcurso de la práctica, frente al resultado arrojado por Corpoica dicho resultado se muestra en el reporte de resultados expedido por Corpoica Tabla 13 (Anexo 10).

Tabla 13: Porcentaje de error; determinación de fósforo muestras de control interno.

Muestra	% materia seca	g/100g Base seca.	Dato reportado por Corpoica g/100g	%error	exactitud
V- 01	91,770	0,155	0,140	10,404	89,596
V- 02	93,800	1,163	1,180	1,468	98,532

Nota. Fuente esta investigación.

Los resultados arrojados por este análisis muestra que los porcentajes de error para la muestra V-01 en materia seca tiene un error del 10,4%, mientras que el % error para la muestra V-02 es del 1,468 % y en términos de exactitud oscila entre el 89,6% al 98,53% y se demuestra que el error en términos de exactitud es aceptable para la determinación de fósforo en V-01 y V-02, teniendo en cuenta solo el análisis de estas muestras realizadas por Corpoica; Se recomienda realizar análisis de las muestras de control interno en más laboratorios acreditados para obtener un % de exactitud más confiable.

Recuperación

Se realizó el cálculo del porcentaje de recuperación utilizando las muestras de control interno V-01 y V-02 y muestras adicionadas con un patrón de concentración de 0,8 mg/L. Se preparó muestras V-01, V-01+AD, V-02 y V-02+AD, donde, los adicionados se realizaron reemplazando el 20% de muestra por el patrón mencionado; los resultados se muestran en la Tabla 14 y Tabla 15, respectivamente.

Tabla 14 : Porcentaje de Recuperación Muestra V-01.

Muestra V-01	Patrón 0,8 mg P /L	V- 01 mg P/L	V- 01+AD mg P/L	%recuperación
Promedio	0,7940	0,2812	0,3866	
Desviación Estándar	0,0060	0,0185	0,0165	101,7629
%CV	0,7618	6,5861	4,2911	

Nota. Fuente: esta investigación

Tabla 15: Porcentaje de Recuperación Muestra V-02.

Muestra V-02	Patrón 0,8 mg P /L	V- 02 mg P/L	V- 02+AD mg P/L	%recuperación
Promedio	0,7922	0,4442	0,5151	
Desviación Estándar	0,0110	0,0406	0,03299	101,0561
%CV	1,3987	9,1414	6,4046	

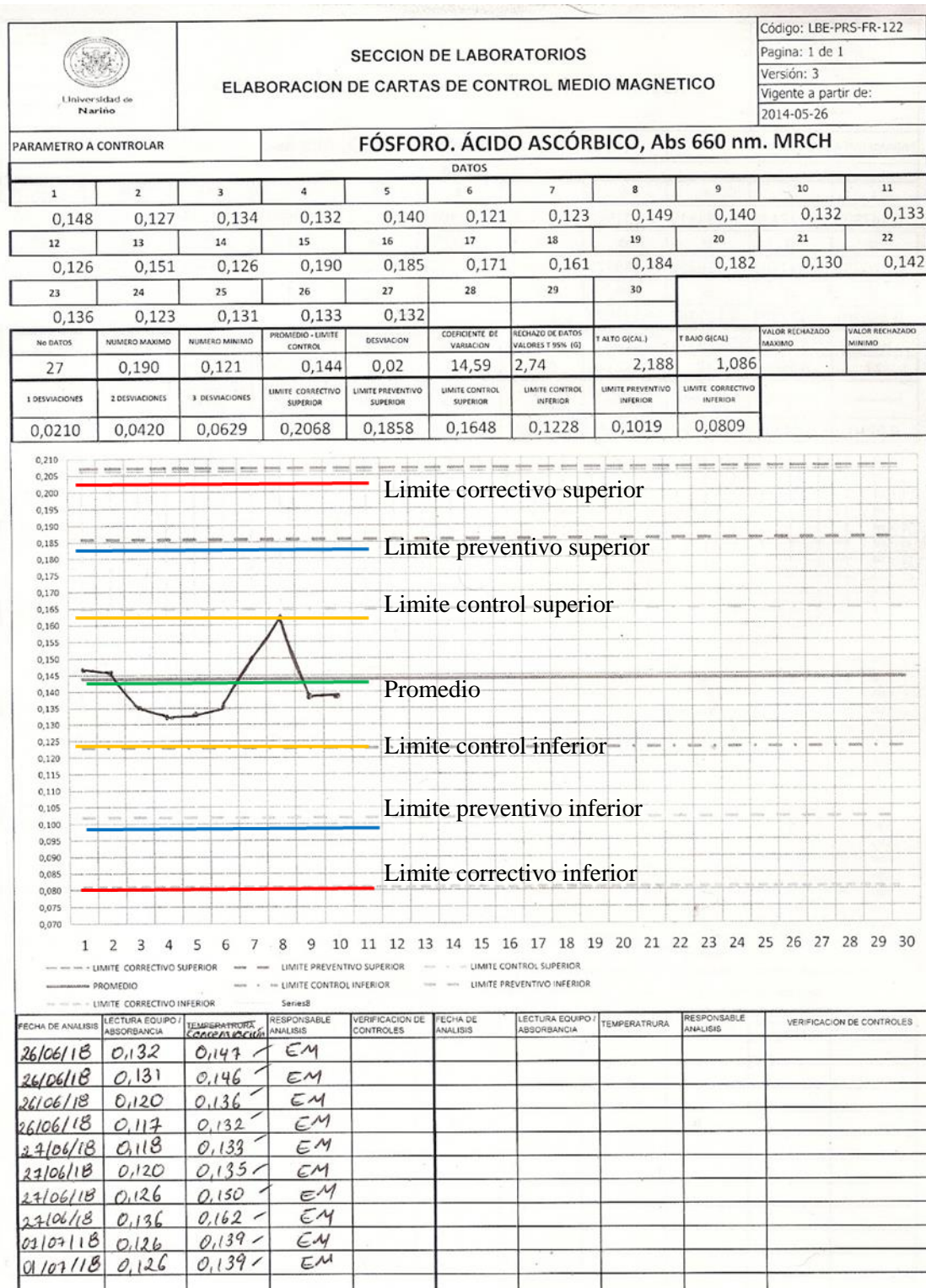
Nota. Fuente: esta investigación

Se observó buenos porcentajes de recuperación, ya que los resultados se encuentran dentro del rango de los criterios teóricos de aceptación del laboratorio del 90 – 115%; por lo que se puede concluir que el método se puede aplicar adecuadamente y no se evidencian interferencias en el método.

Carta de control

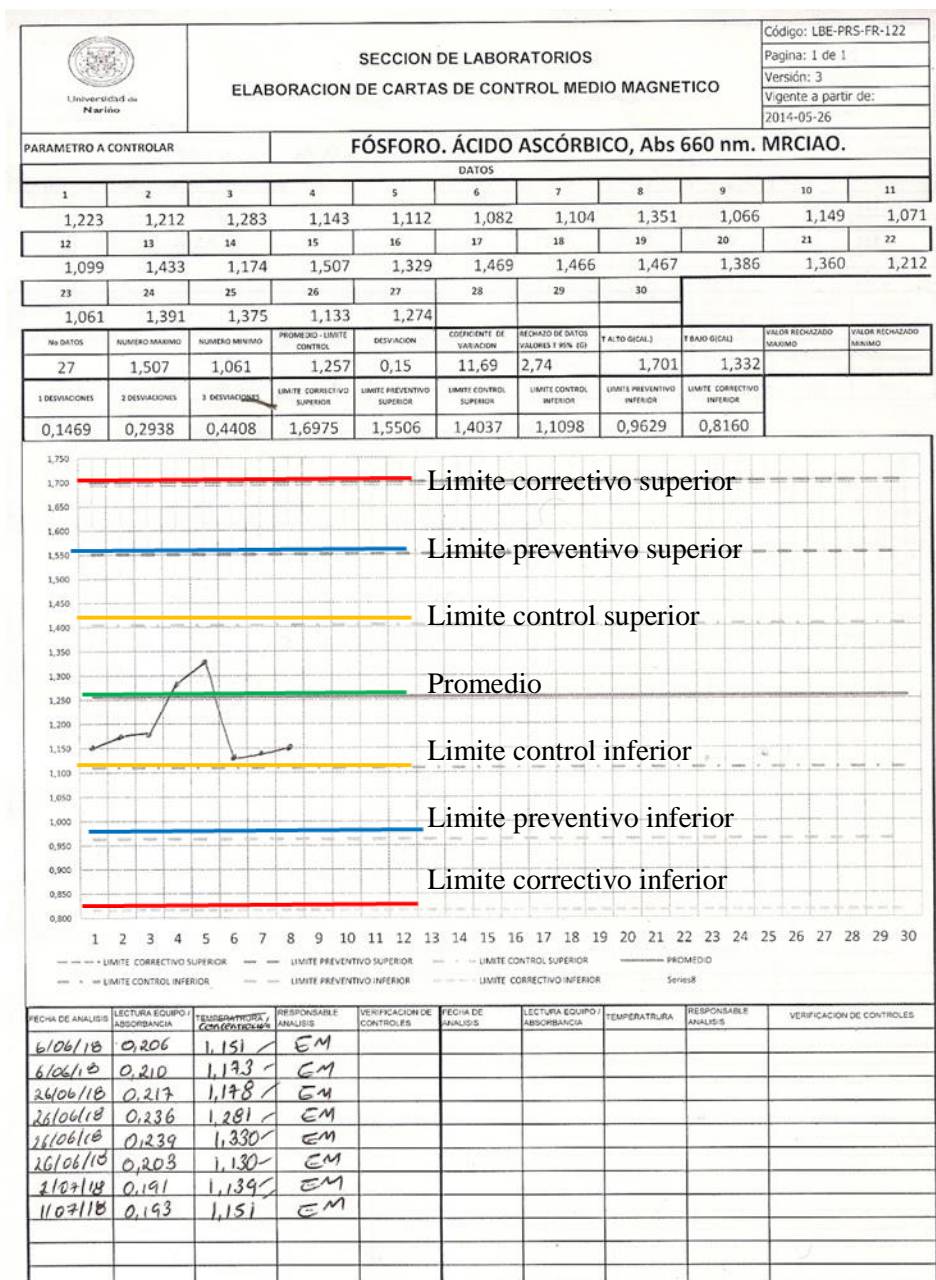
Para comprobar que el método estandarizado y validado se encuentra bajo condiciones controladas, se elaboró cartas de control de exactitud para las muestras de control interno V-01 (Figura 6) y V-02 (Figura 7), las cuales se analizan con cada lote de muestras. En las cartas de control se observan el promedio de concentraciones de análisis anteriores y los límites correctivos, límites preventivos y límites de control superiores e inferiores; las cartas de control para las muestras de control interno son útiles para determinar si hay factores que afecten el análisis y tomar acciones correctivas para la determinación de fosforo en muestras externas.

Figura 6: Carta de control muestra de control interno V-01



Nota. Fuente: Esta investigación.

Figura 7: Carta de control muestra de control interno V-02



Nota. Fuente: Esta investigación.

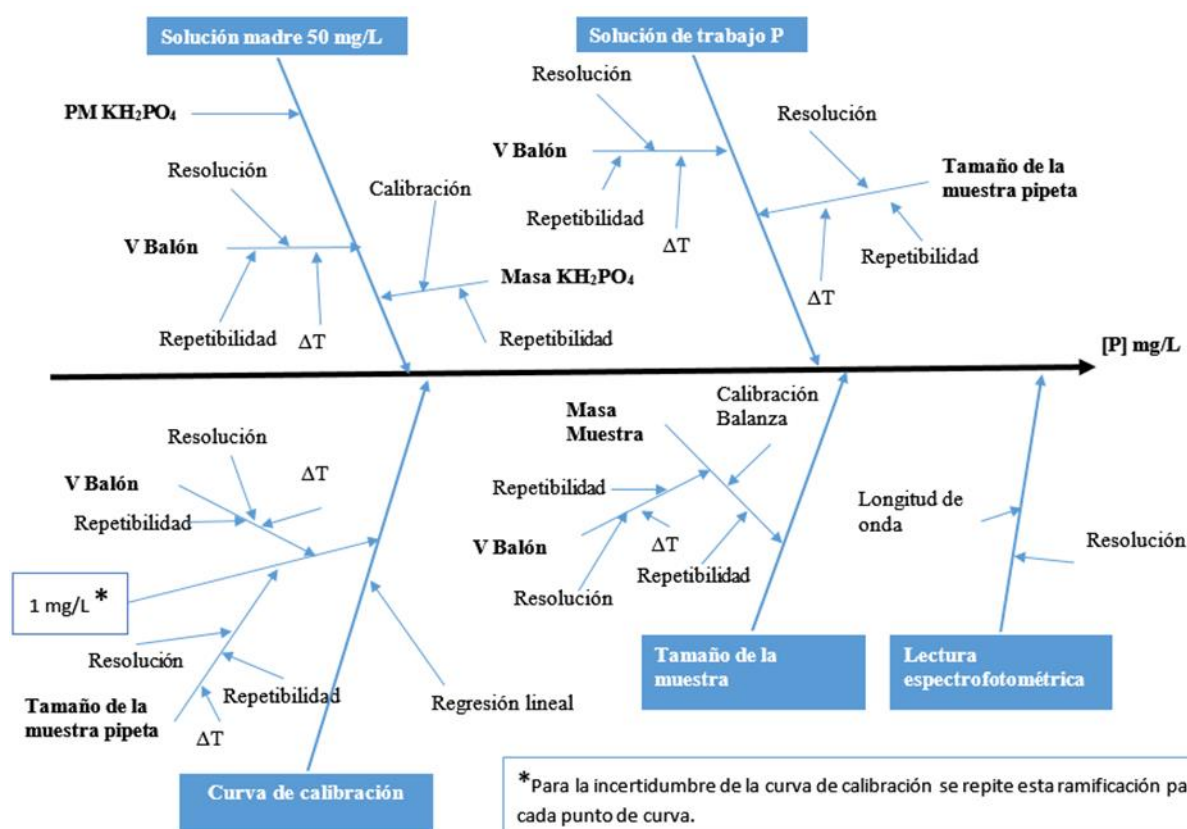
Con los gráficos de control para las muestras de control interno V-01 y V-02 concluimos que la validación del parámetro analítico fósforo se encuentra estadísticamente bajo control debido a que los valores obtenidos durante el proceso de medición se encuentran dentro de los límites de control del método, que corresponden a 1, 2 y 3 desviaciones estándar por encima y debajo del promedio de concentración de análisis anteriores de las muestras de control interno.

Estimación de Incertidumbre

Identificación de las Fuentes de Incertidumbre

Empleando los datos de validación y considerando trazable el material volumétrico, equipos (certificados de calibración Anexo 11), y reactivos (certificados de análisis Anexo 12) se plantea una estrategia para la estimación de la incertidumbre así como se muestra en el diagrama causa y efecto (Figura 8).

Figura 8: Diagrama Causa-Efecto para determinación de fósforo



Nota: Fuente Esta investigación.

Posteriormente se llevó a cabo los cálculos para la estimación de la incertidumbre expandida, teniendo en cuenta todas las causas de incertidumbres descritas en la Figura 8. Para las cuales se realizaron todos los cálculos necesarios que se describen en el Anexo 13.

Los resultados obtenidos de la estimación de la incertidumbre para la determinación de fósforo, se expresan en la Tabla 16.

Tabla 16. Tabla resumen de Incertidumbre para el análisis de fósforo.

Fuente de Incertidumbre Magnitud de entrada	Valor de Medición	Fuente de Información	Incertidumbre Original		Tipo A o B	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar Relativa
			Valor	Unidades					
Xi	xi						U(Xi)	Uo(Xi)	U(Xi)/xi
Concentración Solución Patrón									
Variabilidad por patrón KH ₂ PO ₄									7,93E-03
Masa de KH ₂ PO ₄	2,19E-02							1,61E-04	7,36E-03
Masa final		Cálculos	6,32E-05	g	tipo B	normal	2,00E-05		
Resolución		Fabricante	3,20E-04	g	tipo B	Normal, K=2	1,60E-04		
Masa molar KH ₂ PO ₄	1,36E+02	Cálculos	1,72E-04	g/mol		Rectangular		7,00E-04	5,14E-06
masa atómica K	3,91E+01	Ref	1,00E-04	g/mol	tipo B	Rectangular	5,77E-05		
masa molecular H ₂	2,02E+00	Ref	7,00E-05	g/mol	tipo B	Rectangular	8,08E-05		
masa atómica P	3,10E+01	Ref	2,00E-06	g/mol	tipo B	Rectangular	1,15E-06		
masa molecular O ₄	6,40E+01	Ref	3,00E-04	g/mol	tipo B	Rectangular	6,93E-04		
Pureza KH ₂ PO ₄	9,95E+01	Certificado	5,00E-01	N.A.	tipo B	Rectangular	2,89E-01	2,89E-01	2,90E-03
Volumen matraz de 100mL	1,00E+02	Cálculos		mL				4,10E-02	4,10E-04
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Triangular	4,08E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,26E-02	mL	Tipo A	normal	3,98E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-04
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00446	
Concentración Solución de Trabajo									
Variabilidad Solución De Trabajo KH ₂ PO ₄									4,87E-03
Pipeta (muestra)	1,00E+00							2,99E-03	2,99E-03
Volumen Balón		Certificado	6,00E-03	mL	tipo B	Triangular	2,45E-03		
Repetibilidad		Cálculos	5,40E-03	mL	Tipo A	normal	1,71E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-06
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	normal	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		4,46E-05	
Pipeta (sln coloreadora)	1,00E+00							2,88E-03	2,88E-03
Volumen pipeta		Certificado	6,00E-03	mL	tipo B	Triangular	2,45E-03		
Repetibilidad		Cálculos	4,76E-03	mL	Tipo A	normal	1,51E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-06
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	normal	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		4,46E-05	
Pipeta (sln coloreadora)	8,00E+00							2,05E-02	2,56E-03
Volumen pipeta		Certificado	5,00E-02	mL	tipo B	Triangular	2,04E-02		
Repetibilidad		Cálculos	4,78E-03	mL	Tipo A	normal	1,51E-03		

Continuación.

Fuente de Incertidumbre Magnitud de entrada	Valor de Medición	Fuente de Información	Incertidumbre Original		Tipo A o B	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar Relativa
			Valor	Unidades					
Xi	xi						U(Xi)	Uo(Xi)	U(Xi)/xi
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	1,78E-05
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	normal	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		3,57E-04	
Curva de Calibración									
Variabilidad debida a la Curva de Calibración									8,26E-03
	1,99E-01	U	4,32E-04				2,17E-03		7,27E-03
	3,99E-01		1,66E-03				4,15E-03		
	4,98E-01		5,37E-04				1,08E-03		
	5,98E-01		1,90E-03				3,17E-03		
	6,98E-01		1,62E-03				2,32E-03		
	7,98E-01		3,01E-03				3,78E-03		
regresión lineal.		Cálculos				Normal			3,93E-03
Lectura espectrofotométrica									
Variabilidad de lectura espectrofotométrica									1,19E-06
Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	4,20E+02							5,00E-04	1,19E-06
Repetibilidad		Certificado	0,00E+00			Normal, K=2	0,00E+00		
Resolución		Certificado	1,00E-03			Normal, K=2	5,00E-04		
U Tamaño de la muestra									
Variabilidad debida al Tamaño de Muestra									5,40E-04
peso de la muestra	1,00E+00	gramo						1,61E-04	1,61E-04
repetibilidad		cálculos	6,32E-05			normal	2,00E-05		
resolución		Certificado	3,20E-04			normal K=2	1,60E-04		
Balón	5,00E+01							2,52E-02	5,03E-04
resolución Balón		Certificado	6,00E-02	mL	tipo B	triangular	2,45E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,82E-02	mL	Tipo A		5,77E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	1,11E-04
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	normal	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00223	
Incertidumbre Estándar Combinada									1,25E-02
Incertidumbre Expandida (K=2)									2,49E-02

Fuente: Esta Investigación

Expresión de Resultados

La incertidumbre expandida obtenida en la Tabla 16 para la determinación de fósforo, es de 0,0249 y esta debe ser multiplicada por cualquier valor de concentración de fósforo obtenido, obteniendo como resultados la incertidumbre expandida para cada concentración específica.

$$[P] \text{ muestra} = [P] \text{ muestra} \pm 0,0249 \times [P] \text{ muestra}$$

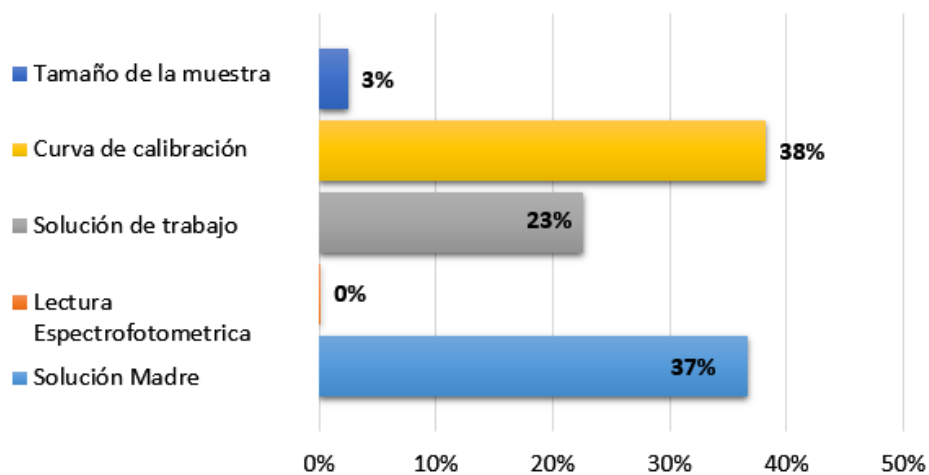
Por ejemplo para una concentración de 1,000 mg P/L, el resultado se expresa así:

$$1,000 \text{ mg P/L} \pm 0,0249 \text{ mg P/L}$$

Con los resultados de la incertidumbre estándar relativa mostrados en la Tabla 16, se realizó un gráfico de barras (Figura 9), en el cual se evidencia los porcentajes de contribución de incertidumbre.

Figura 9: Porcentaje de Contribución de Incertidumbre

Porcentaje de Contribución de Incertidumbre



Nota. Fuente esta investigación.

De la Figura 9 puede observar que la mayor variabilidad para la determinación de fósforo por el método de ácido ascórbico, se debe a la curva de calibración con un 38% de contribución, seguida por un 37% debido a la solución madre, un 23% por la preparación de la solución de trabajo, seguida de la variabilidad debida al tamaño de muestra con un 3%, mientras que la lectura espectrofotométrica tiene un 0% de aporte a la incertidumbre.

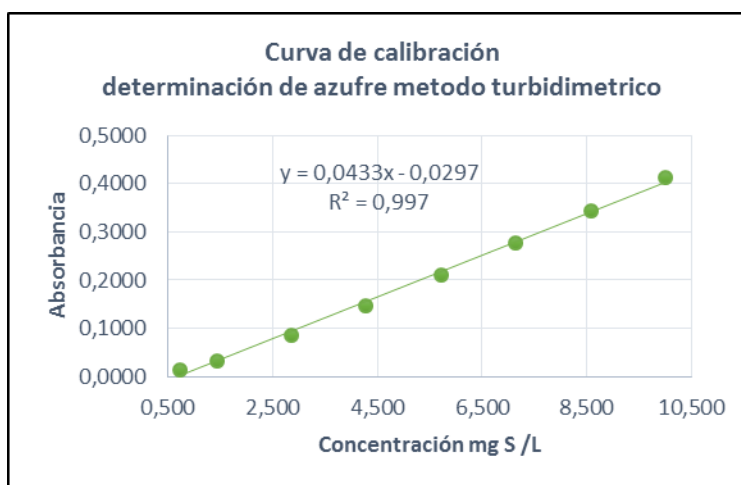
La contribución atribuida por la solución madre es esperable debido a que la solución madre no es un patrón trazable NIST el cual reporta directamente la incertidumbre, lo que conlleva a que la preparación de este aporte mayor incertidumbre en el reporte de resultados.

Estandarización y validación del método turbidimétrico para la determinación de azufre.

Curva de calibración

Llevando a cabo el método controlado para la determinación de azufre, y establecer los parámetros necesarios para validación del método, se realizó la curva de calibración con los patrones preparados de acuerdo a la Tabla 4, para la lectura de las concentraciones de la curva de calibración mostradas en la Tabla 5 de 0,71; 1,42; 2,85; 4,28; 5,71; 7,14; 8,57 y 10,00 mg S/L, para este método se analizó 10 curvas por duplicado, los resultados se muestran en la Figura 10.

Figura 10: Curva de Calibración de la determinación de azufre por turbidimetría.



Nota. Fuente: Esta Investigación

Linealidad: Para comprobar o evaluar la relación lineal entre la señal y la concentración se determinó la ecuación de regresión lineal y se calculó: la pendiente, el intercepto y el coeficiente de determinación (R^2), de la línea de regresión o curva de calibración ajustada mediante el método de los mínimos cuadrados (Figura 10), teniendo como criterio de aceptación coeficientes de determinación mayor o igual a 0,994.

Como medida de verificación de la linealidad, se demostró que el coeficiente de determinación (R^2) de la gráfica es de 0,997; cumpliendo con el criterio de aceptación para la verificación de linealidad.

Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método

Según las ecuaciones 1 y 2 se determinó el límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM) respectivamente, resultados mostrados en la Tabla 17.

Tabla 17: Límite de detección y cuantificación del método

Parámetro	[mg S /L]
Promedio Blanco	1,860
s	0,100
S'0	0,142
LDM	0,043
LCM	1,420

Nota. Fuente: Esta investigación

De acuerdo a (Acosta, 2015, pág. 21) en su trabajo realizado para la determinación de azufre en suelos por medio de un método turbidimétrico, los límites de cuantificación es de 1,4 mg/L mientras que el límite de detección es de 0,49 mg S/L, lo que esto nos demuestra que los límites de nuestro método son comparables con respecto a resultados de otros métodos turbidimétricos, por lo que podemos aceptar estos límites y aceptarlos como adecuados.

Rango dinámico de linealidad.

Para determinar el rango dinámico del método se comprobó experimentalmente el LCM 1,420 mg P/L y a partir de este valor puede trabajar con criterios estadísticos confiables de forma lineal hasta 1,200 mg P/L, así como se evidencia en la Tabla 16

Tabla 16: Determinación rango de trabajo determinación de azufre.

Concentración S mg/L	1,429	2,875	4,29	5,71	7,14	8,57	10,00
Promedio	1,469	2,645	4,084	5,579	7,067	8,619	10,212
Desviación estándar	0,067	0,110	0,160	0,173	0,115	0,100	0,153
%CV	4,564	4,141	3,908	3,097	1,629	1,162	1,496
%E	2,802	8,010*	4,707	2,354	1,070	0,559	2,124
R ² (Puntos de curva 1,42; 2,85; 4,28; 5,71; 7,14; 8,57; 10,00 mg S/L.)							0,9986

Nota. Fuente: esta investigación. *%error superior al 5 % pero estadísticamente confiable.

De acuerdo a la Tabla 16, de acuerdo al resultado del coeficiente de determinación, se concluye que el rango de trabajo y curva de calibración adecuada y con resultados apropiados para la determinación de este analito será comprendido con las concentraciones de 1,42; 2,85; 4,28; 5,71; 7,14; 8,57; 10,00 mg S/L; los porcentajes de error están por debajo del 5% por lo que se aprecia que el método es apropiado para la determinación de azufre, se requieren más réplicas de análisis para comprobar datos que están por encima del 5% de error.

Precisión

Reproducibilidad

Para determinar la precisión en términos de reproducibilidad, se analizó los resultados obtenidos durante la práctica junto con resultados de otro analista tanto de un patrón y las muestras de control interno V-01 y V-02. Los resultados se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17: Precisión en términos de reproducibilidad. Determinación de azufre.

[] S mg/L	analista	media	varianza	F calculado	F crítico
8,57	analista 1	8,577	0,010	0,220	0,315
	analista 2	8,458	0,047		
V-01	analista 1	0,144	0,000	0,005	3,179
	analista 2	0,133	0,000		
V-02	analista 1	0,475	0,005	1,711	3,179
	analista 2	0,445	0,445		

Nota. Fuente: esta investigación.

Según los resultados obtenidos de precisión de azufre total en la términos de reproducibilidad Tabla 17, no hay diferencia estadística significativa entre los valores de la media y la varianza entre el analista 1 y analista 2, además los F calculados en todos los casos son inferiores al F crítico, lo cual asegura que el método cumple con el criterio de reproducibilidad.

Repetibilidad

La validación se realizó, mediante el análisis de 5 repeticiones por duplicado de BK, Patrones y muestras V-01, V-02, V-03, V-04, V-05, V-06, V-07 y V-08, además se calculó la diferencia porcentual relativa (DPR) (**rango/promedio**)*100, desviaciones estándar de cada matriz y variación. Obteniendo los resultados de la Tabla 18.

Tabla 18: Determinación de DPR, y análisis mediante análisis ANOVA.

M	Fuente de variación	Azufre g/100 g	\bar{x}	% DPR	\bar{X}	S	%CV	F cal	F crit
V-01	Rep. 1	0,124 0,118	0,12	5,00	0,133	0,0122	9,1822	0,0530	5,317
	Rep. 2	0,138 0,145	0,14	4,81					
	Rep. 3	0,154 0,138	0,15	10,66					
	Rep. 4	0,117 0,123	0,12	5,41					
	Rep. 5	0,135 0,134	0,14	0,80					
V-02	Rep. 1	0,508 0,512	0,51	0,73	0,444	0,0533	11,992	0,0406	5,317
	Rep. 2	0,487 0,497	0,49	2,10					
	Rep. 3	0,387 0,369	0,38	4,78					
	Rep. 4	0,446 0,417	0,43	6,89					
	Rep. 5	0,410 0,407	0,41	0,52					
V-03	Rep. 1	0,098 0,101	0,10	3,23	0,098	0,0056	5,650	0,0380	5,317
	Rep. 2	0,103 0,092	0,10	10,9					
	Rep. 3	0,107 0,104	0,11	2,49					
	Rep. 4	0,097 0,100	0,10	2,33					
	Rep. 5	0,089 0,093	0,09	4,46					
V-04	Rep. 1	0,355 0,333	0,34	6,48	0,330	0,0133	4,0384	0,0973	5,317
	Rep. 2	0,307 0,327	0,32	6,43					
	Rep. 3	0,332 0,323	0,33	2,56					
	Rep. 4	0,336 0,341	0,34	1,45					
	Rep. 5	0,325 0,317	0,32	2,64					
V-05	Rep. 1	0,181 0,185	0,18	0,71	0,186	0,0174	9,333	0,0120	5,317
	Rep. 2	0,186 0,200	0,19	7,44					
	Rep. 3	0,160 0,153	0,16	4,59					
	Rep. 4	0,196 0,200	0,20	1,65					
	Rep. 5	0,205 0,196	0,20	4,34					

Continuación.

MR	Fuente de variación	Azufre g/100 g	\bar{x}	% DPR	\bar{X}	S	%CV	F cal	F crit
V-06	Rep. 1	0,890 0,883	0,89	0,76	0,816	0,0513	6,2829	0,2184	5,317
	Rep. 2	0,848 0,851	0,85	0,39					
	Rep. 3	0,786 0,756	0,77	3,95					
	Rep. 4	0,751 0,817	0,78	8,32					
	Rep. 5	0,764 0,812	0,79	6,07					
V-07	Rep. 1	0,333 0,328	0,33	1,59	0,289	0,0392	13,536	0,0224	5,317
	Rep. 2	0,331 0,308	0,32	7,08					
	Rep. 3	0,288 0,301	0,29	4,69					
	Rep. 4	0,267 0,282	0,28	5,39					
	Rep. 5	0,238 0,218	0,23	8,95					
V-08	Rep. 1	0,215 0,214	0,22	0,33	0,207	0,0129	6,2308	0,0054	5,317
	Rep. 2	0,224 0,227	0,23	1,22					
	Rep. 3	0,202 0,194	3,64	3,64					
	Rep. 4	0,201 0,206	2,89	2,81					
	Rep. 5	0,194 0,190	2,00	1,94					

Nota. Fuente: esta investigación.

Los resultados muestran que el 72,5% de los DPR están por debajo del 5% mientras que el 27,5% restante no supera el 11%, lo cual demuestra que la repetibilidad entre duplicados es buena, además los coeficientes de variación para cada matriz están por debajo al 14%, y el análisis de varianza ANOVA nos muestra varianzas aceptables ya que todos los F calculados son menores que el F crítico reportado al 95%.

Exactitud

La determinación de exactitud se realizó en términos de porcentaje de error en muestras de control interno (Tabla 19) con del análisis de concentración de las muestras V-01 y V-02 en el transcurso de la práctica, frente al resultado arrojado por Corpoica; dicho resultado se muestra en el reporte de resultados expedido por Corpoica (Anexo 10).

Tabla 19: Porcentaje de error determinación de fósforo muestras de control interno

Muestra	% materia seca	g/100g Base seca.	Dato reportado por Corpoica g/100g	%error	exactitud
V-01	91,770	0,160	0,170	5,90	94,10

Nota. Fuente esta investigación.

Los resultados arrojados por este análisis muestra que los porcentajes de error para la muestra V-01 en materia seca tienen un error del 5,90% y en términos de exactitud 94,10% se demuestra que el error en términos de exactitud es aceptable para la determinación en esta matriz.

Recuperación

Se realizó el cálculo del porcentaje de recuperación utilizando las muestras de control interno V-01 y V-02 y muestras adicionadas con un patrón de concentración 10 S mg/L. Se preparó muestras V-01, V-01+AD, V-02 y V-02+AD, donde, los adicionados se realizaron reemplazando el 20% de muestra por el patrón mencionado; los resultados mostrados en la Tabla 20 para V-01 y Tabla 21 para V-02.

Tabla 20: Resultados % de recuperación del método en muestra de control interno V-01.

Muestra V-01	Patrón 10 mg S/L	V-01 Mg S/L	V-01+AD Mg S/L	%recuperación
Promedio	10,3029	4,8523	5,9449	
Desviación Estándar	0,19541	0,62427	0,5379	
%CV	1,89668	12,8654	9,0489	100,1

Nota. Fuente: esta investigación

Tabla 21: Resultados % de recuperación del método en muestra de control interno V-02.

Muestra V-02	Patrón 10 mg S/L	V-02 Mg S/L	V-02+AD Mg S/L	%recuperación
Promedio	10,332	7,36060	8,0294	
Desviación Estándar	0,2366	0,90189	0,7785	103,6
%CV	2,2901	12,2529	9,6965	

Nota. Fuente: esta investigación

De acuerdo a estos resultados, se observó que los porcentajes de recuperación, están dentro de los criterios de aceptación para la validación del método. Ya que los resultados se encuentran dentro del rango de los criterios teóricos de aceptación del laboratorio del 90 – 115%; por lo que

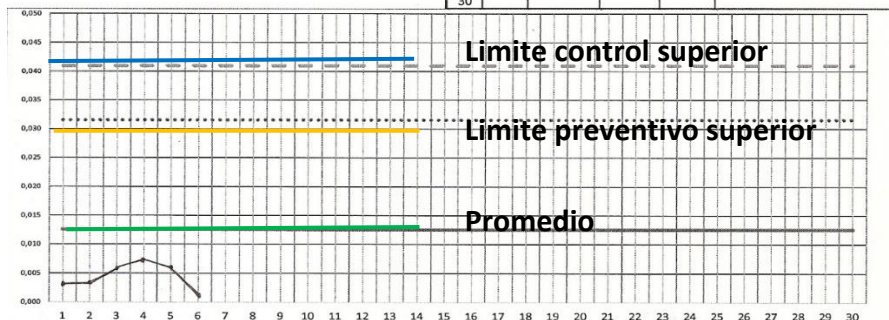
se puede concluir que el método se puede aplicar adecuadamente y no se evidencian interferencias en el método.

Carta de control

Para comprobar que el método estandarizado y validado se encuentra bajo condiciones controladas, se elaboró cartas de control de exactitud para las muestras de control interno V-01 (Figura 9) y V-02 (Figura 10), las cuales se analizan con cada lote de muestras. Para muestra de control interno V-01 se realizó una carta de control en la cual se tiene en cuenta los DPR de análisis de la muestra por duplicado, En las cartas de control se observan el promedio de concentraciones de análisis anteriores y los límites correctivos, límites preventivos y límites de control superiores e inferiores; las cartas de control para las muestras de control interno son útiles para determinar si hay factores que afecten el análisis y tomar acciones correctivas para la determinación de fosforo en muestras externas.

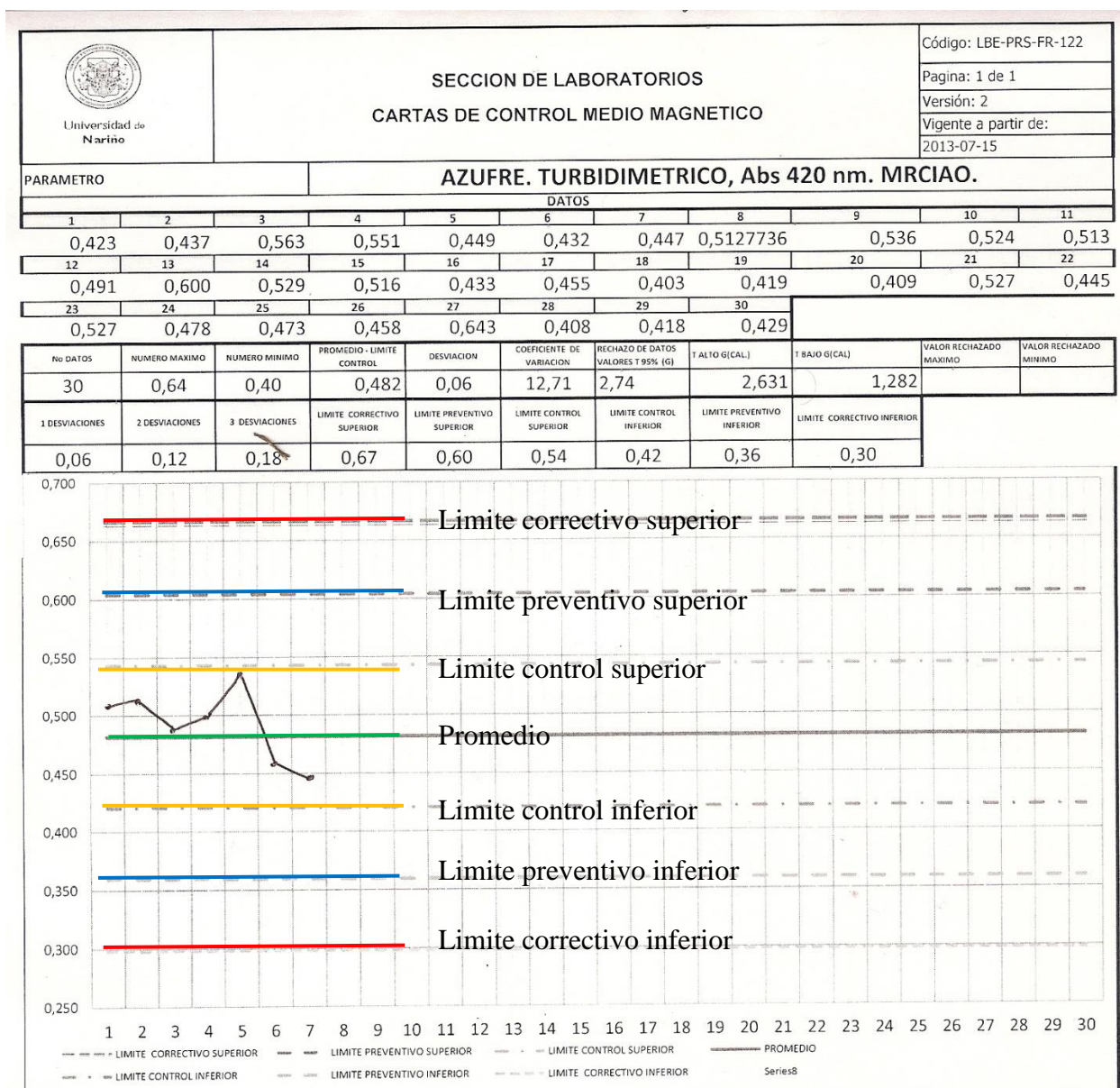
Figura 9: Carta de control muestra de control interno V-01

PARAMETRO		SECCIÓN DE LABORATORIOS CARTAS DE CONTROL POR RANGOS - PRECISIÓN - DUPLICADOS										AZUFRE MRCH		CONTROL DE DATOS	
ITEM	VALOR 1	DUPLICADO	PROMEDIO POR ENSAYO	DEVIACION ESTANDAR	CF	RANGO POR ENSAYO	SR	FECHA	VALORES OBTENIDOS	RANGO CALCULADO	RPO	OBSERVACIONES			
MUESTRA 1	0,16	0,16	0,16	0,002	1,338	0,00	1	16-05-18	0,157-0,16	0,003	5,64				
MUESTRA 2	0,15	0,15	0,15	0,002	1,400	0,00	2	17-05-18	0,150-0,153	0,003	1,80				
MUESTRA 3	0,12	0,12	0,12	0,004	3,506	0,01	3	21-05-18	0,124-0,118	0,006	5,00				
MUESTRA 4	0,14	0,15	0,14	0,005	3,474	0,01	4	26-05-18	0,139-0,144	0,002	4,81				
MUESTRA 5	0,15	0,14	0,15	0,011	7,240	0,02	5	1-06-18	0,117-0,123	0,006	5,41				
MUESTRA 6	0,12	0,12	0,12	0,004	3,536	0,01	6	24-06-18	0,136-0,135	0,001	0,80				
MUESTRA 7	0,14	0,14	0,14	0,001	0,522	0,00	7								
MUESTRA 8	0,21	0,12	0,17	0,065	38,723	0,09	8								
MUESTRA 9	0,15	0,16	0,15	0,005	3,225	0,01	9								
MUESTRA 10	0,14	0,15	0,14	0,012	8,319	0,02	10								
MUESTRA 11	0,13	0,13	0,13	0,004	2,730	0,01	11								
MUESTRA 12	0,18	0,18	0,18	0,004	1,970	0,01	12								
MUESTRA 13	0,15	0,15	0,15	0,003	1,924	0,00	13								
MUESTRA 14	0,18	0,17	0,17	0,005	2,837	0,01	14								
MUESTRA 15	0,12	0,11	0,12	0,007	6,096	0,01	15								
No DATOS	15	15	15	15	15	15	16								
PROMEDIO TOTAL			0,15				17								
DESVIACION ESTANDAR PROCESO Sx							18								
DESVIACION ESTANDAR RANGO SR							19								
LIMITE DE CONTROL							20								
LIMITE DE PELIGRO							21								
D ₂	1,128	1,693	2,058	2,326	2,534		22								
D ₃	0,853	0,888	0,880	0,864	0,848		23								
D ₄	3,267	2,575	2,282	2,115	2,004		24								
							25								
							26								
							27								
							28								
							29								
							30								



Nota. Fuente: esta investigación.

Figura 10: Carta de control muestra de control interno V-02



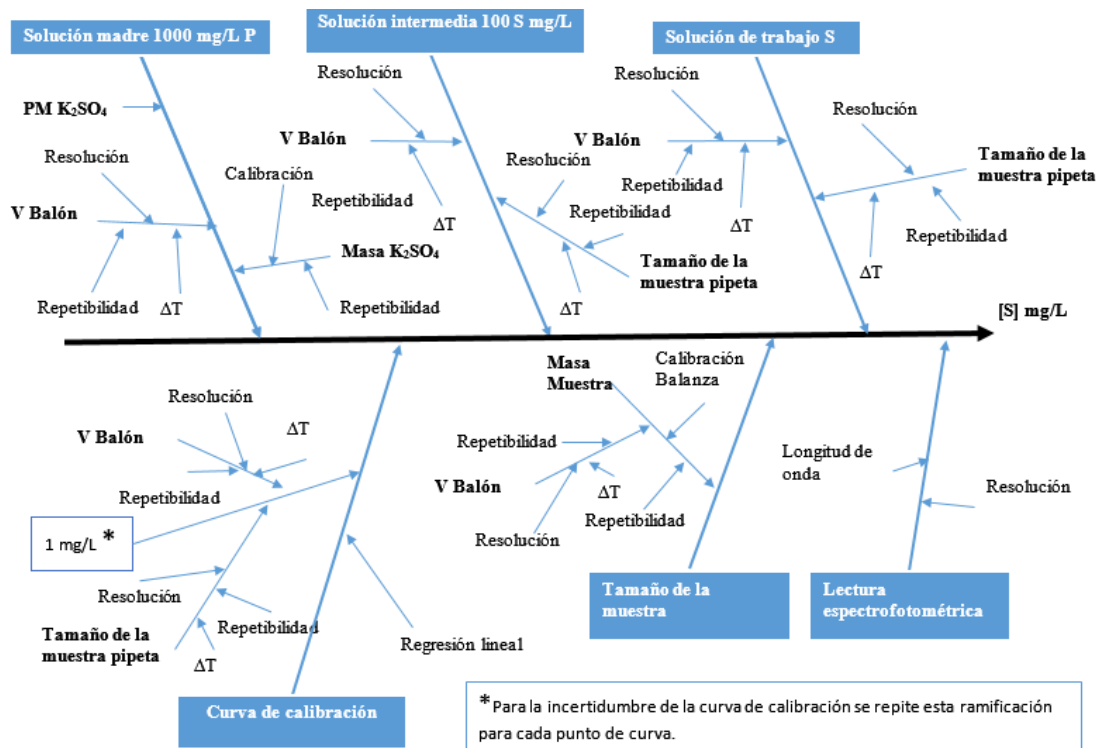
Con los gráficos de control para las muestras de control interno V-01 (carta de control de DPR Figura 9) y V-02 (Figura 10) muestra que la validación del parámetro analítico azufre se encuentra estadísticamente bajo control debido a que los valores obtenidos durante el proceso de medición se encuentran dentro de los límites de control del método, que corresponden a 1, 2 y 3 desviaciones estándar por encima y debajo del promedio de concentración de análisis anteriores de las muestras de control interno.

Estimación de incertidumbre.

Identificación de las fuentes de incertidumbre

Empleando los datos de confirmación y considerando trazable el material volumétrico, se planteó una estrategia para la estimación de la incertidumbre como se muestra en el siguiente diagrama causa-efecto (Figura 11)

Figura 11: Diagrama Causa-Efecto determinación de azufre.



Nota. Fuente: esta investigación.

Posteriormente se llevó a cabo los cálculos para la estimación de la incertidumbre expandida, teniendo en cuenta todas las causas de variabilidad descrita en la Figura 11 para las cuales se realizaron todos los cálculos necesarios, los cuales se describen en el Anexo 13.

Los resultados obtenidos de la estimación de la incertidumbre para la determinación de fósforo, se expresan en la Tabla 22.

Tabla 22: resumen de incertidumbre para el análisis de azufre total.

Fuente de Incertidumbre Magnitud de entrada	Valor de Medición	Fuente de Información	Incertidumbre Original		Tipo A o B	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar Relativa
Xi	xi		Valor	Unidades			U(Xi)	Uo(Xi)	U(Xi)/xi
Concentración Solución Patrón									
Variabilidad por patrón K ₂ SO ₄									0,00182
Masa de K ₂ SO ₄	0,5434							1,61E-04	0,00030
Masa final		Cálculos	6,32E-05	g	tipo B	Triangular	2,00E-05		
Resolución		Fabricante	0,32E-03	g	tipo B	Normal, K=2	1,60E-04		
Masa molar K ₂ SO ₄	174,260	Cálculos	6,12E-03	g/mol		Rectangular		3,53E-03	2,03E-05
masa Atómica K	39,0983	Ref	2,00E-04	g/mol	tipo B	Rectangular	1,15E-04		
masa Atómica S	32,066	Ref	6,00E-03	g/mol	tipo B	Rectangular	3,46E-03		
masa molecular O ₄	15,9994	Ref	1,20E-03	g/mol	tipo B	Rectangular	6,93E-04		
Pureza K ₂ SO ₄	99,7	Certificado	0,3000000	N. A.	tipo B	Rectangular	0,17321	1,73E-01	0,00174
Volumen matraz de 100mL	100	Cálculos		mL				4,10E-02	0,00041
Calibración		Certificado	0,1	mL	tipo B	Triangular	4,08E-02		
Repetibilidad		Cálculos	0,01260	mL	Tipo A		3,98E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-04
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00446	
Concentración Solución Intermedia									
Variabilidad Solución Intermedia K ₂ SO ₄									0,00094
Balón	100							4,10E-02	0,00041
Volumen Balón		Certificado	0,1	mL	tipo B	Triangular	4,08E-02		
Repetibilidad		Cálculos	0,01260	mL	Tipo A		3,98E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-04
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00446	

Continuación.

Fuente de Incertidumbre Magnitud de entrada	Valor de Medición	Fuente de Información	Incertidumbre Original		Tipo A o B	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar Relativa
			Valor	Unidades					
Xi	xi						U(Xi)	Uo(Xi)	U(Xi)/xi
Pipeta	10							8,21E-03	0,00082
Volumen pipeta		Certificado	0,02	mL	tipo B	Triangular	8,16E-03		
Repetibilidad		Cálculos	0,00277	mL	Tipo A		8,76E-04		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-05
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00045	
Concentración Solución de Trabajo									
Variabilidad Solución De Trabajo K ₂ SO ₄									0,01031
Pipeta	10							0,00821	0,00082
Volumen pipeta		Certificado	0,02	mL	tipo B	Triangular	8,16E-03		
Repetibilidad		Cálculos	0,00277	mL	Tipo A		8,76E-04		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	2,22E-05
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00045	
Pipeta	2	4						0,04112	0,01028
Volumen pipeta		Certificado	0,05	mL	tipo B	Triangular	2,04E-02		
Repetibilidad		Cálculos	0,00772	mL	Tipo A		2,44E-03		
Temperatura	2,01E+01							3,68E-01	8,90E-06
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	Triangular	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00018	

Continuación.

Fuente de Incertidumbre Magnitud de entrada	Valor de Medición	Fuente de Información	Incertidumbre Original		Tipo A o B	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar Relativa
Xi	xi		Valor	Unidades			U(Xi)	Uo(Xi)	U(Xi)/xi
Variabilidad debida a la Curva de Calibración									1,48E-01
Puntos de la curva	1,43E+00	incertidumbre	3,78E-04				2,64E-04	4,84E-03	
	2,86E+00		1,22E-03				4,26E-04		
	4,29E+00		6,08E-03				1,42E-03		
	5,71E+00		2,62E-02				4,59E-03		
	7,14E+00		6,91E-04				9,68E-05		
	8,57E+00		1,97E-03				2,30E-04		
1,00E+01		2,29E-03				2,29E-04			
regresión lineal.									1,48E-01
Lectura espectrofotométrica									
Variabilidad de lectura espectrofotométrica									7,58E-07
Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	660						5,00E-04	7,58E-07	
Resolución		Certificado	0,001			Normal, K=2	5,00E-04		
Variabilidad debida al Tamaño de Muestra									5,40E-04
Tamaño de Muestra									
peso de la muestra	1,00E+00	gramo					1,61E-04	1,61E-04	
repetibilidad		cálculos	6,32E-05			normal	2,00E-05		
resolución		Certificado	3,20E-04			normal K=2	1,60E-04		
Balón	5,00E+01						2,52E-02	5,03E-04	
resolución Balón		Certificado	6,00E-02	mL	tipo B	triangular	2,45E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,82E-02	mL	Tipo A		5,77E-03		
Temperatura	2,01E+01						3,68E-01	1,11E-04	
Calibración		Certificado	1,00E-01	mL	tipo B	Normal, K=2	5,00E-02		
Repetibilidad		Cálculos	1,75E+00	mL	Tipo A	normal	3,65E-01		
Coefficiente de expansión térmica del agua	2,10E-04					triangular		0,00223	
Incertidumbre Estándar Combinada									0,14848
Incertidumbre Expandida (K=2)									0,29696

Fuente: Esta Investigación

Expresión de Resultados

La incertidumbre expandida obtenida en la Tabla 22 para la determinación de azufre, es de 0,297 y esta debe ser multiplicada por cualquier valor de concentración de azufre obtenido, obteniendo como resultados la incertidumbre expandida para cada concentración específica.

$$[S] \text{ muestra} = [S] \text{ muestra} \pm 0,297 * [S] \text{ muestra}$$

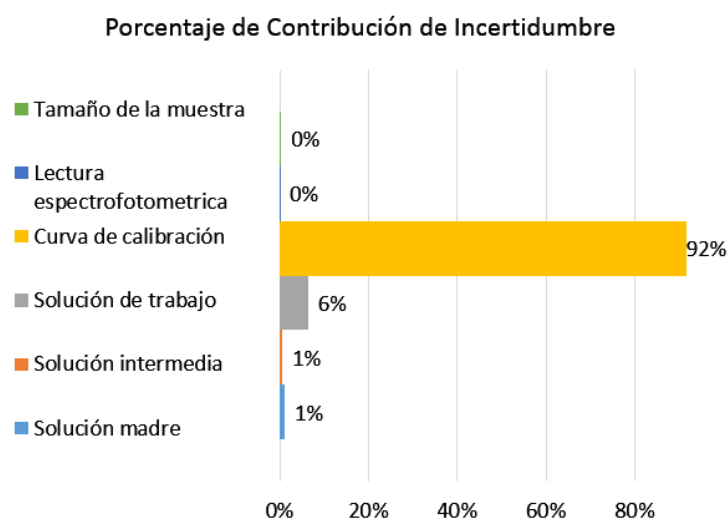
Por ejemplo, para una concentración de 1,000 mg S/L, el resultado se expresa así:

$$1,000 \text{ mg P/L} \pm 0,297 \text{ mg S/L}$$

Con los resultados de la incertidumbre estándar relativa mostrados en la Tabla 22, se realizó un gráfico de barras, en el cual se evidencia los porcentajes de contribución de incertidumbre teniendo en cuenta todas las fuentes de variabilidad descritas en la Figura 11.

De la Figura 12 puede observar que la mayor variabilidad para la determinación de azufre por el método turbidimétrico, se debe a la curva de calibración, en un 92% del total de incertidumbre, resultado esperado debido a la variabilidad de la curva de calibración; mientras que la solución de madre e intermedia aportan en un 1% de incertidumbre, la solución de trabajo aporta un 6%, mientras que la lectura espectrofotométrica y el tamaño de la muestra no representan un aporte significativo a la incertidumbre.

Figura 12: Porcentaje de contribución de incertidumbre



Conclusiones

Se estandarizó y validó el método para la determinación de fósforo bajo las condiciones del laboratorio, se obtuvo un LDM de 0.046 mg/L, LCM de 0.154 mg/L, el rango de trabajo se ajusta para concentraciones entre los 0.2 – 0.8 mg/L, el método arrojó resultados de exactitud, precisión bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad y porcentajes de recuperación, dentro de los estipulados como aceptables por el laboratorio; Se estimó la incertidumbre de medición asociada a la determinación de fósforo de [P] muestra = [P] muestra \pm 0,0249 * [P] muestra con lo que se concluye que el método es aceptable para el alcance y uso del Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos.

Se estandarizó y validó el método para la determinación de azufre bajo las condiciones del laboratorio, se obtuvo un LDM de 0.043 mg/L, LCM de 1,4 mg/L, el rango de trabajo se ajusta para concentraciones entre los 1,4 – 10 mg/L, el método arrojó resultados de exactitud, precisión bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad y porcentajes de recuperación, dentro de los estipulados como aceptables por el laboratorio; y se estimó la incertidumbre de medición asociada a la determinación de azufre de [S] muestra = [S] muestra \pm 0,297* [S] muestra con lo que se concluye que el método es aceptable para el alcance y uso del Laboratorio de Bromatología y Abonos Orgánicos.

Tanto el método para la determinación de azufre como para fósforo, son eficientes para el análisis de matrices como forrajes, abonos, concentrado y materias primas respectivamente, ya que cumplen con los criterios de aceptación requeridos por el Laboratorio de Bromatología y Abonos orgánicos de la Universidad de Nariño.

Estos resultados generan una mayor confianza en la validez de los resultados y permiten establecer las fuentes de error que contribuyen en mayor proporción a este resultado para así tomar acciones correctivas, eliminar errores sistemáticos y obtener resultados analíticos más confiables.

Recomendaciones

En el método para la determinación de azufre, se recomienda realizar por cada grupo de muestras una curva de calibración como se describe en el método, debido a que se encontró una variabilidad importante en la curva de calibración.

Durante el desarrollo de la práctica se evidenció que se requiere realizar parámetros estadísticos adicionales como; robustez y sesgo, mediante el ensayo en dos equipos diferentes y tomando en cuenta la variación en tiempo para la determinación de azufre durante la adición de reactivo turbidimétrico.

Se recomienda realizar el análisis de reproducibilidad y porcentaje de recuperación para las matrices comerciales y naturales para los parámetros de fósforo y azufre.

Bibliografía

- Acosta, A. (2015). Determinación de azufre disponible en forma de sulfato en muestras de suelos por espectrofotometría Uv-vis utilizando monofosfato de calcio como extractante. Nicaragua : UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA. Obtenido de UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA.
- American Public Health Association, & A. (1989). Standard methods for the examination of water and wastewater. American public health association.
- Cañez, M., & García, A. (2015). Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 32-39.
- Colacelli, N. A. (10 de Julio de 1999). Producción agroindustrial del NDA. Obtenido de SUELOS: EL AZUFRE COMO NUTRIENTE PARA LAS PLANTAS: https://www.produccion.com.ar/1999/99jul_10.htm. Visitado junio 2018
- ContextoGanadero. (2016). La torta de soya, una gran fuente de proteína para el ganado. Obtenido de <http://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/la-torta-de-soya-una-gran-fuente-de-proteina-para-el-ganado>. Visitado junio 2018
- Coplen, T., & Peiser, H. (1998). History of the recommended atomic-weight values from 1882 to 1997: A comparison of differences from current values to the estimated uncertainties of earlier values. International union of pure and applied chemistry, 237-257.
- Coy, G. A. (2006). Protocolo estandarización de métodos analíticos. Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM.
- Cuéllar, M. S., Lora, R., & Munévar, F. (2000). Modificación de una técnica de análisis de azufre en tejido foliar. PALMAS, 6.
- Disagro. (14 de Agosto de 2017). Nutrición animal. Obtenido de <http://www.disagro.com/es/nutricion-animal>. Visitado junio 2018
- Doris, S. S. (13 de Mayo de 2004). Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales; Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Terri. Obtenido de <http://www.ideam.gov.co>: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/F%C3%B3sforo+Total+en+Agua+M%C3%A9todo+del+Acido+Asc%C3%B3rbico.pdf/bf2f449b-4b9b-4270-b77e-159258d653e2>. Visitado junio 2018
- Duggan, Torres, M., & Lemos, J. (2008). Influencia de la fertilización con nitrógeno y azufre sobre la producción de forraje de raigrás anual. Informaciones Agronomicas #24, 3.
- Ellison, S; Williams, A. (2012). Guía CG 4 EURACHEM / CITAC: Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. España: Eurolab.

- Fonseca, H., Vargas, E., Pontigo, M., & Portillo, C. (1984). Conenido mineral en los forrajes y sangre de bovinos de los distritos de tilaran centro, upala centro y bijagua, costa rica. *Agronomía costarricense*, 1-7.
- Gallo, DallaMontà, Carraro, Cecchinato, Carnier, & Schiavon. (2014). Growth performance of heavy piglets fed restrictively diets with decreasing crude protein and indispensable amino acids content. *Livestock Science*, 130-138.
- Hunt, J. (1980). Determination of total sulphur in small amounts of plant material. *Analyst*, 105(1246), , 83-85.
- ICONTEC. (1995). NTC-ISO 8633 Fertilizantes sólidos, Método de muestreo simple para lotes pequeños. Bogotá: ICONTEC.
- ICONTEC. (1999). NTC 1839: Alimento para animales. alimento completo para cerdos. Bogotá: ICONTEC.
- ICONTEC. (1999). NTC 4647. Alimento para animales. Preparación de las muestras de ensayo. . ICONTEC.
- ICONTEC. (2005). NTC 740: Alimento para animales, muestreo. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Tecnicas y Certificación.
- ICONTEC. (2017). ISO/IEC 17025: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Bogota: ICONTEC.
- INATEC. (2016). Manual del protagonista. Nutrición animal. Obtenido de Instituto Nacional Tecnológico Dirección General de Formación Profesional.: https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Nutricion_Animal.pdf. Visitado junio 2018
- Instructivo de Aseguramiento de calidad del Laboratorio LBE-PRS-IN-16. (s.f.).
- ISO/IEC_17025. (2017). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Bogotá: ICONTEC.
- ISO_9000. (2015). Sistemas de gestión de la calidad - Fundamentos y vocabulario. Bogotá: ICONTEC.
- ISO_9001. (2015). ISO 9001 Sistema de gestión de la calidad. Bogotá: ICONTEC.
- Martínez, A. F. (2005). Manual de pastos y forrajes altoandinos. Perú: Soluciones Prácticas-ITDG.
- Martinez, E. G. (5 de Junio de 2016). Validación parcial del método espectrofotométrico del ácido vanadomolibdofosfórico para la determinación del contenido de fósforo total en productos de fermentación de microorganismos eficientes. Validación parcial del método espectrofotométrico del ácido vanadomolibdofosfórico para la determinación del

contenido de fósforo total en productos de fermentación de microorganismos eficientes. Santa Clara.

- McKelvie, I. D., Peat, D. M., & Worsfold, P. J. (1995). Techniques for the quantification and speciation of phosphorus in natural waters. In *Analytical Proceedings Including Analytical Communications . Analytical perspective.*, 437-445.
- Miranda, J., & Campo, M. d. (- de - de s.f.). Evaluación de la incertidumbre en datos experimentales. Obtenido de <http://depa.fquim.unam.mx>.
- Morillas P.P. y colaboradores. (2016). Guía Eurachem La adecuacion al uso de los métodos analíticos - Una Guia para la validación de métodos y temas relacionados. España: urolab España.
- Motsara, M., & Roy, R. (2008). Guide to laboratory establishment for plant nutrient analysis . Roma: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.
- Muñoz, R. (2012). Introducción a la metrología.
- Oviedo, C., & Pérez, L. (14 de Junio de 2013). Soya: Una Alternativa Alimentaria para la región Norte de Nicaragua, ante el efecto del Cambio Climático. I foro agroindustrial y agropecuario “Preparándonos al cambio climático, desarrollando la Agroindustria y removiendo la seguridad alimentaria”. Nicaragua .
- Resolución_3699. (1994). por medio de la cual se otorga registro como laboratorio de control de calidad de alimentos para animales al Laboratorio de Bromatología Y Abonos Orgánicos de la Universidad de Nariño. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario.
- Resolución_N°20058. (2018). por medio de la cual se modifican los artículos 2, 10 y 23 de la Resolución 003823 del 4 de septiembre del 2013 y se deroga la Resolución 9001 de 2016. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario.
- Resolución_N°3540. (2010). por medio de la cual se otorga registro como laboratorio de control de calidad de fertilizantes y acondicionadores de suelo de uso agrícola al LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y ABONOS ORGÁNICOS de la Universidad de Nariño. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario .
- Resolución_N°3823. (2013). Por medio de la cual se establecen los requisitos para el reconocimiento de los laboratorios del sector agropecuario, los requisitos para acceder a las convocatorias del ICA como laboratorios autorizados. Bogota: INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO.
- Rodríguez, C., Cambeiro, I., Fernández, R., Gil, R., Corredera, A., & Sardiñas, C. (2006). INCORPORACIÓN DE AZUFRE A LOS FERTILIZANTES. SITUACION ACTUAL Y PERSPECTIVAS. *Revista Cubana de Química*, 52-59.

Sela, G. (9 de agosto de 2017). Fundamentos del manejo de la fertilización y riego. Obtenido de El Azufre en Plantas y Suelo: <https://www.smart-fertilizer.com/es/articles/sulfur>. Visitado junio 2018

Sundrum, A., Schneider, K., & Richter, U. (2005). Possibilities and limitations of protein supply in organic poultry and pig production. Obtenido de Organic eprints: <http://orgprints.org/10983/>. Visitado junio 2018

Tabatabai, & Bremmer. (1970). A simple turbidimetric method of determining total sulfur in plant materials. *Agronomy Journal*, 805-806.

Anexos

Anexo 1: RESOLUCIÓN 00020058 DEL 31 DE ENERO DEL 2018.

RESOLUCIÓN 00020058 DEL 31 DE ENERO DEL 2018, por medio de la cual se modifican los artículos 2, 10 y 23 de la Resolución 003823 del 4 de septiembre del 2013 y se deroga la Resolución 9001 de 2016.

ARTÍCULO 1: Modifíquese el artículo (2) de la Resolución 3823 de 2013 el cual quedara así:

“ARTÍCULO 2: ÁMBITO DE APLICACIÓN: .la presente resolución aplica a todas las personas naturales o jurídicas, que realicen actividades de ensayo/prueba y/o diagnóstico veterinario, ensayo/prueba a insumos veterinarios, insumos agrícolas, semillas para siembra material de propagación, material genético animal, residuos plaguicidas, residuos de plaguicidas, residuos de medicamentos veterinarios y contaminantes, ensayo/prueba de organismos genéticamente modificados en matrices de origen animal y vegetal obtenidos en la producción primaria.

PARÁGRAFO: se exceptúan los laboratorios internos de empresas de producción de insumos veterinarios que realizan exclusivamente pruebas de control de calidad a medicamentos veterinarios, alimentos zootécnico producidos en su empresa y que no prestan servicios a terceros, así como los centros de investigación y laboratorios de universidades que realicen ensayo/prueba y/o diagnóstico del sector agropecuario y no presten servicios a terceros.”

ARTÍCULO 2: Modifíquese el artículo (10) de la Resolución 3823 de 2013 el cual quedara así:

“ARTICULO 10.-MODIFICACION DEL REGISTRO COMO LABORATORIOS RECONOCIDOS. El titular del registro de laboratorio reconocido debe solicitar al ICA la modificación del mismo dentro de los diez (10) días hábiles siguientes a la ocurrencia de una de las siguientes circunstancias:

- 10.1. Cambio de representante legal.
- 10.2. Cambio de portafolio de servicios (ampliación o reducción)
- 10.3. Cambio de domicilio
- 10.4. Apertura de nueva sede.

Para los numerales 10.1 y 10.4, el representante legal o la persona natural deberán presentar solicitud escrita de la modificación al registro, indicando la(s) causal (es) y adjuntando el certificado de existencia y representación legal o matrícula mercantil y el comprobante de pago de la tarifa vigente. El ICA revisará esta documentación y en un plazo máximo de veinte (20) días hábiles, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud, expedirá la modificación al registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución.

Para el numeral 10.2 el representante legal o la persona natural deberá presentar solicitud, cumpliendo con lo establecido en los numerales 5.3, 5.4, 5.5 y 5.8 de la presente resolución, cuando se trate de ampliación del portafolio de servicios, o con el numeral 5.8 para el caso de reducción del portafolio de servicios; el ICA revisará la documentación conforme al procedimiento establecido en el artículo 6° de la presente resolución; si el concepto es favorable, se procederá a emitir el acto administrativo modificatorio del registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución.

Para los numerales 10.3 y 10.5, el representante legal o la persona natural deberá presentar solicitud escrita de la modificación al registro, indicando la(s) causal (es) y adjuntando la información y documentación indicada en el artículo 5° de la presente resolución. El ICA revisará la documentación conforme al procedimiento establecido en el artículo 6° de la presente resolución; si el concepto es favorable, se procederá a emitir el acto administrativo modificatorio del registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución.

PARÁGRAFO 1°. Para los laboratorios que cuenten con registro vigente a la fecha de expedición de la presente resolución y requieran modificar este por las causales de los numerales 10.1 y 10.4, deberán por intermedio del representante legal o persona natural presentar solicitud escrita de la modificación del registro, indicando la(s) causal (es) y adjuntando el certificado de existencia y representación legal o matrícula mercantil, o los documentos homologables a estos cuando se trate de laboratorios con sede en el exterior, y el comprobante de pago de la tarifa vigente. Para el caso de los laboratorios con sede en el exterior, toda la documentación deberá presentarse en traducción oficial al idioma castellano.

El ICA revisará la documentación y en un plazo máximo de veinte (20) días hábiles, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud, procederá a emitir el acto administrativo

modificatorio del registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución, el cual tendrá una vigencia máxima hasta el cuatro (4) de agosto del 2019.

PARÁGRAFO 2°. Para los laboratorios que cuenten con registro vigente a la fecha de expedición de la presente resolución y requieran modificar este por la causal del numeral 10.2, deberán por intermedio del representante legal o persona natural presentar solicitud escrita de la ampliación o reducción del portafolio de servicios, describiendo los métodos a ampliar o eliminar, equipos e instalaciones relacionados con los métodos a ampliar, personal técnico que demuestre experiencia para la ejecución de los métodos a ampliar, los estándares de referencia de naturaleza biológica o química para la aplicación de los métodos a ampliar y el comprobante de pago de la tarifa vigente. El ICA revisará la documentación conforme al procedimiento establecido en el artículo 6° de la presente resolución, cuando se trate de ampliación del portafolio de servicios. Si el concepto es favorable, se procederá a emitir el acto administrativo modificatorio del registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución, el cual tendrá vigencia hasta el cuatro (4) de agosto de 2019.

PARÁGRAFO 3 °. Para los laboratorios que cuenten con registro vigente a la fecha de expedición de la presente resolución y requieran modificar este por las causales de los numerales 10.3 y 10.5, deberán por intermedio del representante legal o persona natural presentar solicitud escrita de la modificación del registro, indicando la(s) causal (es) y cumpliendo con lo establecido en el artículo 5° de la presente resolución, a excepción de los numerales 5.3 y 5.4., anexando los documentos homologables a los allí establecidos cuando se trate de laboratorios con sede en el exterior. Para el caso de los laboratorios con sede en el exterior, toda la documentación deberá presentarse en traducción oficial al idioma castellano.

El ICA revisará la documentación conforme al procedimiento establecido en el artículo 6° de la presente resolución. Si el concepto es favorable, se procederá a emitir el acto administrativo modificatorio del registro en los términos y condiciones establecidos en el artículo 9° de la presente resolución, el cual tendrá una vigencia máxima hasta el cuatro (4) de agosto de 2019".

ARTÍCULO 3: Modifíquese el artículo veintitrés (23) de la Resolución número 3823 de 2013 el cual quedará así:


"ARTÍCULO 23. TRANSITORIO. Los laboratorios del sector agropecuario que realicen ensayo/prueba y/o diagnóstico que a la fecha de expedición de la presente resolución se encuentren registrados ante el ICA, continuarán ejerciendo sus actividades bajo las condiciones del registro inicial y tendrán plazo hasta el cuatro (4) de agosto de 2019 para obtener el registro de laboratorios como reconocidos, conforme a lo establecido en la presente resolución.

Parágrafo. Vencido el plazo definido en el presente artículo, los laboratorios que no cumplan con lo establecido en la presente resolución, no podrán desarrollar actividades de ensayo/prueba y/o diagnóstico".

ARTÍCULO 4º: Modificaciones del registro a laboratorios realizadas bajo la vigencia de las Resoluciones número ICA 339 de 2014 y 9001 de 2016. Las modificaciones del registro a laboratorios realizadas bajo la vigencia de la Resoluciones número ICA 339 de 2014 y 9001 de 2016, se entenderán también ampliadas hasta el cuatro (4) de agosto de 2019.

ARTÍCULO 5º: Vigencia. La presente Resolución rige a partir de la fecha de su publicación en el Diario Oficial, deroga el artículo 8º y modifica los artículos 2º, 10 y 23 de la Resolución número 3823 de 2013 y deroga la Resolución número 9001 de 2016, así como las demás disposiciones que le sean contrarias.

Anexo 2: Instructivo de limpieza de material.

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y ELEMENTOS	Código: LBE-PRS-IN-01
		Página: 2 DE 5
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 10/05/2012

1. OBJETIVO:

Fijar condiciones mínimas para asegurar la confiabilidad en la limpieza del lavado del material de uso en los procesos analíticos de los laboratorios de proyección Social.

2. ALCANCE:

La verificación de la limpieza del material de vidrio aplica desde al lavado hasta el secado del mismo.

3. RESPONSABLE:

Auxiliares de Laboratorio de Proyección Social, técnicos analistas, Coordinadores Técnicos, Coordinador de Calidad.

4. REACTIVOS**Azul de bromotimol al 0.2%:**

Mezclar 0.2g de Azul de bromotimol en 100ml de agua destilada.

Solución Reveladora:

Tomar 500ml de H₂O y adicionar 25ml de solución **A** [60g (NH₄)Mo₇O₂₄·4H₂O + 200ml H₂O + 1.456g (K₈SbO)C₄H₄O₆·1/2H₂O + 700ml de H₂SO₄ conc. Agregado lentamente, dejar enfriar y llevar a 1 litro] + 10 ml solución **B** [61g de Ácido Ascórbico en 500ml de H₂O] llevar a 1 litro con agua destilada


Jabón Extram 0.5%:

Mezclar 800 ml de agua destilada en un erlenmeyer de 1 litro, añadir lentamente y con agitación constante 200 ml de Jabón Extram concentrado;

Mezcla Sulfocrómica:

Mezclar 500 ml de agua destilada en un erlenmeyer de 1 litro, añadir lentamente y con agitación constante 250 ml de ácido sulfúrico concentrado; se sumerge el erlenmeyer en un recipiente que contenga agua corriente para enfriar el contenido luego se agregan 100 gr de dicromato de potasio y se mezcla hasta disolverlo. Aforar a 1 litro con agua destilada.

Permanganato de potasio 0.01 N.

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y ELEMENTOS	Código: LBE-PRS-IN-01
		Página: 3 DE 5
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 10/05/2012

5. INSTRUCCIONES

5.1. LIMPIEZA DEL MATERIAL:

5.1.1. Limpieza a mano o frotado: Mecánicamente se arrastra la suciedad con un cepillo o escobillón, con agua y detergente. El material se lava con una solución detergente biodegradable y no iónica al 0.5%, extram libre de fosfatos, y se enjuaga escrupulosamente con abundante agua de grifo y agua destilada. El material de vidrio se limpia fácilmente una vez acabado de utilizar.

Este lavado se recomienda cuando se trabaja con soluciones acuosas de baja concentración y no se observa ningún tipo de precipitado en solución que se pueda adherir a las paredes del material.


5.1.2. Limpieza por inmersión: En caso de observarse algún precipitado, se deja el material en remojo por una hora, previo al lavado con solución detergente, agua de acueducto y agua destilada. Se colocan el material en una solución de limpieza durante 30 minutos, al finalizar este tiempo, se seca sin necesidad de frotar; la acción de limpieza se puede aumentar elevando la temperatura del baño. Finalmente, enjuagar con abundante agua del grifo y luego con agua destilada.

5.1.3. Limpieza analítica de trazas: Se realiza dependiendo de la sensibilidad del equipo, para evitar la detección o aparición de contaminantes que afectan el resultado final y como rutina para el material utilizado en la determinación de minerales.

Se utiliza también, para prevenir la acumulación en el material de sustancias ajenas al proceso analítico con el tiempo. En este lavado se utiliza HNO_3 al 10%, que garantiza la completa remoción de contaminantes, dejando el material dos horas en contacto con la solución y posterior enjuague con agua destilada.

Para la destrucción o remoción de trazas orgánicas, se limpia con lejías (máximo 30 minutos) o disolventes como alcohol, cloroformo; posteriormente se sumerge en una solución de HCl 1 N; finalmente se lava con abundante agua destilada.

Para eliminar las grasas y otras impurezas, frecuentemente se utiliza mezcla sulfocrómica, que destruye por oxidación toda la materia orgánica que esté presente. La mezcla sulfocrómica es una mezcla de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y ácido sulfúrico. Para este proceso también se utiliza el Jabón comercial "ECO"

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y ELEMENTOS	Código: LBE-PRS-IN-01
		Página: 4 DE 5
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 10/05/2012

5.1.4. Desinfección y esterilización: El material que haya estado en contacto con productos infecciosos tiene que desinfectarse antes volverse a usar, mediante detergentes desinfectantes.

En algunos casos, los materiales deben ser esterilizados, optando por algún método de esterilización (autoclavado). Un material desinfectado no tiene formas vegetativas pero si de resistencia. Un material esterilizado no tiene ninguna forma de vida.

6. CONTROL DE CALIDAD DE LAVADO SOBRE EL MATERIAL DE VIDRIO:


El laboratorio realiza control semanal, y al azar uno de los técnicos analistas elige el 10% del material de vidrio limpio y seco al cual, le debe examinar si hay manchas de agua, si es así, el material no está bien lavado e indica un enjuague insuficiente. Se deben realizar las anotaciones en el registro de REGISTRO DE CONTROL DEL MATERIAL DE VIDRIO LBE-PRS-FR-55

Se debe verificar en el mismo lote de material, cuando al vaciar el material de vidrio lleno o húmedo con agua destilada, se observan las paredes cubiertas por una capa continua. Si el mojado **NO** es uniforme nos indica que el material examinado no está lo suficientemente limpio y debe volverse a lavar y realizar una nueva verificación. Se deben realizar las anotaciones en el registro de REGISTRO DE CONTROL DEL MATERIAL DE VIDRIO LBE-PRS-FR-55

Verificar al azar una cantidad de material de vidrio por contaminación con detergentes, para ello agrega 2 ml de agua destilada y desionizada, se tapa y se agita fuertemente el contenido del recipiente, agregar 18ml de solución reveladora mezclar y observar, un azul en el agua indica residuos de detergente. Si da positivo volver a lavar el material y realizar una nueva verificación. Se deben realizar las anotaciones en el registro de REGISTRO DE CONTROL DEL MATERIAL DE VIDRIO LBE-PRS-FR-55

Verificar en el lote del material escogido, con una solución de azul de bromotimol al 0.2%, un cambio de color azul indicara presencia de álcali, un color amarillo presencia de ácido. Si la reacción es positiva enjuagar nuevamente todo el lote del material. Se deben realizar las anotaciones en el registro de REGISTRO DE CONTROL DEL MATERIAL DE VIDRIO LBE-PRS-FR-55

Verificar la contaminación por Materia Orgánica, para ello se coloca agua destilada en los recipientes a examinar, tapar, agitar fuertemente el agua dentro del recipiente, agregar solución de permanganato de potasio 0.01 N. Mezclar. Dejar en reposo por una hora. El agua no debe cambiar de color si el material está libre

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y ELEMENTOS	Código: LBE-PRS-IN-01
		Página: 5 DE 5
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 10/05/2012

de materia orgánica, de lo contrario volver a lavar e iniciar el proceso. Se deben realizar las anotaciones en el registro de REGISTRO DE CONTROL DEL MATERIAL DE VIDRIO LBE-PRS-FR-55

7. SECADO DEL MATERIAL DE LABORATORIO:

El material volumétrico como pipetas, balones aforados, se deja secar a temperatura ambiente, y material no volumétrico, como beakers, erlenmeyers, se puede secar en estufa a temperatura no superior a 50 °C, esto se hace de acuerdo al grado de precisión analítica del material.

8. BIBLIOGRAFIA

<http://www.scribd.com/doc/3246492/Material-de-laboratorio>

DATOS DE ELABORACIÓN			
	ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
CARGO:	Profesional de Lab. Análisis químico y Aguas	Asesor de calidad	Jefe de Laboratorios
NOMBRE:	Mary Luz Valencia Enríquez	Jenny Luna	Jairo España Castillo
FIRMA:	Original firmado	Original firmado	Original firmado
FECHA:	10/05/2012	10/05/2012	10/05/2012

CONTROL DE CAMBIOS		
VERSIÓN No.	FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	26/04/2010	Creación del Documento
2	10/05/2012	Actualización de la concentración de la solución de jabón Extram utilizada en el laboratorio y el tipo de jabón "ECO" para limpieza de grasas

Anexo 3: Muestreo de las diferentes matrices. Principios generales

Muestreo representativo

El propósito del muestreo representativo es obtener una pequeña fracción de un lote de manera que una característica en particular de esta fracción represente el valor promedio de la característica del lote. (ICONTEC, 2005)

Muestreo selectivo

Si las porciones del material al que se le va a realizar el muestreo presentan una diferencia notoria en calidad en comparación con el resto del material, tales porciones se separan del material y se tratan como un lote independiente. En estos casos, se debe mencionar este hecho en el informe del muestreo. Si no es posible dividir el material en lotes separados, se debe hacer el muestreo del material como lote y el informe de muestreo debe indicar este hecho. Si es posible, se debe indicar la proporción del producto del cual se sospecha que es diferente. (ICONTEC, 2005)

Limpieza

Cuando se tomen, reduzcan, almacenen y manipulen muestra, se debe tener especial cuidado para garantizar que no se afecten las propiedades de las maestras y de lote muestreado. El equipo de muestreo debe estar limpio, seco y libre de lora extraños. El material a partir del cual se hace el aparato de muestreo no debe influir en la calidad de la muestra. El aparato debe limpiarse por completo entre una muestra y otra. Esto es de particular importancia cuando se toman muestras de alimentos con alto contenido de aceite. El personal de muestreo de usar guantes desechables y botarlos entre una muestra y otra para no contaminar la muestra siguiente. (ICONTEC, 2005)

Sitio de muestreo.

Si es posible el muestreo se debe realizar en lugares protegidos de contaminación ambiental como aire húmedo, polvo u hollín. Si es posible las muestras se deben tomar durante la carga o descarga. Si el muestreo no se puede realizar mientras el material está en movimiento, se debe organizar el lote de manera que se tenga acceso a cada parte del mismo, para obtener muestras de laboratorio representativas. (ICONTEC, 2005)

Clasificación de productos para muestreo

Para efectos de muestreo, los alimentos para animales se clasifican de la siguiente manera:

Alimentos sólidos – granos, semillas, legumbres y peletizados;

Alimentos sólidos - harinas y polvos;

Forrajes;

Trozos y bloques;

Alimentos líquidos o semilíquidos. (ICONTEC, 2005)

Precauciones al hacer el muestreo de alimentos

Es importante tomar precauciones contra exposiciones cuando se realiza el muestreo de alimentos secos por la emisión de partículas finas. Existe un mayor riesgo de daño microbiológico y descomposición de alimentos debido a que son procesados. Por consiguiente, durante la evaluación previa del lote se debe prestar atención especial a la identificación de cualquiera de las partes defectuosas de lote. Estas se separan del resto de lote y se toman muestras independientes de ellas.

La tendencia de los alimentos a comportarse (por ejemplo, debido a la humedad) algunas veces requiere que se agreguen aditivos contra la compactación. La ocurrencia de compactación puede requerir operaciones adicionales o muestreo separado. (ICONTEC, 2005)

Muestreo de forrajes

Ejemplos de productos

Forrajes verdes frescos (alfalfa, pasto, maíz, etc.);

Ensilados de forrajes verdes (alfalfa, pasto, maíz, etc.);

Forrajes verdes secos (alfalfa, pasto, etc.);

Heno;

Remolacha forrajera;

Raíces y tubérculos (papás etc.). (ICONTEC, 2005)

Tamaño de lote

Debido a numerosos factores genéticos y ambientales y dependiendo del estado de preservación, las propiedades de un lote de forraje pueden presentar variaciones significativas, en especial con los datos más grandes. Por consiguiente, una adecuada uniformidad de lote más grande es difícil de lograr, por tanto no se pueden dar detalles específicos respecto al tamaño de lote. (ICONTEC, 2005)

Número de muestras parciales que se van a tomar

Los forrajes almacenan y transportan principalmente en bultos. El número mínimo de muestras parciales debe ser como se especifica en la siguiente tabla.

Tabla 23: muestras parciales

masa m del lote toneladas	número mínimo de muestras parciales
hasta 5	$10\sqrt{20m}$ hasta máximo 50 muestras parciales
Más de 5	

Nota. Fuente: (ICONTEC, 2005)

Tabla 24 Tamaño de la muestra

tipo de producto	masa mínima de la muestra global kg	masa mínima de la muestra ^a reducida kg	masa mínima de la muestra de laboratorio kg
forrajes frescos verdes, remolacha, raíces, tubérculos, forrajes ensilados	16	4	1
forraje secos, remolachas, tubérculos	8	4	1

^a es la cantidad mínima requerida hasta para cuatro muestras de laboratorio

Nota. Fuente: (ICONTEC, 2005)

Generalidades para forrajes: El método de muestreo más práctico es con frecuencia tomar la muestra parcial a mano.

Muestreo alimentos para animales y Muestreo para fertilizantes sólidos.

Si la muestra no cumple con uno o más de los requisitos indicados en la norma NTC-ISO 8633 será rechazado el lote. En caso de discrepancia, se tendrán que repetir los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote. (ICONTEC, 1995)

Muestreo: producto en bolsas

Se enumeran las bolsas consecutivamente en la porción de ensayo y utilizando una fuente de números al azar se selecciona las bolsas a las que se les va a realizar el muestreo. Se toma un incremento de cada una de las bolsas seleccionadas, con un separador mecánico, o se vacía el contenido de la bolsa sobre un área limpia y seca, se mezclan con una pala o cuchara y se recoge una palada. (ICONTEC, 1995)

Producto a granel en almacenamiento

Se hace una división imaginaria del lote (porción de muestra) en un número de partes aproximadamente iguales. El número de partes deberá corresponder al número de unidades de muestreo que se va a seleccionar. Se toma un incremento de cada unidad de muestreo utilizando la pala o la cuchara.

En cuanto sea posible, las partes de la porción de ensayo deberán ser tales que se realice el muestreo a todas las partes constituyentes del lote. (ICONTEC, 1995)

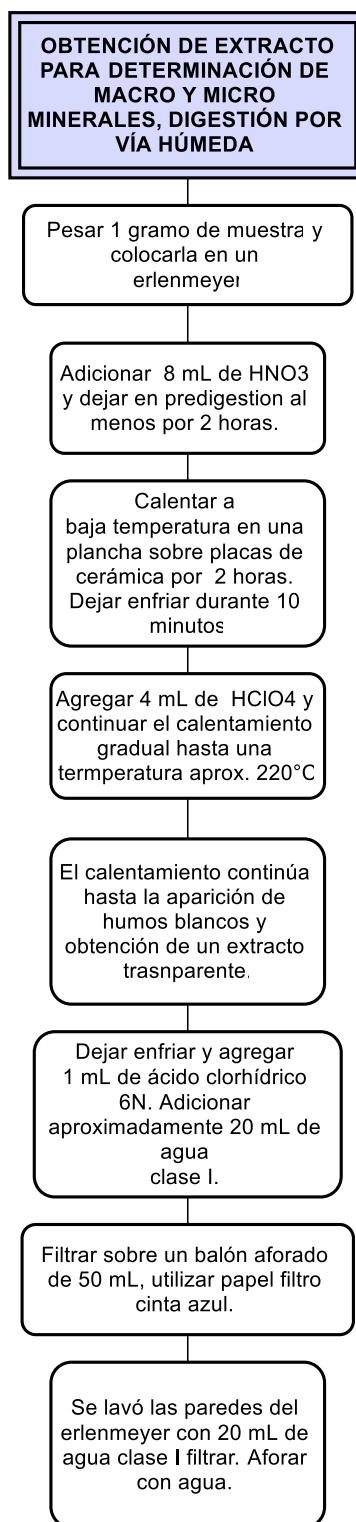
Preparación de las muestras de laboratorio

Según la norma la norma NTC 4647 La preparación de muestras de laboratorio se debe realizar tan rápido como sea posible para evitar el deterioro de la muestra. Después de combinar las muestras parciales, se mezcla la muestra global hasta donde sea posible. Con los forrajes puede ser necesario cortar la muestra a granel en pedazos más pequeños. Se reducen gradualmente de nuestros a granel de forrajes verdes y forrajes secos mediante cuarteo para producir una muestra reducida de tamaño adecuado, pero no inferior a 4 kg. Para productos en trozos grandes se reduce la maestra global dividiendo en dos el número de piezas de muestra global, dividiendo en dos el número de piezas de la muestra global, seleccionando las piezas aleatoriamente durante la división. A menos que sea necesario, evitar romper las piezas de la muestra global durante la etapa de reducción. Se mezcla la muestra reducida hasta donde sea posible y se divide en tres o cuatro muestras de laboratorio, según se requiera, de aproximadamente igual tamaño (mínimo 0,5 kg). Se coloca cada muestra de laboratorio en un recipiente apropiado. (ICONTEC, 1999)

De acuerdo a la norma NTC 4647. Para la preparación de la muestra de ensayo (para muestras de alimentos para animales) se debe moler de modo que la muestra pase completamente por un tamiz con aperturas de 1mm (malla 18). Las muestras de sales mineralizadas y las fuentes de fósforo. Hasta que la muestra pase completamente por un tamiz con aperturas de 0,15 mm (malla 100), se homogeniza y se pesa de 0,1g a 5g de muestra con precisión de decima de mg dependiendo del contenido de fósforo. (ICONTEC, 1999)

Anexo 4: Metodología para la obtención del extracto para determinación de fósforo y azufre.

Figura 13: Obtención del extracto para determinación de fósforo y azufre.



Nota. Fuente: Esta investigación

Anexo 5: Clasificación de matrices, factores de dilución y reporte Corpoica.

Tabla 25: Tipo de matrices utilizadas, origen y clasificación.

Origen de la muestra.	Código de muestra	Tipo de muestra	Clasificación
Muestras de control interno	V-01	MRCH	Forraje
	V-02	MRCIAO	Abono
Muestras naturales	V-03	Trébol	Forraje
	V-04	Kikuyo	Forraje
Muestra comercial	V-05	Abono orgánico animal	Abono
	V-06	Abono orgánico vegetal	Abono
	V-07	Torta de soya	Materia prima
	V-08	Concentrado de cerdos	Concentrado

Nota. Muestras entregadas por el laboratorio para su análisis.

Tabla 26: Factores de dilución de las muestras para determinación de azufre y fósforo.

Código de muestra	muestra	Factor de dilución para determinación de azufre	Factor de dilución para determinación de fósforo
V-01	MRCH	10/2	10/1
V-02	MRCIAO	10/1	50/1
V-03	Trébol	10/5	10/1
V-04	Kikuyo	10/1	50/1
V-05	Abono orgánico animal	10/2	10/0.5
V-06	Abono orgánico vegetal	10/0.5	50/1
V-07	Torta de soya	10/1	50/1
V-08	Concentrado de cerdos	10/2	50/1

Nota. Fuente: Esta investigación

Figura 14: informe calibración de materiales de control interno.

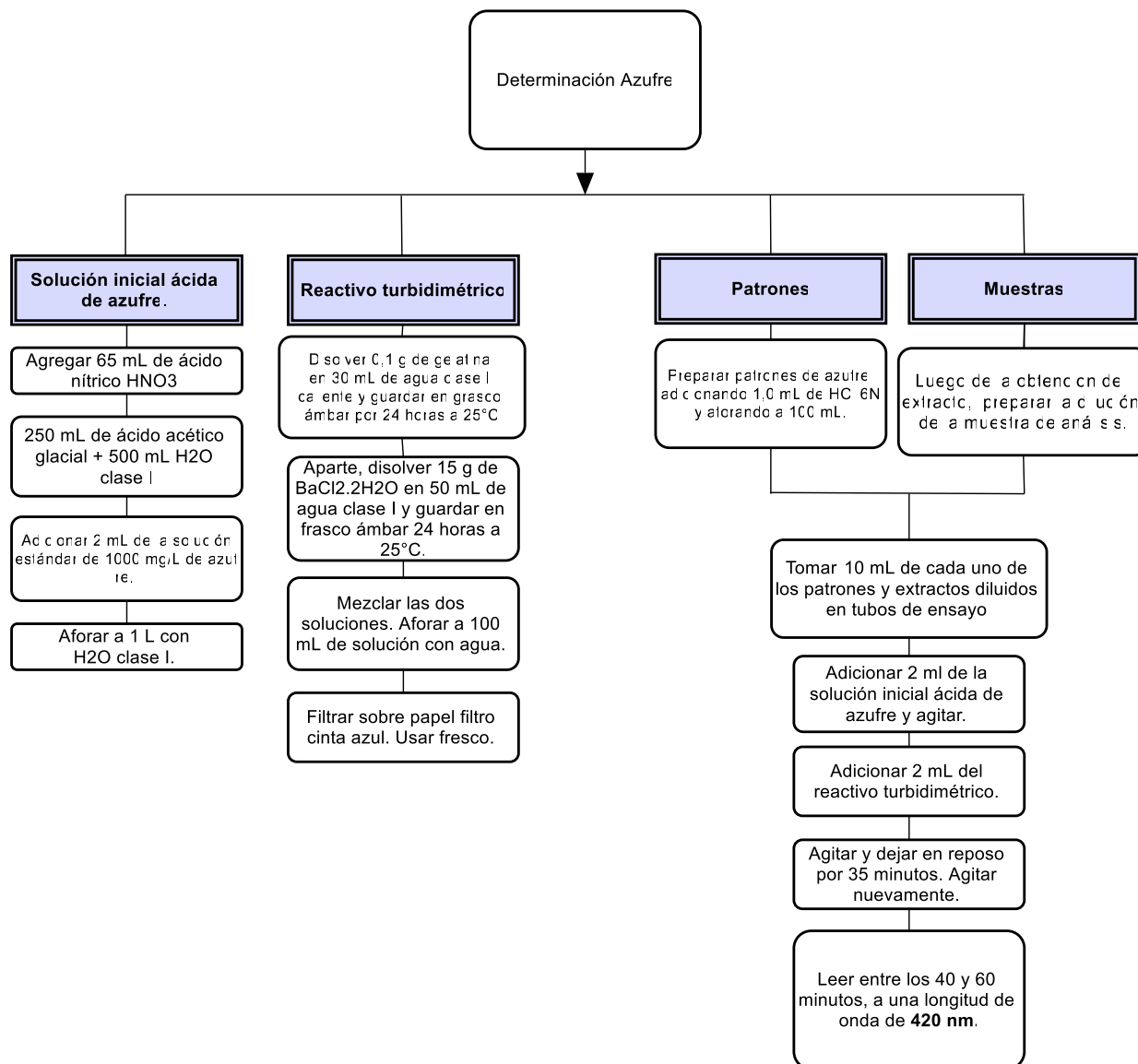
Nº informe Corpoica	Muestra de control interno	muestra	% Base seca fósforo	% Base seca azufre
61-F17 (17215)	V-01	MRCH	0.14	0.17
11-C17 (15015)	V-02	MRCIAO	1.18	-

Nota. Fuente: Esta investigación

Anexo 6: Metodología para determinación de azufre.

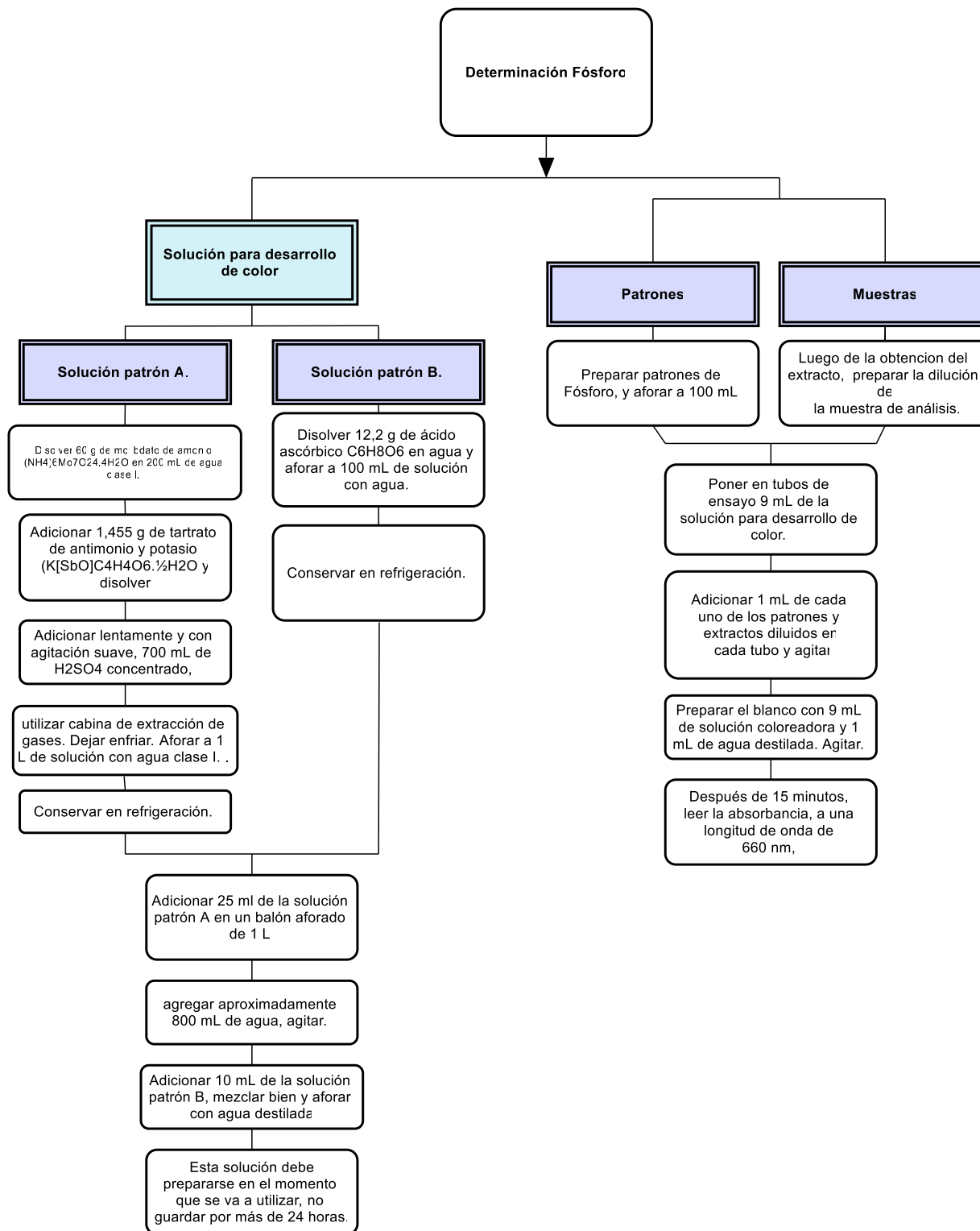
Figura 15: Determinación de azufre por método turbidimétrico.

Nota. Fuente: Esta investigación



Anexo 7: Metodología para la determinación de fósforo.

Figura 16: Determinación de fósforo método ácido ascórbico



Nota. Fuente: Esta investigación

Anexo 8: Fuentes de incertidumbre determinación de fósforo

Tabla 27: Fuentes de incertidumbre fósforo.

<i>etapas de análisis</i>	<i>entradas</i>	<i>errores sistemáticos</i>	<i>control errores sistemáticos</i>	<i>errores aleatorios</i>	<i>fuentes de incertidumbre</i>	<i>salida</i>
<i>Tamaño de la muestra</i>	Pesaje de la muestra, aforo del extracto	Pesaje, error en Paralaje en medición volumen	calibración balanza, entrenamiento del analista	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen, titulación	Balanza, material volumétrico	extracto
<i>preparación solución madre 50 mg/L</i>	patrón KH ₂ PO ₄ , agua, material volumétrico y balanza	Pureza de reactivos, pureza de agua, paralaje, pesaje, tolerancia del material volumétrico, calibración de balanza. Resolución de balanza.	certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, calibración balanza con mantenimiento preventivo, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Material volumétrico. Balanza, reactivos	Solución madre estandarizada
<i>Solución de trabajo</i>	Solución madre estandarizada, H ₂ O, material volumétrico.	calidad del agua, paralaje, estado del material,	verificación periódica de la solución de trabajo, certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, calibración balanza con mantenimiento preventivo, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Analista, material volumétrico. Balanza, reactivos	Solución de trabajo
<i>Curva de calibración (para cada punto de la curva)</i>	Solución intermedia, H ₂ O, material volumétrico	calidad del agua, paralaje, estado del material,	verificación periódica de la solución de trabajo, certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Analista, material volumétrico. Balanza, reactivos	Curva de calibración.
<i>Lectura espectrofotométrica</i>	Espectro fotómetro	selección de la longitud de onda	calibración del equipo capacitación del analista	longitud de onda	espectrofotómetro	espectrofotómetro ajustado

Nota. Fuente: Esta investigación


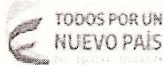
Anexo 9: Fuentes de incertidumbre determinación de azufre

Tabla 28: Fuentes de incertidumbre determinación de azufre.

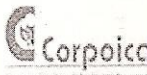
<i>etapas de análisis</i>	<i>entradas</i>	<i>errores sistemáticos</i>	<i>control errores sistemáticos</i>	<i>errores aleatorios</i>	<i>fuentes de incertidumbre</i>	<i>salida</i>
Tamaño de la muestra	Pesaje de la muestra, aforo del extracto	Pesaje, error en Paralaje en medición volumen	calibración balanza, entrenamiento del analista	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen, titulación	Balanza, material volumétrico	extracto
<i>preparación solución madre 1000 mg/L</i>	patrón K ₂ SO ₄ , agua, material volumétrico y balanza	Pureza de reactivos, pureza de agua, paralaje, pesaje, tolerancia del material volumétrico, calibración de balanza. Resolución de balanza.	certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, calibración balanza con mantenimiento preventivo, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Material volumétrico. Balanza, reactivos	Solución madre estandarizada.
<i>preparación solución intermedia 100 mg/L</i>	Solución madre estandarizado, H ₂ O, material volumétrico.	calidad del agua, paralaje, estado del material,	verificación periódica de la solución madre, certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, calibración balanza con mantenimiento preventivo, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen, titulación,	Analista, material volumétrico. Balanza, reactivos	Solución intermedia de trabajo
<i>Solución de trabajo</i>	Solución madre estandarizada, H ₂ O, material volumétrico.	calidad del agua, paralaje, estado del material,	verificación periódica de la solución de trabajo, certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, calibración balanza con mantenimiento preventivo, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Analista, material volumétrico. Balanza, reactivos	Solución de trabajo
<i>Curva de calibración (para cada punto de la curva)</i>	SOLUCION INTERMEDIA, H ₂ O, MATERIAL VOLUMETRICO	calidad del agua, paralaje, estado del material,	verificación periódica de la solución de trabajo, certificado de análisis de reactivo, entrenamiento del analista, verificación material volumétrico, certificación del material volumétrico, verificación del agua, mantenimiento preventivo del purificador	Repetibilidad en pesaje, medición de volumen.	Analista, material volumétrico. Balanza, reactivos	Curva de calibración.
<i>Lectura espectrofotométrica</i>	espectrofotómetro	selección de la longitud de onda	calibración del equipo capacitación del analista	selección de longitud	espectrofotómetro	espectrofotómetro ajustado

Nota. Fuente: Esta investigación

Anexo 10: Certificados de análisis muestras de control interno V-01 y V-02.

	VINCULACIÓN DE CONOCIMIENTO Y TECNOLOGÍA	Código: VC F 115				
		Versión: 2				
Reporte de Resultados Laboratorios de Servicios una Muestra		Fecha de vigencia: (01-02-2016)				
LABORATORIO DE QUÍMICA DE SUELOS, AGUAS Y PLANTAS		<table border="1"> <tr> <td># DE SOLICITUD</td> <td>CODIGO DE LABORATORIO</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">61</td> <td style="text-align: center;">F17-17215</td> </tr> </table>	# DE SOLICITUD	CODIGO DE LABORATORIO	61	F17-17215
# DE SOLICITUD	CODIGO DE LABORATORIO					
61	F17-17215					
1. Información del cliente Nombre y Apellido: UNIVERSIDADE NARIÑO Cédula o NIT: 800118954-1 Dirección: UNIVERSIDAD DE NARIÑO SEDE TOROBAJO CALLE 18 CRA 50. BLOQUE DE LABORAT Dpto: NARIÑO Municipio: PASTO Tel. fijo/Celular: 3105172033-7314477 Tipo de análisis: Completo,						
						
2. Información de la muestra Identificación: MRCH (TEJIDO VEGETAL) Matriz: TEJIDO Finca: NO INDICA Cultivo: NO INDICA Tiempo de establecido: NO INDICA Parte de la planta para análisis: NO INDICA Sintomatología: NO INDICA						
Fecha de recepción: 2017-05-23 Fecha de reporte: 2017-06-21		Jamer Ricardo Jiménez. (E7882) Líder Unidad de Laboratorio de Suelos				
DETERMINACION ANALÍTICA	UNIDAD	MÉTODO (EXTRACCIÓN/CUANTIFICACIÓN)	VALOR*	INTERPRETACIÓN		
Nitrógeno (N)	%	EPA 3513 modificado	2,22			
Fósforo (P)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Espectrofotometría	0,14			
Potasio (K)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Espectrometría de emisión de plasma	1,33			
Calcio (Ca)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Espectrometría de emisión de plasma	0,19			
Magnesio (Mg)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Espectrometría de emisión de plasma	0,13			
Sodio (Na)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Espectrometría de emisión de plasma	0,11			
Azufre (S)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/Turbidimetría	0,17			
Hierro (Fe)	mg*kg-1	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/espectrometría de absorción atómica	106,16			
Cobre (Cu)	mg*kg-1	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/espectrometría de absorción atómica	5,70			
Manganeso (Mn)	mg*kg-1	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/espectrometría de absorción atómica	145,25			
Zinc (Zn)	mg*kg-1	Digestión abierta nítrico:perclórico (5.2)/espectrometría de absorción atómica	22,07			
Boro (B)	mg*kg-1	NTC 5404 modificado	5,19			
*Valor reportado con base seca						
OBSERVACIONES: Los resultados son válidos únicamente para la muestra en referencia Este documento ha sido producido electrónicamente y es válido sin la firma. Este documento no puede ser reproducido total ni parcialmente, sin la autorización formal de CORPOICA						
CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, NIT: 800194600-3 CENTRO DE INVESTIGACIÓN TIBAITATA KILOMETRO 14 VÍA MOSQUERA (CUNDINAMARCA) TELÉFONOS: 4227300, extensión 1414 E-MAIL: ypaezc@corpoica.org.co						

Continuación.

	VINCULACIÓN DE CONOCIMIENTO Y TECNOLOGÍA	Código: VC F 115				
		Versión: 2				
Reporte de Resultados Laboratorios de Servicios una Muestra		Fecha de vigencia: (01-02-2016)				
LABORATORIO DE QUÍMICA DE SUELOS, AGUAS Y PLANTAS		<table border="1"> <tr> <td># DE SOLICITUD</td> <td>CODIGO DE LABORATORIO</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">11</td> <td style="text-align: center;">C17-15015</td> </tr> </table>	# DE SOLICITUD	CODIGO DE LABORATORIO	11	C17-15015
# DE SOLICITUD	CODIGO DE LABORATORIO					
11	C17-15015					
1. Información del cliente Nombre y Apellido: UNIVERSIDAD DE NARIÑO Cédula o NIT: 800118954-1 Dirección: UNIVERSIDAD DE NARIÑO SEDE TOROBAJO CALLE 18 CRA 50. BLOQUE DE LABORATORIO Dpto: NARIÑO Municipio: PASTO Tel. fijo/Celular: 3105172033-7314477 Tipo de análisis: Completo-bajo la NTC 5167,						
2. Información de la muestra Identificación: MRCIAO (ABONO) Matriz: ABONO Materia Prima: NO INDICA Tiempo de compostaje: NO INDICA Observaciones: ABONO ORGANICO Fecha de recepción: 2017-05-23 Fecha de reporte: 2017-06-14						
		<i>Jamer Ricardo Jiménez. (7882)</i> Lider unidad de Laboratorio de suelos.				
DETERMINACION ANALÍTICA	UNIDAD	MÉTODO (EXTRACCIÓN/CUANTIFICACIÓN)	VALOR*			
Fósforo (P2O5)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5:2)/Espectrofotometria	1,18			
Cenizas	%	Gravimétrico	36,65			
Nitrógeno (N)	%	EPA 351,3 modificado	3,02			
Contenido de Humedad	%	Gravimétrico	6,07			
Pérdidas por Volatilización	%	Gravimétrico	57,28			
Carbono Orgánico Oxidable (CO)	%	Walkey & Black/Colorimetria	24,99			
Capacidad de Retención de Humedad	%	Gravimétrico	151,60			
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	Cmol / Kg	Acetato de amonio 1N pH 7/Volumetría	69,17			
Densidad	g/ 100 cm ³	Gravimétrico	0,75			
pH		Lectura directa Extracto Pasta Saturada	6,15			
Conductividad Eléctrica (C.E.)	dS/m	Lectura directa Extracto Pasta Saturada	29,10			
Potasio (K2O)	%	Digestión abierta nítrico:perclórico (5:2)/espectrometria de absorción atómica	2,12			
Relación Carbono/Nitrógeno (C/N)			8,27			
*Valor reportado en base húmeda						
OBSERVACIONES:						
Los resultados son validos unicamente para la muestra en referencia Este documento ha sido producido electrónicamente y es válido sin la firma. Este documento no puede ser reproducido total ni parcialmente, sin la autorización formal de CORPOICA						
CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA, NIT: 800194600-3 CENTRO DE INVESTIGACION TIBAITATA KILOMETRO 14 VÍA MOSQUERA (CUNDINAMARCA) TELÉFONOS: 4227300, extensión 1414 E-MAIL: ypaezc@corpoica.org.co						

Anexo 11: Certificados de calibración.

MAVE

INSTRUMENTACION Y QUIMICOS LTDA.
VENTA DE EQUIPOS - REPUESTOS ASESORIA - MONTAJE DE METODOS
SOPORTE TECNICO EN: XRF - OES - XRD - ICP - MICROSCOPIA - HPLC
GC - AA - FTIR - UV/VIS - GC/MS



R.S.T. No 1278

MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE UV-VIS Lambda 11

DATOS DEL CLIENTE.			
CLIENTE:	UNIVERSIDAD DE NARIÑO		
DIRECCIÓN:	CARRA 50 CALLE 18 TOROBAJO	CIUDAD/PAIS:	PASTO /NARIÑO/COLOMBIA
TELEFONO/FAX:	7314477	CONTACTO:	Ing. Mario Mora Vásquez
		CARGO:	INTERVENTOR
		E-MAIL:	mariomoravasquez@gmail.com

DATOS DEL INSTRUMENTO		FECHA de REALIZACIÓN D/M/A		CLASE DE SERVICIO			
TIPO DE INSTRU:	Espectrofotómetro UV-VIS	SOLICITADO:	13-03-2017	Preventivo.	<input checked="" type="checkbox"/>	Correctivo	<input type="checkbox"/>
MODELO/ SERIE:	UV-VIS Lambda 11/34235	INICIO:	03-04-2017	Entrenamiento.	-	Entrenamiento	-
MARCA:	PERKIN ELMER	FINALIZACIÓN:	03-04-2017	Garantía.	-	Diag/otro	-

FORMA DE ATENCION.			DESCRIPCIÓN DE LA FALLA Y ALARMAS.	Al hacer el barrido de la línea base entre 900 a 190nm se encontró ruido en el rango ultravioleta
Telefónica.	Física.	<input checked="" type="checkbox"/>		

ESTADO DEL EQUIPO INICIAL			CAUSAS DE LA NO OPERACIÓN	Sociedad en la óptica o en la fuente de deuterio
Operativo	-	No Operativo		

DOCUMENTOS ANEXOS AL REPORTE: Descripción Breve	Reporte Manual	CONDICIÓN FINAL:	Operativo	<input checked="" type="checkbox"/>	No Operativo	<input type="checkbox"/>
				Razón de no Operación:	Operativo solo en el rango visible de 900 a 400nm	

DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO REALIZADO.

Se realizó mantenimiento del Espectrómetro Ultravioleta Visible Lambda 11 de Perkin Elmer,
Se hizo limpieza de la electrónica
Se realizo mantenimiento de la óptica, de los slits de entrada y salida, de los espejos colimadores
Se descontamino el Detector
Se descontamino los moto ventiladores.
Se encontró la fuente de Deuterio averiada, ya no prende, es necesario hacer cambio de esta fuente
Se debe hacer también el reemplazo de la fuente de Tungsteno
Se calibro en longitud de Onda con el Filtro patrón de Oxido de Holmio a las Longitudes de onda 446nm, 536.5nm y 637.5nm
Se verifico la repetitividad fotométrica a las longitudes de onda 540 nm

CALIBRACIÓN EN LONGITUD DE ONDA

λ Analizadas	λ de Fabrica (nm)	Desvía. Permitida (nm)	λ leída	Desviación (nm)
446nm	446	+/-0.5	445,7	+/-0.3
536.5	536.5	+/-0.5	537.6	+/-0.1
637.5	637.5	+/-0.5	637.7	+/-0.2

<input checked="" type="checkbox"/>	SÍ	<input type="checkbox"/>	NO	Horas laboradas	5.0
				Horas viajando	3.0

-MAVE-

INSTRUMENTACION Y QUIMICOS LTDA.
 VENTA DE EQUIPOS - REPUESTOS ASESORIA - MONTAJE DE METODOS
 SOPORTE TECNICO EN: XRF - OES - XRD - ICP - MICROSCOPIA - HPLC
 GC - AA - FTIR - UV/VIS - GC/MS



R.S.T. No 1278

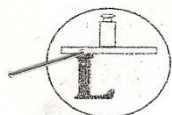
MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE UV-VIS Lambda 11

REPETITIVIDAD FOTOMETRICA								
λ Analizada	Rep1, Abs	Rep2, Abs	Rep3, Abs	Rep4, Abs	Rep5, Abs	Rep6, Abs	\bar{X}_7	σ
540.0nm	0.074	0.074	0.074	0.074	0.074	0.074	0.074	0.00

OBSERVACIONES DEL INGENIERO DE SOPORTE y REQUERIMIENTOS DEL CLIENTE.
 Como podemos observar de los datos de calibración en Longitud de onda el espectrómetro presenta una desviación en Longitud de onda dentro de los parámetros normales establecidos por la fabrica
 La repetitividad fotométrica es excelente como podemos apreciar presenta una desviación de 0
 El equipo queda trabajando OK en el rango visible y se entrega a entera satisfacción
 Nota. Se recomienda para el próximo mantenimiento el cambio de las fuentes Halógena y Deuterio

OBSERVACIONES DEL CLIENTE:

ACEPTACIÓN DEL SERVICIO							
Con la firma del presente documento, estoy aceptando a satisfacción las labores realizadas y doy fe que fueron efectuadas todas las pruebas necesarias, y los resultados fueron satisfactorios, exceptuando las observaciones manifestadas anteriormente. El servicio se prestó bajo las concesiones previamente acordadas.							
POR EL CLIENTE		POR MAVE INSTRUMENTA Y QUIMICOS LTDA.			FECHA DE APROBACIÓN D/M/A		
Nombre Cliente	Ing. Mario Morá Vásquez	Nombre Ingeniero	Manuel Vega		03	04	2017
Firma +		Firma +					



METROLABOR LTDA.

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
CALIBRATION CERTIFICATE



NÚMERO: MET-LM-CC 12022
Number:

LABORATORIO: MASA
Laboratory

INSTRUMENTO: BALANZA ANALÍTICA DIGITAL
Instrument

FABRICANTE: OHAUS
Manufacturer

MODELO: PA 214
Model

NÚMERO DE SERIE: 8330350065
Serial number

CÓDIGO INTERNO: PS-B 003
Internal code

RANGO DE MEDICIÓN: 0,01 g ... 210 g
Measurement range

RANGO DE CALIBRACIÓN: 0,01 g ... 210 g
Calibration range

RESOLUCIÓN: 0,0001 g
Resolution

UBICACIÓN: LABORATORIO DE INTERACCIÓN SOCIAL,
CUARTO DE BALANZAS
Location

SOLICITANTE: UNIVERSIDAD DE NARIÑO
Customer

DIRECCIÓN: CIUDAD UNIVERSITARIA TOROBAJO, CALLE 18 CARRERA 50,
SAN JUAN DE PASTO - NARIÑO - COLOMBIA
Address

FECHA DE RECEPCIÓN: 2017-03-31
Date of receipt

FECHA DE CALIBRACIÓN: 2017-03-31
Date of Calibration

NÚMERO DE PÁGINAS INCLUYENDO ANEXOS: TRES (3)
Number of pages and documents attached



Este certificado expresa fielmente el resultado de las mediciones realizadas. No podrá ser reproducido total o parcialmente, excepto cuando haya obtenido permiso por escrito del laboratorio que lo emite. Los resultados contenidos en el presente certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones. El laboratorio que lo emite no se responsabiliza de los perjuicios que puedan derivarse del uso inadecuado de los instrumentos calibrados. El usuario es responsable de la calibración de sus instrumentos a intervalos apropiados.

This certificate faithfully expresses the results of the measurements. This certificate may not be partially or totally reproduced, except when you have obtained written permission from the issuing laboratory. The results contained in this certificate refer to the moment and conditions under which measurements were made. The issuing laboratory assumes no responsibility for the misuse of the calibrated instruments. The user is responsible to have the object calibrated at

1. CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE LA CALIBRACIÓN / ENVIRONMENTAL CONDITIONS DURING CALIBRATION

Temperatura del aire (°C) / Air temperature	18,9 ± 1,1
Humedad Relativa (%) / Rel. Humidity	72,3 ± 4,3
Presión Atmosférica (mbar) / Air Pressure	760,3 ± 0,3

Los datos suministrados de las condiciones ambientales, se refieren al momento y lugar en el que se realizaron las mediciones. Those provided environmental condition, concern the time and place at where the measurement were made.

2. TRAZABILIDAD / TRACEABILITY:

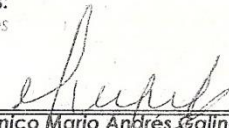
El laboratorio de calibración de Masa y Balanzas de Metrolabor Ltda., asegura la trazabilidad de los patrones y de los equipos de pesaje no automáticos utilizados en estas mediciones, a patrones Nacionales o Internacionales de referencia.

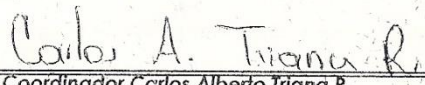
The Metrolabor Ltda., Mass and Scale Lab, ensures traceability of scale calibration weights and non-automatic weighing equipment used in these measurements, to national or international reference standards.

2.1. IDENTIFICACIÓN DEL PATRÓN DE REFERENCIA Y TRAZABILIDAD / REFERENCE WEIGHT IDENTIFICATION AND TRACEABILITY

Pesa Clase / Class:	E2	Serie No. / Serial:	2520613
Rango Patrón / Range:	1 mg ... 200 g	Código Interno / Internal code:	LMB 035
Certificado de Calibración / Calibration certificate No.:	DKD 73686	Certificado vigente hasta / Certificate valid until:	2019-05-04
Termohigrómetro Patrón / Standard Thermohygrometer:	OPUS 20 TH1	Serie / Serial:	23.104.120.802.015
Certif. Calibración Temperatura / Calibration cert. No.:	MET-LT-CC 14060	Código Interno / Internal code:	LMB 034
Certif. Calibración Humedad / Calibration certificate No.:	MET-LH-CC 7311	Certificado vigente hasta / Certificate valid until:	2017-08-10/11

Firmas Autorizadas:
Authorized Signatures


Director Técnico Mario Andrés Galindo
Calibrado por: Calibrated by:


Coordinador Carlos Alberto Triana R.
Revisado por: Checked by:



METROLABOR LTDA.

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
CALIBRATION CERTIFICATE



NÚMERO: MET-LM-CC 12022

Number:

3. PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN / CALIBRATION PROCEDURE:

Para la calibración del IBC, se empleó el método de comparación directa con los patrones de masa y se sometió a las pruebas de: excentricidad de carga, repetibilidad y exactitud. De acuerdo con los lineamientos de la SIM MWG7/cg01/v00:2009. "Guía para la calibración de los instrumentos para pesar de funcionamiento no automático.

To calibrate the instrument under operating conditions, a direct comparison method involving standard weights was employed; and it was submitted to tests of load eccentricity, repeatability, and accuracy. According to the guidelines of the SIM MWG7 / CG01 / v00: 2009. "Guidelines on the calibration of the instruments for non-automatic weighing operation.

4. RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN / RESULTS OF MEASUREMENT :

4.1 PRUEBA DE EXCENTRICIDAD DE CARGA / ECCENTRICITY TEST:

En esta prueba se evalúan las indicaciones para diferentes posiciones de una misma carga sobre el dispositivo receptor de carga del IBC. En la tabla 4.1.1. se expresa la variación máxima obtenida en la prueba de carga excéntrica.

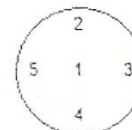
In this test, the indications of different positions of the test load on the IBC load receptor, are evaluated. Table 4.1.1 shows the maximum variation obtained in the test with eccentric load.

4.1.1 Tabla de resultados / Results Table

División de Escala (g) Scale Interval (g)	Carga (g) Load (g)	$ \Delta e_{cc} $ (g)
0,0001	70	0,0002

$|\Delta e_{cc}|$: Variación máxima de lectura en la prueba de excentricidad de carga.

$|\Delta e_{cc}|$: Maximum variation obtained in the eccentricity test



4.2 PRUEBA DE REPETIBILIDAD / REPEATABILITY TEST:

Es la desviación estándar de 10 mediciones en cada punto, con un tiempo de estabilidad de 10 segundos entre cada medición. La prueba se realizó al 10%, 50% y 100% de la carga máxima del equipo (Tabla de resultados 4.2.1)

This test is the standard deviation of 10 measurements at each point, with a 10s of stability time between measurements. Testing was performed at 10%, 50% and 100% of the unit maximum capacity. (Results Table 4.2.1)

4.2.1 Tabla de resultados / Results Table

División de Escala (g) Scale Interval (g)	Carga (g) Load (g)	Desviación (g) Deviation (g)
0,0001	20	0,00005
0,0001	100	0,00009
0,0001	200	0,00015

4.3 PRUEBA DE DESVIACIÓN LINEAL (EXACTITUD) / ACCURACY TEST:

Con esta prueba se determina en todo el campo de pesada que la indicación del instrumento sea acorde con la carga aplicada, de acuerdo con los límites o desviación lineal señalada por el fabricante.

This test determines in the entire weighing range, that the instrument indication is commensurate with the applied load, according to the limits or lineal deviation specified by the manufacturer.



METROLABOR LTDA.

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
CALIBRATION CERTIFICATE



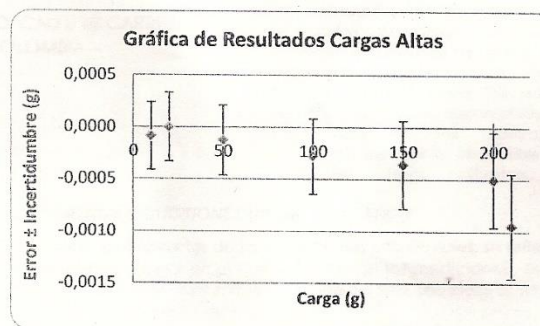
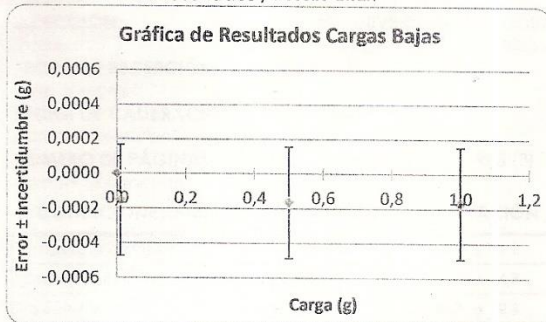
NÚMERO: MET-LM-CC 12022

Number:

4.3.1 Tabla de resultados / Results Table

Carga (g) Load (g)	Error Calculado (g) Calculated Error (g)	Incertidumbre (g) Uncertainty (g)
0,00	0,00000	0,00010
0,01	-0,00015	0,00032
0,5	-0,00016	0,00032
1	-0,00017	0,00032
10	-0,00009	0,00033
20	0,00000	0,00033
50	-0,00013	0,00034
100	-0,00028	0,00036
150	-0,00036	0,00042
200	-0,00050	0,00045
210	-0,00075	0,00050

4.3.2 Gráfica de resultados / Results Chart



5. INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN / UNCERTAINTY OF MEASUREMENT:

El valor de la incertidumbre de medición está calculado para un nivel de confianza de 95,45% y con un factor de cubrimiento $k=2,0$.
The measurement uncertainty estimated value, was determined for a confidence level of 95,45% with a coverage factor $k=2,0$.

6. OBSERVACIONES / COMMENTS:

- * Revisar periódicamente el comportamiento del instrumento, para asegurar la trazabilidad de las mediciones con él realizadas.
- * Encender el instrumento por lo menos 30 minutos antes de iniciar las mediciones.
- * La versión en Inglés de este documento no es una traducción literal, si en algún ítem surgen dudas en la lectura, por favor remitirse al texto original en español.
- * Periodically check the performance of the instrument, in order to ensure the traceability of measurements performed with it.
- * Turn the instrument on, at least 30 minutes before starting the measurements.
- * The english version of this document is not a binding translation, if any matter gives rise to doubts, please refer to the original text in spanish.

FIN DEL CERTIFICADO / END OF CERTIFICATE

Anexo 12: Certificados de calidad de reactivos



Certificate of Analysis

1.04873.0250 Potassium dihydrogen phosphate for analysis EMSURE® ISO
Batch AM0828373

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (alkalimetric, calculated on dried substance)	99.5 - 100.5	%	99.8	%
Assay (alkalimetric; dried substance)	≥ 99.5	%	99.7	%
pH-value (5 %; water)	4.2 - 4.5		4.3	
Chloride (Cl)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Sulphate (SO ₄)	≤ 0.003	%	≤ 0.003	%
Total nitrogen (N)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
As (Arsenic)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Cu (Copper)	≤ 0.0003	%	≤ 0.0003	%
Fe (Iron)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Na (Sodium)	≤ 0.02	%	≤ 0.02	%
Pb (Lead)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Reducing substances	passes test		passes test	
Loss on drying (110 °C)	≤ 0.2	%	< 0.1	%
Loss on drying (130 °C)	≤ 0.2	%	< 0.1	%

Corresponds to ISO

Date of release (DD.MM.YYYY) 27.03.2015
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.03.2020

Dr. Matthias Ohm
Responsible laboratory manager quality control

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

Continuación.

CERTIFICADO DE ANALISIS

CODIGO: 131532 LOTE: 0000570728

PRODUCTO: Potasio Sulfato (Reag. Ph. Eur.) para análisis, ACS, ISO

FECHA DE EMISIÓN: 25/04/2016

FECHA REANÁLISIS: 02/2021

ESPECIFICACIONES	VALOR GARANTIZADO	VALOR REAL
Riqueza mínima	99,0%	99,7%
pH sol. 5%	5,5-8,0	6,1
Límite máximo de impurezas		
Insoluble en H ₂ O	0,005 %	<0,005 %
Pérdida por desec. a 105°C	1,0%	0,04%
Cloruro (Cl)	0,0005%	<0,0005%
Compuestos de N (en N)	0,0005%	<0,0005%
Fosfato (PO ₄)	0,0005 %	<0,0005 %
As	0,0001 %	<0,0001 %
Metales pesados en (Pb)	0,0005%	<0,0005%
Metales por ICP [en mg/Kg (ppm)]		
Al	5	<5
Ba	5	<5
Be	5	<5
Ca	50	<50
Cd	5	<5
Co	5	<5
Cr	5	<5
Cu	5	<5
Fe	5	<5
Ga	5	<5
In	5	<5
Li	10	<10
Mg	20	<20
Mn	5	<5
Mo	5	<5
Na	200	<200
Ni	5	<5
Pb	5	<5
Se	5	<5
Sr	5	<5
Ti	5	<5
V	5	<5
Zn	5	<5
Zr	5	<5

PanReac Química S.L.U.
C/Alfonso 2
Polígono El Estrecho de Figueras
1-10127 Castellón de la Plana
Espana
Tel: +34 967 429 400
Fax: +34 967 429 401
e-mail: i.t.oe@itwreagents.com
www.itwreagents.com



Quality Assurance Director
Director de Garantía Calidad
R. Verge

CODIGO: 131532 LOTE: 0000570728

Anexo 13: Cálculo de Incertidumbre

Cálculos de incertidumbre.

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre asociadas a la medición, se estimó la incertidumbre estándar para cada una de las magnitudes de influencia del método.

Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución Madre de KH_2PO_4 (50 mg/L)

Incertidumbre de la Masa de KH_2PO_4

Se utilizó la balanza analítica digital OHAUS modelo PA214 210/0.00005 g (Max/DS), previamente calibrada por la empresa METROLABOR LTDA. La incertidumbre de la masa del KH_2PO_4 se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$U_w = \sqrt{(\text{Calibración})^2 + (\text{Repetibilidad})^2} \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde:

$$U_{\text{calibración}}: 0,00032$$

$$U_{\text{repetibilidad}}: 0,00005$$

$$U_{w\text{KH}_2\text{PO}_4} = 1,612 \times 10^{-4} \quad \text{Ecuación 16}$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa del KH_2PO_4 ($U_{rw\text{KH}_2\text{PO}_4}$) se generó de la siguiente ecuación

$$U_{rw\text{KH}_2\text{PO}_4} = \frac{U_{w\text{KH}_2\text{PO}_4}}{w\text{KH}_2\text{PO}_4} = 7,4 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 17}$$

$$\text{Donde: } w\text{KH}_2\text{PO}_4 = 0.0219 \text{ g}$$

Pureza del KH_2PO_4

Según el proveedor (Merk) la pureza de KH_2PO_4 es del $100 \pm 0,5\%$. No se consideró otra fuente de incertidumbre ya que se llevó a cabo el procedimiento de secado de acuerdo a las especificaciones del proveedor. La incertidumbre estándar se calculó utilizando la hipótesis de una distribución rectangular, por lo que la incertidumbre de su peso sigue la siguiente ecuación.

$$U_{pKH_2PO_4} = \frac{u}{\sqrt{3}} = \frac{0,5}{\sqrt{3}} = 0,28 \quad \text{Ecuación 18}$$

La incertidumbre estándar relativa se determinó con la siguiente ecuación.

$$Ur_{pKH_2PO_4} = \frac{U_{pKH_2PO_4}}{pKH_2PO_4} = \frac{0,28}{99,5} = 2,9 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 19}$$

Incertidumbre de la masa molar KH_2PO_4

El cálculo de incertidumbre estándar de la masa molar del KH_2PO_4 , se obtuvo mediante las incertidumbres reportadas por Coplen and Peiser (1998) *Tabla 29*.

Para ello, la incertidumbre de la masa molar se calculó con la siguiente ecuación.

$$Um_{KH_2PO_4} = \sqrt{(u_k)^2 + (u_H)^2 + (u_P)^2 + (u_O)^2} \quad \text{Ecuación 20}$$

La estimación de la incertidumbre estándar relativa se determinó con:

$$Ur_{mKH_2PO_4} = \frac{Um_{KH_2PO_4}}{M_{KH_2PO_4}} = 5,14 \times 10^{-6} \quad \text{Ecuación 21}$$

Tabla 29: Resumen cálculo de incertidumbre de la masa molar de KH_2PO_4

PM KH_2PO_4	peso atómico	Incertidumbre atómico	Incertidumbre molecular.	$U_{KH_2PO_4}$
K	39,0983	1,00E-04	1,00E-04	5,77E-05
H	1,00794	7,00E-05	1,40E-04	8,08E-05
P	30,973762	2,00E-06	2,00E-06	1,15E-06
O	15,9994	3,00E-04	1,20E-03	6,93E-04
$M_{KH_2PO_4}$	136,085542		$Ur_{mKH_2PO_4}$	7,00E-04

Nota. Fuente: (Coplen & Peiser, 1998)

Incertidumbre por material volumétrico (Balón aforado $100 \pm 0,1$ mL)

Se utilizó material de vidrio clase A de Borosilicato, para calcular su incertidumbre se realizó la verificación del material volumétrico por medio del protocolo LBE-PRS-P-40 del laboratorio.

La incertidumbre por medio de resolución sigue una hipótesis de distribución triangular por lo que su cálculo es con la ecuación.

$$U_{res} = \frac{u}{\sqrt{6}} = \frac{0,1}{\sqrt{6}} = 3,9 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 22}$$

Mientras que la incertidumbre por medio de la repetibilidad de resultados sigue una distribución normal por lo que la incertidumbre sigue la ecuación:

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,012}{\sqrt{10}} = 4,0 \times 10^{-2} \quad \text{Ecuación 23}$$

Donde n son el número de repeticiones de volúmenes medidos con el material volumétrico.

$$U_{r_b} = \sqrt{(u_{res})^2 + (u_{rep})^2} = 4,1 \times 10^{-2} \quad \text{Ecuación 24}$$

Incertidumbre por variación de temperatura.

Para obtener la incertidumbre por la variación de temperatura, se utilizó un termómetro digital marca EXTECH modelo 4000CC, previamente calibrada por la empresa METROLABOR LTDA. La incertidumbre de la temperatura se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$U_{\Delta T} = \sqrt{(Calibración)^2 + (Repetibilidad)^2} \quad \text{Ecuación 25}$$

Donde:

U calibración: 0,05

U repetibilidad: 0,36

$$U_{\Delta T} = 0.36 \text{ } ^\circ\text{C} \quad \text{Ecuación 26}$$

La incertidumbre estándar relativa de la temperatura del agua se calcula mediante la ecuación 29 según (Morillas P.P. y colaboradores., 2016).

$$U_{\Delta T} = \frac{V \times U_{\Delta T} \times \text{Coeficiente de expansión térmica del agua}}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 27}$$

Donde:

Coeficiente de expansión térmica del agua es $2,1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$

ΔT : $0.36 \text{ } ^\circ\text{C}$ (calculado mediante el registro de temperaturas)

V: Volumen

Al usar un balón de 100 mL la incertidumbre de temperatura para este proceso es:

$$U_{\Delta T} = 4,46 \times 10^{-5} \quad \text{Ecuación 28}$$

La incertidumbre estándar combinada para la variación de la solución madre se realiza con la ecuación 30.

$$\begin{aligned}
 &U_{Sin\ Madre} \\
 &= \sqrt{(U_{rwKH_2PO_4})^2 + (U_{rpKH_2PO_4})^2 + (U_{pKH_2PO_4})^2 + (U_{rmKH_2PO_4})^2 + (U_{rb})^2 + (U_{\Delta T})^2} \\
 &= 7.9 \times 10^{-3}
 \end{aligned}
 \tag{Ecuación 29}$$

Preparación de los estándares de la curva de calibración

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad por regresión lineal de la curva de calibración, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{CC} = \sqrt{\sum(U_{[P]})^2}
 \tag{Ecuación 30}$$

Donde:

U_{CC} : Incertidumbre estándar relativa de los puntos de la curva de calibración

$U_{[P]}$: Incertidumbre estándar relativa de cada uno de los puntos de concentración de la curva

$$U_{[P]} = 7,27 \times 10^{-3}$$

Para determinar la incertidumbre debida a la preparación de los puntos de concentración de la curva de calibración, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado de 50 mL y las pipetas de 1, 2, 5 mL aplicando la ecuación 26 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del mismo, aplicando la ecuación 27; de la misma manera la incertidumbre debida por temperatura, y usando la ecuación 34.

Tabla 30: incertidumbres puntos de la curva.

Patrón mg/L	2	4	5	6	7	8
U	4,32E-04	1,66E-03	5,37E-04	1,90E-03	1,62E-03	3,01E-03

La estimación de incertidumbre de la medición de volumen V_n en cualquier material volumétrico, identifica tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición:

- El efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido.

- El efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.
- La tolerancia/resolución del material volumétrico.

La estimación de la incertidumbre relativa del V_n , se estima combinando en forma cuadrática relativa, las fuentes de incertidumbres que afectan la medición de volumen de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\frac{U_{vn}}{V} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{V}\right)^2 + \left(\frac{U_{res}}{V}\right)^2 + \left(\frac{U_{\Delta T}}{T}\right)^2} \quad \text{Ecuación 31}$$

Donde:

U_{vn} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del material

V : volumen nominal del material

U_{rep} : Incertidumbre estándar de la repetibilidad del material volumétrico

U_{res} : Incertidumbre relativa de la tolerancia del material volumétrico.

Incertidumbre de debida a la curva de calibración

Para elaborar la curva de calibración se realizaron estándares de las siguientes concentraciones: 0.2 , 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 mgP/L

Regresión Lineal

Para calcular la incertidumbre debida a la curva de calibración se aplica la ecuación

$$U_{RL} = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_m - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

Ecuación 32

Donde:

$U_{[r,l]}$ Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado.

s Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal (0,0000181)

b La pendiente calculada (2,8961)

p El número de réplicas de la solución en estudio (2)

n Número de puntos en la curva de calibración (6)

C_m La concentración en estudio.

\bar{C} El promedio de las concentraciones calculadas.

S_{xx} Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas

$$U_{\text{Curva}} = 8.2 \times 10^{-3}$$

Incertidumbre debida a la concentración de la Solución de trabajo

La solución de trabajo se preparó a partir de los patrones de la curva, por lo tanto para evaluar la incertidumbre debida a la preparación de esta solución se tiene en cuenta la incertidumbre debida a la tolerancia del material volumétrico usado y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, obtenida a partir de la verificación volumétrica del material de vidrio que se usa para la medida tanto de la muestra como del volumen de la solución coloreadora.

La estimación de incertidumbre de la medición de volumen en cualquier material volumétrico, identifica tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición:

- El efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido.
- El efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.
- La tolerancia del material volumétrico.

Para determinar la incertidumbre debida a la preparación de la solución de trabajo, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia de la pipeta de 1 y 10 mL aplicando la ecuación 26 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 27; y la incertidumbre estándar del cambio de temperatura aplicando la ecuación 31, para obtener los siguientes resultados.

Tabla 31: incertidumbre debida a la preparación de la solución de trabajo

Fuente de incertidumbre	de	Valor de medición	de	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada.	estándar
Pipeta (muestra)		1 mL			2,99E-03	
Volumen Balón				2,45E-03		
Repetibilidad				1,71E-03		
Temperatura		2,01E+01			4,46E-05	
Calibración				5,00E-02		
Repetibilidad				3,65E-01		
Pipeta coloreadora)	(sln	1 mL			2,05E-02	
Volumen pipeta				2,04E-02		
Repetibilidad				1,51E-03		
Temperatura		2,01E+01			4,46E-05	
Calibración				5,00E-02		
Repetibilidad				3,65E-01		

Fuente de incertidumbre	de	Valor de medición	de	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada.	estándar
Pipeta coloadora)	(sln	8 mL			2,05E-02	
Volumen pipeta				2,04E-02		
Repetibilidad				1,51E-03		
Temperatura		2,01E+01			3,57E-04	
Calibración				5,00E-02		
Repetibilidad				3,65E-01		
				U _{ST}	2,08E-02	

Nota. Fuente esta investigación.

Incertidumbre debida al tamaño de muestra

Para estimar la incertidumbre debida al tamaño de muestra, solo se tomó en cuenta el volumen del balón aforado de 50 mL, el peso de la muestra de 1g y el cambio de temperatura siguiendo los mismos pasos demostrados anteriormente, tanto para el peso de la muestra de 1g (ecuación 19, 20, 21), como para la medida de volúmenes y aforos (ecuación 26, 27, 28).

$$U_{TM} : 5,40E-04$$

Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica.

Este análisis se realizó mediante los datos

Tabla 32: Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica.

Variabilidad de lectura espectrofotométrica					U _L
Espectrofotómetro Elmer Lambda 11	Perkin				1,19E-06
Repetibilidad	Certificado	0,00	Dis. Normal,	0	
Resolución	Certificado	1,00E-03	K=2	5,00E-04	

Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de fósforo.

Para hallar la Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de fósforo se reúnen los aportes de incertidumbre por parte de cada fuente, como se muestra a continuación:

$$U_{EC} = \sqrt{(U_{Sln\ Madre})^2 + (U_{Sln\ Trabajo})^2 + (U_{curva})^2 + (U_{TM})^2 + (U_L)^2}$$

Ecuación 33

Donde:

U_{EC} : Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de P

$U_{Sln\ Madre}$: Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución patrón de 50 mg/L P

U_{ST} : Incertidumbre estándar relativa de la solución trabajo

U_L : Incertidumbre estándar relativa de la lectura espectrofotométrica.

U_{CC} : Incertidumbre estándar relativa de la curva de calibración

U_{TM} : Incertidumbre estándar relativa del tamaño de muestra

$U_{EC} = 0,0238$

Incertidumbre Expandida para el análisis de fósforo

La Incertidumbre Expandida está dada por la siguiente ecuación:

$$U_{EXP} = U_{EC} * k \quad \text{Ecuación 34}$$

Donde:

U_{EXP} = Incertidumbre Expandida para el análisis de fósforo

U_{EC} = Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de fósforo

k = Factor de Cobertura (2)

$U_{EXP} = 0,04756$

Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución Madre de K_2SO_4 (1000 mg/L)

Incertidumbre de la Masa de K_2SO_4

Se utilizó la balanza analítica digital OHAUS modelo PA214 210/0.00005 g (Max/DS), previamente calibrada por la empresa METROLABOR LTDA. La incertidumbre de la masa del K_2SO_4 se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$U_w = \sqrt{(Calibracion)^2 + (Repetibilidad)^2} \quad \text{Ecuación 35}$$

Donde:

$U_{calibración}$: 1.6×10^{-4}

$U_{repetibilidad}$: 2×10^{-5}

$$U_{wK_2SO_4} = 1,612 \times 10^{-4}$$

Ecuación 36

La incertidumbre estándar relativa de la masa del K_2SO_4 ($U_{rmK_2SO_4}$) se generó de la siguiente ecuación

$$U_{rwKH_2PO_4} = \frac{U_{wK_2SO_4}}{wK_2SO_4} = 3.0 \times 10^{-4} \quad \text{Ecuación 37}$$

Donde: $wK_2SO_4 = 0.5434$ g

Pureza del K_2SO_4

Según el proveedor (Merk) la pureza de K_2SO_4 es del 99.7%. No se consideró otra fuente de incertidumbre ya que se llevó a cabo el procedimiento de secado de acuerdo a las especificaciones del proveedor. La incertidumbre estándar se calculó utilizando la hipótesis de una distribución rectangular, por lo que la incertidumbre de su peso sigue la siguiente ecuación.

$$U_{pK_2SO_4} = \frac{u}{\sqrt{3}} = \frac{0,3}{\sqrt{3}} = 0,17 \quad \text{Ecuación 38}$$

La incertidumbre estándar relativa se determinó con la siguiente ecuación.

$$U_{rpK_2SO_4} = \frac{U_{pK_2SO_4}}{pK_2SO_4} = \frac{0,17}{99,7} = 1.7 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 39}$$

Incertidumbre de la masa molar K_2SO_4

El cálculo de incertidumbre estándar de la masa molar del K_2SO_4 , se obtuvo mediante las incertidumbres reportadas por Coplen and Peiser (1998) *Tabla 29*.

Para ello, la incertidumbre de la masa molar se calculó con la siguiente ecuación.

$$U_{m_{K_2SO_4}} = \sqrt{(u_k)^2 + (u_s)^2 + (u_o)^2} = 3.53 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 40}$$

La estimación de la incertidumbre estándar relativa se determinó con:

$$U_{rmK_2SO_4} = \frac{U_{m_{K_2SO_4}}}{M_{K_2SO_4}} = 2.03 \times 10^{-5} \quad \text{Ecuación 41}$$

Tabla 33: Resumen cálculo de incertidumbre de la masa molar de K_2SO_4

PM K_2SO_4	peso atómico	Incertidumbre atómico	Incertidumbre molecular.	$U_{K_2SO_4}$
K	39,0983	1,00E ⁻⁰⁴	2,00E-04	1,15E-04
S	32,066	6,00E ⁻⁰³	6,00E-03	3,46E-03
O	15,9994	3,00E ⁻⁰⁴	1,20E-03	6,93E-04
$M_{K_2SO_4}$	174,260		$U_{r_{mK_2SO_4}}$	2,03E-05

Nota. Fuente: (Coplen & Peiser, 1998)

Incertidumbre por material volumétrico (Balón aforado 100,0 ± 0,1 mL)

Se utilizó material de vidrio clase A de Borosilicato, para calcular su incertidumbre se realizó la verificación del material volumétrico por medio del protocolo LBE-PRS-P-40 del laboratorio.

La incertidumbre por medio de resolución sigue una hipótesis de distribución triangular por lo que su cálculo es con la ecuación.

$$U_{res} = \frac{u}{\sqrt{6}} = \frac{0,1}{\sqrt{6}} = 3,9 \times 10^{-3} \quad \text{Ecuación 42}$$

Mientras que la incertidumbre por medio de la repetibilidad de resultados sigue una distribución normal por lo que le incertidumbre sigue la ecuación:

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,012}{\sqrt{10}} = 4,0 \times 10^{-2} \quad \text{Ecuación 43}$$

Donde n son el número de repeticiones de volúmenes medidos con el material volumétrico.

$$U_{rb} = \sqrt{(u_{res})^2 + (u_{rep})^2} = 4,1 \times 10^{-2} \quad \text{Ecuación 44}$$

Incertidumbre por variación de temperatura.

Para obtener la incertidumbre por la variación de temperatura, se utilizó un termómetro digital marca EXTECH modelo 4000CC, previamente calibrada por la empresa METROLABOR LTDA.

La incertidumbre de la temperatura se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$U_{\Delta T} = \sqrt{(Calibracion)^2 + (Repetibilidad)^2} \quad \text{Ecuación 45}$$

Donde:

U calibración: 0,05

U repetibilidad: 0,36

$$U_{\Delta T} = 0.36 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Ecuación 46

La incertidumbre estándar relativa de la temperatura del agua se calcula mediante la ecuación 29 según (Morillas P.P. y colaboradores., 2016).

$$U_{\Delta T} = \frac{V \times U_{\Delta T} \times \text{Coeficiente de expansión térmica del agua}}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 47}$$

Donde:

Coeficiente de expansión térmica del agua es $2,1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$

ΔT : 0.36 $^\circ\text{C}$ (calculado mediante el registro de temperaturas)

V: Volumen

Al usar un balón de 100 mL la incertidumbre de temperatura para este proceso es:

$$U_{\Delta T} = 4,46 \times 10^{-5}$$

La incertidumbre estándar combinada para la variación de la solución madre se realiza con la ecuación 30.

$$\begin{aligned} U_{\text{Soln Madre}} &= \sqrt{(U_{r_{wKH_2PO_4}})^2 + (U_{r_{pKH_2PO_4}})^2 + (U_{r_{mKH_2PO_4}})^2 + (U_{r_b})^2 + (U_{\Delta T})^2} \\ &= 1.8 \times 10^{-3} \text{ Ecuación 48} \end{aligned}$$

Preparación de los estándares de la curva de calibración

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad por regresión lineal de la curva de calibración, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{CC} = \sqrt{\sum (U_{[P]})^2} \quad \text{Ecuación 49}$$

Donde:

U_{CC} : Incertidumbre estándar relativa de los puntos de la curva de calibración

$U_{[P]}$: Incertidumbre estándar relativa de cada uno de los puntos de concentración de la curva

$$U_{[P]} = 4.84 \times 10^{-3}$$

Para determinar la incertidumbre debida a la preparación de los puntos de concentración de la curva de calibración, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado de 50 mL y las pipetas de 1, 2, 5, 10 mL aplicando la ecuación 26 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del mismo, aplicando la ecuación 27; de la misma manera la incertidumbre debida por temperatura, y usando la ecuación 33.

Tabla 34: incertidumbres puntos de la curva.

Patrón mg/L	2	4	6	8	10	12	14
U	3,78E-04	1,22E-03	6,08E-03	2,62E-02	6,91E-04	1,97E-03	2,29E-03

La estimación de incertidumbre de la medición de volumen V_n en cualquier material volumétrico, identifica tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición:

- El efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido.
- El efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.
- La tolerancia/resolución del material volumétrico.

La estimación de la incertidumbre relativa del V_n , se estima combinando en forma cuadrática relativa, las fuentes de incertidumbres que afectan la medición de volumen de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\frac{U_{vn}}{V} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{V}\right)^2 + \left(\frac{U_{res}}{V}\right)^2 \left(\frac{U_{\Delta T}}{T}\right)^2} \quad \text{Ecuación 50}$$

Donde:

U_{vn} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del material

V : volumen nominal del material

U_{rep} : Incertidumbre estándar de la repetibilidad del material volumétrico

U_{res} : Incertidumbre relativa de la tolerancia del material volumétrico.

Incertidumbre de debida a la curva de calibración

Para elaborar la curva de calibración se realizaron estándares de las siguientes concentraciones: 1.43, 2.86, 4.29, 5.71, 7.14, 8.57, 10 mg S/L

Regresión Lineal

Para calcular la incertidumbre debida a la curva de calibración se aplica la ecuación

$$U_{RL} = \frac{s}{b} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_m - \bar{C})^2}{Sxx}}$$

Ecuación 51

Donde:

- $U_{[r]}$ Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado.
 s Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal (0,0000181)
 b La pendiente calculada (2,8961)
 p El número de réplicas de la solución en estudio (2)
 n Número de puntos en la curva de calibración (6)
 Cm La concentración en estudio.
 \bar{C} El promedio de las concentraciones calculadas.
 Sxx Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas

$$U_{\text{Curva}} = \mathbf{0.148}$$

Incertidumbre debida a la concentración de la Solución intermedia.

Para determinar la incertidumbre debida a la preparación de la solución intermedia, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado de 100 mL y las pipetas 10 mL aplicando la ecuación 26 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del mismo, aplicando la ecuación 27; de la misma manera la incertidumbre debida por temperatura, y usando la ecuación 33,

$$U_{SI} = \mathbf{9,19 \times 10^{-4}}$$

Incertidumbre debida a la concentración de la Solución de trabajo

La solución de trabajo se preparó a partir de los patrones de la curva, por lo tanto, para evaluar la incertidumbre debida a la preparación de esta solución se tiene en cuenta la incertidumbre debida a la tolerancia del material volumétrico usado y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, obtenida a partir de la verificación volumétrica del material de vidrio que se usa para la medida tanto de la muestra como del volumen de la solución coloreadora.

La estimación de incertidumbre de la medición de volumen en cualquier material volumétrico, identifica tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición:

- El efecto de la variabilidad o repetibilidad del volumen medido.

- El efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del líquido.
- La tolerancia del material volumétrico.

Para determinar la incertidumbre debida a la preparación de la solución de trabajo, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia de la pipeta de 1 y 10 mL aplicando la ecuación 26 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 27; y la incertidumbre estándar del cambio de temperatura aplicando la ecuación 31, para obtener los siguientes resultados.

Fuente de incertidumbre	de	Valor de medición	de	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada.	estándar
Pipeta (muestra)		10 mL			0,00082	
Volumen Balón				8,16E-03		
Repetibilidad				8,76E-04		
Temperatura		2,01E+01			2,22E-05	
Calibración				5,00E-02		
Repetibilidad				3,65E-01		
Pipeta (sln coloreadora)		4 mL			0,01028	
Volumen pipeta				2,04E-02		
Repetibilidad				2,44E-03		
Temperatura		2,01E+01			8,90E-06	
Calibración				5,00E-02		
Repetibilidad				3,65E-01		

Incertidumbre debida al tamaño de muestra

Para estimar la incertidumbre debida al tamaño de muestra, solo se tomó en cuenta el volumen del balón aforado de 50 mL, el peso de la muestra de 1g y el cambio de temperatura siguiendo los mismos pasos demostrados anteriormente, tanto para el peso de la muestra de 1g (ecuación 19, 20, 21), como para la medida de volúmenes y aforos (ecuación 26, 27, 28).

$$U_{TM} : 5,40E-04$$

Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica.

Este análisis se realizó mediante los datos

Tabla 35: **Incertidumbre debida a lectura espectrofotométrica.**

Variabilidad de lectura espectrofotométrica	U_L
Espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 11	1,19E-06
Resolución	Certificado 1,00E-03 5,00E-04

Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de fósforo.

Para hallar la incertidumbre estándar combinada para el análisis de fósforo se reúnen los aportes de incertidumbre por parte de cada fuente, como se muestra a continuación:

$$U_{EC} = \sqrt{(U_{Sln\ Madre})^2 + (U_{Sln\ Trabajo})^2 + (U_{intermedia})^2 + (U_{curva})^2 + (U_{TM})^2 + (U_L)^2}$$

Ecuación 52

Donde:

U_{EC} : Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de azufre.

$U_{Sln\ Madre}$: Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución patrón de 50 mg/L P

U_{ST} : Incertidumbre estándar relativa de la solución trabajo

U_L : Incertidumbre estándar relativa de la lectura espectrofotométrica.

$U_{Sln\ intermedia}$: Incertidumbre estándar relativa de la solución intermedia.

U_{CC} : Incertidumbre estándar relativa de la curva de calibración

U_{TM} : Incertidumbre estándar relativa del tamaño de muestra

$$U_{EC} = 0,148$$

Incertidumbre Expandida para el análisis de fósforo.

La Incertidumbre Expandida está dada por la siguiente ecuación:

$$U_{EXP} = U_{EC} * k \quad \text{Ecuación 53}$$

Donde:

U_{EXP} = Incertidumbre Expandida para el análisis de fósforo

U_{EC} = Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de fósforo

k = Factor de Cobertura (2)

$$U_{EXP} = 0,2969$$

Anexo 14: Corrección Muestras de Base seca parcial a Base seca.

Tabla 36: Corrección Muestras de Base seca parcial a Base seca.

Muestra	% materia seca	Promedio P practico	Promedio P con corrección a Base seca.	Promedio S practico	Promedio S con corrección a Base seca.
V-01	91,77	0,142	0,154	0,133	0,144
V-02	93,80	1,091	1,163	0,406	0,432
V-03	94,91	0,294	0,309	0,099	0,104
V-04	95,01	0,667	0,702	0,322	0,338
V-05	94,90	0,322	0,339	0,200	0,210
V-06	92,53	0,932	1,007	0,594	0,641
V-07	88,39	0,789	0,892	0,263	0,297
V-08	89,93	0,677	0,752	0,209	0,232

Anexo 15: Datos Absorbancias

Tabla 37: Absorbancias determinación de fósforo.

Absorbancias.											
	0	0,05	0,1	0,2	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	1	1,2
replica 1	0,035	0,018	0,041	0,082	0,177	0,211	0,268	0,318	0,344	0,448	0,553
replica 2	0,038	0,015	0,039	0,075	0,177	0,204	0,262	0,316	0,339	0,452	0,531
replica 3	0,035	0,018	0,043	0,084	0,172	0,211	0,259	0,309	0,339	0,445	0,551
replica 4	0,039	0,022	0,046	0,084	0,185	0,215	0,278	0,331	0,353	0,456	0,556
replica 5	0,042	0,018	0,042	0,079	0,178	0,208	0,266	0,311	0,352	0,494	0,553
replica 6	0,041	0,018	0,043	0,076	0,178	0,209	0,277	0,316	0,346	0,473	0,536
replica 7	0,035	0,017	0,047	0,073	0,180	0,216	0,268	0,364	0,352	0,456	0,549
replica 8	0,04	0,02	0,046	0,083	0,183	0,215	0,277	0,324	0,347	0,448	0,533
replica 9	0,044	0,018	0,036	0,078	0,177	0,216	0,274	0,322	0,349	0,448	0,545
replica 10	0,035	0,022	0,041	0,077	0,177	0,21	0,259	0,321	0,348	0,451	0,562

Tabla 38: Datos absorbancias matrices determinación de fósforo.

	FORRAJE (MRCH)	ABONO (MRCIAO)	FORRAJE	FORRAJE	ABONO ANIMAL	ABONO VEGETAL	MATERIA PRIMA	CONCENTRADO
	V-01	V-02	V-03	V-04	V-05	V-06	V-07	V-08
L1	0,157	0,206	0,308	0,127	0,191	0,198	0,167	0,130
	0,160	0,210	0,311	0,130	0,195	0,203	0,166	0,133
L1	0,171	0,217	0,299	0,123	0,181	0,201	0,179	0,132
	0,189	0,236	0,317	0,134	0,182	0,258	0,154	0,134
L2	0,132	0,239	0,264	0,144	0,193	0,204	0,200	0,155
	0,131	0,203	0,271	0,130	0,199	0,212	0,180	0,156
L3	0,120	0,173	0,238	0,104	0,137	0,179	0,132	0,107
	0,117	0,185	0,241	0,104	0,136	0,173	0,134	0,113
L4	0,118	0,185	0,241	0,110	0,139	0,158	0,132	0,109
	0,120	0,183	0,242	0,107	0,143	0,161	0,130	0,111
L5	0,126	0,191	0,247	0,115	0,135	0,155	0,135	0,117
	0,136	0,193	0,244	0,111	0,142	0,166	0,140	0,113
L6	0,126	0,188	-	-	0,153	0,156	0,135	-
	0,126	0,185	-	-	0,143	0,160	0,130	-
	-	-	-	-	0,151	0,173	-	-
	-	-	-	-	0,147	0,174	-	-
	-	-	-	-	-	0,179	-	-
	-	-	-	-	-	0,174	-	-

Continuación.

Tabla 39: Absorbancias determinación de azufre.

Absorbancias.									
	0,000	0,714	1,429	2,857	4,286	5,714	7,143	8,571	10,000
replica 1	0,052	0,029	0,061	0,134	0,212	0,283	0,357	0,425	0,492
replica 2	0,041	0,014	0,028	0,074	0,134	0,198	0,262	0,332	0,397
replica 3	0,044	0,030	0,064	0,143	0,216	0,294	0,360	0,423	0,499
replica 4	0,046	0,011	0,034	0,0g76	0,136	0,188	0,260	0,314	0,397
replica 5	0,045	0,011	0,032	0,075	0,134	0,185	0,261	0,319	0,396
replica 6	0,049	0,014	0,034	0,089	0,152	0,221	0,292	0,371	0,434
replica 7	0,049	0,013	0,033	0,085	0,153	0,211	0,290	0,364	0,433
replica 8	0,047	0,014	0,033	0,076	0,153	0,212	0,282	0,361	0,428
replica 9	0,044	0,016	0,033	0,081	0,151	0,213	0,285	0,359	0,425
replica 10	0,043	0,017	0,045	0,113	0,187	0,265	0,340	0,414	0,481

Datos absorbancias muestras

Tabla 40: Datos absorbancias matrices determinación de azufre.

	FORRAJE (MRCH)	ABONO (MRCIAO)	FORRAJE	FORRAJE	ABONO ANIMAL	ABONO VEGETAL	MATERIA PRIMA	CONCENTRADO
	V-01	V-02	V-03	V-04	V-05	V-06	V-07	V-08
L1	0,167	0,278	0,201	0,188	0,194	0,251	0,181	0,232
	0,170	0,280	0,203	0,176	0,199	0,253	0,178	0,231
L1	0,170	0,283	0,272	0,162	0,248	0,260	0,186	0,257
	0,173	0,289	0,281	0,173	0,240	0,258	0,173	0,260
L2	0,133	0,298	0,274	0,194	0,203	0,152	0,181	0,268
	0,127	0,255	0,246	0,189	0,220	0,114	0,147	0,223
L3	0,152	0,174	0,290	0,169	0,177	0,240	0,161	0,224
	0,160	0,180	0,283	0,178	0,169	0,241	0,169	0,216
L4	0,182	0,233	0,283	0,202	0,157	0,146	0,160	0,239
	0,163	0,222	0,290	0,205	0,165	0,154	0,169	0,246
L5	0,119	0,237	0,224	0,190	0,133	0,104	0,125	0,202
	0,126	0,221	0,235	0,185	0,150	0,139	0,114	0,198
L6	0,122	0,187	-	-	0,178	0,180	0,103	-
	0,121	0,186	-	-	0,181	0,173	0,098	-
	-	-	-	-	0,186	0,172	-	-
	-	-	-	-	0,178	0,187	-	-
	-	-	-	-	-	0,175	-	-
	-	-	-	-	-	0,186	-	-

Anexo 16: anexo fotográfico de equipos

Espectrofotómetro UV-Vis – Perkin Lambda 11®



Purificador de Agua Sartorius Arium® 611 Ultrapure Water Systems



Balanza analítica OHAUS® PioneerTM