



CONFIRMACIÓN DE LOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
NITRITOS EN AGUA POTABLE, CRUDA, RESIDUAL Y LIXIVIADOS, Y DE
NITRATOS EN AGUA POTABLE, EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO
Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO

LUIS FERNANDO SOLARTE TRUJILLO

Un Trabajo de Grado Presentado Para Obtener El Título De
Químico

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA
2018



CONFIRMACIÓN DE LOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
NITRITOS EN AGUA POTABLE, CRUDA, RESIDUAL Y LIXIVIADOS, Y DE
NITRATOS EN AGUA POTABLE, EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO
Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO

LUIS FERNANDO SOLARTE TRUJILLO

Trabajo de Grado Presentado Para Obtener El Título De
Químico

Directora:
RUTH JOHANA RODRÍGUEZ LÓPEZ
Química

Codirector:
ALFREDO CALDERÓN CÁRDENAS
Magister en Ciencias Químicas

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA
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 Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

Directora

RUTH JOHANA RODRÍGUEZ

Codirector

ALFREDO CALDERÓN CÁRDENAS

Jurado

FREDDY HERNÁN PANTOJA TIMARÁN

Jurado

NELSON HUMBERTO HURTADO GUTIÉRREZ

San Juan de Pasto, 17 de Octubre de 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios porque es a quien le debo todo en la vida, por ser el fundamento en el cual me siento pleno y lleno de felicidad, y porque es el motivo de estar hoy aquí.

A mis Padres por ser un gran ejemplo en mi vida de ese amor incondicional que solo puede provenir de parte de Dios, por ser esforzados y valientes, y sobre todo porque por medio de ellos pude tener el privilegio de conocer a Jesús, a ellos les quiero dar mis infinitas gracias.

A mi Directora Ruth Johana Rodríguez López y a mi Codirector Alfredo Calderón Cárdenas, por dirigir este proyecto y por ayudarme en mi formación como profesional en química.

Al laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño y a todo el personal del mismo por acogermme como parte de ellos y ayudarme a cumplir cada objetivo de mi proyecto

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

A toda mi familia 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 por los buenos momentos vividos en esta gran etapa de mi vida.

RESUMEN

En el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño se realizó la confirmación del Método Colorimétrico 4500-NO₂-B para la determinación de nitritos en agua potable, agua cruda, agua residual doméstica, agua residual industrial y lixiviados, y del parámetro nitratos por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO₃-B. Para la confirmación de estos métodos se evaluaron los siguientes parámetros: selectividad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango, recuperación, exactitud, precisión y estimación de incertidumbre.

Con base en los resultados encontrados se determinó que “el Método Colorimétrico 4500-NO₂-B es adecuado para la cuantificación de los nitratos en las matrices ambientales analizadas y es estadísticamente comparable con el método de referencia”(estándar métodos, 2012), los cuales exigen que se debe obtener una desviación estándar promedio igual o inferior a $\pm 0,045$, y con la confirmación del método se obtuvo una desviación estándar promedio para todas las matrices de $\pm 0,013$. Además el método de referencia exige que para aguas residuales el porcentaje de recuperación debe $100 \pm 3\%$. Mediante la confirmación del método se obtuvo una recuperación de 103%, por lo cual se concluyó que el método es válido bajo todos los parámetros de desempeño.

Así mismo, para la determinación de nitratos por el Método por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO₃-B, se obtuvo un resultado satisfactorio en cuanto a la exactitud global, con un 98,74%, de igual manera se obtuvo una precisión global satisfactoria de $\pm 0,119$, teniendo en cuenta que el rango de trabajo se definió hasta 50 mg NO₃⁻/L; También se obtuvo un porcentaje de recuperación global aceptable de 99,65%, concluyendo así que el método es válido bajo todos los parámetros evaluados.

ABSTRACT

The Laboratory of Chemical Analysis and Water of the University of Nariño is accredited before the IDEAM under Standard NTC-ISO/IEC 17025: 2005 General Requirements for the Competence of Test and Calibration Laboratories, and in order to maintain and increase the quality standards, the laboratory decides to expand the scope of the accreditation, including the parameters of Nitrites and Nitrates. Reason for which confirmation was made of the Colorimetric Method 4500-NO₂-B for the determination of nitrites in drinking water and the Method by Ultraviolet Spectrophotometry 4500-NO₃-B for the determination of nitrates in drinking water, raw water, domestic wastewater, industrial wastewater and leachate. For the confirmation of this method parameters such as: selectivity, linearity, limit of detection, limit of quantification, range, recovery, accuracy, precision and uncertainty were evaluated.

Based on the results found, it was determined that "the Colorimetric Method 4500-NO₂-B is suitable for the quantification of nitrates in the analyzed environmental matrices and is statistically comparable with the reference method" (standard methods, 2012), which they require that an average standard deviation equal to or less than ± 0.045 be obtained, and with the confirmation of the method an average standard deviation for all matrices of ± 0.013 was obtained. In addition, the reference method requires that for wastewater the recovery percentage must be $100 \pm 3\%$. By confirming the method, a recovery of 103% was obtained, so it was concluded that the method is valid under all performance parameters.

Likewise, for the determination of nitrates by the Method by Ultraviolet Spectrophotometry 4500-NO₃-B, a satisfactory result was obtained in terms of overall accuracy, with 98.74%, in the same way a satisfactory overall accuracy of $\pm 0,119$ was obtained, taking into account that the work range was defined up to 50 mg NO₃-/L; An acceptable global recovery percentage of 99.65% was also obtained, concluding that the method is valid under all parameters evaluated.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	6
GLOSARIO	15
ABREVIATURAS	16
INTRODUCCIÓN	18
1. OBJETIVOS	19
1.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. MARCO REFERENCIAL	20
2.1 MARCO TEÓRICO	20
2.1.1 Infraestructura de la Calidad	20
2.1.2 Validación y Confirmación de Métodos Analíticos	21
2.1.1 Nitratos y Nitritos presentes en el Agua	22
2.1.2 Determinación de Nitratos en el Agua	27
2.1.3 Determinación de Nitritos en el Agua	30
2.2 ANTECEDENTES	32
2.3 MARCO CONCEPTUAL	34
2.4 MARCO CONTEXTUAL	42
2.5 MARCO LEGAL	43
3. MATERIALES Y MÉTODOS	44
3.1 TOMA DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE NITRITOS Y NITRATOS	44
3.1.2 Recolección de Muestras para Análisis de Nitratos por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO ₃ -B.	45
3.2 MÉTODOS NORMALIZADOS	45
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1 MÉTODO COLORIMÉTRICO 4500-NO ₂ -B PARA ANÁLISIS DE NITRITOS (NO ₂ ⁻)	46
4.1.1 Curva de Calibración	46
4.1.2 Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método	47
4.1.3 Linealidad y Sensibilidad	47
4.1.4 Exactitud en términos de porcentaje de Error	47
4.1.5 Precisión en términos de reproducibilidad y repetibilidad	48
4.1.6 Interferencia por color	52
4.1.7 Recuperación	52
4.1.8 Estimación de la Incertidumbre de Medición de Nitritos	53
4.2 CURVA DE CALIBRACIÓN	58
4.2.1 Límite de detección y límite de cuantificación del método	58
4.2.2 Linealidad y Sensibilidad	59
4.2.3 Exactitud en términos de porcentaje de Error	59
4.2.4 Precisión en términos de reproducibilidad	60
4.2.5 Interferencia por Cloro	63
4.2.6. Recuperación	64

4.2.7 Estimación de la Incertidumbre de Medición de Nitratos	65
4.2.8 Expresión de Resultados	67
CONCLUSIONES	69
RECOMENDACIONES	70
BIBLIOGRAFÍA	71

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Componentes de una Infraestructura de Calidad (IC)	21
Figura 2. Ciclo del Nitrógeno.	23
Figura 3. Acidificación con HCl 1N para prevenir las interferencias de concentraciones de hidróxido o carbonato.	28
Figura 4. Formación del Azocompuesto de color Purpura-Rosado.	31
Figura 5. Diagrama Causa-Efecto para Nitritos	54
Figura 6. Diagrama Causa-Efecto para Nitratos	65

LISTA DE CUADROS

pág.

Cuadro 1. Mapa de muestreo para el análisis de nitritos

44

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Criterios de aceptación para el método de adición del patrón.	39
Tabla 2. Límite de detección y límite de cuantificación del método	47
Tabla 3. Sensibilidad del Método para determinación de Nitritos	47
Tabla 4. Determinación de la exactitud a partir del rango de concentración de nitritos	48
Tabla 5. Análisis de Reproducibilidad	48
Tabla 6. Precisión para Nitritos en términos de reproducibilidad	48
Tabla 7. ANOVA para el método colorimétrico 4500-NO ₂ -B.	49
Tabla 8. Interferencia por Color	52
Tabla 9. Resultados de Recuperación para el método colorimétrico 4500-NO ₂ -B	53
Tabla 10. Tabla resumen de Incertidumbre para el análisis de Nitritos	55
Tabla 11. Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método	59
Tabla 12. Sensibilidad del Método para determinación de Nitratos	59
Tabla 13. Determinación de la exactitud a partir del rango de concentración de nitratos	60
Tabla 14. Precisión para Nitratos en términos de reproducibilidad	60
Tabla 15. ANOVA para el método colorimétrico 4500-NO ₃ -B.	61
Tabla 16. ANOVA para la interferencia por cloro	63
Tabla 17. Resultados de Recuperación para el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO ₃ -B	64
Tabla 18. Tabla resumen de Incertidumbre para el análisis de Nitratos	66
Tabla 19. Incertidumbre estándar de los átomos Na, N y O	80
Tabla 20. Incertidumbre de puntos de concentración de la curva de calibración de nitritos	90
Tabla 21. Incertidumbre estándar de los átomos K, N y O	98
Tabla 22. Incertidumbre de puntos de concentración de la curva de calibración de nitratos	108

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Gráfico de control típico.	42
Gráfica 2. Curva de Calibración de Nitritos	46
Gráfica 3. Porcentaje de Contribución de Incertidumbre para Nitritos	57
Gráfica 4. Curva de calibración nitratos	58
Gráfica 5. Porcentaje de Contribución de Incertidumbre para Nitritos	68

LISTA DE ANEXOS

- Anexo A.** Determinación de Nitritos en Matrices Ambientales
- Anexo B.** Determinación de Nitratos en Agua Potable
- Anexo C.** Estimación de La incertidumbre de medición de Nitritos
- Anexo D.** Estimación de La incertidumbre de medición de Nitratos
- Anexo E.** Registro Fotográfico de Equipos
- Anexo F.** Plan de Muestreo para Nitratos y Nitritos
- Anexo G.** Experiencia en la Práctica Empresarial
- Anexo H.** Certificados de Análisis de Reactivos
- Anexo I.** Datos de Blancos en Determinación de Nitritos
- Anexo J.** Datos Adicionales en la Determinación de Nitratos y Nitritos
- Anexo K.** Datos Adicionales de Interferencias en la Determinación de Nitratos y Nitritos
- Anexo L.** Datos de Absorbancia para Curvas de Calibración
- Anexo M.** Protocolo de Limpieza del Material de Vidrio

GLOSARIO

Blanco: Muestra preparada para la lectura final, pero que no contiene analitos.

Blanco de transporte: consiste en enviar, junto a los recipientes de muestreo, un frasco de plástico con agua y dejar un testigo control en el laboratorio para comparar el grado de contaminación, tanto en el transporte de las muestras como en el muestreo.

Curva de calibración: Expresión de la relación entre una indicación y el valor medido correspondiente.

Espectrofotometría: es un método científico utilizado para medir cuánta luz absorbe una sustancia química, midiendo la intensidad de la luz cuando un haz luminoso pasa a través de la solución muestra.

Exactitud: La exactitud de un método analítico es la capacidad para obtener resultados próximos al verdadero. Es el grado de concordancia entre el resultado de ensayo y el valor de referencia.

Incertidumbre: la incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

Límite de Cuantificación: Corresponde a la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables con las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración.

Límite de Detección: Es la mínima concentración de analito que puede ser detectada por el equipo sin que se confunda con la señal del blanco o ruido de fondo del equipo.

Muestreo puntual: es aquella muestra recolectada en un lugar y tiempo específico y que refleja las circunstancias particulares del cuerpo de agua para el momento y sitio de su recolección.

Precisión: La precisión es una medida del grado de repetibilidad del método analítico, realizado en condiciones normales y refleja el error aleatorio del método.

Sensibilidad: Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración.

ABREVIATURAS

AC	Agua Cruda
AD	Añadido
ANOVA	Análisis de Varianza
AP	Agua Potable
APHA	American Public Health Association
AR	Agua Residual
ARD	Agua Residual Domestica
ARI	Agua Residual Industrial
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades
CV	Coefficiente de Variación
EMAS	Empresa Metropolitana de Aseo
EPA	Agencia de Protección Ambiental (en español)
GEMS	Global Environmental Monitoring System
IC	Infraestructura de la Calidad
ICONTEC	Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación
IDEAM	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
IEC	International Electrotechnical Commission (En español: Comisión Electrotécnica Internacional)
ISO	International Organization for Standarización (En español: Organización Internacional de Normalización)
LAQ	Laboratorio de Análisis Químico y Aguas
LC	Límite de confianza
LIX	Lixiviado
LOD	Límite de detección

LOQ	Límite de cuantificación
MO	Materia Orgánica
NO ₂ ⁻	Ión Nitrito
NO ₃ ⁻	Ión Nitrato
NTC	Norma Técnica Colombiana
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONAC	Organismo Nacional de Acreditación de Colombia.
P.IDEAM	Patrón del IDEAM
SGC	Sistema de Gestión de Calidad
UV	Ultravioleta

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño, como prestador de servicios de análisis químico, debe asegurar la calidad de sus resultados a través de metodologías normalizadas que se adecuen a las condiciones propias de laboratorio, garantizando entre otras cosas, la aplicación confiable de los protocolos internos, la calificación del personal e instrumentos utilizados, el tipo de muestras y las condiciones ambientales. El Laboratorio, de acuerdo con las necesidades de los usuarios internos y externos, y con ellas los requerimientos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, ha incorporado un Sistema de Gestión de Calidad basado en los lineamientos de las normas NTC GP 1000:2009, ISO 9001:2015 y NTC-ISO/IEC 17025:2005.

Como laboratorio acreditado ante el IDEAM bajo Norma NTC-ISO/IEC 17025:2005, uno de los objetivos principales es ampliar el alcance de acreditación, en los parámetros analíticos Nitritos y Nitratos, en la matriz agua: potable, cruda, residual, lixiviados y potable, respectivamente, lo cual le permite tener una mayor competitividad y reconocimiento a nivel Regional y Nacional.

La determinación de nitritos y nitratos en agua es de vital importancia porque son perjudiciales para la salud humana, causando hemoglobinemia y gastroenteritis en bebés, caída de la presión sanguínea y en algunos casos puede producir algunos tipos de cáncer gastrointestinal. Por esta razón, la normatividad legal en Colombia Resoluciones 631 de 2015 y 2115 de 2007, regulan los valores máximos permisibles tanto para agua cruda, residual y potable, respectivamente.

En el presente trabajo se realizó la confirmación de las metodologías normalizadas para la determinación de Nitratos por el Método Espectrofotométrico Emisión Ultravioleta 4500-NO₃-B en agua potable y Nitritos por el Método Colorimétrico 4500-NO₂-B en agua potable, cruda, residual y lixiviados, obteniendo como resultado que los métodos son exactos y precisos y cumplen con los criterios de aceptación requeridos, según los procedimientos internos del laboratorio, Estándar Métodos y Eurachem.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Confirmar los métodos normalizados de ensayo 4500-NO₂-B y 4500-NO₃-B, para la determinación de nitritos en agua potable, cruda, residual y lixiviada, y para la determinación de nitratos en agua potable, respectivamente, en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar preliminarmente las condiciones experimentales y planificar el protocolo de confirmación de los métodos normalizados de ensayo 4500-NO₂-B para el análisis de nitritos en agua potable, cruda, residual y lixiviados, y 4500-NO₃-B para el análisis de nitratos en agua potable, en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño.
- Verificar el cumplimiento de los parámetros de confirmación de conformidad con la tolerancia de los métodos de análisis químico de nitritos y nitratos en las matrices acuosas.
- Estimar la incertidumbre en los métodos de análisis para la determinación de nitritos y de nitratos según los métodos confirmados.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 Infraestructura de la Calidad. La Infraestructura de Calidad (IC) es una combinación de iniciativas, instituciones, organizaciones, actividades y personas. Incluye una política nacional de calidad y de las instituciones para ponerla en práctica, un marco regulatorio, los proveedores de servicios de calidad, empresas, clientes y consumidores. “La infraestructura de la calidad es necesaria para la operación efectiva de mercados domésticos; su reconocimiento internacional es importante para permitir el acceso a mercados internacionales. Es un elemento crítico para promover y mantener el desarrollo económico, así como el bienestar social y medioambiental”¹.

En Colombia, “la infraestructura de la calidad es el Subsistema Nacional de Calidad (SNCA), que es un conjunto organizado de instituciones públicas y privadas de normas, procedimientos, e instrumentos legales y técnicos, con los que el Estado y el mercado buscan incrementar la competitividad, facilitar el comercio, ofrecer al consumidor garantías e información, proteger la vida, la salud y el medio ambiente, y promover el mayor desarrollo de la ciencia y la tecnología”².

Todos los elementos que conforman la infraestructura de la calidad interactúan entre sí y sus fronteras se pueden volver imperceptibles. Es claro que todos los componentes de la IC están íntimamente relacionados y una norma, que involucre dimensiones y tolerancias, no puede definirse sin referencia a mediciones confiables; las mediciones a su vez deben estar internacionalmente normalizadas para evitar costosas equivalencias y un producto debe someterse a ensayos para determinar la conformidad con los requisitos definidos en normas y reglamentos técnicos. “La compatibilidad internacional requiere que los procedimientos de ensayo sean normalizados, y también descansan en mediciones confiables”³

La acreditación, basada en normas internacionales, es el procedimiento por el cual “todo el proceso se vuelve confiable y fidedigno, llevando al comercio y la competitividad internacional”⁴. La Figura 1 presenta el esquema de los cinco elementos claves que conforman una infraestructura de calidad:

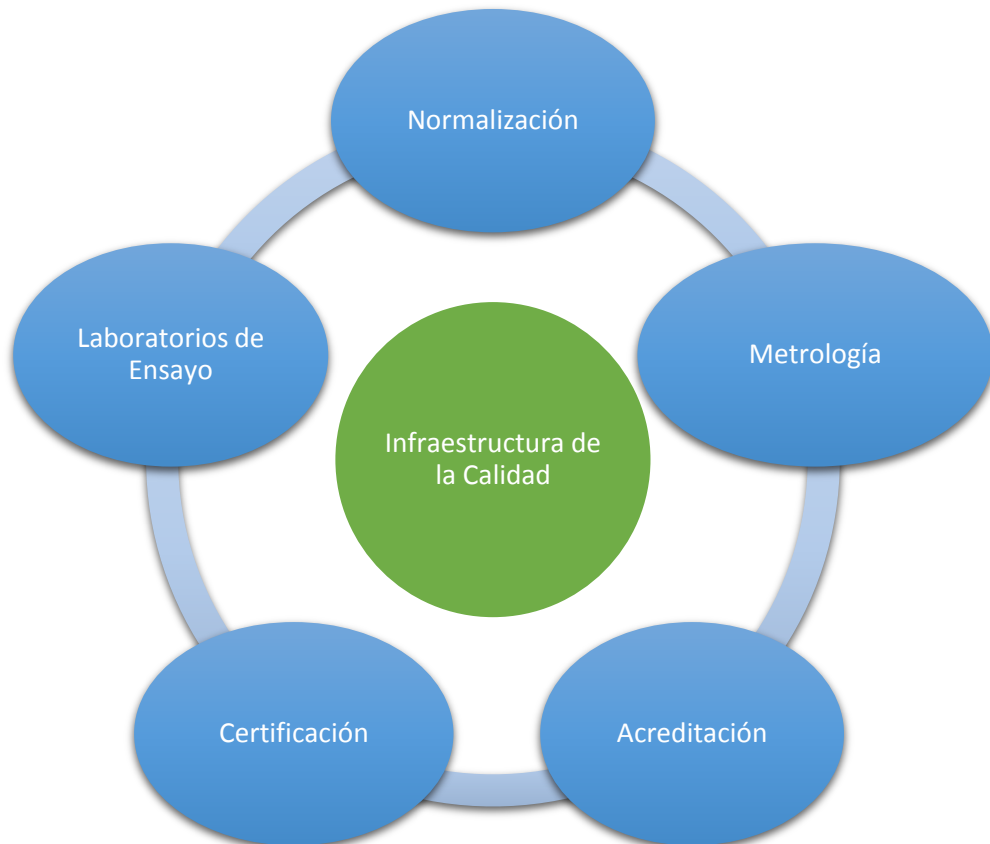
¹VALENCIA, J. Estudio del impacto de la evaluación de la Conformidad en Colombia. Proyecto de investigación. Medellín: Universidad EAFIT Escuela de Administración, 2012. p. 127

²GALLEGO, J. M. y GUTIÉRREZ, L. H. El Sistema Nacional de Calidad en Colombia: Un análisis cualitativo del desarrollo del sistema. Inter-American Development Bank, 2016. p.11

³Valencia, J. Op. Cit., p. 127

⁴ GALLEGO, J.M. Y GUTIERREZ,L.H. Op. Cit., p. 12

Figura 1. Componentes de una Infraestructura de Calidad (IC)



Fuente: Valencia, J. Estudio del impacto de la evaluación de la Conformidad en Colombia. Proyecto de investigación. Medellín: Universidad EAFIT Escuela de Administración, 2012.

Para un buen desarrollo de la Infraestructura de la Calidad es necesario incluir procesos de validación y confirmación de métodos analíticos, con el fin de otorgar resultados válidos y con un alto grado de confiabilidad.

2.1.2 Validación y Confirmación de Métodos Analíticos. La confirmación y validación son dos importantes términos empleados en muchos contextos, incluido los laboratorios de ensayo y calibración. Ambos tienen que ver con comprobar la calidad y condición de un producto, sin embargo, no significan lo mismo.

La realización de las actividades de validación y confirmación de los procedimientos de análisis utilizados por el laboratorio, contemplan la satisfacción de las necesidades metrologías para otorgar al usuario unos resultados válidos y con un alto nivel de confianza. “Un laboratorio acreditado o en proceso de acreditación debe demostrar que tiene competencia técnica para realizar las actividades de validación y confirmación de los procedimientos de análisis

cuantitativos establecidos en su alcance de acreditación. La validación comprueba la aptitud de los procedimientos de análisis y refleja las condiciones reales de la aplicación de los mismos”⁵.

Cuando se requiere confirmar un método es porque este método ya se encuentra validado, y los datos de esta validación los informa el fabricante en los instructivos de uso del método. No obstante, “el laboratorio debe verificar o confirmar que puede aplicar correctamente los métodos ya validados por el fabricante, previo a su uso en los análisis, bajo sus condiciones propias de operación (equipo, reactivos, material, analistas, etc.) generando evidencias objetivas, para confirmar su aplicación correcta, con el propósito de asegurar la confiabilidad de la validación de los procedimientos de análisis”⁶.

El Standard Methods (2012), es un manual de procedimientos analíticos validados, que sirven para la determinación de múltiples matrices en agua, entre las cuales se encuentran los nitratos y los nitritos. Estos métodos están destinados, para que después de haber llevado a cabo la confirmación de los mismos, se les dé un uso en la evaluación, control de calidad, tratamiento y suministro de agua potable; así como también para la medición de la operación y la eficiencia de los procesos en el tratamiento de aguas residuales, asegurando la calidad de los resultados y otorgando una alta confiabilidad a los usuarios.

2.1.1 Nitratos y Nitritos presentes en el Agua

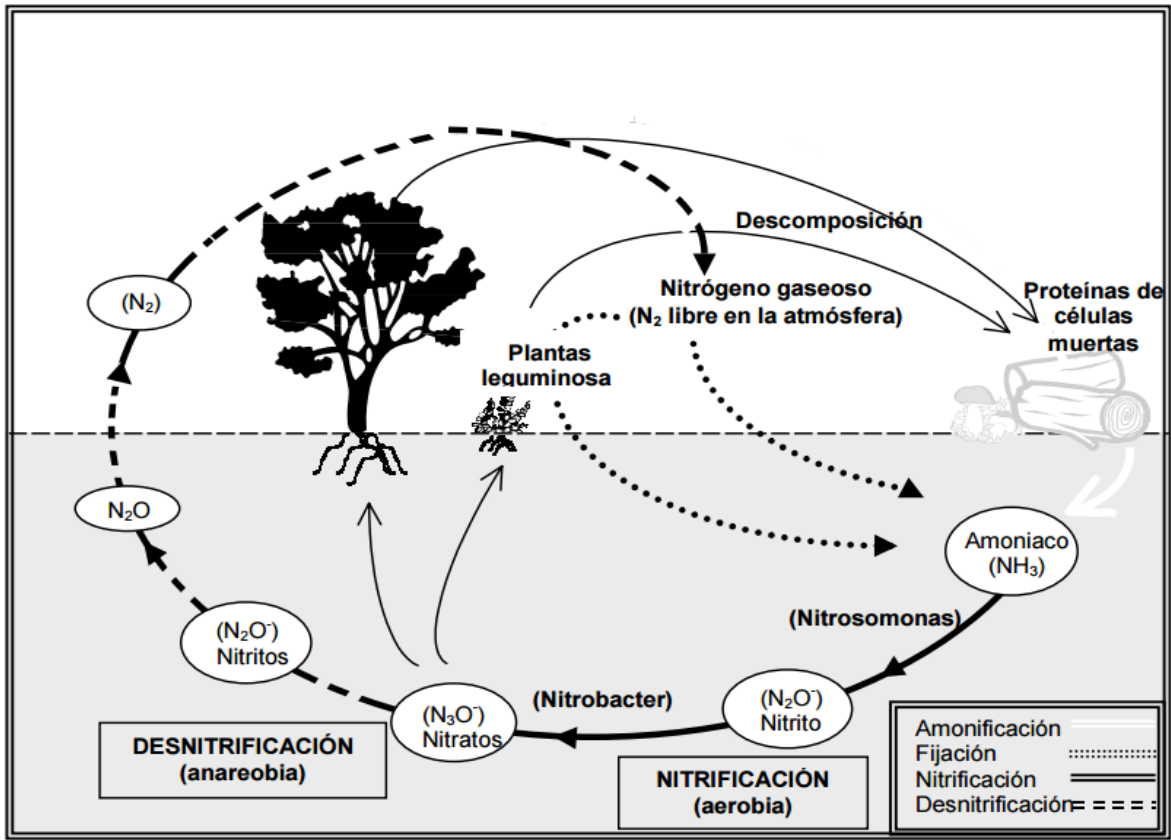
2.1.1.1 Ciclo del Nitrógeno y Características Físicoquímicas. Los iones nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) son aniones inorgánicos de origen natural que forman parte del ciclo del nitrógeno. En este ciclo, “los desechos que contienen nitrógeno orgánico se descomponen en el suelo o el agua, por acción de los microorganismos, para formar amoníaco en primera instancia. Posteriormente, éste se oxida para formar iones nitrito y éstos, a su vez, para dar nitratos”⁷. Este ciclo se esquematiza en la Figura 2.

⁵SEVERICHE, C. A., y GONZÁLEZ, H. Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. Revista: Ingenierías USBMed, vol. 3 No. 2. p. 6-11.

⁶PÉREZ URQUIZA, M. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. México D.F, 2008. p. 65.

⁷BOLAÑOS ALFARO, J. D.; CORDERO CASTRO, G. y SEGURA ARAYA, G. Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). Revista Tecnología en Marcha, vol. 30, No. 4, 2017. p. 15-27.

Figura 2. Ciclo del Nitrógeno.



Fuente: Albert, L. A. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México. 1997. 280p.

“Los organismos superiores, incluyendo al hombre, no pueden aprovechar directamente el nitrógeno del aire, que es esencial para la vida, y requieren de la intervención de los microorganismos fijadores de nitrógeno, que lo pueden captar de la atmosfera y combinarlo enzimáticamente, para formar compuestos orgánicos”⁸.

En general, los nitratos (sales del ácido nítrico, HNO_3) son muy solubles en agua debido a la polaridad del ión; la estructura de éste es plana y de alta estabilidad, con el nitrógeno en el centro y los oxígenos en las esquinas de un triángulo equilátero y, en ella, cada uno de los enlaces N-O es un híbrido de un enlace sencillo y uno doble. Esta es la forma del nitrógeno más estable termodinámicamente en presencia de oxígeno, por lo que en los sistemas

⁸ ALBERT, L. A. (1997). Introducción a la toxicológica ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México. p. 280.

acuáticos y terrestres, los materiales nitrogenados tienden a transformarse en nitratos⁹.

Los nitratos (NO_3^-) “son sales muy solubles, derivadas del nitrógeno, que se pueden encontrar en alimentos y aguas de bebida. Derivan principalmente del empleo de fertilizantes nitrogenados, excretas de animales, descargas de desechos sanitarios e industriales, y del uso como aditivos alimentarios. (conservas de pescado y carnes)”¹⁰.

Los nitratos no son en sí mismos tóxicos. Se sabe que se absorben rápidamente a nivel intestinal y se eliminan por orina. EL peligro potencial de los nitratos radica en la eventual transformación en nitritos (NO_2^-) dentro del organismo. Esta transformación, que implica una reducción enzimática, puede ocurrir en la cavidad bucal y bajo ciertas condiciones, en el tubo digestivo”¹¹.

El ión nitrito es menos estable que el ión nitrato, es muy reactivo y puede actuar como agente oxidante y reductor, por lo que sólo se encuentra en cantidades apreciables en condiciones de baja oxigenación. Esta es la causa de que los nitritos se transformen rápidamente para dar nitratos, y de que, en general, estos últimos predominen en las aguas, tanto superficiales como subterráneas, así como en el ambiente. “Esta reacción de oxidación se puede efectuar en los sistemas biológicos y por factores abióticos”¹².

“El uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, así como la contaminación causada por la acumulación de excretas humanas y animales pueden contribuir a elevar la concentración de nitratos en agua. Generalmente, los nitratos son solubles y no se adsorben a los componentes del suelo, por lo que son movilizados con facilidad por las aguas superficiales y subterráneas”¹³.

2.1.1.2 Fuentes Ambientales. Como ya se señaló, la presencia natural de nitratos y nitritos en el ambiente se debe al ciclo del nitrógeno, por lo que cualquier alteración antropogénica de este ciclo modificará las concentraciones normales de

⁹DE MIGUEL-FERNÁNDEZ, C., & VÁZQUEZ-TASET, Y. M. (2006). Origen de los nitratos (NO_3) y nitritos (NO_2) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas. *Revista Minería y Geología*, vol. 22, No. 3, 2006. p. 9.

¹⁰CASILLA QUISPE, S. Evaluación de la calidad de agua en los diferentes puntos de descarga de la cuenca del Rio Suchez. (Tesis), Universidad Nacional del Altiplano. Puno: Perú, 2014. p.24.

¹¹PEREDA, J. A. O.; NAVARRO, A. A.; ARZO, M. A.; ESCARPENTER, F. C.; IGLESIAS, M. J.; OLIVER, A. P. y TAPIA, M. T. M. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre una cuestión planteada por la Dirección Ejecutiva de la AESAN, en relación con el riesgo de la posible presencia de N-nitrosaminas en productos cárnicos crudos adobados cuando se someten a tratamientos culinarios de asado o fritura. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, vol. 8, 2008. p.9-40.

¹²AGUA, I. N. E. N. Calidad del Agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras, Quito, 1998.

¹³ALBERT, L. A. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México, 1997. p. 280.

nitratos y nitritos en el ambiente. “Entre estas alteraciones son especialmente importantes la fijación industrial de nitrógeno y la emisión de grandes cantidades de óxidos de nitrógeno en las zonas urbanas, los cuales se transformarán eventualmente en nitratos”¹⁴.

Las fuentes ambientales más importantes de nitratos y nitritos son antropogénicas e incluyen:

- El uso de fertilizantes nitrogenados
- La disposición de excretas
- La disposición de desechos municipales e industriales
- El uso de aditivos alimentarios¹⁵.

2.1.1.3 Toxicocinética. La toxicidad de nitratos y nitritos se conoce desde fines del siglo pasado. Ya en 1895, Mayo describió algunas intoxicaciones en ganado y las atribuyó a la ingestión de nitratos. “En 1945, Conway asoció por primera vez la methemoglobinemia fatal en un infante con la ingestión de agua de pozo contaminada con nitratos. Desde entonces hasta 1979, se habían reportado cerca de dos mil casos similares en todo el mundo, aproximadamente el 10 % de los cuales causaron la muerte de los afectados. En Estados Unidos, el caso más reciente de muerte por esta causa ocurrió en 1987”¹⁶.

Es importante destacar que, aunque el agente responsable de esta enfermedad son los nitritos, debido a que éstos se forman naturalmente a partir de los nitratos, un factor determinante en la incidencia de esta enfermedad es la concentración de nitratos en el agua y los alimentos. “Para dar una idea de la gravedad y magnitud potencial de este problema, basta mencionar que los datos obtenidos a través del Global Environmental Monitoring System (GEMS)”¹⁷ indican que el 10 % de los ríos que se estudiaron en todo el mundo tenían concentraciones de nitratos en exceso del límite permisible que recomienda la OMS. “Los estudios de GEMS también encontraron que, en Europa, el 5% de los ríos tenían concentraciones de nitratos hasta 45 veces mayores que la concentración natural”¹⁸.

“El nitrato también se puede convertir en nitrito en la saliva, como resultado de la reducción bacteriana; esta transformación depende de la microflora oral y de las

¹⁴PACHECO, J., y CABRERA SANSORES, A. Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. 2003. p.18-20.

¹⁵ALBERT, L. A. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México, 1997. p. 282.

¹⁶Ibid, p. 284.

¹⁷MUNN, R. E. Global environmental monitoring system (GEMS). Scope reports, 2013. p. 34-35.

¹⁸ANTÓN, A., y LIZASO, J. Nitritos, nitratos y nitrosaminas. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria, 2001. p. 34-35.

características de la dieta. La exposición oral a altas concentraciones de nitratos causa aumentos importantes en la concentración de nitritos en la saliva”¹⁹.

En cuanto a los nitritos, se absorben por difusión a través de la mucosa gástrica y la pared intestinal. Después de la absorción, tanto nitratos como nitritos se distribuyen con rapidez a todos los tejidos. En las ratas se ha demostrado que los nitritos atraviesan la barrera placentaria²⁰. No se ha demostrado que los nitritos se bioacumulen.

Una vez en la sangre, “el nitrito reacciona con el ion ferroso (Fe^{2+}) de la desoxihemoglobina, formando metemoglobina en la cual el hierro se encuentra en estado férrico (Fe^{3+}), por lo que es incapaz de transportar el oxígeno”²¹.

En el hígado, los nitratos se convierten rápidamente en metabolitos desnitrogenados y nitritos inorgánicos, los cuales son excretados con la orina. Así, entre el 60 y el 70 % de la dosis de nitratos ingerida se excreta con la orina durante las primeras 24 horas. Cerca del 25 % se excreta en la saliva, a través de un sistema activo de transporte sanguíneo del nitrato y puede reabsorberse. Las vidas medias de los compuestos que contienen nitratos son, usualmente, de menos de una hora y las de los metabolitos fluctúan entre 1 y 8 horas²².

2.1.1.4 Población en Riesgo.

Los riesgos de la exposición a nitratos y nitritos para la salud no dependen únicamente de la exposición, sino que en ellos influyen la existencia de condiciones favorables para la reducción de nitratos a nitritos y algunos factores inherentes al individuo. Esto impide que se pueda formular una relación dosis-respuesta con respecto a la presencia de nitratos en el agua o en los alimentos (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR)).

El riesgo es, sobre todo, para las poblaciones rurales, por ejemplo, se ha calculado que, entre 1 y 2 % de la población de Estados Unidos cuya agua de bebida procede de los sistemas públicos de aprovisionamiento, puede estar ingiriendo nitratos en cantidades que exceden la concentración máxima recomendada por la EPA. “También se ha calculado que los residentes de más de

¹⁹ALBERT, L. A. Introducción a la toxicología ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México, 1997. p. 286.

²⁰MARTÍNEZ FREGOZO, F. Efecto de inhibición mutagénica del nitrito de sodio por acción quimiopreventiva de la capsaicina en ratón. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México, 2013. p. 67.

²¹ALBERT, L.A. Op. Cit., p. 288

²²ANTÓN, A. y LIZASO, J. Nitritos, nitratos y nitrosaminas. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria, 2001. p. 34-35.

600 mil hogares en ese país consumen agua de pozos domésticos contaminados con nitratos²³.

Aunque los responsables de los sistemas públicos de aprovisionamiento de agua deberían vigilar las concentraciones de nitratos periódicamente, por lo común esto no ocurre en los pozos rurales, por lo que las poblaciones rurales son las que están en mayor riesgo.

2.1.2 Determinación de Nitratos en el Agua. El nitrato es un compuesto inorgánico compuesto por un átomo de nitrógeno (N) y tres átomos de oxígeno (O); el símbolo químico del nitrato es NO_3^- . El nitrato no es normalmente peligroso para la salud a menos que sea reducido a nitrito (NO_2^-)

El nitrato es uno de los más frecuentes contaminantes de aguas en áreas rurales. Debe ser controlado en el agua potable principalmente porque niveles excesivos pueden provocar metahemoglobinemia, o “la enfermedad de los bebés azules”. Aunque los niveles de nitratos que afectan a los bebés no son peligrosos para niños mayores y adultos, sí indican la posible presencia de otros contaminantes más peligrosos procedentes de las residencias o de la agricultura, tales como bacterias o pesticidas²⁴, por lo cual es importante determinar la presencia de este ion en el agua.

Uno de los métodos más efectivos para la determinación de Nitratos en agua es por medio de Espectrofotometría Ultravioleta, Donde la medida de la absorción se realiza a 220 nm, que permite una rápida determinación de NO_3^- . Como la materia orgánica (MO) también puede absorber a 220 nm y el ion nitrato (NO_3^-) no absorbe a 275 nm, una segunda medición hecha a 275 nm puede ser usada para corregir el valor de NO_3^- . La extensión de esta corrección empírica está relacionada con la naturaleza y la concentración de la materia orgánica y puede variar de un agua a otra. Consecuentemente, este método no es recomendable si se requiere una corrección significativa en la absorbancia por MO, pero puede ser útil en el monitoreo de NO_3^- en cuerpos de agua con un tipo de materia orgánica constante²⁵.

Los factores de corrección para MO pueden ser establecidos por el método de adición en combinación con el análisis del contenido de NO_3^- original por otro método. La filtración de la muestra se requiere para evitar interferencias con partículas suspendidas. La acidificación con HCl 1N es diseñada para prevenir

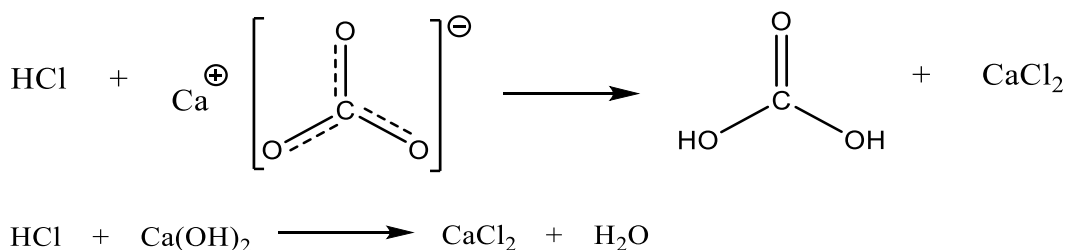
²³ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD –OMS, P. A. S. Guías para la calidad del agua potable. Estados Unidos: Organization of American States, General Secretariat, 2006. p. 56

²⁴ MARTÍNEZ FREGOZO, F. Efecto de inhibición mutagénica del nitrito de sodio por acción quimiopreventiva de la capsaicina en ratón. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México, 2013. p. 67.

²⁵ RICE, E. and BRIDGEWATER, L. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012. p. 485-488

las interferencias de concentraciones de hidróxido o carbonato superiores a los 1000 mg CaCO₃ /L como se muestra en el esquema 1, los cloruros no tiene efecto sobre la determinación. Adicional a la materia orgánica disuelta, los surfactantes, NO₂⁻, y Cr₆ y varios iones inorgánicos que normalmente no se encuentran en el agua natural como los cloritos y cloratos pueden causar interferencias²⁶.

Figura 3. Acidificación con HCl 1N para prevenir las interferencias de concentraciones de hidróxido o carbonato.



Fuente: GARAY, J.; PANIZZO, L.; LESMES, L.; RAMÍREZ, G. y SÁNCHEZ, J. Manual de técnicas analíticas de parámetros físico-químicos y contaminantes marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, 1993. p. 50.

Al adicionar HCl 1N a la solución de lectura se lleva a cabo la eliminación de interferencias tanto de carbonatos como de hidróxidos, dando como productos de reacción sales de cloruros las cuales no interfieren en la lectura espectrofotométrica de los nitratos.

A continuación se describe el método espectrofotométrico usado para la determinación del ion nitratos en agua potable.

2.1.2.1 Método por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO₃⁻B. Este método se utiliza sólo para analizar muestras que tienen bajos contenidos de materia orgánica, es decir, aguas naturales no contaminadas y suministro de agua potable.

Además de la materia orgánica, “para este método existen otras interferencias que hay que tener en cuenta, como por ejemplo surfactantes, NO₂⁻ y Cr⁶⁺ pueden interferir también en la determinación. También existen varios iones inorgánicos que no se encuentran normalmente en el agua natural, como el clorito y el clorato, los cuales pueden interferir en la medición”²⁷.

²⁶ GARAY, J.; PANIZZO, L.; LESMES, L.; RAMÍREZ, G. y SÁNCHEZ, J. Manual de técnicas analíticas de parámetros físico-químicos y contaminantes marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, 1993. p. 50.

²⁷ RICE, E. and BRIDGEWATER, L. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012. pp. 485-488

El cloro residual es una interferencia adicional y que se debe considerar en el análisis de nitratos en agua potable, ya que al sobrepasar el límite de concentración permitido que es de 2 mg/L, el cloro es susceptible a ser afectado por la radiación solar formando compuestos como el ácido hipocloroso y el ion hipoclorito que son muy susceptibles a reaccionar con los iones nitratos, nitritos, amoníaco y nitrógeno orgánico presentes en el agua formando compuestos como las cloraminas que afectan directamente en este caso la concentración real de nitratos presentes en la muestra. Además “El cloro funciona como un agente oxidante que puede convertir las aminas y el amonio presente en el agua en iones nitratos y nitritos, dando como resultado que los análisis de estos analitos en agua potable sean equívocos. Por estas razones es sumamente necesario llevar a cabo un proceso mediante el cual se pueda eliminar esta interferencia”²⁸.

“Uno de los métodos más usados para eliminar cloro residual totalmente es con una solución de arsenito de sodio (NaAsO_2), para lo cual hay que disolver 5,0 g de NaAsO_2 en agua y diluir a 1 L. Si la muestra contiene cloro residual, hay que agregar una gota por cada 0,1 mg de cloro y mezclar bien”²⁹.

El cloro en el agua es un agente químico muy activo. Si una pequeña cantidad se agrega al agua, reaccionará con las sustancias disueltas o suspendidas en ella. Por ejemplo, el cloro reacciona rápidamente con el ácido sulfhídrico, también con el manganeso, el fierro y los nitritos. Si se agrega la cantidad suficiente de cloro para que reaccione con estos compuestos, llamados compuestos reductores, entonces, un poco más de cloro que se agregue, reaccionará con cualquier sustancia orgánica presente, para producir compuestos orgánicos de cloro, los cuales tienen poca o ninguna acción desinfectante y pueden causar sabores y olores³⁰.

La cantidad de sustancias reductoras, materia orgánica y amoníaco, varía para cada agua y cambia también con el tiempo, en el mismo abastecimiento de agua. Constantemente, también varía la cantidad de cloro que debe agregarse para su desinfección. “La cantidad de cloro que consumen las sustancias reductoras y la materia orgánica se conoce como demanda de cloro”³¹.

La cantidad de cloro que permanece después del periodo de reacción se define como cloro residual y se expresa en miligramos por litro (mg/L) o en partes por millón (ppm). El cloro residual puede existir como compuestos clorados de materia

²⁸CAMARGO, J. A. y ALONSO, A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. Revista Ecosistemas, vol. 16, No. 2, 2007. p. 83.

²⁹QUINTERO A. Eliminación de Interferencias en la Cuantificación de Nitritos en Agua Potable y Residual; Tesis de grado. México: Universidad Tecnológica del Valle del Mezquital, Ingeniería Profesional en Seguridad e Inocuidad Alimentaria, 2014. p.12

³⁰TAPIA, M. Manual de Saneamiento del agua: Cloración y microbiología del agua. Facultad de Medicina Dr. Ignacio Chávez. Morelia, 2001. p. 6

³¹CAMARGO, J. A. y ALONSO, A. Op. Cit., p. 83.

orgánica y amoníaco, en cuyo caso se conoce como “cloro residual combinado”; o puede estar al mismo tiempo combinado y como “cloro residual libre” y en este caso se conoce como “cloro residual total”. En consecuencia, “cloro suficiente” es la cantidad requerida para producir un residuo deseado, ya sea combinado, libre o total, después de un período de contacto definido”³².

Otra de las interferencias más grandes y una de las más obviadas es la turbidez del agua, la cual es provocada por la materia insoluble, en suspensión o dispersión coloidal. Es un fenómeno óptico que consiste en una absorción de luz combinada con un proceso de difusión.

“Las partículas insolubles de esta turbidez pueden ser aportadas tanto por procesos de arrastre como de remoción de tierras y también por vertidos urbanos e industriales”³³, las cuales afectan directamente la lectura de un analito por espectrofotometría UV-Vis, haciendo que la turbidez se convierta en una interferencia muy notoria siendo necesario llevar a cabo procesos de eliminación de esta interferencia tales como filtración con papel filtro de tamaño de poro ultra pequeño o en dados casos procesos químicos de eliminación de turbidez como por ejemplo por medio de un método de precipitación.

2.1.3 Determinación de Nitritos en el Agua. “La presencia de nitritos en el agua es indicativo de contaminación de carácter fecal reciente”³⁴.

“El nitrito puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materiales proteicos. También se puede producir el nitrito en las plantas de tratamiento o en los sistemas de distribución de agua, como resultado de la acción de bacterias sobre el nitrógeno amoniacal”³⁵.

El nitrito se halla en un estado de oxidación intermedio entre el amoníaco y el nitrato. Los nitritos en concentraciones elevadas reaccionan dentro el organismo con aminas y amidas secundarias y terciarias formando nitrosaminas de alto poder cancerígeno y tóxico. Valores entre 0.1 y 0.9 mg NO₂⁻/L pueden presentar problemas de toxicidad dependiendo del pH, asimismo valores por encima de 1.0 mg NO₂⁻/L son totalmente tóxicos y representan un impedimento para el desarrollo de la vida piscícola y el establecimiento de un ecosistema fluvial en buenas condiciones”³⁶.

³²PÉREZ PARRA, J. A. Manual de tratamiento de agua, 1981. p.167

³³DELGADO M. N., G.; BARRENETXEA, C. O.; SERRANO, A. P.; BLANCO, J. M. A. y Vidal F., J. R. Contaminación ambiental: una visión desde la química. Editorial Paraninfo, 2004. p. 66

³⁴METCALF y EDDY. Ingeniería de las aguas residuales. (vol. I), Madrid: McGraw-Hill, 1998. p. 22.

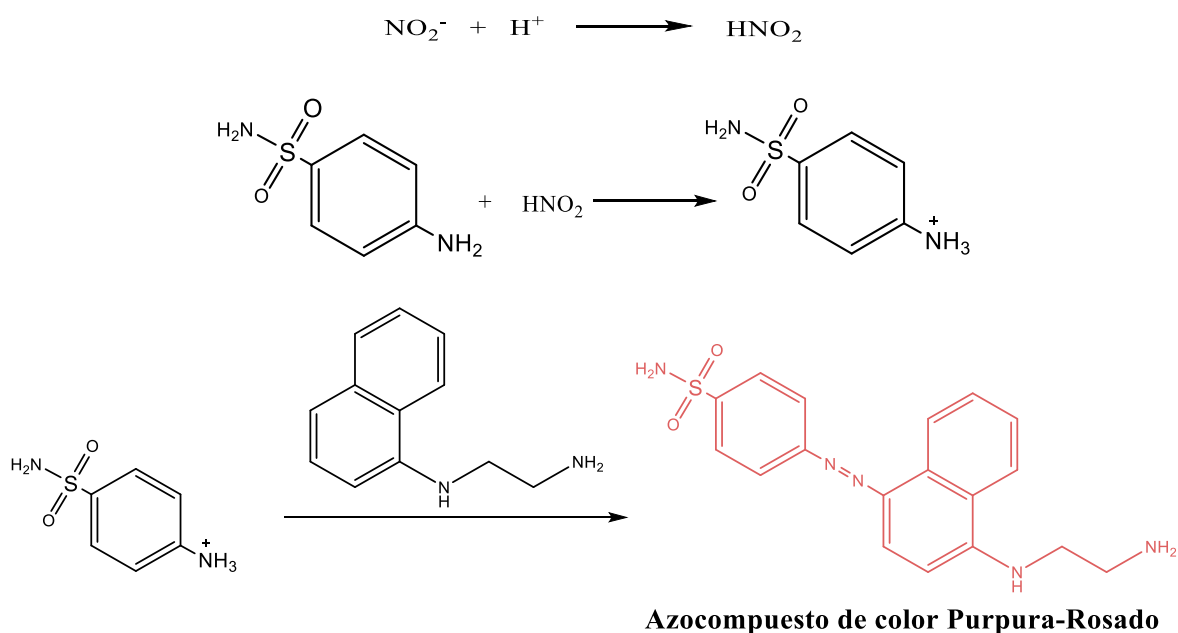
³⁵MARTÍNEZ FREGOZO, F. Efecto de inhibición mutagénica del nitrito de sodio por acción quimiopreventiva de la capsaicina en ratón. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México, 2013. p. 67.

³⁶ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD –OMS, P. A. S. Guías para la calidad del agua potable. Estados Unidos: Organization of American States, General Secretariat, 2006. p. 56.

En general, “la concentración de nitritos en el agua superficial es muy baja, pero puede aparecer ocasionalmente en concentraciones inesperadamente altas debido a la contaminación industrial y de aguas residuales domésticas”³⁷, por esta razón es de gran importancia poder determinar si en un cuerpo de agua específico, existen riesgos por la presencia de concentraciones considerables de nitritos.

El ión Nitrito (NO_2^-) puede ser determinado usando un método colorimétrico en el cual “los nitritos presentes en agua reaccionan en medio ácido ($\text{pH} = 1,9$ a $2,5$), para formar ácido nitroso que reacciona con la sulfanilamida por una reacción de diazoción para formar una sal de diazonio, la cual por copulación con el diclorhidrato de N-(1-Naftil) etilendiamina forma un colorante azóico de color purpura rojizo que se mide espectrofotométricamente a 543 nm , esta reacción fue propuesta por Griess en el año 1879”³⁸, esta reacción tiene su lugar en la historia de la Química por el hecho de ser la primera reacción de identificación en la que se empleó un reactivo orgánico, pues hasta ese momento solo se empleaban reactivos inorgánicos, y se describe a continuación:

Figura 4. Formación del Azocompuesto de color Purpura-Rosado.



³⁷CAMARGO, J. A. y ALONSO, A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. Revista Ecosistemas, vol. 16 No. 2. 2007. p. 83.

³⁸GREEN, L. C., WAGNER, D. A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P. L., WISHNOK, J. S y TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and $[15\text{N}]$ nitrate in biological fluids. Analytical biochemistry, vol. 126 No. 1, 1982. p. 238.

Fuente: GREEN, L. C., y otros Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. Analytical biochemistry, vol. 126 No. 1, 1982. 238p.

A continuación se describe brevemente el método colorimétrico usado para la determinación del ion nitritos en agua.

2.1.3.1 Método Colorimétrico 4500-NO₂⁻B. “Este método tiene un rango aplicable para las mediciones espectrofotométricas de 10 a 1000 µg NO₂⁻/L. El sistema de color obedece la ley de Beer hasta 150 µg N/L con una trayectoria de luz de 1 cm a 543 nm, las concentraciones superiores de NO₂⁻ pueden determinarse diluyendo la muestra a analizar”³⁹.

Al igual que para nitratos, en la determinación de nitritos también existen interferencias que hay que tener en cuenta a la hora de realizar los análisis. Una de las mayores interferencias es la incompatibilidad química que existe entre el NO₂⁻, libre de cloro y tricloruro de nitrógeno (NCl₃), lo cual hace improbable que puedan coexistir, ya que por ejemplo, “el NCl₃ proporciona un color rojo falso cuando se añade reactivo de color, haciendo que la lectura de absorbancia final sea errada”⁴⁰.

También existen interferencias debido a la precipitación de los siguientes metales “en el agua: Sb³⁺, Au³⁺, Bi³⁺, Fe³⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Ag⁺, cloroplatinato (PtCl₆²⁺) y metavanadato (VO₃²⁻). Estos iones pueden causar bajos resultados por descomposición catalítica de la sal de diazonio, por lo cual hay que eliminar previamente los sólidos por filtración”⁴¹.

En cuanto al almacenamiento de las muestras cabe resaltar que nunca se debe utilizar preservación ácida en muestras a analizar para determinación de NO₂⁻ y se debe hacer la determinación rápidamente de las muestras frescas para evitar la conversión bacteriana de NO₂⁻ a NO₃⁻ o NH₃. PARA la conservación a corto plazo durante 1 a 2 días, se debe congelar la muestra a -20 ° C o almacenar a 4 ° C”⁴²

2.2 ANTECEDENTES

“Como antecedentes recientes en relación a la determinación tanto para nitratos como para nitritos en agua se tiene en primer lugar el llevado a cabo en el año 2010 por Silvia Molina”⁴³, quien realizó la estandarización de métodos de análisis

³⁹ RICE, E. and BRIDGEWATER, L. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012. p. 485-488

⁴⁰Ibid., p.488

⁴¹Ibid., p.490

⁴²Ibid., p. 488

⁴³MOLINA, S. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de Nitratos, Nitritos, Compuestos Fenólicos y, aceites y grasas utilizadas como indicadores de contaminación en aguas

para la determinación de diferentes analitos en la Universidad Industrial de Santander, entre ellos los nitratos, para los cuales obtuvo una precisión en términos de porcentaje de coeficiente de variación (%CV) de: 0,39; 0,14 y 0,09%, para estándares de 2 mg NO₃⁻/L, 5 mg NO₃⁻/L y 8 mg NO₃⁻/L, respectivamente, los cuales cumplen con el criterio de aceptación para los métodos espectrofotométricos el cual debe ser <1,5%. Además se obtuvo una exactitud en términos de porcentaje de recuperación para para estándares de 2 mg NO₃⁻/L, 5 mg NO₃⁻/L y 8 mg NO₃⁻/L, con valores de 99,85; 99,87 y 99,84%, respectivamente, los cuales están dentro del rango del criterio de aceptación el cual debe ser entre 95-105%. En el análisis de nitritos se obtuvo una precisión en términos de porcentaje de coeficiente de variación (%CV) de: 0,24; 0,36 y 0,38%, para estándares de 0,2 mg NO₂⁻/L, 0,5 mg NO₂⁻/L y 0,8 mg NO₂⁻/L, respectivamente, los cuales también cumplen con el criterio de aceptación. Además se obtuvo una exactitud en términos de porcentaje de recuperación para para estándares de 0,2 mg NO₂⁻/L, 0,5 mg NO₂⁻/L y 0,8 mg NO₂⁻/L, con valores de 99,87; 99,83 y 99,77%, respectivamente, los cuales están dentro del rango del criterio de aceptación el cual debe ser entre 95-105%.

Posteriormente Flor Ángela Henao realizó la validación y cálculo de incertidumbre para el ensayo de nitritos y nitratos en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira, obteniendo para los nitritos como resultado una exactitud en términos de porcentaje de error (%E) de: “4,82; 1,10 y -1,42% para estándares de 0,02 mg NO₂⁻/L, 0,5 mg NO₂⁻/L y 1 mg NO₂⁻/L, respectivamente, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual dice que él %E debe ser <10%. También se obtuvo una precisión en términos de porcentaje de coeficiente de variación (%CV) de: 2,25; 1,32 y 0,70%, para estándares de 0,02 mg NO₂⁻/L, 0,5 mg NO₂⁻/L y 1 mg NO₂⁻/L”⁴⁴, respectivamente, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual dice que él %CV debe ser <10%. Para los nitratos se obtuvo como resultado una exactitud en términos de porcentaje de error (%E) de: 8,86; 1,79 y -2,88% para estándares de 0,2 mg NO₃⁻/L, 1 mg NO₃⁻/L y 2,5 mg NO₃⁻/L, respectivamente, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual dice que él %E debe ser <10%. Así mismo, también se obtuvo una precisión en términos de porcentaje de coeficiente de variación (%CV) de: 7,00; 1,79 y 4,60%, para estándares de 0,2 mg NO₃⁻/L, 1 mg NO₃⁻/L y 2,5 mg NO₃⁻/L, respectivamente, cumpliendo con el criterio de aceptación el cual dice que él %CV debe ser <10%.

En el año 2016, Marian Moreinys Almeida, realizó la validación de métodos analíticos para la determinación de nitratos y nitritos en la Universidad Santo Tomás de Barranquilla, obteniendo como resultado

naturales y residuales industriales. Tesis de pregrado. Bucaramanga: Universidad de Santander,. 2010. p. 76.

⁴⁴HENAO, F. Validación y Cálculo de Incertidumbre para el Ensayo de Nitritos y Nitratos en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, 2014. p. 61.

Para Nitritos una precisión en términos de %CV de: 4,44; 6,39 y 2,94%, para estándares de 0,01 mg NO₂⁻/L, 0,1 mg NO₂⁻/L y 0,2 mg NO₂⁻/L, respectivamente, los cuales cumplen con el criterio de aceptación el cual dice que el %CV de be ser <10%.. Además se obtuvo una exactitud en términos de porcentaje de error (%E) para para estándares de 0,01 mg NO₂⁻/L, 0,1 mg NO₂⁻/L y 0,2 mg NO₂⁻/L, con valores de 4,54; 2,21 y 1,43%, respectivamente, los cuales cumplen con el criterio de aceptación el cual dice que el %E debe ser <10%. De la misma manera para los Nitratos se obtuvo una precisión en términos de %CV de: 6,88; 6,70 y 1,30%, para estándares de 0,2 mg NO₃⁻/L, 1,0 mg NO₃⁻/L y 2.0 mg NO₃⁻/L, respectivamente, los cuales cumplen con el criterio de aceptación el cual dice que el %CV de be ser <10%, y también se obtuvo una exactitud en términos de porcentaje de error (%E) para para estándares de 0,2 mg NO₃⁻/L, 1,0 mg NO₃⁻/L y 2.0 mg NO₃⁻/L, con valores de 4,64; 2,86 y 1,88%, respectivamente, los cuales cumplen con el criterio de aceptación el cual dice que el %E debe ser <10%⁴⁵.

Analizando los datos obtenidos en cuanto a precisión y exactitud en los anteriores trabajos, se puede corroborar que los resultados que se obtuvieron en este trabajo son verídicos y cumplen con los criterios de aceptación propuestos.

2.3 MARCO CONCEPTUAL

Blanco: muestra preparada para la lectura final, pero que no contiene analitos. Puede ser un blanco de los reactivos.

Blanco de transporte: consiste en enviar, junto a los recipientes de muestreo, un frasco de plástico con agua y dejar un testigo control en el laboratorio para comparar el grado de contaminación, tanto en el transporte de las muestras como en el muestreo.

Condición de repetibilidad de medición: CONDICIÓN de medición, dentro de un conjunto de condiciones, que incluye el mismo procedimiento de medición, mismos operadores, mismo sistema de medida, mismas condiciones de operación y mismo lugar, así como mediciones

Calibración: operación que bajo condiciones especificadas, en una primera etapa establece una relación entre los valores de la magnitud y sus incertidumbres de medida obtenidos de los patrones de medida y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas, y, en una segunda etapa, usa esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medición a partir de una indicación.

⁴⁵ ALMEIDA, M. Validación de métodos analíticos para la determinación de nitratos, nitritos, ortofosfatos y nitrógeno amoniacal en aguas, en el laboratorio de SIAMA LTDA. Trabajo de Pregrado Universidad Santo Tomás. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás, 2016. p. 67.

Condición de precisión intermedia de medición: condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones, que incluye el mismo procedimiento de medición, mismo lugar y mediciones repetidas del mismo objeto u objetos similares por un periodo amplio de tiempo, pero que puede incluir otras condiciones que puedan introducir variaciones.

Condición de reproducibilidad de medición: condición de medición, de un conjunto de condiciones, que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.

Control de calidad por réplicas: consiste en que a un mismo punto de muestreo y a un tipo de agua se toman dos muestras repetidas o idénticas, que se almacenan en botellas diferentes en el momento del muestreo, al punto en que se aplica este control de calidad se define en el plan de muestreo.

Curva de calibración: Expresión de la relación entre una indicación y el valor medido correspondiente.

Muestreo puntual: es aquella muestra recolectada en un lugar y tiempo específico y que refleja las circunstancias particulares del cuerpo de agua para el momento y sitio de su recolección.

Sensibilidad: “es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración”⁴⁶.

La sensibilidad está representada por la pendiente (b) de la curva de calibración ($y = a+bx$) y se puede determinar por un procedimiento clásico de mínimos cuadrados (para ajustes lineales), o experimentalmente, utilizando muestras que contienen diferentes concentraciones del analito. La sensibilidad puede ser determinada por el análisis de muestras adicionadas, enriquecidas, estándares preparados en soluciones de muestra real o con la ayuda de la pendiente de la curva de calibración obtenida para la determinación del rango lineal. Una pendiente con un alto positivo (por ejemplo >1) o de bajo valor lineal negativo (por ejemplo <-1), indica que en promedio, el método es sensible. Cuanto mayor es la sensibilidad (pendiente/gradiente de la curva de calibración), es mejor el método para distinguir pequeños cambios en la concentración del analito⁴⁷.

⁴⁶SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., WEST, D. M. y CROUCH, S. R. Métodos polarográficos y voltamétricos de impulsos. Fundamentos de Química Analítica. Octava Edición. México: Thomson, 2005. p. 186

⁴⁷NATIONAL ASSOCIATION OF TESTING AUTHORITIES (NATA). Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. 2013. p. 12

Prueba de hipótesis para la pendiente: Utilizando el contraste de significación t de student, se realiza la prueba comparativa calculando el valor de $T_{\text{Calculado}}$ de la siguiente forma:

$$T_{\text{calculado}} = \left(\frac{m-0}{S_m} \right) \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde:

m: Pendiente de la curva de calibración

S_m : Desviación estándar de la pendiente. Este valor se obtiene a partir del análisis de varianza ANOVA que se realiza para la evaluación de la linealidad.

En el análisis de la pendiente se considera la prueba hipótesis nula $H_0: \beta_1 = 0$, que permite verificar a partir del valor de t – Student, que la pendiente es diferente de cero. Si el valor calculado es mayor que el tabulado para el nivel de significación elegido, se rechaza la hipótesis nula y se acepta que la pendiente difiere significativamente de la horizontal y por tanto, se acepta que el modelo lineal permite explicar variaciones en la variable dependiente⁴⁸.

“El valor T_{Tabulado} empleado para la comparación corresponde a un nivel de significación del 95% ($p=0,05$) y $n-2$ grados de libertad⁴⁹.”

Límite de Detección (LOD): “es la mínima concentración de analito que puede ser detectada por el equipo sin que se confunda con la señal del blanco o ruido de fondo del equipo. Es necesario solamente cuando deben tomarse decisiones cualitativas, es decir, si la sustancia está presente o no⁵⁰.”

Límite de Cuantificación (LOQ): corresponde a “la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables con las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración. Se emplea cuando se realizan determinaciones de sustancias a nivel de trazas⁵¹.”

⁴⁸FIGUEIRAS J. Validación de un método espectrofotométrico UV - VIS para la determinación cuantitativa de fenoles totales en la crema VIMANG. Tesis en la opción al Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de La Habana. Facultad de Farmacología. Departamento de Lic. en Ciencias Farmacéuticas, 1999. p.19-29.

⁴⁹WALPOLE, R. E., MYERS, R. H., y MYERS, S. L. Probabilidad y estadística para ingenieros. Pearson Educación, 1999. p. 56.

⁵⁰GARCÍA MONTOYA, E. (2001). Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2001. p. 91

⁵¹WALFISH, S. Analytical methods: a statistical perspective on the ICH Q2A and Q2B guidelines for validation of analytical methods. BioPharm International, 19(12), 2006. p. 47

Para calcular estos parámetros, se pueden utilizar diferentes métodos y se aplican las mismas fórmulas ajustadas. Entre los métodos más comunes se tienen los siguientes:

$$LDM = \bar{B} + (t * 3,3 * s_B) \quad \text{Ecuación 2}$$

$$LCM = \bar{B} + (t * 10 * s_B) \quad \text{Ecuación 3}$$

Dónde:

\bar{B} Corresponde al promedio de la lectura de los blancos,

t corresponde al t calculado a partir de un nivel de confianza del 99% y con n-1 grados de libertad, y

S_B corresponde a la desviación estándar de la lectura de los blancos.

Precisión: “La precisión es una medida del grado de repetibilidad del método analítico, realizado en condiciones normales y refleja el error aleatorio del método. Se expresa como la desviación típica o coeficiente de variación (desviación típica relativa)”⁵²

Criterios de aceptación de la precisión: “Para los estudios de la precisión se ha generalizado en el caso de la repetibilidad y la precisión intermedia, el uso del coeficiente de variación para evaluar la precisión del sistema o del método y el valor de la misma debe ser igual o menor al 3%, y para la reproducibilidad puede ser 2 o 3 veces el valor de la repetibilidad”⁵³

Repetibilidad: “Precisión del método bajo condiciones idénticas: mismo analista, mismo equipo, mismos reactivos y cortos espacios de tiempo”⁵⁴.

La repetibilidad es “la cercanía entre los resultados de mediciones sucesivas de la misma magnitud por medir, efectuadas en las mismas condiciones de medición”⁵⁵.

⁵²GARCIA MONTOYA, E. OP. Cit., p. 86

⁵³GOMARA, F. L., CORRER, C. J., SATO, M. E. O. y PONTAROLO, R. Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido fólico. Ars Pharmaceutica, Vol. 45 No. 2, 2004. p. 145.

⁵⁴GARCÍA MONTOYA, E. (2001). Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2001. p. 86

⁵⁵LLAMOSAS, L. E., CONTRERAS, L. G. M., y ARBELAEZ, M. B. (2007). Estudio de repetibilidad y reproducibilidad utilizando el método de promedios y rangos para el aseguramiento de la calidad de los resultados de calibración de acuerdo con la norma técnica NTCISO/IEC 17025. Scientia et Technica, vol. 1 No.35, 2007. p. 455

Reproducibilidad: “Precisión en condiciones completamente diferentes de analistas, instrumentación, reactivos, laboratorios y días de análisis”⁵⁶

“La reproducibilidad es la cercanía entre los resultados de las mediciones de la misma magnitud por medir, efectuada bajo condiciones de medición diferentes. Las condiciones que cambian pueden ser entre otras: el principio de medición, el método de medición, el observador, el instrumento de medición, el patrón de referencia, el lugar, las condiciones de uso y el tiempo”⁵⁷.

Exactitud: LA exactitud de un método analítico es “la capacidad para obtener resultados próximos al verdadero”. Es el grado de concordancia entre el resultado de ensayo y el valor de referencia (Calpena, A. C., Escribano, E., & Fernández, C., 1991), el error absoluto se determina mediante la **Error absoluto (Ea) = Xi - Xt** Ecuación 4.

$$\text{Error absoluto (Ea)} = X_i - X_t \quad \text{Ecuación 4}$$

El error relativo es el cociente entre el error absoluto de la medida y el valor verdadero este suele expresarse en términos de porcentaje y se calcula mediante

la Error relativo: $\%E = \frac{x_i - x_t}{x_t} * 100 = \frac{\text{Valor medido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} * 100$ Ecuación 5.

Error relativo: $\%E = \frac{x_i - x_t}{x_t} * 100 = \frac{\text{Valor medido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} * 100$ **Ecuación 5**

El criterio de aceptación para la exactitud corresponde a un porcentaje de error relativo (%E) menor o igual a 5%

Veracidad: “La veracidad determina el grado de coincidencia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación”⁵⁸.

Recuperación (R): es la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar.

La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por

⁵⁶GARCÍA MONTOYA, E. Op. Cit., p. 86

⁵⁷LLAMOSAS, L. E., CONTRERAS, L. G. M., y ARBELAEZ, M. B. (2007). Estudio de repetibilidad y reproducibilidad utilizando el método de promedios y rangos para el aseguramiento de la calidad de los resultados de calibración de acuerdo con la norma técnica NTCISO/IEC 17025. Revista Scientia et Technica, volumen 1 No. 35. p. 455-460

⁵⁸DUFFAU y otros. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “aspectos generales sobre la validación de métodos”. Guía técnica, vol. 1) No. 2, 2010. p. 37

lo cual, “la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra”⁵⁹.

$$\text{Recuperación} = \% R = \frac{C_{MA} - \overline{C_M}}{C_A} * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

Dónde:

C_M = concentración promedio analizada en la muestra no adicionada,

C_{MA} = concentración analizada en la muestra adicionada, y

C_A = concentración conocida adicionada a la muestra.

Los criterios de aceptación⁶⁰ se reportan en la Tabla 1..

Tabla 1. Criterios de aceptación para el método de adición del patrón.

Ensayo	Criterio de aceptación
Muestra enriquecida	Porcentaje (%) de recuperación esperado: 90 – 110%

Fuente: Instructivo de Validación del LAQ.

Incertidumbre de los resultados: la incertidumbre “es un-parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando”⁶¹.

La determinación de la incertidumbre incluye generalmente 4 pasos, como se muestra a continuación:

El primero corresponde a la determinación de las fuentes de incertidumbre, Todas las mediciones tienen asociada una incertidumbre que puede deberse a los siguientes factores:

- La naturaleza de la magnitud que se mide,
- El instrumento de medición,
- El observador,
- Las condiciones externas.

⁵⁹Ibíd., p. 40

⁶⁰RICE, E. and BRIDGEWATER, L. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012. pp. 485-488

⁶¹EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement. Crown (IS), 1995. p. 26.

Cada uno de estos factores constituye por separado una fuente de incertidumbre y contribuye en mayor o menor grado a la incertidumbre total de la medida. “La tarea de detectar y evaluar las incertidumbres no es simple e implica conocer diversos aspectos de la medición”.⁶².

El segundo es expresar los componentes en una incertidumbre estándar. Algunos de estos pueden ser evaluados por tipo. Para este fin el laboratorio deberá realizar una evaluación de las incertidumbres tipo A y B que están presentes en el método:

Evaluación de incertidumbre tipo A: la evaluación tipo A de la incertidumbre 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. En la mayor parte de los casos, la mejor estimación disponible de la esperanza matemática \bar{q} de una magnitud q_k que varía al azar, de la que se han obtenido n observaciones independientes en las mismas condiciones de medida, es la media aritmética de las n observaciones:

$$\bar{q} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n q_k$$

Evaluación de incertidumbre tipo B: la evaluación tipo B de la incertidumbre típica se utiliza cuando la estimación x_i de una magnitud de entrada X_i no ha sido obtenida a partir de observaciones repetidas. La varianza estimada asociada $u^2(x_i)$, o la incertidumbre típica $u(x_i)$, se obtiene entonces mediante decisión científica basada en la información disponible acerca de la variabilidad posible de X_i . El conjunto de la información puede comprender:

- Resultados de medidas anteriores.
- La experiencia o el conocimiento general del comportamiento y propiedades de los materiales y los instrumentos utilizados
- Las especificaciones del fabricante
- Los datos suministrados por certificados de calibración u otros certificados
- La incertidumbre asignada a valores de referencias procedentes de libros y manuales.

Según la fuente de la que se obtiene esa incertidumbre tipo B, ésta se estimará de distinta manera. Algunos ejemplos de evaluación tipo B son:

⁶²EURACHEM. Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. CITAC. , 2012. p. 35.

Incertidumbre debida al patrón o instrumento calibrado: “La incertidumbre típica se obtiene dividiendo la incertidumbre expandida dada en el certificado de calibración del patrón por el factor de cobertura indicado”⁶³.

$$u(p) = \frac{U(p)}{k}$$

En general, la incertidumbre está dada por los errores sistemáticos y aleatorios presentes en el ensayo analítico.

El tercero consiste en combinar las diferentes incertidumbres estándares, una vez calculadas las incertidumbres tipo A y tipo B. Para combinar las fuentes se aplica la ley de propagación de incertidumbre, que trata de un cálculo estadístico diseñado para combinar las incertidumbres de múltiples variables como se muestra a continuación:

$$U_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + \dots} \quad U_c = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots}$$

Dónde:

U_c = Incertidumbre Combinada

u = incertidumbre estándar

p, q, \dots = valores de parámetros medidos

La incertidumbre combinada “es una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por combinación de todos los componentes de la incertidumbre, sin importar cómo sea evaluada (A o B), utilizando la ley de propagación de la incertidumbre”⁶⁴.

El cuarto paso es la determinación de la incertidumbre expandida es decir, “multiplicar la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k = 2$, a fin de entregar un 95% de confianza, y así establecer el intervalo entorno al resultado de la medición en el cual se puede esperar que se incluya la mayor fracción de la distribución de los valores que se pueden atribuir razonablemente al mesurando”⁶⁵.

⁶³ HERNÁNDEZ, M. M. P. Estimación de incertidumbres. Guía GUM. Revista Española de Metrología, vol. 1, 2012. p.113-130.

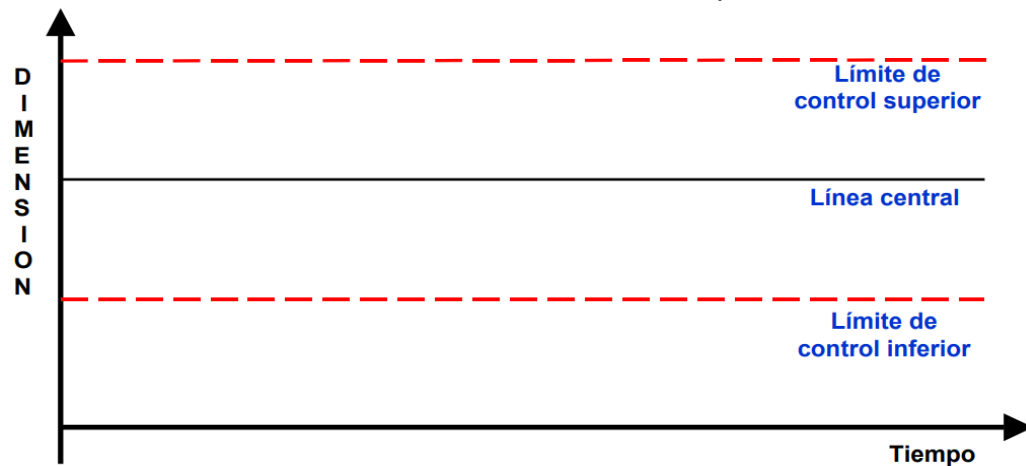
⁶⁴ EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement. Crown (IS), 1995. p. 45.

⁶⁵ DUFFAU y otros. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “aspectos generales sobre la validación de métodos”. Guía técnica, vol. 1) No. 2, 2010. p. 37

Cartas de Control: “Se puede definir una carta de control como: un método gráfico para evaluar si un proceso está o no en un estado de control estadístico, es decir cuando sólo actúan causas comunes o aleatorias, inherentes a cualquier proceso”⁶⁶.

Como lo muestra la gráfica 1, la carta consiste en una línea central (L.C.) y dos pares de líneas límites espaciadas por encima y por debajo de la línea central, que se denominan límite de control superior (L.C.S.) y límite de control inferior (L.C.I.).

Gráfica 1. Gráfico de control típico.



Fuente: MUSTAFA, A. M., RODRÍGUEZ, N. L., y CHAUVET, S., 2002

Estos se eligen de tal manera que los valores situados entre los límites puedan atribuirse al azar, mientras que los que caigan fuera puedan interpretarse como una carencia de control. “Cuando un punto cae fuera de los límites de control, se le considera problemático; pero aun cuando caiga dentro de los límites de control, una tendencia o algún otro patrón sistemático puede servir para advertir que tal acción debe interpretarse a fin de evitar algún problema serio. Sin embargo no indica la razón o motivo por el cual un proceso está fuera de control”⁶⁷.

2.4 MARCO CONTEXTUAL

El trabajo se llevó a cabo en la Universidad de Nariño, específicamente en el área de proceso misional de Interacción Social, del cual hace parte el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, que tiene como misión realizar análisis fisicoquímico y microbiológico de muestras en la matriz agua, para apoyar con competencia técnica a estudiantes, grupos de investigación e interacción social.

⁶⁶MUSTAFA, A. M., RODRÍGUEZ, N. L., y Chauvet, S., 2002. p. 18.

⁶⁷Ibíd. p. 18.

2.5 MARCO LEGAL

En Colombia existe una normatividad legal que exige a los laboratorios de ensayo y calibración prestadores de servicios a la comunidad en general, tener acreditados idealmente todos sus parámetros para asegurar que los resultados otorgados al consumidor sean válidos y confiables. Las Leyes, Resoluciones y Normas encargadas de llevar a cabo el cumplimiento de esta normatividad se describen brevemente a continuación:

Ley 99 (1993) Por la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental (SINA) y se dictan otras disposiciones.

Resolución N° 631 (2015), Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.

Resolución N° 1619 (2015), Por la cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de Vigilancia en Salud Pública y de Gestión de Calidad.

Resolución N° 2115 (2007), Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.

La alta Dirección de la Universidad de Nariño, expresa también su compromiso con la implementación y mantenimiento del Sistema Integrado de Gestión de la Calidad (SIGC), en cumplimiento con lo establecido en la Ley 872 de 2003, Decreto 4110 de 2004, Decreto 4485 de 2009, Decreto 1295 de 2010, la Norma Técnica de Calidad para la Gestión Pública NTCGP 1000:2009, Decreto 943 de 2014 y el Plan de Desarrollo 2008 – 2020 “Pensar la Universidad y la Región” en el Programa Capacidad Directiva, Subprograma Diseño Organizacional y Administrativo, con el fin de establecer un modelo de gestión sistemático y transparente que permita la identificación y atención oportuna de las necesidades y expectativas de la Comunidad Universitaria y de la región, orientando el desempeño de los procesos estratégicos, misionales, de apoyo, control y evaluación hacia la mejora continua, la eficacia, la eficiencia y la efectividad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TOMA DE MUESTRA PARA ANÁLISIS DE NITRITOS Y NITRATOS

La toma y recolección de muestras se realizó según el instructivo de muestreo-agua LBE-PRS-IN-03 del LAQ. Inicialmente, se realizó un plan de muestreo en el cual se consideraron todas las variables a tener en cuenta para la toma de muestra como condiciones de temperatura, control de calidad, recipientes y materiales.

“EL muestreo se realizó un día antes de realizar la confirmación de los métodos con el fin de asegurar la estabilidad del analito 48 horas conforme lo establece el método de referencia”⁶⁸.

Las muestras se tomaron directamente en las fuentes hídricas, las cuales se encuentran en el mapa de muestreo en el cuadro 1. Estas muestras se recogieron en balde plástico, se homogenizaron y se vertieron en recipientes plásticos de polipropileno con una capacidad de 2 litros, posteriormente, se etiquetaron conforme al plan y sitio de muestreo, y se transportaron al laboratorio en neveras de icopor con suficiente hielo para garantizar una temperatura inferior a 6 °C y los controles de calidad que se describieron dentro del plan de muestreo (Anexo F).

Para garantizar el aseguramiento de calidad del muestreo se aplicaron controles de calidad como control de calidad por réplicas y blanco de transporte.

3.1.1 Recolección de Muestras para Análisis de Nitritos por el Método Colorimétrico 4500-NO₂-B. Las muestras para el análisis de nitritos en la matriz agua, se tomaron de la siguiente manera:

Cuadro 1. Mapa de muestreo para el análisis de nitritos

Agua Potable	Grifo del área de baño de los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño
Agua Cruda	Fuente hídrica Quebrada Cuscungo
Agua Residual Doméstica	Descarga de vertimientos de la Universidad de Nariño
Agua Residual Industrial	Curtiembres Pandiaco
Lixiviados	PTAR Relleno Sanitario Ipiales

Fuente: esta Investigación

⁶⁸STANDARD, B. Capability of detection–part 2: Methodology in the linear calibration case. London: ISO, 2000. 11843-2

3.1.2 Recolección de Muestras para Análisis de Nitratos por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO₃-B. La muestra de agua potable se recolectó de forma puntual del grifo del área de baños de los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño.

3.1.3 Protocolo de Limpieza del Material de Vidrio. El protocolo para la limpieza del material de vidrio se describe en el Anexo M.

3.2 MÉTODOS NORMALIZADOS

Para la confirmación del Método Colorimétrico 4500-NO₂-B para la determinación de Nitritos y del Método por Espectrofotometría Ultravioleta 4500-NO₃⁻B para la determinación de Nitratos, se utilizaron los procedimientos descritos en el Standard Methods (2012), los cuales se describen en el anexo A y anexo B respectivamente.

Ambos métodos parten desde la preparación de una solución patrón de concentración determinada, mediante la cual se preparan estándares de menor concentración, los cuales posteriormente son tratados con una solución reveladora y llevado a su lectura de absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis.

Las especificaciones de los equipos usados para la confirmación de los métodos se describen en el anexo E, y los certificados de calibración correspondientes a la balanza analítica y al espectrofotómetro, usados para el desarrollo del trabajo, se encuentran en el Anexo N.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

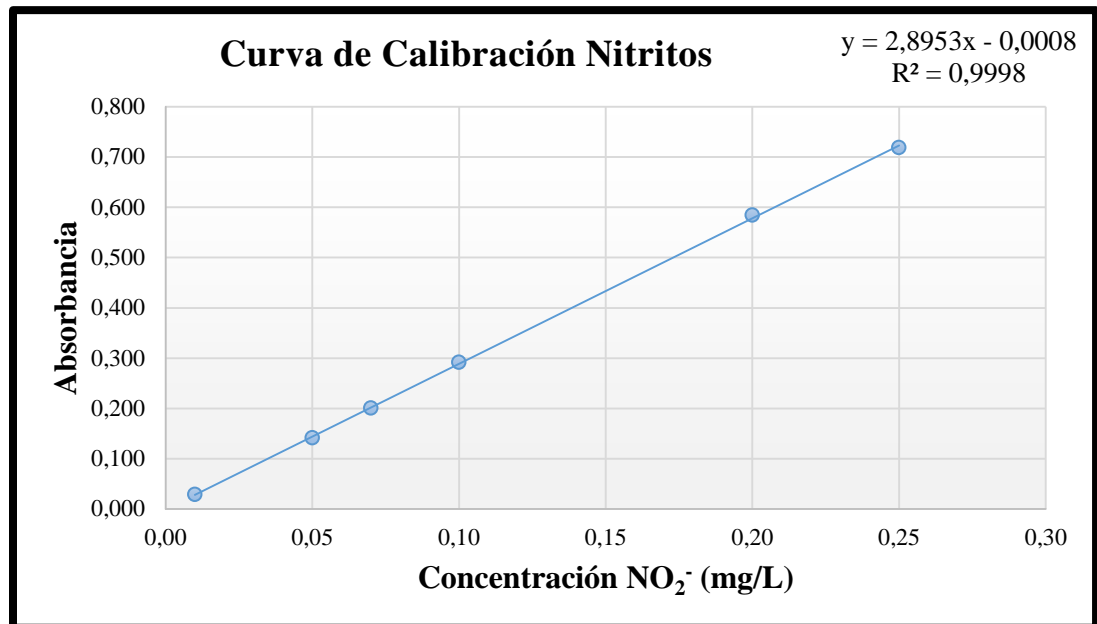
4.1 MÉTODO COLORIMÉTRICO 4500-NO₂-B PARA ANÁLISIS DE NITRITOS (NO₂⁻)

La confirmación del parámetro analítico nitritos se realizó siguiendo los lineamientos descritos en el Instructivo de Validación de métodos analíticos y el Instructivo de Aseguramiento de Calidad del LAQ.

Curva de calibración: la curva de calibración se realizó con las siguientes concentraciones de patrones (Especificaciones del patrón en Anexo H): 0,01 mg NO₂⁻/L, 0,05 mg NO₂⁻/L, 0,07 mg NO₂⁻/L, 0,10 mg NO₂⁻/L, 0,20 mg NO₂⁻/L y 0,25 mg NO₂⁻/L. Posteriormente se realizaron 5 curvas por duplicado para cada punto de la curva y los resultados obtenidos se muestran en la Gráfica 2, (Datos de Absorbancia de la Curva de Calibración en Anexo L).

4.1.1 Curva de Calibración

Gráfica 2. Curva de Calibración de Nitritos



Fuente: esta Investigación

Según los resultados obtenidos se evidencia que el coeficiente de determinación (R^2) de la gráfica es de 0,9998. Teniendo en cuenta el instructivo aplicado por el laboratorio y Eurachem (2012), el criterio de aceptación del coeficiente de determinación (R^2) es igual o mayor a 0,997, por lo tanto, se puede concluir que el valor de R^2 reportado en la curva de calibración es aceptable.

4.1.2 Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método. Según las ecuaciones 2 y 3, y a partir de los datos reportados en el Anexo I, se determinó el límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM) respectivamente, los cuales muestran la mínima concentración de NO_2^- detectable y la mínima concentración de NO_2^- estadísticamente confiable, respectivamente, y se describen en la tabla 2.

Tabla 2. Límite de detección y límite de cuantificación del método

LDM	0,009 mg NO_2^- /L
LCM	0,010 mg NO_2^- /L

Fuente: esta Investigación

4.1.3 Linealidad y Sensibilidad. La linealidad del método se pudo determinar directamente a partir del coeficiente de correlación obtenido en la curva de calibración de 0,9998, el cual es mayor al coeficiente de correlación mínimo permitido de 0,997.

La sensibilidad del método se determinó mediante la división de la absorbancia obtenida por la lectura en el espectrofotómetro de las concentraciones correspondiente a cada punto de la curva, entre las concentraciones correspondientes a cada punto de la curva. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Sensibilidad del Método para determinación de Nitritos

Concentración	ABS	ABS/Concentración
0,01	0,028	2,840
0,05	0,141	2,826
0,07	0,201	2,865
0,10	0,291	2,915
0,20	0,584	2,920
0,25	0,718	2,873

Fuente: esta Investigación

La sensibilidad corresponde al valor de la pendiente obtenida en la curva de calibración del método colorimétrico. En la Tabla 3 se observa una buena sensibilidad del método, cuyo valor promedio de la relación ABS/Concentración es de 2,8732 muy cercano al valor de la pendiente de la recta que es de 2,8953, obteniendo un error de 0,76%.

4.1.4 Exactitud en términos de porcentaje de Error. La exactitud del método colorimétrico 4500- NO_2^- -B se determinó mediante el porcentaje de error obtenido

a partir del análisis de patrones que abarcan el rango de concentración de trabajo, tal como se muestra a continuación en la tabla 4. (Datos adicionales en Anexo J).

Tabla 4. Determinación de la exactitud a partir del rango de concentración de nitritos

Concentración	0,01 mg NO ₂ ⁻ /L	10 mg NO ₂ ⁻ /L	15 mg NO ₂ ⁻ /L	20 mg NO ₂ ⁻ /L
Promedio	0,010	10,016	15,138	19,908
Desviación estándar	0,0004135	0,07968066	0,13934904	0,10323173
%CV	4,171	0,796	0,921	0,519
%E	0,873	-0,162	-0,922	0,459

Fuente: esta Investigación

Como se observa en la tabla 4, los porcentajes de error para el rango de trabajo en nitritos son menores al 5%, criterio de aceptación según el Instructivo de validación del Laboratorio y los criterios de aceptación de exactitud del método normalizado, descritos en el Standard Methods (2012).

4.1.5 Precisión en términos de reproducibilidad y repetibilidad. Para determinar la precisión en términos de reproducibilidad se realizaron 5 repeticiones por duplicado con dos analistas, así como se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis de Reproducibilidad

Estándar Bajo	Estándar Bajo	Estándar Medio	Estándar Alto	AP	AP + AD	AC	AC + AD	ARD	ARD + AD
0,05 mg NO ₂ /L	0,1 mg NO ₂ ⁻ /L	0,5 mg NO ₂ ⁻ /L	10 mg NO ₂ ⁻ /L	AD	AD	AD	AD	AD	AD
				(1 mg NO ₂ ⁻ /L)	(1 mg NO ₂ ⁻ /L)	(1 mg NO ₂ ⁻ /L)	(1 mg NO ₂ ⁻ /L)	(1 mg NO ₂ ⁻ /L)	(1 mg NO ₂ ⁻ /L)

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6. Precisión para Nitritos en términos de reproducibilidad

Nitritos	Fuente de Variación	Media	Varianza	F Calculado	F crítica
0,05 mg NO ₂ ⁻ /L	Analista 1	0,0494	1,735E-06	0,448	4,414
	Analista 2	0,0489	2,149E-06		
0,1 mg NO ₂ ⁻ /L	Analista 1	0,0980	7,277E-07	1,581	4,414
	Analista 2	0,0984	1,856E-07		
0,5 mg NO ₂ ⁻ /L	Analista 1	0,4973	8,960E-07	0,235	4,414
	Analista 2	0,4971	9,331E-07		

Continuación tabla 6.

Nitritos	Fuente de Variación	Media	Varianza	F Calculado	F crítica
10 mg NO ₂ ⁻ /L	Analista 1	9,9109	1,488E-03	0,528	4,414
	Analista 2	9,8971	2,124E-03		
AP	Analista 1	0,0012	2,439E-07	0,098	4,414
	Analista 2	0,0011	2,439E-07		
AP + AD	Analista 1	0,0116	1,803E-07	0,450	4,414
	Analista 2	0,0115	2,439E-07		
AC	Analista 1	0,0051	7,542E-07	0,535	4,414
	Analista 2	0,0054	3,393E-07		
AC + AD	Analista 1	0,0149	7,436E-07	0,007	4,414
	Analista 2	0,0149	8,960E-07		
ARD	Analista 1	0,0566	2,333E-07	0,540	4,414
	Analista 2	0,0565	3,194E-07		
ARD + AD	Analista 1	0,0607	1,325E-07	2,089	4,414
	Analista 2	0,0604	3,300E-07		

Fuente: esta Investigación

Según los resultados obtenidos de precisión de nitritos en términos de reproducibilidad, 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 colorimétrico 4500-NO₂-B cumple con el criterio de reproducibilidad.

Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para realizar el cálculo de la precisión en términos de repetibilidad. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. ANOVA para el método colorimétrico 4500-NO₂-B.

Nitritos	Fuente De Variación	Media	Varianza	F Calculado	F crítica
0,05 mg NO ₂ ⁻ /L	Repetición 1	0,04845785	5,9646E-08	1,395	5,192
	Repetición 2	0,04914862	5,3682E-07		
	Repetición 3	0,04828515	2,3858E-07		
	Repetición 4	0,04914862	5,9646E-08		
	Repetición 5	0,04863054	2,3858E-07		

Continuación tabla 7.

Nitritos	Fuente De Variación	Media	Varianza	F Calculado	F crítica
1 mg NO₂⁻/L	Repetición 1	1,07294581	0,00013176	1,902	5,192
	Repetición 2	0,97071115	0,00015514		
	Repetición 3	1,01233033	0,00551226		
	Repetición 4	1,03029047	0,00515558		
	Repetición 5	0,96086761	2,1473E-06		
5 mg NO₂⁻/L	Repetición 1	4,92695058	0,01804298	0,338	5,192
	Repetición 2	4,94421994	0,01804298		
	Repetición 3	4,93558526	0,00059646		
	Repetición 4	5,00466273	0,00954339		
	Repetición 5	5,0219321	0,00954339		
15 mg NO₂⁻/L	Repetición 1	15,2074051	0,00059646	0,417	5,192
	Repetición 2	15,2074051	0,00536816		
	Repetición 3	15,155597	0,00238585		
	Repetición 4	15,1728664	0,00059646		
	Repetición 5	15,2074051	0,00536816		
AP	Repetición 1	0,000449	5,9646E-08	3,833	5,192
	Repetición 2	0,00079439	5,9646E-08		
	Repetición 3	0,00113978	5,9646E-08		
	Repetición 4	0,0006217	0		
	Repetición 5	0,0006217	0		
AP + AD	Repetición 1	0,10182019	2,3858E-07	0,341	5,192
	Repetición 2	0,10182019	9,5434E-07		
	Repetición 3	0,10112942	2,3858E-07		
	Repetición 4	0,1016475	5,9646E-08		
	Repetición 5	0,1014748	9,5434E-07		
AC	Repetición 1	0,07332573	5,9646E-08	0,762	5,192
	Repetición 2	0,07401651	5,9646E-08		
	Repetición 3	0,07367112	5,9646E-08		
	Repetición 4	0,07401651	5,3682E-07		
	Repetición 5	0,07401651	5,3682E-07		
AC + AD	Repetición 1	0,16260837	2,3858E-07	0,605	5,192
	Repetición 2	0,16243567	5,9646E-08		
	Repetición 3	0,16209028	5,9646E-08		
	Repetición 4	0,16260837	2,3858E-07		
	Repetición 5	0,16278106	5,3682E-07		

Continuación Tabla 7.

Nitritos	Fuente De Variación	Media	Varianza	F Calculado	F crítica
ARD	Repetición 1	0,2606293	2,3858E-07	2,023	5,192
	Repetición 2	0,25993852	2,1473E-06		
	Repetición 3	0,26270162	2,1473E-06		
	Repetición 4	0,26235623	3,8174E-06		
	Repetición 5	0,26339239	2,1473E-06		
ARD + AD	Repetición 1	0,34386765	0	0,980	5,192
	Repetición 2	0,34283149	2,1473E-06		
	Repetición 3	0,34041377	0		
	Repetición 4	0,34214071	2,3858E-07		
	Repetición 5	0,34317687	1,5269E-05		
ARI	Repetición 1	0,06665976	5,9646E-06	0,800	5,192
	Repetición 2	0,06665976	5,9646E-06		
	Repetición 3	0,06665976	5,9646E-06		
	Repetición 4	0,06320589	5,9646E-06		
	Repetición 5	0,06665976	5,9646E-06		
ARI + AD	Repetición 1	0,16336822	5,9646E-06	0,357	5,192
	Repetición 2	0,16509515	3,8519E-33		
	Repetición 3	0,16164128	2,3858E-05		
	Repetición 4	0,16336822	5,9646E-06		
	Repetición 5	0,16336822	5,9646E-06		
LIX	Repetición 1	0,36196594	0	2,643	5,192
	Repetición 2	0,36023901	5,9646E-06		
	Repetición 3	0,36023901	5,9646E-06		
	Repetición 4	0,35333126	5,9646E-06		
	Repetición 5	0,35851207	2,3858E-05		
LIX + AD	Repetición 1	0,42240873	5,9646E-06	2,167	5,192
	Repetición 2	0,43104342	0		
	Repetición 3	0,4258626	5,9646E-06		
	Repetición 4	0,42931648	5,3682E-05		
	Repetición 5	0,42240873	5,9646E-06		
P.IDEAM	Repetición 1	0,48837772	5,9646E-06	1,507	5,192
	Repetición 2	0,47887956	3,7279E-05		
	Repetición 3	0,48665078	5,3682E-05		
	Repetición 4	0,48492384	0		
	Repetición 5	0,48837772	5,9646E-06		

Fuente: esta investigación

De la Tabla 7, se puede concluir que hay buena precisión en términos de repetibilidad para la determinación de nitritos por el método colorimétrico 4500-NO₂-B, porque las medias y las varianzas obtenidas no tienen diferencia estadística significativa y las F calculadas son Inferiores a la F crítica, lo cual indica que el método es repetible.

4.1.6 Interferencia por color. De igual forma se realizó un análisis estadístico por interferencia por color. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9. (Datos adicionales en Anexo K)

Tabla 8. Interferencia por Color

Muestra	Absorbancia Promedio	Des. Estándar	%CV
	Absorbancia Promedio de la Muestra con Solución Reveladora		
ARI	0,075	0,001	1,552
ARI + AD	0,102	0,001	0,976
LIX	0,134	0,002	1,573
LIX + AD	0,152	0,002	1,315
	Absorbancia Promedio de la Muestra sin Solución Reveladora		
ARI	0,056	0,001	1,906
ARI + AD	0,054	0,001	2,135
LIX	0,031	0,001	3,874
LIX + AD	0,030	0,002	5,276
	Absorbancia Promedio real de la Muestra		
ARI	0,018	0,001	3,688
ARI + AD	0,048	0,001	1,772
LIX	0,103	0,001	1,067
LIX + AD	0,123	0,001	1,101

Fuente: esta investigación

De la Tabla 8. se puede concluir que el color del agua es una fuerte interferencia a la hora de llevar a cabo la determinación de nitritos en agua, ya que, como se puede observar, al leer directamente la absorbancia de aguas residuales industriales y de lixiviados, se obtiene una absorbancia considerable, la cual se restó a la absorbancia obtenida una vez se adicionó la solución reveladora a las muestras, obteniendo de esta manera una absorbancia corregida, que es precisamente la que se usa para llevar a cabo los cálculos de concentración de nitritos en estas matrices.

4.1.7 Recuperación. Para realizar el cálculo del porcentaje de recuperación se usaron estándares de concentraciones de 0,05 mg NO₂/L, 1 mg NO₂/L, 5 mg

NO₂/L y 15 mg NO₂/L, también se prepararon muestras de la siguiente manera: AP, AP + AD, AC, AC + AD, ARD, ARD + AD, ARI, ARI + AD, LIX, LIX + AD y P.IDEAM, (AD =1 mg NO₂/L) de los cuales se obtuvieron los resultados reportados en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados de Recuperación para el método colorimétrico 4500-NO₂-B

Rango					
Concentración	0,05 mg NO₂⁻/L	1 mg NO₂⁻/L	5 mg NO₂⁻/L	15 mg NO₂⁻/L	AP
Promedio	0,049	1,009	4,967	15,19	0,001
Desviación Estándar	0,001	0,055	0,089	0,046	0
%CV	1,06	5,49	1,79	0,3	39,203
%Recuperación	97,47	100,94	99,33	101,27	
Muestras					
Tipo de Muestra	AP + AD	AC	AC + AD	ARD	ARD + AD
Promedio	0,102	0,074	0,163	0,262	0,341
Desviación Estándar	0,001	0	0	0,002	0,002
%CV	0,579	0,641	0,266	0,667	0,549
%Recuperación	99,98	N.A.	95,18	N.A.	104,36
Muestras					
Tipo de Muestra	ARI	ARI + AD	LIX	LIX + AD	P. IDEAM
Promedio	0,066	0,163	0,359	0,426	0,485
Desviación Estándar	0,002	0,002	0,004	0,005	0,005
%CV	3,534	1,495	1,059	1,094	1,034
%Recuperación	N.A.	103,02	N.A.	102,27	97,09

Fuente: esta investigación

De la tabla 9 se puede concluir que se obtiene recuperación adecuada dentro del rango establecido por el Laboratorio y el método de referencia entre 90 a 110 % en cada matriz evaluada.

4.1.8 Estimación de la Incertidumbre de Medición de Nitritos

4.1.8.1 Mensurando. Se mide la absorbancia por parte del complejo azo formado que se lee espectrofotométricamente a 543 nm mediante el método colorimétrico 4500-NO₂-B. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de Nitritos.

4.1.8.2 Modelo matemático. Los cálculos detallados de la estimación de la incertidumbre para el método colorimétrico 4500-NO₂-B, se encuentran en el anexo C.

La ecuación típica que se obtiene al usar la técnica de ultravioleta - visible es la de la línea recta como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\alpha = b_1\gamma + b_0 \quad \text{Ecuación 7}$$

De la ecuación se despeja la componente que corresponde a la concentración, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\gamma = \frac{(\alpha - b_0)}{b_1} \quad \text{Ecuación 8}$$

Dónde:

γ = La concentración de masa (mg NO₂⁻/L) de NO₂⁻, resultado de la curva de calibración.

α = Es la respuesta observada del instrumento, en este caso la unidad es la absorbancia.

b_0 =La ordenada al origen

b_1 =La pendiente calculada.

4.1.8.2 Identificación de las Fuentes de Incertidumbre. Empleando los datos de confirmación y considerando trazable el material volumétrico se plantea una estrategia para la estimación de la incertidumbre así como se muestra en el siguiente diagrama causa-efecto.

Figura 5. Diagrama Causa-Efecto para Nitritos

Concentración Solución de Trabajo				
Variabilidad de Solución de Trabajo				0,00126
Balón	250		0,06129	0,00025
Pipeta	5		0,00619	0,00124
Curva de Calibración				
Variabilidad debida a la Curva				0,00094
Regresión Lineal	0,01			0,00060
	0,05			0,00011
	0,07			0,00008
	0,1			0,00005
	0,2			0,00003
	0,25			0,00003

Continuación Tabla 10.

Fuente de incertidumbre	Valor de medición	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente) xi	Incertidumbre estándar relativa
Balón	50		0,02463	0,00049
Pipeta	20		0,01021	0,00051
Tamaño de Muestra				
Variabilidad debida al tamaño de muestra				0,00060
Balón	50		0,03011	0,00060
Incertidumbre Estándar Combinada				0,00254
Incertidumbre Expandida (K=2)				0,00507

Fuente: esta investigación

4.1.8.3. Expresión de Resultados. La incertidumbre expandida obtenida en la Tabla 10 para el parámetro analítico nitritos es de 0,00507 y esta debe ser multiplicada por cualquier valor de concentración de nitritos obtenido, obteniendo como resultados la incertidumbre expandida para cada concentración específica.

$$[\text{NO}_2^-] \text{ muestra} = [\text{NO}_2^-] \text{ muestra} \pm 0,0051 * [\text{NO}_2^-] \text{ muestra}$$

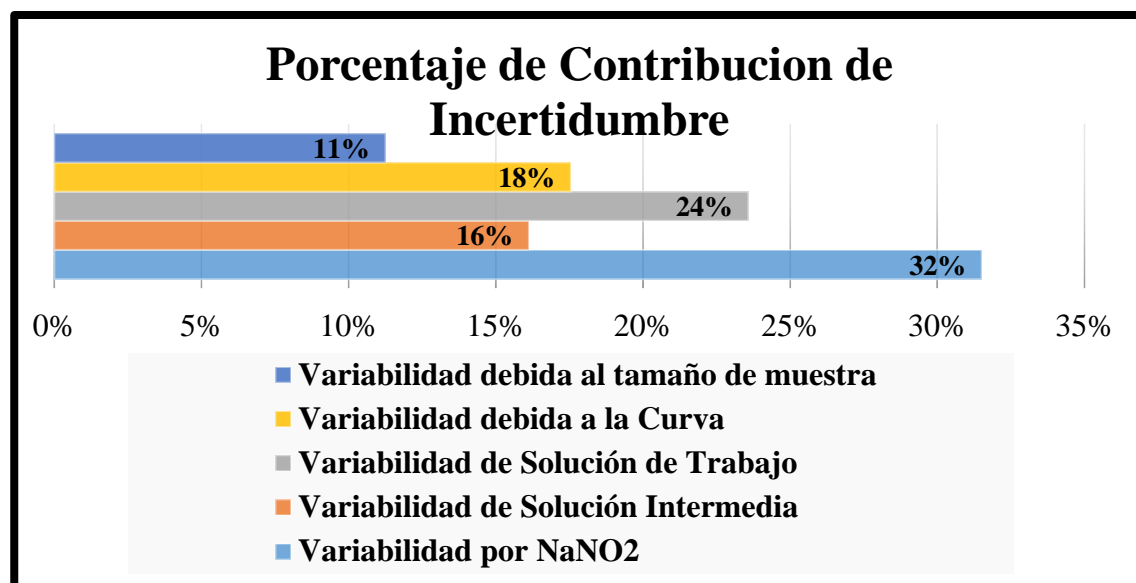
Por ejemplo para una concentración de 1 mg NO₂⁻/L, el resultado se expresa así:

$$1 \text{ mg NO}_2^-/\text{L} \pm 0,0051 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$$

Con los resultados de la incertidumbre estándar relativa mostrados en la Tabla 10, 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 5.

De la gráfica 3, se puede observar que la mayor variabilidad para la determinación de nitrito por el método colorimétrico 4500-NO₂-B, es la debida a la Solución Patrón de NaNO₂, con un porcentaje del 32%, seguida de la variabilidad debida a la preparación de la solución de trabajo, con un porcentaje del 24%; posteriormente la variabilidad debida a la curva de calibración con un 18%, seguida de la variabilidad debida a la solución intermedia con un 16%, y por último, la variabilidad debida al tamaño de muestra con un porcentaje del 11%.

Gráfica 3. Porcentaje de Contribución de Incertidumbre para Nitritos



Fuente: esta investigación

Como se puede observar en la Gráfica 3, la mayor contribución a la variabilidad de la incertidumbre para Nitritos es la otorgada por la solución Patrón de NaNO₂, ya que existen muchas más variables internas que aportan incertidumbre en comparación a las demás fuentes principales de incertidumbre en la determinación de Nitritos, así como se puede evidenciar en la Tabla 10.

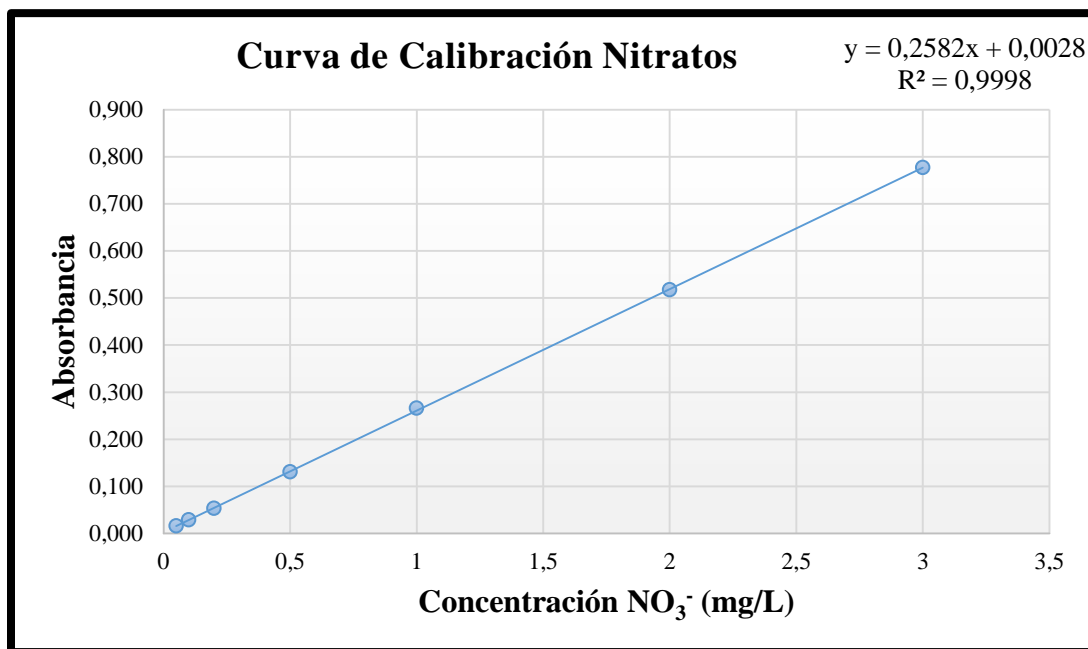
4.2. MÉTODO POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA 4500-NO₃-B PARA ANÁLISIS DE NITRATOS (NO₃⁻).

La confirmación del parámetro analítico nitritos se realizó siguiendo los lineamientos descritos en el Instructivo de Validación de métodos analíticos y el Instructivo de Aseguramiento de Calidad del LAQ.

Estandarización de la curva de calibración; se realizó estándares de las siguientes concentraciones (Especificaciones del patrón en Anexo H): 0,05 mg NO₃⁻/L, 0,1 mg NO₃⁻/L, 0,2 mg NO₃⁻/L, 0,5 mg NO₃⁻/L, 1,00 mg NO₃⁻/L, 2,00 mg NO₃⁻/L y 3,00 mg NO₃⁻/L. Posteriormente se realizaron 5 curvas por duplicado para cada punto de la curva y los resultados obtenidos se muestran a continuación (Datos de Absorbancia de la Curva de Calibración en Anexo L).

4.2.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

Gráfica 4. Curva de calibración nitratos



Fuente: esta investigación

Según los resultados obtenidos se evidencia que el coeficiente de determinación (R^2) de la gráfica es de 0,9998, y según el instructivo aplicado por el laboratorio el criterio de aceptación del coeficiente de determinación (R^2) es igual o mayor a 0,997, por lo tanto, se puede concluir que el valor reportado es aceptable.

4.2.2. Límite de detección y límite de cuantificación del método. Utilizando las ecuaciones 2 y 3, y a partir de los datos reportados en el Anexo I, se calculó el

límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM) respectivamente, los cuales muestran la mínima concentración de NO_3^- detectable y la mínima concentración de NO_3^- estadísticamente confiable, respectivamente, los cuales se reportan en la tabla 11.

Tabla 11. Límite de Detección y Límite de Cuantificación del Método

LDM	0,031 mg NO_3^- /L
LCM	0,102 mg NO_3^- /L

Fuente: esta investigación

4.2.2 Linealidad y Sensibilidad. La linealidad del método se puede realizar directamente a partir del coeficiente de correlación obtenido en la curva de calibración el cual es de 0,9999 que es mayor al coeficiente de correlación mínimo permitido que es de 0,997.

La sensibilidad del método se puede hallar mediante la división de la absorbancia obtenida por la lectura en el espectrofotómetro de las concentraciones correspondiente a cada punto de la curva, entre las concentraciones correspondientes a cada punto de la curva. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Sensibilidad del Método para determinación de Nitratos

Concentración	ABS	ABS/Concentración
0,05	0,015	0,3000
0,10	0,028	0,2800
0,20	0,053	0,2650
0,50	0,13	0,2600
1,00	0,265	0,2650
2,00	0,517	0,2585
3,00	0,777	0,2590

Fuente: esta investigación

La sensibilidad corresponde al valor de la pendiente obtenida en la curva de calibración del método por espectrofotometría ultravioleta 4500- NO_3^- B. En la tabla 12 se observa una buena sensibilidad del método, cuyo valor promedio de la relación ABS/Concentración es de 0,2696, muy cercano al valor de la pendiente de la recta que es de 0,2581, obteniendo un error de 4,35%.

4.2.3 Exactitud en términos de porcentaje de Error. La exactitud del método por espectrofotometría ultravioleta 4500- NO_3^- B, se determinó mediante del porcentaje

de error obtenido a partir del análisis de patrones que abarcan el rango de concentración de trabajo, tal como se muestra a continuación en la tabla 13.

Tabla 13. Determinación de la exactitud a partir del rango de concentración de nitratos

Concentración	0,1 mg NO ₃ ⁻ /L	0,2 mg NO ₃ ⁻ /L	30 mg NO ₃ ⁻ /L	40 mg NO ₃ ⁻ /L	50 mg NO ₃ ⁻ /L
Promedio	0,098	0,199	29,877	39,765	49,913
Desviación estándar	0,004	0,004	0,168	0,249	0,289
%CV	4,187	2,009	0,562	0,626	0,579
%E	3,563	1,239	0,513	0,691	0,291

Fuente: esta investigación

Como se observa en la tabla 13, los porcentajes de error para el rango de trabajo en nitratos son menor al 5%, el cual es el criterio de aceptación según el Instructivo de validación del Laboratorio, y los criterios de aceptación de exactitud del método normalizado, estipulados en el Standard Methods (2012).

4.2.4 Precisión en términos de reproducibilidad. Para determinar la precisión se realizó un análisis de concentraciones de 0,05 mg NO₃⁻/L, 1 mg NO₃⁻/L, 5 mg NO₃⁻/L y 10 mg NO₃⁻/L, además se prepararon muestras de agua potable de la siguiente manera: Agua Potable (AP), Agua Potable más Añadido de estándar de 1 mg NO₃⁻/L (AP + AD), de los cuales se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 14. Precisión para Nitratos en términos de reproducibilidad

Nitratos	Fuente de variación	Media	Varianza	F Calculado	F Crítica
0,05 mg NO₃⁻/L	Analista 1	0,04843	8,17E-06	1,263	4,414
	Analista 2	0,04688	1,08E-05		
1 mg NO₃⁻/L	Analista 1	1,01317	8,17E-06	0,771	4,414
	Analista 2	1,01433	9,34E-06		
5 mg NO₃⁻/L	Analista 1	4,93297	4,00E-05	0,669	4,414
	Analista 2	4,93064	4,07E-05		
10 mg NO₃⁻/L	Analista 1	10,0659	0,000167	0,375	4,414
	Analista 2	10,0697	0,000233		
AP	Analista 1	0,96281	1,15E-05	0,062	4,414
	Analista 2	0,96242	1,27E-05		
AP + AD	Analista 1	0,97210	1,68E-05	5,86E-15	4,414
	Analista 2	0,97210	2,02E-05		

Fuente: esta investigación

Como se puede observar en la tabla 14, no hay una diferencia significativa entre los valores de la media y la varianza entre el analista 1 y analista 2, además los F calculados siempre son inferiores al F crítico, lo cual asegura que el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃-B cumple con el criterio de reproducibilidad.

También se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para realizar el cálculo de la precisión en términos de reproducibilidad por repeticiones, para concentraciones de nitritos de 0,05 mg NO₃/L, 0,2 mg NO₃/L, 1 mg NO₃/L, 10 mg NO₃/L, 30 mg NO₃/L y 50 mg NO₃/L. También se prepararon muestras de la siguiente manera: AP, AP + AD y P.IDEAM; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. ANOVA para el método colorimétrico 4500-NO₃-B.

Nitratos	Fuente de Variación	Media	Varianza	F Calculado	F Crítica
0,05 mg NO₃/L	Repetición 1	0,05076	7,51E-06	1,200	5,192
	Repetición 2	0,04688	7,51E-06		
	Repetición 3	0,05076	7,51E-06		
	Repetición 4	0,04688	7,51E-06		
	Repetición 5	0,04688	7,51E-06		
0,2 mg NO₃/L	Repetición 1	0,19605	0	1,350	5,192
	Repetición 2	0,19992	3,00E-05		
	Repetición 3	0,19605	3,00E-05		
	Repetición 4	0,20186	7,51E-06		
	Repetición 5	0,19411	7,51E-06		
1 mg NO₃/L	Repetición 1	1	6,76E-05	2,907	5,192
	Repetición 2	1,01356	3,00E-05		
	Repetición 3	1,01550	7,51E-06		
	Repetición 4	1,01743	3,00E-05		
	Repetición 5	1,00387	6,76E-05		
10 mg NO₃/L	Repetición 1	10,0562	0,000188	1,433	5,192
	Repetición 2	10,0755	0,001689		
	Repetición 3	10,0659	0		
	Repetición 4	10,0949	0,000188		
	Repetición 5	10,1046	0,000750		
30 mg NO₃/L	Repetición 1	29,8867	0,029319	0,408	5,192
	Repetición 2	29,9351	0,057466		
	Repetición 3	29,8140	0,075057		
	Repetición 4	29,9835	0,010555		

		Repetición 5	29,7656	0,018764		
Nitratos	Fuente de Variación	Media	Varianza	F Calculado	F Crítica	
50 mg NO₃⁻/L	Repetición 1	49,8935	0,042220	4,162	5,192	
	Repetición 2	49,7966	0,004691			
	Repetición 3	50,3778	0,004691			
	Repetición 4	49,7966	0,004691			
	Repetición 5	49,6997	0,117277			
AP	Repetición 1	0,96707	0,000120	2,983	5,192	
	Repetición 2	0,97869	3,00E-05			
	Repetición 3	0,95544	0			
	Repetición 4	0,96513	6,76E-05			
	Repetición 5	0,96261	2,17E-05			
AP + AD	Repetición 1	0,98450	7,51E-06	2,655	5,192	
	Repetición 2	0,98837	7,51E-06			
	Repetición 3	0,96707	0,000480			
	Repetición 4	0,95932	3,00E-05			

Continuación tabla 15.

	Repetición 5	0,97869	3,00E-05		
P. IDEAM	Repetición 1	0,94963	7,51E-06	0,730	5,192
	Repetición 2	0,95544	0,000120		
	Repetición 3	0,94963	7,51E-06		
	Repetición 4	0,95932	0,000480		
	Repetición 5	0,93995	0,000120		

Fuente: esta investigación

En la tabla 15, se muestra la precisión en términos de reproducibilidad tomando como variable el número de repeticiones, en los que se realizó el análisis para la confirmación del método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃⁻B, y como se puede observar las medias y las varianzas obtenidas no tienen una diferencia significativa y las F calculadas son inferiores a la F crítica, lo cual indica que el método es reproducible.

4.2.5 Interferencia por Cloro. Se realizó una prueba para analizar la interferencia de Cloro en muestras de agua potable para la determinación de nitratos por el método Ultravioleta 4500-NO₃⁻B, para lo cual se realizó un análisis de varianza de precisión en términos de reproducibilidad por repeticiones, para concentraciones de nitratos de 1 mg NO₃⁻/L, 5 mg NO₃⁻/L, 10 mg NO₃⁻/L, y se prepararon muestras de la siguiente manera: AP + Cl, AP + Cl + ArHSO₄ y AP + Cl + ArHSO₄ + AD (1 mg NO₃⁻/L), (Datos adicionales en Anexo K).

Tabla 16. ANOVA para la interferencia por cloro

Nitratos	Fuente de Variación	Media	Varianza	F Calculado	F Crítica
1 mg NO ₃ ⁻ /L	Analista 1	1,020	3,009E-04	1,630	4,414
	Analista 2	1,012	6,738E-05		
5 mg NO ₃ ⁻ /L	Analista 1	4,866	7,346E-04	0,152	4,414
	Analista 2	4,860	1,204E-03		
10 mg NO ₃ ⁻ /L	Analista 1	9,861	2,268E-03	0,116	4,414
	Analista 2	9,853	2,919E-03		
	Analista 2	0,835	4,270E-05		
AP + Cl	Analista 1	0,795	4,170E-06	0,545	4,414
	Analista 2	0,795	6,839E-06		
AP + Cl + ArHSO ₄	Analista 1	0,833	3,086E-05	0,184	4,414
	Analista 2	0,835	4,270E-05		
AP + Cl + ArHSO ₄ + AD (1 mg NO ₃ ⁻ /L)	Analista 1	0,833	3,086E-05	0,184	4,414
	Analista 2	0,835	4,270E-05		

Fuente: esta investigación

Como se puede observar en la Tabla 16, al adicionar arseniato de sodio (ArHSO_4) a una muestra de agua potable para eliminar al interferencia por cloro, se evidencia un cambio en la media que corresponde a la concentración medida, lo cual permite concluir que la interferencia por cloro presente en el agua interfiere en los resultados finales para la determinación de nitratos en agua.

Además, como se puede observar en la Tabla 18, las medias y las varianzas obtenidas no tienen una diferencia significativa y las F calculadas son inferiores a la F crítica, lo cual indica que el análisis de la interferencia por cloro en agua para la determinación de nitratos es válida y es reproducible.

4.2.6. Recuperación. Para realizar el cálculo del porcentaje de recuperación se usaron estándares de concentraciones de 0,05 mg NO_3^-/L , 0,2 mg NO_3^-/L , 1 mg NO_3^-/L , 10 mg NO_3^-/L , 30 mg NO_3^-/L y 50 mg NO_3^-/L , también se prepararon muestras de la siguiente manera: AP, AP + AD y P.IDEAM, de los cuales se obtuvieron los resultados reportados en la Tabla 17.

Tabla 17. Resultados de Recuperación para el método por espectrofotometría ultravioleta 4500- NO_3^- -B

Rango						
Concentración	0,05 mg NO_3^-/L	0,2 mg NO_3^-/L	1 mg NO_3^-/L	10 mg NO_3^-/L	30 mg NO_3^-/L	50 mg NO_3^-/L
Promedio	0,048	0,198	1,010	10,079	29,877	49,913
Desviación estándar	0,003	0,004	0,009	0,026	0,168	0,289
%CV	5,903	2,108	0,857	0,257	0,562	0,579
%Recuperación	96,9	98,8	101,0	100,8	99,6	99,8
Muestras						
Tipo de Muestra	AP		AP + AD		P. IDEAM	
Promedio	0,966		0,976		0,951	
Desviación estándar	0,009		0,014		0,011	
%CV	0,983		1,423		1,197	
%Recuperación	N.A.		105,2		95,1	

Fuente: esta investigación

En la tabla 17 se puede observar que todos los porcentajes de recuperación están entre 90 y 110%, lo cual teniendo en cuenta el instructivo de validación cumple con el criterio de aceptación.

4.2.7 Estimación de la Incertidumbre de Medición de Nitratos

4.2.7.1 Mensurando. Se mide la absorbancia por parte del ión nitrato a 220 y 275 nm, mediante el método por espectrofotometría UV-Vis. La Lectura de Absorbancia a 220 nm es directamente proporcional a la concentración de Nitratos en la muestra, mientras que la lectura a 275 nm es proporcional a la concentración de la interferencia por materia orgánica.

4.2.7.2 Modelo matemático. Los cálculos detallados de la estimación de la incertidumbre para el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃⁻B, se encuentran en el anexo D.

La ecuación típica que se obtiene al usar la técnica de ultravioleta - visible es la de la línea recta como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\alpha = b_1\gamma + b_0 \quad \alpha = b_1\gamma + b_0 \quad \text{Ecuación 7}$$

De la ecuación se despeja la componente que corresponde a la concentración, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\gamma = \frac{(\alpha - b_0)}{b_1} \quad \gamma = \frac{(\alpha - b_0)}{b_1} \quad \text{Ecuación 8}$$

Dónde:

γ = La concentración de masa (mg/L) de NO₃⁻, resultado de la curva de calibración.

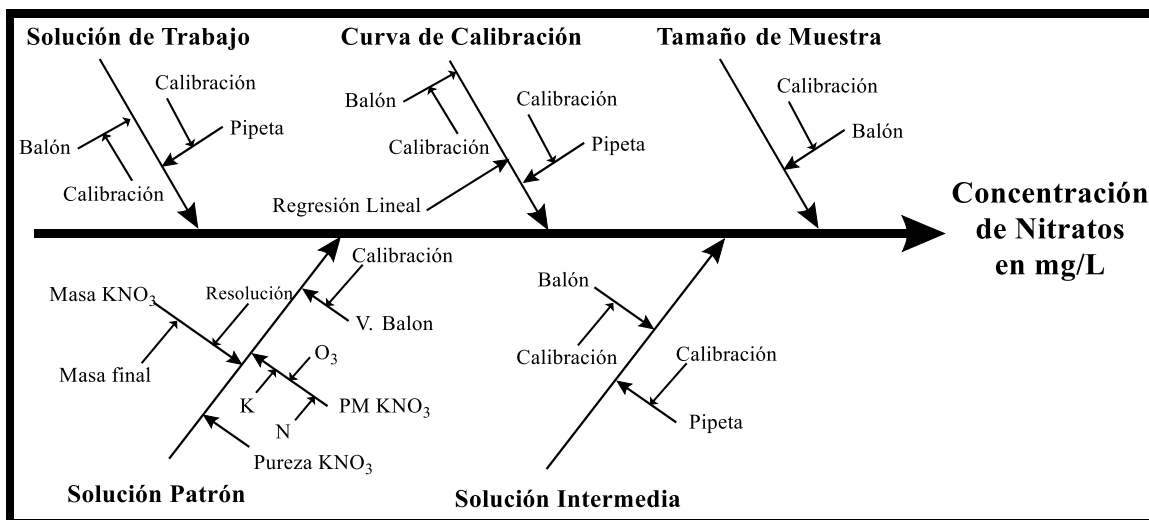
α = Es la respuesta observada del instrumento, en este caso la unidad es la absorbancia.

b_0 =La ordenada al origen

b_1 =La pendiente calculada.

4.2.7.3 Identificación de las Fuentes de Incertidumbre. Empleando los datos de confirmación y considerando trazable el material volumétrico se plantea una estrategia para la estimación de la incertidumbre así como se muestra en el siguiente diagrama causa-efecto.

Figura 6. Diagrama Causa-Efecto para Nitratos



Fuente: esta investigación

Posteriormente se llevaron a cabo los cálculos para la estimación de la incertidumbre expandida, teniendo en cuenta todas las causas de variabilidad descritas en la Figura 6, para las cuales se realizaron todos los cálculos necesarios, los cuales se describen en el anexo C.

Los resultados obtenidos de la estimación de la incertidumbre para el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃⁻B, se expresan en la tabla 18, la cual se muestra a continuación:

Tabla 18. Tabla resumen de Incertidumbre para el análisis de Nitratos

Fuente de Incertidumbre	Valor de Medición	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada (por fuente)	Incertidumbre estándar Relativa
Concentración Solución Patrón				
Variabilidad por patrón KNO ₃				0,00171
Masa de KNO ₃	0,7214		0,00019	0,00026
Masa molar KNO ₃	101,103		0,00019	0,00000
Pureza KNO ₃	0,993	0,00167	0,00167	0,00168
Volumen matraz de 1000mL	1000		0,16337	0,00016
Concentración Solución Intermedia				
Variabilidad Solución Intermedia KNO ₃				0,00086
Balón	500		0,10210	0,00020
Pipeta	10		0,00838	0,00084
Concentración Solución de Trabajo				

Variabilidad Solución De Trabajo KNO ₃			0,00130
Balón	100	0,04094	0,00041
Pipeta	5	0,00619	0,00124
Curva de Calibración			
Variabilidad debida a la Curva de Calibración			0,00140
Regresión Lineal	0,05		0,00038
	0,1		0,00019
	0,2		0,00009
	0,5		0,00004
	1		0,00002
	2		0,00001
	3		0,00001
Balón	50	0,02451	0,00049
Pipeta	5	0,00619	0,00124
Tamaño de Muestra			
Variabilidad debida al Tamaño de Muestra			0,00049
Balón	50	0,02463	0,00049
Incertidumbre Combinada	Estándar		0,00275
Incertidumbre Expandida (K=2)			0,00550

Fuente: esta investigación

4.2.8 Expresión de Resultados. Como se puede evidenciar en la tabla 19, la incertidumbre expandida obtenida para el método de análisis de nitratos es de 0,00550, que al ser multiplicada por cualquier valor de concentración de nitratos obtenido dará como resultado la incertidumbre de dicha concentración de la siguiente manera:

$$[\text{NO}_3^-] \text{ muestra} = [\text{NO}_3^-] \text{ muestra} \pm 0,0055 * [\text{NO}_3^-] \text{ muestra}$$

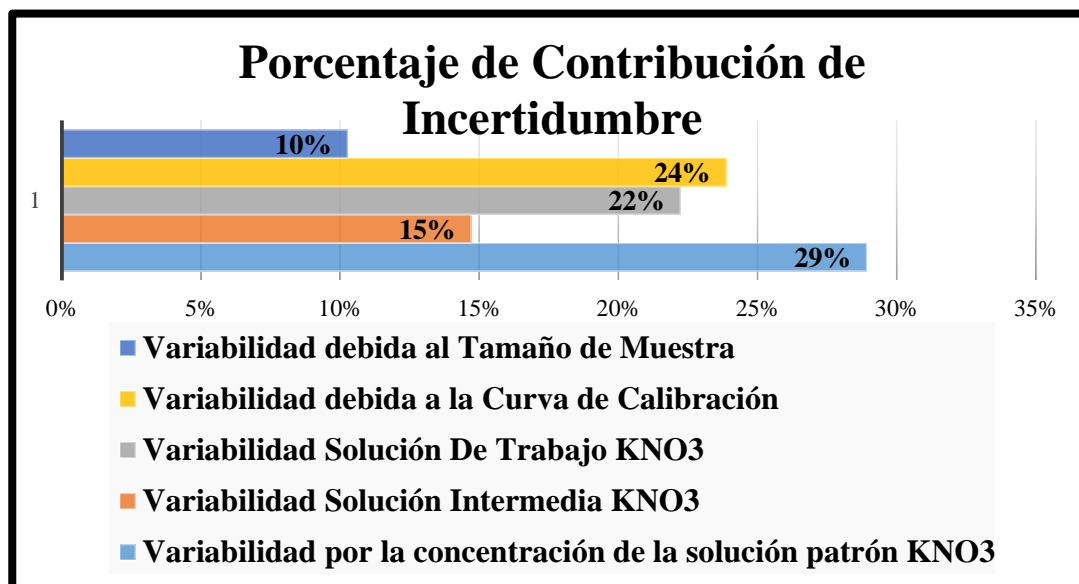
Por ejemplo para una concentración de 1 mg NO₃⁻/L, el resultado se expresa así:

$$1 \text{ mg NO}_3^-/\text{L} \pm 0,006 \text{ mg NO}_3^-/\text{L}$$

Con los resultados de la incertidumbre estándar relativa mostrados en la tabla 18, se pudo realizar un gráfico de barras, en el cual se evidencian los porcentaje de contribución de incertidumbre teniendo en cuenta todas las causas de variabilidad que se describen en la Figura 6, obteniendo como resultado que la causa con mayor contribución de incertidumbre para la determinación de nitrato por el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃-B, es la debida a la Solución Patrón de KNO₃, con un porcentaje del 29%, seguida de la contribución debida a la curva de calibración, con un porcentaje del 24%, posteriormente la contribución

debida a la solución de trabajo con un 22%, seguida de la contribución debida a la solución intermedia con un 15%, y por último, la contribución debida al tamaño de muestra con un porcentaje del 10%, como se puede evidenciar en la gráfica 5.

Gráfica 5. Porcentaje de Contribución de Incertidumbre para Nitratos



Fuente: esta investigación

Como se puede observar en la Gráfica 5, la mayor contribución a la variabilidad de la incertidumbre para Nitritos también es la otorgada por la solución Patrón en este caso de KNO₃, ya que también existen muchas más variables internas que aportan incertidumbre en comparación a las demás fuentes principales de incertidumbre en la determinación de Nitratos, así como se puede evidenciar en la Tabla 18.

Analizando los datos obtenidos en cuanto a precisión y exactitud en los trabajos descritos en el apartado de antecedentes, se puede corroborar que los resultados que se obtuvieron en este trabajo son verídicos y cumplen con los criterios de aceptación propuestos.

CONCLUSIONES

- Se confirmó los métodos colorimétrico 4500–NO₂-B para la determinación de Nitritos y el método por espectrofotometría ultravioleta 4500–NO₃-B para la determinación de Nitratos a través de los parámetros característicos como: Límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión bajo condiciones de repetibilidad, reproducibilidad, rango de trabajo y porcentaje de recuperación; lo que permitió concluir que los métodos son válidos para el alcance y uso propuesto.
- El método colorimétrico 4500–NO₂-B para la determinación de nitritos y el método por espectrofotometría ultravioleta 4500–NO₃-B para la determinación de nitratos son efectivos para las matrices de agua potable, cruda, residual doméstica, residual industrial y lixiviados y para la matriz de agua potable respectivamente, ya que cumplen con todos los criterios de aceptación descritos en el instructivo de validación del laboratorio de análisis químico y aguas de la Universidad de Nariño.
- Se estimó la incertidumbre de medición asociada a la determinación de Nitratos y Nitritos, lo que genera una mayor confianza en la validez de los resultados, permitiendo 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.
- Lo más importante a la hora de realizar una confirmación de un método son los analitos a determinar, por lo que es necesario cumplir a cabalidad toda la normatividad, tanto dentro y fuera (Muestro) del laboratorio, ya que de esto va a depender la veracidad y la confiabilidad de los resultados obtenidos

RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar un método diferente para el análisis de nitratos que logre abarcar una amplia variedad de matrices acuosas ya que el método colorimétrico 4500-NO₂-B solo es aplicable para aguas potables.
- Se recomienda efectuar de manera periódica, actividades relacionadas con el aseguramiento de la calidad de los resultados, entre los que figuran: inducción y seguimiento del personal que realiza los ensayos fisicoquímicos de nitritos y nitratos, control de condiciones ambientales, cartas de control de los métodos, elaboración de curvas de calibración cuando se prepare nuevos reactivos o se adquieran nuevos y verificación constante del material volumétrico usados en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la Universidad de Nariño
- Los ensayos de precisión de un método en términos de repetibilidad y reproducibilidad, se recomiendan realizarse con los analistas que prestan el servicio en el laboratorio, para darle mayor confiabilidad y veracidad a los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUA, I. N. E. N. Calidad del Agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras, Quito, 1998. 145p.
- ALBERT, L. A. Introducción a la toxicológica ambiental. Metepec, Estado de México: Gobierno del Estado de México, 1997. 286p.
- ALMEIDA, M. Validación de métodos analíticos para la determinación de nitratos, nitritos, ortofosfatos y nitrógeno amoniacal en aguas, en el laboratorio de SIAMA LTDA. Trabajo de Pregrado Universidad Santo Tomás. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás, 2016. 67p.
- ANTÓN, A., y LIZASO, J. Nitritos, nitratos y nitrosaminas. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria, 2001. p. 34-35.
- BOLAÑOS ALFARO, J. D.; CORDERO CASTRO, G. y SEGURA ARAYA, G. Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). Revista Tecnología en Marcha, vol. 30, No. 4, 2017. p. 15-27.
- CAMARGO, J. A. y ALONSO, A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. Revista Ecosistemas, vol. 16, No. 2, 2007. 83p.
- CASILLA QUISPE, S. Evaluación de la calidad de agua en los diferentes puntos de descarga de la cuenca del Rio Suchez. Tesis, Puno: Perú: Universidad Nacional del Altiplano., 2014. 24p.
- DE MIGUEL-FERNÁNDEZ, C., & VÁZQUEZ-TASET, Y. M. (2006). Origen de los nitratos (NO₃) y nitritos (NO₂) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas. Revista Minería y Geología, vol. 22, No. 3, 2006. 9p.
- DELGADO M. N., G.; BARRENETXEA, C. O.; SERRANO, A. P.; BLANCO, J. M. A. y Vidal F., J. R. Contaminación ambiental: una visión desde la química. Editorial Paraninfo, 2004. 66p.
- DUFFAU y otros. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "aspectos generales sobre la validación de métodos". Guía técnica, vol. 1) No. 2, 2010. 37p.

EURACHEM. Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. CITAC. , 2012. 35p.

EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement. Crown (IS), 1995. p. 25-46.

FIGUEIRAS J. Validación de un método espectrofotométrico UV - VIS para la determinación cuantitativa de fenoles totales en la crema VIMANG. Tesis en la opción al Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de La Habana. Facultad de Farmacología. Departamento de Lic. en Ciencias Farmacéuticas, 1999. p.19-29.

GALLEGO, J. M. y GUTIÉRREZ, L. H. El Sistema Nacional de Calidad en Colombia: Un análisis cualitativo del desarrollo del sistema. Inter-American Development Bank, 2016. 101p

GARAY, J.; PANIZZO, L.; LESMES, L.; RAMÍREZ, G. y SÁNCHEZ, J. Manual de técnicas analíticas de parámetros físico-químicos y contaminantes marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, 1993. 50p.

GARCÍA MONTOYA, E. (2001). Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2001. 91p.

GARCÍA MONTOYA, E. (2001). Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2001. 86p.

GOMARA, F. L., CORRER, C. J., SATO, M. E. O. y PONTAROLO, R. Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido fólico. *Ars Pharmaceutica*, Vol. 45 No. 2, 2004. 145p.

GREEN, L. C., WAGNER, D. A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P. L., WISHNOK, J. S y TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Analytical biochemistry*, vol. 126 No. 1, 1982. 238p.

HENAO, F. Validación y Cálculo de Incertidumbre para el Ensayo de Nitritos y Nitratos en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, 2014. 61p.

HERNÁNDEZ, M. M. P. Estimación de incertidumbres. Guía GUM. *Revista Española de Metrología*, vol. 1, 2012. 490p.

LLAMOSAS, L. E., CONTRERAS, L. G. M., y ARBELAEZ, M. B. Estudio de repetibilidad y reproducibilidad utilizando el método de promedios y rangos para el

aseguramiento de la calidad de los resultados de calibración de acuerdo con la norma técnica NTCISO/IEC 17025. Scientia et technica, vol. 1 No.35, 2007. 455p

MARTÍNEZ FREGOZO, F. Efecto de inhibición mutagénica del nitrito de sodio por acción quimiopreventiva de la capsaicina en ratón. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, México, 2013. 67p.

METCALF y EDDY. Ingeniería de las aguas residuales. (vol. I), Madrid: McGraw-Hill, 1998. 22p.

MOLINA, S. Estandarización de métodos de análisis para la determinación de Nitratos, Nitritos, Compuestos Fenólicos y, aceites y grasas utilizadas como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales. Tesis de pregrado. Bucaramanga: Universidad de Santander,. 2010. 76p.

MUNN, R. E. Global environmental monitoring system (GEMS). Scope reports, 2013. p. 34-35.

MUSTAFA, A. M., RODRÍGUEZ, N. L., y Chauvet, S., 2002. 18p.

NATIONAL ASSOCIATION OF TESTING AUTHORITIES (NATA). Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. 2013. 12p.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD –OMS, P. A. S. Guías para la calidad del agua potable. Estados Unidos: Organization of American States, General Secretariat, 2006. 56p.

PACHECO, J., y CABRERA SANSORES, A. Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. 2003. p. 18-20.

PEREDA, J. A. O.; NAVARRO, A. A.; ARZO, M. A.; ESCARPENTER, F. C.; IGLESIAS, M. J.; OLIVER, A. P. y TAPIA, M. T. M. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre una cuestión planteada por la Dirección Ejecutiva de la AESAN, en relación con el riesgo de la posible presencia de N-nitrosaminas en productos cárnicos crudos adobados cuando se someten a tratamientos culinarios de asado o fritura. Revista del Comité Científico de la AESAN, vol. 8, 2008. 40p.

PÉREZ PARRA, J. A. Manual de tratamiento de agua, 1981. 167p.

PÉREZ URQUIZA, M. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. México D.F, 2008. 65p.

QUINTERO A. Eliminación de Interferencias en la Cuantificación de Nitritos en Agua Potable y Residual; Tesis de grado. México: Universidad Tecnológica del Valle del Mezquital, Ingeniería Profesional en Seguridad e Inocuidad Alimentaria, 2014. 120p.

RICE, E. and BRIDGEWATER, L. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012. 490p.

SEVERICHE, C. A., y GONZÁLEZ, H. (2012). Evaluación analítica para la determinación de sulfatos en aguas por método turbidimétrico modificado. Revista: Ingenierías USBMed, vol. 3 No. 2. p. 6-11.

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., WEST, D. M. y CROUCH, S. R. Métodos polarográficos y voltamétricos de impulsos. Fundamentos de Química Analítica. Octava Edición. México: Thomson, 2005. 186p

TAPIA, M. Manual de Saneamiento del agua: Cloración y microbiología del agua. Facultad de Medicina Dr. Ignacio Chávez. Morelia, 2001. 16p.

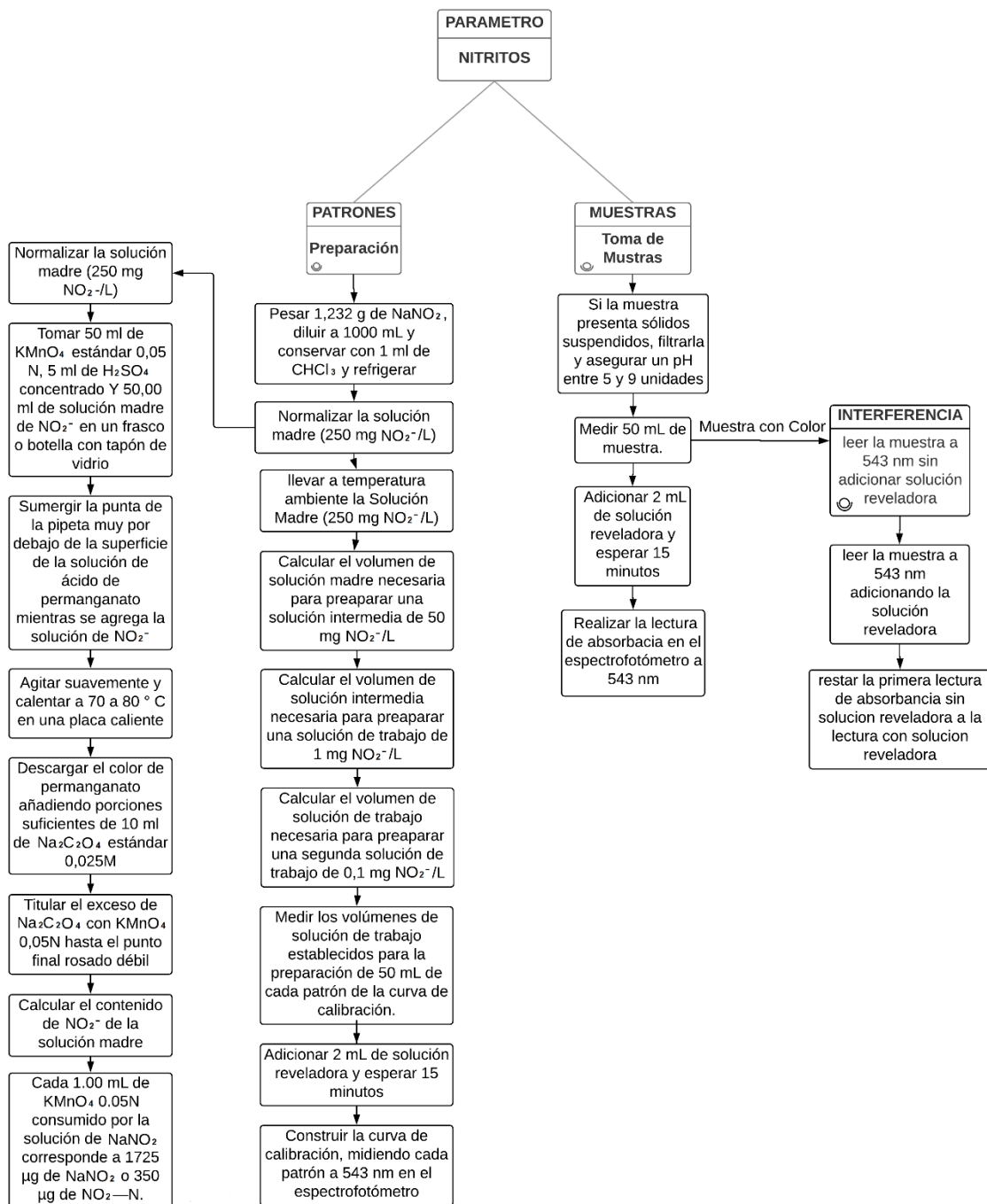
VALENCIA, J. Estudio del impacto de la evaluación de la Conformidad en Colombia. Proyecto de investigación. Medellín: Universidad EAFIT Escuela de Administración, 2012. 127p.

WALFISH, S. Analytical methods: a statistical perspective on the ICH Q2A and Q2B guidelines for validation of analytical methods. BioPharm International, 19(12), 2006. 47p.

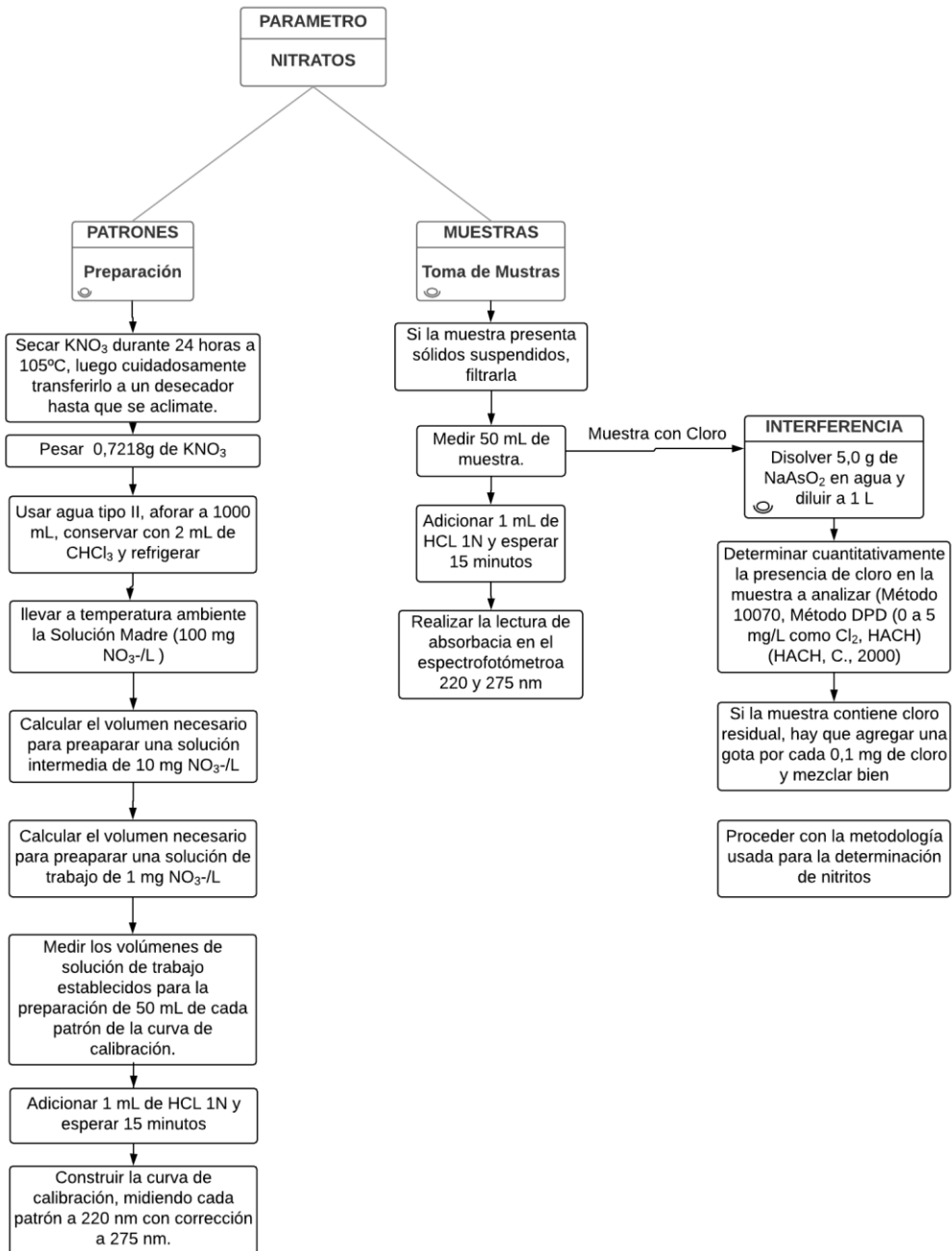
WALPOLE, R. E., MYERS, R. H., y MYERS, S. L. Probabilidad y estadística para ingenieros. Pearson Educación, 1999. 56p.

ANEXOS

Anexo A. Determinación de Nitritos en Matrices Ambientales



Anexo B. Determinación de Nitratos en Agua Potable



Anexo C. Estimación de La incertidumbre de medición de Nitritos

Fuentes que aportan incertidumbre para el método de análisis de nitritos. Cálculos

1. Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución patrón de NaNO_2 (250 mg NO_2^-/L)

1.1. Masa de NaNO_2

Se halla con los datos del certificado de calibración de la balanza la incertidumbre original de la masa de NaNO_2 pesada para la preparación de la solución patrón. Mediante la $U=U_0+(b* mwi)$ **Ecuación 9:**

$$U=U_0+(b* mwi) \quad \text{Ecuación 9}$$

Dónde:

U : Incertidumbre original

U_0 = Resolución entregada por el fabricante (0,0002646g)

b = 8,35501E-07

mwi = Masa de NaNO_2 pesada (1,2320g)

Los valores de U_0 y de b , se obtuvieron a partir del certificado de calibración de la balanza.

$$U= 0,0002650$$

Se continúa con el cálculo de la incertidumbre estándar aplicando la $uxi = \frac{u}{k}$ Ecuación 10, teniendo en cuenta que es una distribución normal y el factor de cobertura ($k=2$) proporcionado por el fabricante es 2.

$$uxi = \frac{u}{k} \quad \text{Ecuación 10}$$

Dónde:

uxi : Incertidumbre estándar de la balanza.

U : Incertidumbre original reportada en el certificado.

k : Factor de cobertura.

$$u_{xi} = 0,0001325$$

1.1.1. Incertidumbre por resolución de la balanza:

Para calcular la incertidumbre de la resolución de la balanza se aplican las

ecuaciones $U = U_0 + (b * mwi)$ Ecuación 9 y $u_{xi} = \frac{u}{k}$ Ecuación 10, teniendo en cuenta que en esta ocasión la masa de NaNO_2 vale 0.

$$U = 0,0002646$$

$$u_{xi} = 0,0001323$$

Para el cálculo de la incertidumbre combinada UC_{xi} ($UC_{xi} = \sqrt{(u_{xia})^2 + (u_{xib})^2}$ Ecuación 11), la expresión u_{xia} hará referencia a la incertidumbre estándar de la masa de NaNO_2 , mientras que u_{xib} a la incertidumbre estándar de la resolución de la balanza.

$$UC_{xi} = \sqrt{(u_{xia})^2 + (u_{xib})^2} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$UC_{xi} = 0,00018725$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa de NaNO_2 (UR_m) se refiere a la incertidumbre combinada dividida entre el valor estimado (X_i) que en este caso es la masa de NaNO_2 pesada inicialmente (1.2320 g).

$$UR_m = \frac{UC_{xi}}{x_i} \quad \text{Ecuación 12}$$

Dónde:

UR_m: Incertidumbre estándar relativa de la masa de NaNO_2

UC_{xi}: incertidumbre combinada

X_i: valor estimado

$$UR_m = 0,000151991$$

1.2. Incertidumbre debida a la masa molar de NaNO_2 . Para la determinación de la incertidumbre estándar de la masa molar del NaNO_2 , primero se halla la incertidumbre estándar de cada elemento, luego se procede a determinar la

incertidumbre combinada del NaNO_2 . Para estos cálculos se tuvo en cuenta que esta es una distribución rectangular con la siguiente ecuación.

$$U_{xi} = \frac{\alpha}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 13}$$

Dónde:

α : Incertidumbre original

Tabla 19. Incertidumbre estándar de los átomos Na, N y O

Elemento	Peso molar	Incertidumbre original	Incertidumbre estándar
Na	22,9898	0,00001	0,0000058
N	14,0067	0,0001	0,0000577
O ₂	31,9988	0,0003	0,0001732

Fuente: esta investigación

La incertidumbre combinada para el NaNO_2 , se halla con la siguiente ecuación:

$$UC_{\text{NaNO}_2} = \sqrt{(u\text{Na})^2 + (u\text{N})^2 + (u\text{O}_2)^2} \quad \text{Ecuación 14}$$

Dónde:

UC_{NaNO_2} : Incertidumbre combinada de NaNO_2

$u\text{Na}$, $u\text{N}$, $u\text{O}_2$: Incertidumbre estándar de Na, N y O₂ respectivamente.

$$UC_{\text{NaNO}_2} = 0,00018267$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa molar de NaNO_2 (URmm) se refiere a la incertidumbre combinada dividida entre el valor estimado (**Xi**) que en este caso es la masa molecular de NaNO_2 (68,9953 g/mol).

$$URmm = 0,000002648$$

1.3 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRÓN (volumen final 1000 mL)

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 del material volumétrico.

Los datos para evaluar el efecto de la variación de la temperatura, se obtienen a partir de la verificación volumétrica del material de vidrio, sin embargo, debido a que no se cuenta con la información relacionada con el efecto de la variación de la temperatura; para determinar la incertidumbre del aforo se tuvo en cuenta solo la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23.

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,4)

$$U_{ti} = 0,1632993$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,01549)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0048988$$

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.

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa n

V_{nb} : volumen nominal del b_c

V : volumen del balón

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

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

$U_{vnb} = 0,000163373$

1.3. Incertidumbre de la pureza del reactivo NaNO_2 . (U_r)

Si el reactivo empleado como patrón en la curva de calibración, es un material certificado, la incertidumbre del mismo se obtiene del certificado. Así, si la indicación del fabricante es que la pureza es igual al 99%, la incertidumbre se calcularía como (100-99)%, si es mayor del 99%, se calcularía como $(100-99)\%/\sqrt{12}$ y por lo tanto si es igual a 100, entonces la incertidumbre de la pureza del reactivo es cero. En este caso a partir del certificado de análisis del reactivo NaNO_2 emitido por el fabricante (Panreac) se encontró que la pureza del reactivo es del 99,7 %, por lo tanto:

$(U_r) = 0,0028868$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución patrón de NaNO_2 , se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{NaNO_2} = \sqrt{(URm)^2 + (URmm)^2 + (U_{vn})^2 + (U_r)^2} \quad \text{Ecuación 18}$$

Dónde:

U_{NaNO_2} : Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución patrón de NaNO_2

URm : Incertidumbre estándar relativa de la masa de NaNO_2

URmm: Incertidumbre estándar relativa de la masa molar de NaNO_2

Uvn: Incertidumbre relativa del volumen nominal

Ur: Incertidumbre de la pureza del reactivo NaNO_2

$$U_{\text{NaNO}_2} = 0,001751537$$

2. INCERTIDUMBRE DEBIDA A LA PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA (25 mg NO_2^- /L de nitritos)

La solución de 25 mg NO_2^- /L de nitritos se preparó a partir de la solución madre de 250 mg NO_2^- /L, 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.

2.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA (volumen final 500 mL)

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 intermedia, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado de 500 mL aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 10 mL usada para la preparación de la solución intermedia, obteniendo los siguientes resultados:

2.1.1. Balón Aforado 500 MI

$$U_{it} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,25)

$U_{ti} = 0,1020621$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00925)

n: Número de mediciones (10).

$U_{rep} = 0,0029253$

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Vnb: Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$U_{vnb} = 0,000204208$

2.1.2. Pipeta 10 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,02)

$U_{tl} = 0,0081650$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00602)

n: Número de mediciones (10).

$U_{rep} = 0,0019032$

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

V_{np} : Volumen nominal de la pipeta

V: Volumen de la pipeta

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

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

$U_{vnp} = 0,000838383$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución intermedia, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{SI} = \sqrt{(U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2} \quad \text{Ecuación 19}$$

Dónde:

U_{SI} : Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución intermedia

Uvnb: Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Uvnp: Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

U_{SI} = 0,000862895

3. INCERTIDUMBRE DEBIDA A LA PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE TRABAJO (5 mg NO₂⁻/L) de nitritos.

La solución de trabajo de 5 mg NO₂⁻/L de nitritos se preparó a partir de la solución intermedia de 50 mg NO₂⁻/L de nitritos, 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.

3.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA

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 del balón aforado de 250 mL aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 5 mL usada para la preparación de la solución intermedia, obteniendo los siguientes resultados:

3.1.1. BALÓN AFORADO 250 ML

$$U_{it} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{it}: Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,15)

$$U_{tl} = 0,0612372$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0082)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0025931$$

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Vnb: Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,000245168$$

3.1.2. Pipeta 5 mL

3.1.3.

$$U_{tl} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{tl} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,015)

$U_{tl} = 0,0061237$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00288)

n: Número de mediciones (10).

$U_{rep} = 0,0009107$

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

V_{np} : Volumen nominal de la pipeta

V: Volumen de la pipeta

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

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

$U_{vnp} = 0,001238213$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución de trabajo, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{ST} = \sqrt{(U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2} \quad \text{Ecuación 20}$$

Dónde:

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

Uvnb: Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Uvnp: Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

U_{ST} = 0,001262252

4. Incertidumbre de debida a la c ración

Para elaborar la curva de calibración se realizaron estándares de las siguientes concentraciones: 0,01 mg NO₂⁻/L, 0,05 mg NO₂⁻/L, 0,07 mg NO₂⁻/L, 0,10 mg NO₂⁻/L, 0,20 mg NO₂⁻/L y 0,25 mg NO₂⁻/L.

4.1. Regresión Lineal

Para calcular la incertidumbre debida a la curva de calibración se aplica la ecuación 25.

$$U_{NO_2^-} = \frac{S}{b1} \sqrt{\left(\frac{1}{p}\right) + \left(\frac{1}{n}\right) + \left(\left(\gamma_{(PT)} - \gamma_{(MRC)}\right)^2 / S_{XX}\right)} \quad \text{Ecuación 21}$$

Dónde:

$U_{NO_2^-}$	Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado.
S	Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal (0,0000181)
b1	La pendiente calculada (2,8961)
n	El número de réplicas de la solución en estudio (2)
p	Número de puntos en la curva de calibración (6)
n	La concentración en estudio. (0,1 mg NO ₂ ⁻ /L)
$\gamma_{(PT)}$	El promedio de las concentraciones calculadas. (0,113 mg NO ₂ ⁻ /L)
γ_{MRC}	Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas
S_{XX}	(0,043)

U_{NO₂⁻} = 0,00005

El procedimiento anterior se repite para cada uno de los puntos de concentración de la curva de calibración, para los cuales se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 20. Incertidumbre de puntos de concentración de la curva de calibración de nitritos

Concentración mg NO ₂ ⁻ /L	U _{NO₂⁻}
0,01	0,00060
0,05	0,00011
0,07	0,00008
0,1	0,00005
0,2	0,00003
0,25	0,00003

Fuente: esta investigación

4.2. 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:

$$U_{RL} = \sqrt{\sum (U_{NO_2^-})^2} \quad \text{Ecuación 22}$$

Dónde:

U_{RL}: Incertidumbre estándar relativa de la regresión lineal de la curva de calibración

U_{NO₂⁻} : Incertidumbre estándar relativa de cada uno de los puntos de concentración de la curva

$$U_{RL} = 0,0009392$$

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 aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del mismo, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 20 mL usada para la preparación de los estándares de la curva, obteniendo los siguientes resultados:

4.2.1. Balón Aforado 50 mL

$$U_{ii} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{tl} : Incertidumbre estándar de l al volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,06)

$U_{tl} = 0,0244949$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0082)

n: Número de mediciones (10).

$U_{rep} = 0,0025931$

Para calcular la incertidumbre combinada para el balón aforado, se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Vnb: Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$U_{vnb} = 0,00049$

4.2.2. Pipeta 20 mL

$$U_{it} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{it} : Incertidumbre estándar de la I volumétrico

Tol: tolerancia del material volumetrico (0,025)

$$U_{it} = 0,0102062$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0005)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0001581$$

Para calcular la incertidumbre combinada para la pipeta, se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{it}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

V_{np} : Volumen nominal de la pipeta

V: Volumen de la pipeta

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

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

$$U_{vnp} = 0,00051$$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la curva de calibración, se halla mediante

$$U_{CC} = \sqrt{(U_{RL})^2 + (U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2}$$

Dónde:

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

U_{RL} : Incertidumbre debida a la regresión lineal de la curva de calibración

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

$$U_{CC} = 0,00094$$

5. 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 cual es el volumen que indica el método colorimétrico 4500-NO₂-B, para adicionar una solución reveladora, previo a la lectura en el espectrofotómetro.

5.1. Balón Aforado 50 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,06)

$$U_{ti} = 0,0244949$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0082)
 n: Número de mediciones (10)

$$U_{rep} = 0,0025931$$

Para calcular la incertidumbre combinada se utilizó la siguiente fórmula:

balón aforado, se utilizó la

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

vnb : Volumen nominal del balón

v : Volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,00049$$

U_{vnb} en este caso equivale a la incertidumbre debida al tamaño de muestra (U_{TM}) ya que solo se tuvo en cuenta la incertidumbre aportada por el balón aforado de 50 ml:

$$U_{TM} = 0,00049$$

6. Incertidumbre Estándar Combinada para el análisis de Nitritos

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

$$U_{EC} = \sqrt{(U_{NaNO_2^-})^2 + (U_{SI})^2 + (U_{ST})^2 + (U_{CC})^2 + (U_{TM})^2} \quad \text{Ecuación 24}$$

Dónde:

Anexo D. Estimación de La incertidumbre de medición de Nitratos

Fuentes que aportan incertidumbre para el método de análisis de nitratos.

Cálculos

1. Incertidumbre debida a la Concentración de la Solución patrón de KNO_3 (100 mg NO_3^-/L)

1.1. Masa de KNO_3

Se halla con los datos del certificado de calibración de la balanza la incertidumbre original de la masa de KNO_3 pesada para la preparación de la solución patrón. Mediante la $U=U_0+(b*mw_i)$ **Ecuación 9:**

$$U=U_0+(b*mw_i) \quad \text{Ecuación 26}$$

Dónde:

U : Incertidumbre original

U_0 = Resolución entregada por el fabricante (0,0002646g)

b = 8,35501E-07

mw_i = Masa de KNO_3 pesada (0,7214g)

Los valores de U_0 y de b , se obtuvieron a partir del certificado de calibración de la balanza.

$$U= 0,00026460$$

Se continúa con el cálculo de la incertidumbre estándar aplicando la $uxi = \frac{u}{k}$ Ecuación 10, teniendo en cuenta que es una distribución normal y el factor de cobertura ($k=2$) proporcionado por el fabricante es 2.

$$uxi = \frac{u}{k} \quad \text{Ecuación 27}$$

Dónde:

uxi : Incertidumbre estándar de la balanza.

U: Incertidumbre original reportada en el certificado.

k: Factor de cobertura.

$$uxi = 0,0001323$$

1.1.1. Incertidumbre por resolución de la balanza:

Para calcular la incertidumbre de la resolución de la balanza se aplican las

ecuaciones $U = U_0 + (b * mwi)$ Ecuación 9 y $uxi = \frac{u}{k}$ Ecuación 10,

teniendo en cuenta que en esta ocasión la masa de KNO_3 vale 0.

$$U = 0,0002648$$

$$uxi = 0,0001324$$

Para el cálculo de la incertidumbre combinada **UCxi** ($UCxi = \sqrt{(uxia)^2 + (uxib)^2}$ Ecuación 11), la expresión *uxia* hará referencia a la incertidumbre estándar de la masa de KNO_3 , mientras que *uxib* a la incertidumbre estándar de la resolución de la balanza.

$$UCxi = \sqrt{(uxia)^2 + (uxib)^2} \quad \text{Ecuación 28}$$

$$UCxi = 0,0001872$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa de KNO_3 (URm) se refiere a la incertidumbre combinada dividida entre el valor estimado (Xi) que en este caso es la masa de KNO_3 pesada inicialmente (0,7214 g).

$$URm = \frac{Ucxi}{xi} \quad \text{Ecuación 29}$$

Dónde:

URm: Incertidumbre estándar relativa de la masa de KNO_3

Ucxi: incertidumbre combinada

Xi: valor estimado

$$UR_m = 0,0002595$$

1.2. Incertidumbre debida a la masa molar de KNO_3

Para la determinación de la incertidumbre estándar de la masa molar del KNO_3 , primero se halla la incertidumbre estándar de cada elemento, luego se procede a determinar la incertidumbre combinada del KNO_3 . Para estos cálculos se tuvo en cuenta que esta es una distribución rectangular con la siguiente ecuación.

$$U_{xi} = \frac{\alpha}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 30}$$

Dónde:

α : Incertidumbre original

Tabla 21. Incertidumbre estándar de los átomos K, N y O

Elemento	Peso molar	Incertidumbre original	Incertidumbre estándar
K	39,0983	0,0001	0,0000577
N	14,0067	0,0001	0,0000577
O₃	47,9982	0,0003	0,0001732

Fuente: esta investigación

La incertidumbre combinada para el KNO_3 , se halla con la siguiente ecuación:

$$UC_{KNO_3} = \sqrt{(uK)^2 + (uN)^2 + (uO_3)^2} \quad \text{Ecuación 31}$$

Dónde:

UC_{KNO_3} : Incertidumbre combinada de KNO_3

uK , uN , uO_3 : Incertidumbre estándar de K, N y O_3 respectivamente.

$$UC_{KNO_3} = 0,0001915$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa molar de KNO_3 (UR_{mm}) se refiere a la incertidumbre combinada dividida entre el valor estimado (**Xi**) que en este caso es la masa molecular de KNO_3 (101,1032 g/mol).

$$UR_{mm} = 0,0000019$$

1.3. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRÓN (VOLUMEN FINAL 1000 mL)

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 del material volumétrico.

Los datos para evaluar el efecto de la variación de la temperatura, se obtienen a partir de la verificación volumétrica del material de vidrio, sin embargo, debido a que no se cuenta con la información relacionada con el efecto de la variación de la temperatura; para determinar la incertidumbre del aforo se tuvo en cuenta solo la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23.

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 32}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,4)

$$U_{ti} = 0,1632993$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 33}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,01549)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0048988$$

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.

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 34}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

V_{nb} : volumen nominal del balón

V : volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,000163373$$

1.4. Incertidumbre de la pureza del reactivo KNO_3 . (U_r)

Si el reactivo empleado como patrón en la curva de calibración, es un material certificado, la incertidumbre del mismo se obtiene del certificado. Así, si la indicación del fabricante es que la pureza es igual al 99%, la incertidumbre se calcularía como (100-99)%, si es mayor del 99%, se calcularía como $(100-99)\%/\sqrt{12}$ y por lo tanto si es igual a 100, entonces la incertidumbre de la pureza del reactivo es cero. En este caso a partir del certificado de análisis del reactivo KNO_3 emitido por el fabricante (Panreac) se encontró que la pureza del reactivo es del 99,3 %, por lo tanto:

$$(U_r) = 0,0028868$$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución patrón de KNO_3 , se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{KNO_3} = \sqrt{(URm)^2 + (URmm)^2 + (Uvn)^2 + (Ur)^2} \quad \text{Ecuación 35}$$

Dónde:

U_{KNO_3} : Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución patrón de KNO_3

U_{Rm} : Incertidumbre estándar relativa de la masa de KNO_3

U_{Rmm} : Incertidumbre estándar relativa de la masa molar de KNO_3

U_{vn} : Incertidumbre relativa del volumen nominal

U_{r} : Incertidumbre de la pureza del reactivo KNO_3

$U_{\text{KNO}_3} = 0,0017062$

2. INCERTIDUMBRE DEBIDA A LA PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA (10 mg NO_3^- /L de nitratos)

La solución intermedia de 10 mg NO_3^- /L de nitratos se preparó a partir de la solución madre de 100 mg NO_3^- /L, 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.

2.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA (volumen final 500 mL)

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 intermedia, se tuvo en cuenta la incertidumbre estándar de la tolerancia del balón aforado de 500 mL aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 10 mL usada para la preparación de la solución intermedia, obteniendo los siguientes resultados:

2.1.1. Balón Aforado 500 MI

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,25)

$$U_{ti} = 0,1020621$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00925)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0029253$$

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{ti}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

Vnb: Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,000204208$$

2.1.2. Pipeta 10 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,02)

$$U_{ti} = 0,0081650$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00602)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0019032$$

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{ti}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

vnp : Volumen nominal de la pipeta

V: Volumen de la pipeta

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

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

$$U_{vnp} = 0,000838383$$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución intermedia, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{SI} = \sqrt{(U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2} \quad \text{Ecuación 36}$$

Dónde:

U_{SI} : Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución intermedia

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

$$U_{SI} = 0,000862895$$

3. Incertidumbre debida a la concentración de la Solución de trabajo (1 mg NO_3^-/L) de nitratos.

La solución de trabajo de 1 mg NO_3^-/L de nitratos se preparó a partir de la solución intermedia de 10 mg NO_3^-/L de nitratos, 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.

3.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN INTERMEDIA (volumen final 500 mL)

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 del balón aforado de 100 mL aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del material volumétrico, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 5 mL usada para la preparación de la solución intermedia, obteniendo los siguientes resultados:

3.1.1. Balón Aforado 100 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,10)

$$U_{ti} = 0,0408248$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0098)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0030990$$

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{ti}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

V_{nb} : Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,0004094$$

3.1.2. Pipeta 5 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,015)

$$U_{ti} = 0,0061237$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,00288)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0009107$$

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{ti}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

vnp : Volumen nominal de la pipeta

V: Volumen de la pipeta

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

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

$$U_{vnp} = 0,001238213$$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la preparación de la solución de trabajo, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{ST} = \sqrt{(U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2} \quad \text{Ecuación 37}$$

Dónde:

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

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

$$U_{ST} = 0,0013041$$

4. INCERTIDUMBRE DE DEBIDA A LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Para elaborar la curva de calibración se realizaron estándares de las siguientes concentraciones 0,05 mg NO_3^-/L , 0,1 mg NO_3^-/L , 0,2 mg NO_3^-/L , 0,5 mg NO_3^-/L , 1,00 mg NO_3^-/L , 2,00 mg NO_3^-/L y 3,00 mg NO_3^-/L .

4.1. REGRESIÓN LINEAL

Para calcular la incertidumbre debida a la curva de calibración se aplica la ecuación 25.

$$U_{NO_2^-} = \frac{S}{b1} \sqrt{\left(\frac{1}{p}\right) + \left(\frac{1}{n}\right) + \left(\left(\gamma_{(PT)} - \gamma_{(MRC)}\right)^2 / S_{XX}\right)} \quad \text{Ecuación 38}$$

Dónde:

$U_{NO_2^-}$	Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado.
S	Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal (0,0000056)
b1	La pendiente calculada (0,25812)
p	El número de réplicas de la solución en estudio (2)
n	Número de puntos en la curva de calibración (7)
$\gamma_{(PT)}$	La concentración en estudio. (0,5 mg NO_3^-/L)
γ_{MRC}	El promedio de las concentraciones calculadas. (0,979 mg NO_3^-/L)

Sxx Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas (7,599)

$$U_{NO_3^-} = 0,000036$$

El procedimiento anterior se repite para cada uno de los puntos de concentración de la curva de calibración, para los cuales se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 22. Incertidumbre de puntos de concentración de la curva de calibración de nitratos

Concentración Mg NO ₃ ⁻ /L	U _{NO₃⁻}
0,05	0,000377
0,1	0,000187
0,2	0,000092
0,5	0,000036
1	0,000017
2	0,000010
3	0,000008

Fuente: esta investigación

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

$$U_{RL} = \sqrt{\sum (U_{NO_3^-})^2} \quad \text{Ecuación 39}$$

Dónde:

U_{RL}: Incertidumbre estándar relativa de la regresión lineal de la curva de calibración

U_{NO₃⁻} : Incertidumbre estándar relativa de cada uno de los puntos de concentración de la curva

$$U_{RL} = 0,0014004$$

4.2 PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

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 aplicando la ecuación 22 y la incertidumbre debida a la repetibilidad del mismo, aplicando la ecuación 23; de la misma manera se realizó la estimación de la incertidumbre para la pipeta de 5 mL usada para la preparación de los estándares de la curva, obteniendo los siguientes resultados:

4.1.1. Balón Aforado 50 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,06)

$$U_{ti} = 0,0244949$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0026387)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0008344$$

Para calcular la incertidumbre combinada para el balón aforado, se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

V_{nb} : Volumen nominal del balón

V : Volumen del balón

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

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

$$U_{vnb} = 0,0004902$$

4.1.2. Pipeta 5 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,015)

$$U_{ti} = 0,0061237$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S : Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0028797)

n : Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0009107$$

Para calcular la incertidumbre combinada para la pipeta, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{U_{vnp}}{vnp} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

V_{np} : Volumen nominal de la pipeta

V : Volumen de la pipeta

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

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

$U_{vnp} = 0,0012382$

La incertidumbre estándar relativa debida a la variabilidad total en la curva de calibración, se halla mediante la siguiente ecuación:

$$U_{CC} = \sqrt{(U_{RL})^2 + (U_{vnb})^2 + (U_{vnp})^2} \quad \text{Ecuación 40}$$

Dónde:

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

U_{RL} : Incertidumbre debida a la regresión lineal de la curva de calibración

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

U_{vnp} : Incertidumbre relativa del volumen nominal de la pipeta

$U_{CC} = 0,0014004$

5. 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 cual es el volumen que indica el método por espectrofotometría ultravioleta 4500-NO₃-B, para adicionar una solución reveladora, previo a la lectura en el espectrofotómetro.

5.1. BALÓN AFORADO 50 mL

$$U_{ti} = \frac{Tol}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 15}$$

Dónde:

U_{ti} : Incertidumbre estándar de la tolerancia del material volumétrico

Tol: tolerancia del material volumétrico (0,06)

$$U_{ti} = 0,0244949$$

$$U_{rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 16}$$

Dónde:

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

S: Desviación estándar de las pesadas del volumen transferido (0,0082)

n: Número de mediciones (10).

$$U_{rep} = 0,0025931$$

Para calcular la incertidumbre combinada para el balón aforado, se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{U_{vnb}}{vnb} = \sqrt{\left(\frac{U_{rep}}{v}\right)^2 + \left(\frac{U_{tl}}{v}\right)^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Dónde:

U_{vnb} : Incertidumbre relativa del volumen nominal del balón

vnb : Volumen nominal del balón

V: Volumen del balón

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

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

$$U_{\text{vnb}} = 0,0004926$$

U_{vnb} en este caso equivale a la incertidumbre debida al tamaño de muestra (U_{TM}) ya que solo se tuvo en cuenta la incertidumbre aportada por el balón aforado de 50 mL:

$$U_{\text{TM}} = 0,0004926$$

6. INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR COMBINADA PARA EL ANÁLISIS DE NITRATOS

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

$$U_{\text{EC}} = \sqrt{(U_{\text{KNO}_3^-})^2 + (U_{\text{SI}})^2 + (U_{\text{ST}})^2 + (U_{\text{CC}})^2 + (U_{\text{TM}})^2} \quad \text{Ecuación 41}$$

Dónde:

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

$U_{\text{KNO}_3^-}$: Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la solución patrón de KNO_3

U_{SI} : Incertidumbre estándar relativa de la solución intermedia

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

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

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

$$U_{\text{EC}} = 0,0027496$$

7. INCERTIDUMBRE EXPANDIDA PARA EL ANÁLISIS DE NITRATOS

La Incertidumbre Expandida está dada por la siguiente ecuación:

$$U_{\text{EXP}} = U_{\text{EC}} * k \quad \text{Ecuación 42}$$

Dónde:

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

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

k = Factor de Cobertura (2)

$U_{EXP} = 0,00550$

Anexo E. Registro Fotográfico de Equipos



Espectrofotómetro UV-Vis – Pharo 300 Spectroquant®



Purificador de Agua Sartorius Arium® 611 Ultrapure Water Systems





Balanza analítica OHAUS® Pioneer™




Estufa de secado serie ED, BINDER®

Anexo F. Plan de Muestreo para Nitratos y Nitritos

 Universidad de Nariño	SECCION LABORATORIOS PLAN DE MUESTREO	Código: LBE-PRS-FR-44 Página: 1 Versión: 02 Vigente a partir de : 24/10/2011
SITIO DE MUESTREO	Baños laboratorios especializados UDENAR.	
FECHA DE MUESTREO	2017/06/08	
TIPO DE MUESTREO	Puntual.	
Nº DE RECIPIENTES	1 recipiente Plástico 2L.	
PARAMETROS	Nitratos.	
TIPO DE AFORO	No Aplica.	
PARAMETROS A PRESERVAR - TIPO DE PRESERVACION	No Aplica	
ANALISIS DE MEDICION EN EL SITIO	No Aplica	
Nº DE DUPLICADOS	1.	
FRECUENCIA DE COMPOSICION / Nº DE MUESTRAS A COMPONER	No Aplica.	
PERIODO DE COMPOSICION DE LA MUESTRA	No Aplica	
FRECUENCIA DE MUESTREO	No Aplica	
RESPONSABLE DEL MUESTREO	Luis Fernando Solarte.	
MEDIO DE TRANSPORTE TRANSPORTE	No Aplica.	
VIATICOS	No Aplica.	
HORA DE SALIDA	8:00 am.	
CONTACTOS LABORATORIO	Angélica Ordoñez	
NOMBRE DE LA EMPRESA / ENTIDAD	Universidad de Nariño	NIT/C C 800118959-1
NOMBRE DE LA PERSONA A CONTACTAR	Angélica Ordoñez	FIRMA <i>Angélica Ordoñez</i> FECHA 08/06/2017


Sección de Laboratorio
 Universidad de Nariño
JEFATURA

Johano Rodríguez
 Coordinador Laboratorio de Aguas

 Universidad de Nariño	SECCION LABORATORIOS PLAN DE MUESTREO		Código: LBE-PRS-FR-44	
			Página: 1 Versión: 02 Vigente a partir de : 24/10/2011	
SITIO DE MUESTREO	- Grutas manos de la Cruz - Quebrada Cusucungo		- Vestimentas Operarias - Guantes Plásticos - PTAR Plásticas	
FECHA DE MUESTREO	2017/05/25			
TIPO DE MUESTREO	Puntual.			
No DE RECIPIENTES	5 recipientes plásticos 2L .			
PARAMETROS	Nitritos.			
TIPO DE AFORO	No Aplica.			
PARAMETROS A PRESERVAR - TIPO DE PRESERVACION	No Aplica.			
ANALISIS DE MEDICION EN EL SITIO	No Aplica.			
No DE DUPLICADOS	1			
FRECUENCIA DE COMPOSICION /No DE MUETRAS A COMPONER	No Aplica			
PERIODO DE COMPOSICION DE LA MUESTRA	No Aplica.			
FRECUENCIA DE MUESTREO	No Aplica.			
RESPONSABLE DEL MUESTREO	Luis Fernando Solarte.			
MEDIO DE TRANSPORTE TRANSPORTE	No Aplica			
VIATICOS	No Aplica.			
HORA DE SALIDA	8:00 am.			
CONTACTOS LABORATORIO	Angélica Ordoñez.			
NOMBRE DE LA EMPRESA / ENTIDAD	Universidad de Nariño Sección de Laboratorio		NIT/C	800118954-1
NOMBRE DE CONTACTAR	Angélica Ordoñez <i>[Signature]</i>		FIRMA	Angélica Ordoñez <i>[Signature]</i>
			FECHA	25/05/2017
Universidad de Nariño JEFATURA				

Aprobó : _____
 Jefe de Laboratorios

[Signature]
 Coordinador Laboratorio de Aguas

Anexo G. Experiencia en la Práctica Empresarial

La práctica empresarial se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas de la universidad de Nariño, con la dirección de la Química Johana Rodríguez, desde el 28 de Marzo del 2017 hasta el 29 de Noviembre de 2017, el periodo de receso de mitad de año comprendido entre el 9 de Junio y el 8 de Agosto de 2017, no se tuvo en cuenta como periodo de la práctica empresarial.

Durante el desarrollo de mi práctica empresarial tuve la función de técnico analista, cargo para el cual se inició con el proceso de inducción del Sistema Integrado de Gestión de calidad implementado en el Laboratorio de Análisis Químico y Aguas, de igual forma recibí inducción de los procedimientos específicos como protocolo para la determinación de nitritos y nitratos, equipos de trabajo, los materiales de referencia, los reactivos y el equipo de trabajo, donde pude compartir mi experiencia con las químicas Angélica Ordoñez y Vanesa Montezuma que durante este tiempo se desempeñaban en el laboratorio.

En cuanto a la experiencia que tuve en el desarrollo de la Práctica Empresarial en mi formación como profesional, puedo decir que aprendí a desempeñarme como un técnico analista dentro del laboratorio, teniendo en cuenta toda la responsabilidad que esto conlleva, ya que al trabajar en un Laboratorio Acreditado, un técnico analista tiene la obligación de cumplir a cabalidad con la normatividad impuesta en un Sistema de Aseguramiento de la Calidad.

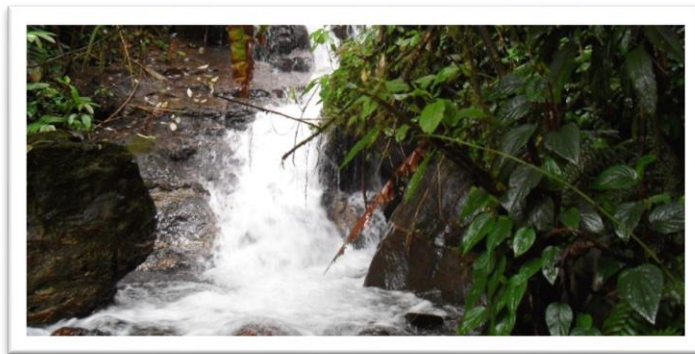
Dentro del desarrollo de mi trabajo también realicé actividades muy importantes que complementaron mi experiencia, como por ejemplo, actividades de muestreo puntuales de matrices acuosas, en las cuales pude evidenciar que para cada matriz el procedimiento a seguir era muy diferente, por ejemplo, para la recolección de una muestra puntual de agua potable, al ser una muestra que está previamente tratada y además del fácil acceso a ella, el muestreo se hace de una manera muy cómoda, mientras que para la recolección de muestras como aguas crudas, residuales y lixiviados, el procedimiento fue mucho más tedioso, ya que en primer lugar son muestras para las cuales no hay un fácil acceso y el cuidado que hay que tener a la hora de recolectarla es mayor ya que estas aguas por lo general no son tratadas y pueden contener muchos residuos y contaminantes, los que dificultan el muestreo.

A continuación muestro fotografías de los lugares en los cuales se realizaron los muestreos:

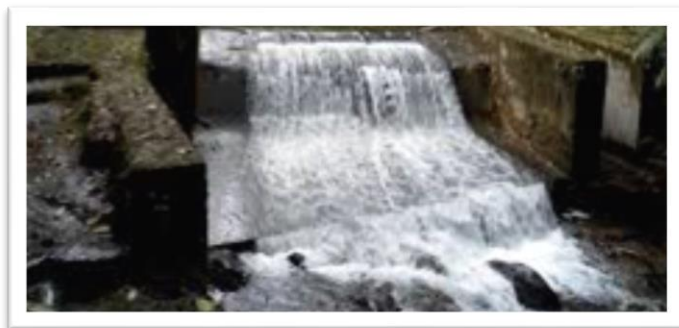
La muestra puntual de agua potable se recolectó en un grifo de los baños de los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, a continuación una fotografía del sitio:



La recolección de la muestra puntual de agua cruda se realizó en la Quebrada Cuscungo, la cual está situada a pocos pasos de unidad veterinaria de la Universidad de Nariño, a continuación una fotografía:



La muestra puntual de agua residual doméstica se tomó de los vertimientos de la Universidad de Nariño los cuales se muestran a continuación:



La recolección de la muestra puntual de agua residual industrial se realizó en las curtiembres de Pandiaco, en las cuales observe que las condiciones de trabajo eran demasiado deplorables y quiero resaltar este aspecto ya que hay que formar conciencia de lo peligroso que puede ser tanto a corto como a largo plazo el

trabajar con sustancias químicas fuertes, a continuación se muestra parte de la estructura de una curtiembre en Pandiaco:



Y por último, la recolección de la muestra puntual de lixiviados se realizó en el PTAR Relleno Sanitario de la ciudad de Ipiales.



Cada muestra puntual tomada servía no solo para poder realizar el análisis de los parámetros nitratos y nitritos, sino de otros parámetros como por ejemplo fosfatos, que también se pueden analizar mediante espectroscopia ultravioleta.

Una vez realizado el muestreo de todas las matrices acuosas, pude proseguir con la validación de los dos métodos, con lo cual obtuve que se cumplió con todos los criterios establecidos en el Standard Methods, entre los cuales destacan los criterios de exactitud y precisión de los métodos, para este último se realizaron ensayos de repetibilidad y ensayos de reproducibilidad por analista, para los cuales necesité de la colaboración de mis compañeras de trabajo, Angélica y Vanesa, ya que ambos métodos deben ser fácilmente reproducibles por cualquier analista encargado, obteniendo resultados que cumplan con los criterios de aceptación de cada método.

Otro aspecto muy importante para destacar es que para poder cumplir con el tercer objetivo específico de mi trabajo el cual consiste en la estimación de la incertidumbre para ambos métodos, tuve la oportunidad de realizar un curso teórico-práctico, titulado “Curso de Calidad, Validación y Control Estadístico bajo los Lineamientos de la Norma NTC ISO/IEC 17025” el cual se realizó entre el día 20 y el día 23 de Noviembre del 2017 y amplio precisamente en la estimación de la incertidumbre métricos, lo cual me ayudó mucho a la hora de cumplir con el objetivo de mi trabajo.

En general, mi experiencia en el laboratorio de análisis químico y aguas me sirvió mucho para conocer en detalle el sector de Aseguramiento de Calidad y todo lo que esto implica, ya que en la actualidad para ser una empresa competente hay que buscar siempre otorgar a los consumidores, resultados verídicos y confiables, y esto se logra mediante la acreditación de cada uno de los parámetros que la empresa ofrece, lo cual conlleva un esfuerzo muy grande por parte del grupo de trabajo, tanto en la parte técnica como en la parte administrativa.

Todo esto me llevó a realizar un trabajo dedicado y responsable, y al final me permitió obtener resultados verídicos y confiables para ambos métodos analizados, cumpliendo con cada criterio de aceptación propuesto.

Anexo H. Certificados de Análisis de Reactivos

27/8/2017

pub.panreac.com/coa/141524-0000195037es.htm



CERTIFICADO DE ANALISIS

CODIGO: 141524
PRODUCTO: Potasio Nitrato sin antiapelmazante (RFE, BP, Ph. Eur.)
PRS-CODEX
LOTE: 0000195037

F.FABRICACION: 09/2009

FECHA: 22/09/2009

MIN. VAL.: 09/2015

ESPECIFICACIONES	VALOR GARANTIZADO	VALOR REAL
Riqueza (Acidim.) calc. s.p.s.	99,0-100,5%	99,4 %
Identidad según Farmacopeas	s/e.	s/e.
pH sol. 5%	4,5-8,5	5,92
LIMITE MAXIMO DE IMPUREZAS		
Aspecto de la solución	s/e.	s/e.
Insoluble en H ₂ O	0,025 %	<0,025 %
Pérdida por desec. a 105°C	0,5 %	0,07 %
Disolventes residuales (Ph.Eur/USP)	s/e	s/e
Acidez o alcalinidad	s/e.	s/e.
Amonio (NH ₄)	0,005 %	<0,005 %
Cloruro (Cl)	0,002 %	<0,002 %
Fosfato (PO ₄)	0,003 %	<0,003 %
Sulfato (SO ₄)	0,01 %	<0,01 %
Sustancias reducibles	s/e.	s/e.
Metales pesados (en Pb)	0,001 %	<0,001 %
As	0,0002 %	<0,0002 %
Ca	0,005 %	<0,005 %
Cu	0,002 %	<0,002 %
Fe	0,001 %	<0,001 %
Mg	0,005 %	<0,005 %
Na	0,1 %	<0,1 %

Este producto puede apelmazarse

Para uso industrial recomendamos que realicen el correspondiente control de recepción.

Panreac Química S.A.
Departamento Técnico. Control de Calidad.

Fdo. J. Puigdengolas

A handwritten signature in black ink, appearing to be the initials "JP" followed by a stylized flourish.

27/8/2017

m



CERTIFICADO DE ANALISIS

CODIGO: 141703
PRODUCTO: Sodio Nitrito (USP) PRS-CODEX
LOTE: 0000203663

F.FABRICACION: 10/2009

FECHA: 15/10/2009

MIN. VAL.: 10/2015

ESPECIFICACIONES	VALOR GARANTIZADO	VALOR REAL
Riqueza (Perm.) calc. s.p.s	97,0-101,0%	99,3 %
Identidad según Farmacopeas	s/e.	s/e.
LIMITE MAXIMO DE IMPUREZAS		
Insoluble en H ₂ O	0,025 %	<0,025 %
Pérdida por desecación	0,25 %	0,04 %
Disolventes residuales (Ph.Eur/USP)	s/e	s/e
Cloruro (Cl)	0,01 %	<0,01 %
Sulfato (SO ₄)	0,01 %	<0,01 %
Metales pesados (en Pb)	0,002 %	<0,002 %
As	0,0002 %	<0,0002 %
Ca	0,01 %	<0,01 %
Cu	0,002 %	<0,002 %
Fe	0,002 %	<0,002 %
Mg	0,01 %	<0,01 %
Ni	0,002 %	<0,002 %
Pb	0,002 %	<0,002 %

Cumple especificaciones USP 29

Este producto puede apelmazarse

Para uso industrial recomendamos que realicen el correspondiente control de recepción.

Panreac Química S.A.
Departamento Técnico. Control de Calidad.

Fdo. J. Puigdemoglas

A handwritten signature in black ink, appearing to be the initials "JP" followed by a stylized flourish.

Anexo I. Datos de Blancos en Determinación de Nitritos

NITRITOS	
Blancos	Promedio
Blanco 1	0,028
Blanco 2	0,028
Blanco 3	0,028
Blanco 4	0,028
Blanco 5	0,028
Blanco 6	0,028
Blanco 7	0,028
Blanco 8	0,028
Blanco 9	0,028
Blanco 10	0,028
Blanco 11	0,028
Blanco 12	0,028
Blanco 13	0,028
Blanco 14	0,028
Blanco 15	0,028
Blanco 16	0,028
Blanco 17	0,029
Blanco 18	0,028
Blanco 19	0,028
Blanco 20	0,028
Promedio General	0,028
Desviación estándar	0,000223
CV	0,797172
T	2,860935

	NITRATOS		
	Absorbancia 220 nm	Absorbancia 275 nm	220-(2*275)
Blanco 1	0,089	0,034	0,021
Blanco 2	0,085	0,033	0,019
Blanco 3	0,089	0,035	0,019
Blanco 4	0,078	0,029	0,020
Blanco 5	0,078	0,03	0,018
Blanco 6	0,087	0,033	0,021
Blanco 7	0,077	0,029	0,019
Blanco 8	0,088	0,034	0,020
Blanco 9	0,089	0,034	0,021
Blanco 10	0,088	0,034	0,020
Blanco 11	0,092	0,036	0,020
Blanco 12	0,089	0,037	0,015
Blanco 13	0,088	0,035	0,018
Blanco 14	0,085	0,033	0,019
Blanco 15	0,089	0,035	0,019
Blanco 16	0,086	0,033	0,020
Blanco 17	0,086	0,033	0,020
Blanco 18	0,086	0,037	0,012
Blanco 19	0,086	0,037	0,012
Blanco 20	0,088	0,035	0,018
Promedio General			0,019
Desviación estándar			0,00263
CV			14,1525
t			2,86093

Anexo J. Datos Adicionales en la Determinación de Nitratos y Nitritos

NITRITOS				
	0,01 mg NO₂⁻/L	10 mg NO₂⁻/L	15 mg NO₂⁻/L	20 mg NO₂⁻/L
Dilución	N.A.	1:50	1/100	1/100
1	0,010	10,099	14,776	19,991
2	0,010	10,134	15,156	19,887
3	0,009	9,944	15,190	19,749
4	0,010	9,961	15,156	19,853
5	0,010	10,013	15,087	20,026
6	0,010	10,013	15,156	19,991
7	0,010	10,065	15,259	19,922
8	0,009	10,082	15,225	19,749
9	0,010	9,978	15,259	19,887
10	0,010	9,875	15,121	20,026
Promedio	0,0099	10,0162	15,1383	19,9081
Desviación estándar	0,0004	0,0797	0,1393	0,1032
%CV	4,1715	0,7955	0,9205	0,5185

NITRATOS						
Concentración	0,05 mg NO₃⁻/L	0,1 mg NO₃⁻/L	0,2 mg NO₃⁻/L	30 mg NO₃⁻/L	40 mg NO₃⁻/L	50 mg NO₃⁻/L
Dilución				4:50	3:50	2:50
1	0,045	0,095	0,208	30,008	39,623	50,039
2	0,049	0,095	0,200	29,766	39,687	49,748
3	0,049	0,107	0,196	30,105	39,752	49,845
4	0,045	0,099	0,200	29,766	39,429	49,748
5	0,049	0,099	0,196	29,620	40,204	50,329
6	0,045	0,091	0,196	30,008	39,687	50,426
7	0,041	0,099	0,204	29,911	39,752	49,748
8	0,053	0,099	0,196	30,056	39,687	49,845
9	0,045	0,099	0,196	29,862	39,623	49,942
10	0,049	0,095	0,200	29,669	40,204	49,458
Promedio	0,047	0,098	0,199	29,877	39,765	49,913
Desviación estándar	0,0033	0,0041	0,0040	0,1678	0,2488	0,2890
%CV	7,0234	4,1872	2,0093	0,5618	0,6257	0,5789

Anexo K. Datos Adicionales de Interferencias en la Determinación de Nitratos y Nitritos

INTERFERENCIA POR COLOR EN NITRITOS										
Absorbancia de la Muestra con Solución Reveladora										
ARI	0,075	0,075	0,074	0,075	0,074	0,074	0,073	0,074	0,076	0,077
ARI + AD	0,101	0,102	0,101	0,102	0,101	0,102	0,102	0,101	0,104	0,103
LIX	0,134	0,137	0,134	0,136	0,133	0,135	0,130	0,132	0,136	0,133
LIX + AD	0,152	0,149	0,152	0,153	0,150	0,153	0,151	0,156	0,154	0,153
Absorbancia de la Muestra sin Solución Reveladora										
ARI	0,057	0,056	0,055	0,057	0,056	0,055	0,056	0,056	0,058	0,058
ARI + AD	0,054	0,055	0,053	0,054	0,052	0,055	0,054	0,055	0,056	0,055
LIX	0,030	0,033	0,031	0,032	0,030	0,031	0,029	0,030	0,032	0,031
LIX + AD	0,030	0,028	0,028	0,029	0,028	0,030	0,029	0,031	0,032	0,032
Absorbancia Real										
ARI	0,018	0,019	0,019	0,018	0,018	0,019	0,017	0,018	0,018	0,019
ARI + AD	0,047	0,047	0,048	0,048	0,049	0,047	0,048	0,046	0,048	0,048
LIX	0,104	0,104	0,103	0,104	0,103	0,104	0,101	0,102	0,104	0,102
LIX + AD	0,122	0,121	0,124	0,124	0,122	0,123	0,122	0,125	0,122	0,121

INTERFERENCIA POR CLORO EN NITRATOS						
	1 mg NO₃/L	5 mg NO₃/L	10 mg NO₃/L	AP + Cl	AP + Cl + ArHSO₄	AP + Cl + ArHSO₄ + AD (1 mg/L)
	N.A.	25\50	10\50	N.A.	N.A.	N.A.
Analista 1	1,014	4,832	9,833	0,797	0,831	0,835
	1,025	4,824	9,911	0,797	0,828	0,831
	1,017	4,879	9,892	0,797	0,820	0,843
	1,017	4,848	9,814	0,793	0,828	0,839
	1,064	4,886	9,775	0,797	0,820	0,831
	1,021	4,886	9,872	0,793	0,824	0,828
	1,010	4,871	9,892	0,793	0,831	0,835
	1,021	4,902	9,892	0,797	0,824	0,831
	1,010	4,886	9,911	0,793	0,831	0,824
	0,998	4,840	9,814	0,793	0,824	0,835
Analista 2	1,006	4,894	9,833	0,797	0,824	0,839
	0,994	4,855	9,911	0,797	0,828	0,828
	1,017	4,917	9,950	0,797	0,835	0,839
	1,010	4,840	9,911	0,793	0,831	0,824
	1,014	4,832	9,833	0,793	0,824	0,828
	1,017	4,817	9,775	0,797	0,839	0,839
	1,014	4,902	9,833	0,793	0,828	0,835
	1,010	4,824	9,814	0,793	0,820	0,843
	1,014	4,871	9,853	0,797	0,831	0,839
	1,025	4,848	9,814	0,800	0,824	0,831
Promedio	1,016	4,863	9,857	0,795	0,827	0,834
Desviación Estándar{	0,013793	0,03043	0,04973	0,00232	0,005318	0,00593

Anexo L. Datos de Absorbancia para Curvas de Calibración

ABSORBANCIAS CURVA DE CALIBRACIÓN NITRATOS												
Concentración	Absorbancia 220 nm											
0,05 mgNO ₃ /L	0,021	0,016	0,019	0,02	0,019	0,02	0,02	0,02	0,018	0,019	0,019	0,016
0,1 mgNO ₃ /L	0,034	0,036	0,03	0,031	0,032	0,033	0,029	0,032	0,033	0,031	0,032	0,031
0,2 mgNO ₃ /L	0,051	0,057	0,058	0,051	0,054	0,056	0,055	0,053	0,051	0,057	0,058	0,051
0,5 mgNO ₃ /L	0,130	0,137	0,129	0,133	0,133	0,136	0,134	0,136	0,130	0,137	0,129	0,133
1 mgNO ₃ /L	0,266	0,273	0,265	0,265	0,268	0,267	0,268	0,266	0,267	0,273	0,265	0,266
2 mgNO ₃ /L	0,523	0,525	0,524	0,515	0,521	0,519	0,522	0,520	0,523	0,525	0,524	0,515
3 mgNO ₃ /L	0,779	0,782	0,775	0,778	0,780	0,781	0,778	0,781	0,779	0,782	0,775	0,778

Concentración	Absorbancia 275 nm											
0,05 mgNO ₃ /L	0,003	0,000	0,002	0,003	0,002	0,002	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000
0,1 mgNO ₃ /L	0,003	0,002	0,001	0,003	0,003	0,002	0,003	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002
0,2 mgNO ₃ /L	0,000	0,001	0,000	0,002	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,001	0,000	0,002
0,5 mgNO ₃ /L	0,001	0,003	0,002	0,001	0,000	0,001	0,000	0,002	0,001	0,003	0,002	0,001
1 mgNO ₃ /L	0,002	0,002	0,000	0,001	0,002	0,000	0,001	0,000	0,002	0,002	0,000	0,001
2 mgNO ₃ /L	0,002	0,003	0,002	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,002	0,003	0,002	0,002
3 mgNO ₃ /L	0,002	0,000	0,001	0,000	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,000	0,001	0,000


Concentración	Absorbancia 220 - (2*275)											
0,05 mgNO ₃ /L	0,015	0,016	0,015	0,014	0,015	0,016	0,014	0,016	0,014	0,015	0,015	0,016
0,1 mgNO ₃ /L	0,028	0,032	0,028	0,025	0,026	0,029	0,023	0,028	0,031	0,031	0,030	0,027
0,2 mgNO ₃ /L	0,051	0,055	0,058	0,047	0,050	0,056	0,053	0,053	0,051	0,055	0,058	0,047
0,5 mgNO ₃ /L	0,128	0,131	0,125	0,131	0,133	0,134	0,134	0,132	0,128	0,131	0,125	0,131
1 mgNO ₃ /L	0,262	0,269	0,265	0,263	0,264	0,267	0,266	0,266	0,263	0,269	0,265	0,264
2 mgNO ₃ /L	0,519	0,519	0,520	0,511	0,517	0,517	0,516	0,516	0,519	0,519	0,520	0,511
3 mgNO ₃ /L	0,775	0,782	0,773	0,778	0,776	0,777	0,776	0,775	0,775	0,782	0,773	0,778

ABSORBANCIAS CURVA DE CALIBRACIÓN NITRITOS					
Concentración	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm
0,01 mg NO ₂ /L	0,028	0,028	0,033	0,026	0,027
0,05 mg NO ₂ /L	0,151	0,150	0,134	0,134	0,138
0,07 mg NO ₂ /L	0,208	0,208	0,195	0,195	0,197
0,10 mg NO ₂ /L	0,308	0,312	0,283	0,278	0,277
0,20 mg NO ₂ /L	0,602	0,626	0,576	0,557	0,559
0,25 mg NO ₂ /L	0,712	0,719	0,720	0,724	0,717

Concentración	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm	Absorbancia 543 nm
0,01 mg NO ₂ /L	0,028	0,028	0,033	0,026	0,027
0,05 mg NO ₂ /L	0,151	0,150	0,134	0,134	0,138
0,07 mg NO ₂ /L	0,208	0,208	0,195	0,195	0,197
0,10 mg NO ₂ /L	0,308	0,312	0,283	0,278	0,277
0,20 mg NO ₂ /L	0,602	0,626	0,576	0,557	0,559
0,25 mg NO ₂ /L	0,712	0,719	0,720	0,724	0,717

Concentración	Promedio General
0,01 mg NO ₂ /L	0,028
0,05 mg NO ₂ /L	0,141
0,07 mg NO ₂ /L	0,201
0,10 mg NO ₂ /L	0,291
0,20 mg NO ₂ /L	0,584
0,25 mg NO ₂ /L	0,718

Anexo M. Protocolo de Limpieza del Material de Vidrio

 Universidad de Nariño	SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN DE CALIDAD FORMATO CONTROL DE ENTREGA DE DOCUMENTOS					Código: SGC-FR-35 Página: 1 Versión: 01 Vigente: 20/05/2010		
	Código	Nombre del Documento	Copia Controlada		Ubicación	Número de copias	Fecha	Firma de Recibido
			Si	No				
	IN-01	vs. Medio Nagnitico Limpieza del material de vidrio y elementos	X					

Sistema Integrado de Gestión de la Calidad

INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y ELEMENTOS

Versión 03

Código: LBE-PRS-IN-01

Proceso: Proyección Social

Fecha: Septiembre de 2014



Universidad de
Nariño

SECCIÓN DE LABORATORIOS
INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y
ELEMENTOS

Código: LBE-PRS-IN-01

Página: 2 DE 5

Versión:3

Vigente a partir de:
2014-09-17

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

4.1 Azul de bromotimol al 0.2%:

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

4.2 Solución Reveladora:

Tomar 50ml de H₂O y adicionar 2.5ml 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] + 1 ml solución B [61g de Ácido Ascórbico en 500ml de H₂O] llevar a 100mL con agua destilada.

4.3 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;

4.4 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.

4.5 Permanganato de potasio 0.01 N.

4.6 Jabón Eco. Producto comercial



Universidad de
Nariño

SECCIÓN DE LABORATORIOS
INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y
ELEMENTOS

Código: LBE-PRS-IN-01

Página: 3 DE 5

Versión:3

Vigente a partir de:
2014-09-17

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:3

Vigente a partir de:
2014-09-17

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 la responsable del lavado del material de vidrio y elementos con la supervisión de los funcionarios de laboratorios 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



Universidad de
Nariño

SECCIÓN DE LABORATORIOS
INSTRUCTIVO: LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO Y
ELEMENTOS

Código: LBE-PRS-IN-01

Página: 5 DE 5

Versión:3

Vigente a partir de:
2014-09-17

en reposo por una hora. El agua no debe cambiar de color si el material está libre 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:	Funcionario Lab. Análisis químico y Aguas	Asesor de calidad	Jefe de Laboratorios
NOMBRE:	Mary Luz Valencia Enríquez	Jenny Luna	Germán Chaves Jurado
FIRMA:			
FECHA:	2014-09-17	2014-09-17	2014-09-17

CONTROL DE CAMBIOS		
VERSIÓN No.	FECHA DE APROBACIÓN	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	2010-04-26	Creación del Documento
2	2012-05-10	Actualización de la concentración de la solución de jabón Extram utilizada en el laboratorio y el tipo de jabón "ECO" para limpieza de grasas.
3	2014-09-17	Ajuste de la preparación de Reactivos ítem 4.2 Solución Reveladora; adición del ítem 4.6; ajuste del ítem 6. CONTROL DE CALIDAD DE LAVADO SOBRE EL MATERIAL DE VIDRIO, hace referencia a la aplicación de controles por parte del encargado del material de vidrio con la supervisión de los funcionarios de laboratorios.

Anexo N. Certificados de Calibración de Equipos



METROLABOR LTDA.
CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
CALIBRATION CERTIFICATE

Laboratorio Acreditado
ONAC
09-LAC-036

NÚMERO: MET-LM-CC 12021
Number:

LABORATORIO: MASA
Laboratory

INSTRUMENTO: BALANZA ANALÍTICA DIGITAL
Instrument

FABRICANTE: OHAUS
Manufacturer

MODELO: PA 214
Model

NÚMERO DE SERIE: 8330350063
Serial number

CÓDIGO INTERNO: PS-A019
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: 2017-03-30
Date of receipt

FECHA DE CALIBRACIÓN: 2017-03-30
Date of Calibration

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

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

Temperatura del aire (°C) / Air temperature	21,8 ± 1,0
Humedad Relativa (%) / Rel. Humidity	59,9 ± 1,6
Presión Atmosférica (mbar) / Air Pressure	755,6 ± 0,1

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.

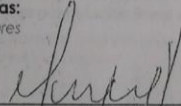
2. TRAZABILIDAD / TRACEABILITY:

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.

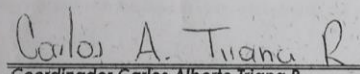
2.1. IDENTIFICACIÓN DEL PATRÓN DE REFERENCIA Y TRAZABILIDAD / REFERENCE WEIGHT IDENTIFICATION AND TRACEABILITY

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.:	MEI-LT-CC 14060	Código Interno / Internal code:	LMB 034
Certif. Calibración Humedad / Calibration certificate No.:	MEI-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:

RG027-16
Version 01

Página 1 de 3

Carrera 28A No. 39A - 4
Tel: 3688077 - Fax: 244367
metrologia@metrolabor.net
Bogotá, D. C. - Colombia



METROLABOR LTDA.

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

CALIBRATION CERTIFICATE



NÚMERO: MET-LM-CC 12021
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)	Δ iecc (g)
0,0001	70	0,0002

| Δ iecc|: Variación máxima de lectura en la prueba de excentricidad de carga.

| Δ iecc|: 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 0,4%, 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 0,4%, 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	1	0,00005
0,0001	100	0,00014
0,0001	200	0,00009

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 linear deviation specified by the manufacturer.

METROLABOR LTDA.

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
CALIBRATION CERTIFICATE



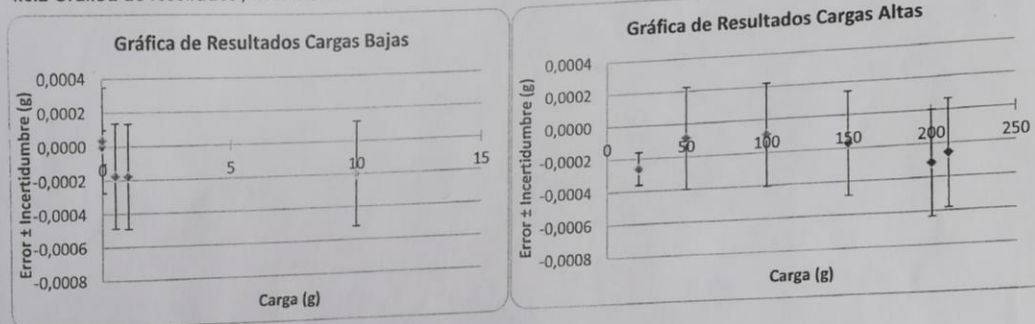
NÚMERO: MET-LM-CC 12021

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	0,00004	0,00031
0,5	-0,00017	0,00031
1	-0,00018	0,00031
10	-0,00020	0,00032
20	-0,00026	0,00032
50	-0,00009	0,00033
100	-0,00009	0,00035
150	-0,00017	0,00042
200	-0,00031	0,00045
210	-0,00026	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



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 1279

MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE UV-VIS Pharo 300 Merck

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
		E-MAIL:	mariomorasquez@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.	X Correctivo	x
MODELO/ SERIE:	Pharo 300/102420716	INICIO:	04-04-2017	Entrenamiento.	- Entrenamiento	-
MARCA:	Merck	FINALIZACIÓN:	04-04-2017	Garantía.	- Diag/otro	-

FORMA DE ATENCION.			DESCRIPCIÓN DE LA FALLA Y ALARMAS.	Al hacer el barrido entre 1100 y 190 se encontró un poco de ruido en la línea base
Telefónica.	Física.	X		

ESTADO DEL EQUIPO INICIAL			CAUSAS DE LA NO OPERACIÓN	Posible suciedad en la óptica o slit de entrada o salida
Operativo	X No Operativo	-		

DOCUMENTOS ANEXOS AL REPORTE: Descripción Breve	Reporte Manual	CONDICIÓN FINAL:	Operativo	x	No Operativo
				Razón de no Operación:	

DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO REALIZADO.

Se realizó mantenimiento del Espectrómetro Ultravioleta Visible Pharo 300 de Merck,
 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 debe hacer el reemplazo de la fuente de Xenón en el próximo mantenimiento
 Se calibro en longitud de Onda con el Filtro patrón de Oxido de Holmio a las Longitudes de onda 361nm, 536.5nm
 Se verifico la repetitividad fotométrica a las longitudes de onda 361 nm y 537nm

CALIBRACION EN LONGITUD DE ONDA

λ Analizadas	λ de Fabrica (nm)	Desví. Permitida (nm)	λ leída	Desviación (nm)
361nm	361nm	+/-2.0	361	+/-0.0
536.5	536.5	+/-2.0	537	+/-0.0

SÍ	NO	Horas laboradas	4.0
		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 - GCMS



LABORATORIOS Tescan
SYSTEMES de LABORATOIRES

MAVE
INSTRUMENTACION
Y QUIMICOS

R.S.T. No 1279

MANTENIMIENTO Y CALIBRACION DE UV-VIS Pharo 300 Merck

REPETITIVIDAD FOTOMETRICA

λ Analizada	Rep1, Abs	Rep2, Abs	Rep3, Abs	Rep4, Abs	Rep5, Abs	\bar{X}_7	σ
361.0nm	0.406	0.406	0.406	0.406	0.406	0.406	0.0000
537.0nm	0.230	0.230	0.230	0.230	0.231	0.2302	0.0004

OBSERVACIONES DEL INGENIERO DE SOPORTE y REQUERIMIENTOS DEL CLIENTE.

Como podemos observar de los datos de calibración en Longitud de onda el espectrómetro en calibración de longitud de onda queda dentro de los parámetros de fabrica

La repetitividad fotométrica es excelente como podemos apreciar presenta una desviación de 0 a la longitud de onda 361nm y de 0.0004 unidades de Absorbancia a la longitud de onda de 537nm, tomado estas medidas en el modo múltiples longitudes de onda, usando el patrón de Oxido de Holmium

El equipo queda trabajando OK y se entrega a entera satisfacción

Nota. Se recomienda para el próximo mantenimiento el cambio de la fuente de Xenón

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 Mora Vásquez	Nombre Ingeniero	Manuel Vega	04	04	2017
Firma +		Firma +				

FST-02149

CALLE 75 A No. 78 - 11 Piso 3. Telefax: 5163421, Tel: 7579907, Cel: 3108755537
E - mail: mave07@cable.net.co Bogotá D.C