



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE QUÍMICA

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR ACEITES
Y GRASAS EN AGUAS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

QUÍMICA

AUTORA: JESSICA YOLANDA VACACELA SANUNGA

DIRECTORA: Dra. YOLANDA DOLORES DÍAZ HEREDIA Mgs.

Riobamba – Ecuador

2021

©2021, Jessica Yolanda Vacacela Sanunga

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JESSICA YOLANDA VACACELA SANUNGA, declaro que el presente trabajo de integración curricular es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de integración curricular, el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 02 de septiembre de 2021



Jessica Yolanda Vacacela Sanunga

060531358-4

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE QUÍMICA

El Tribunal del trabajo de integración curricular certifica que: El trabajo de integración curricular: Tipo: Proyecto de Investigación, **VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA DETERMINAR ACEITES Y GRASAS EN AGUAS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA**”, realizado por la señorita: **JESSICA YOLANDA VACACELA SANUNGA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de integración curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Robert Alcides Cazar Ramírez Mgs. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	2021/11/09
Dra. Yolanda Dolores Díaz Heredia Mgs. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	_____	2021/11/09
Dr. Carlos Pilamunga Capus PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2021/11/09

DEDICATORIA

Se la dedicó en especial a mi madre Aida su bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien, gracias por ser mi motivo a seguir adelante, brindándome todo su amor, confianza y apoyo incondicional para llegar a culminar este objetivo.

A mis hermanas y a toda mi familia que de una u otra forma me motivaron durante la fase de mis estudios universitarios.

Jessica

AGRADECIMIENTO

Me gustaría agradecer:

A Dios por darme sabiduría, fortaleza y paciencia para seguir adelante en momentos difíciles y así culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre por su amor, confianza, comprensión y sobre todo por su apoyo incondicional que me ha brindado siempre, es por ella que logre cumplir el objetivo propuesto.

Al personal Administrativo y Técnico del Laboratorio AQLAB por haber permitido que este proyecto se lleve a cabo dentro de su institución, brindándome todas las pautas teóricas necesarias y el apoyo personal para continuar y obtener con éxito los resultados de este proyecto.

Deseo hacer un sincero agradecimiento a la Dra. Yolanda Díaz por aceptar dirigirme en este trabajo de integración curricular, su apoyo, confianza y su capacidad para guiar, siendo un aporte invaluable.

A mi asesor el Dr. Carlos Pilamunga por su apoyo y asesoramiento en el desarrollo del trabajo de integración curricular.

Jessica

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN	xiv
SUMMARY /ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO	4
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Marco Conceptual.....	5
1.2.1. <i>El agua</i>	5
1.2.2. <i>Contaminación del agua</i>	5
1.2.3. <i>Características del agua</i>	7
1.2.4. <i>Aceites y grasas</i>	8
1.2.5. <i>Contaminación de aceites y grasas en aguas</i>	8
1.2.6. <i>Criterios de calidad según el Anexo 1 del libro del TULSMA</i>	8
1.2.7. <i>Método Instrumental de Análisis</i>	9
1.2.7.1. <i>Espectroscopia</i>	9
1.2.8. <i>Equipo IR InfraCal TOG/TPH Modelo HATR-T2 y CH</i>	10
1.2.8.1. <i>Consideraciones sobre el lector de tarjetas IR</i>	11
1.2.8.2. <i>Descripción de la etapa de muestra del lector de tarjetas IR</i>	12
1.2.8.3. <i>Descripción del Analizador del equipo InfraCal</i>	13
1.2.8.4. <i>Panel de control frontal</i>	13
1.2.8.5. <i>Descripción de los controles de pulsador</i>	13
1.2.9. <i>Validación del Método de Análisis</i>	14
1.2.9.1. <i>Tipos de validación</i>	14
1.2.9.2. <i>Selección del método de análisis</i>	15
1.2.9.3. <i>Planificación para el análisis del problema analítico.</i>	15
1.2.9.4. <i>Elección, desarrollo y evaluación de método.</i>	15
1.2.10. <i>Parámetros de desempeño de un método</i>	16

1.2.10.1.	<i>Selectividad/ Especificidad</i>	16
1.2.10.2.	<i>Función de respuesta</i>	16
1.2.10.3.	<i>Límite de detección</i>	17
1.2.10.4.	<i>Límite de Cuantificación</i>	18
1.2.10.5.	<i>Precisión</i>	18
1.2.10.6.	<i>Intervalo de Trabajo</i>	19
1.2.10.7.	<i>Sensibilidad Analítica</i>	20
1.2.10.8.	<i>Exactitud</i>	20
1.2.10.9.	<i>Incertidumbre</i>	21
1.2.10.10.	<i>Tipos de Incertidumbre</i>	22

CAPÍTULO II

2.	METODOLOGÍA	24
2.1.	Tipo y diseño de la investigación	24
2.1.1.	<i>Localización del sitio de trabajo</i>	24
2.1.2.	<i>Población de estudio</i>	24
2.1.3.	<i>Tamaño de la muestra</i>	25
2.2.	Técnicas e Instrumentos Analíticos	25
2.2.1.	<i>Métodos de referencia</i>	25
2.2.2.	<i>Equipos, Materiales y Reactivos</i>	25
2.2.2.1.	<i>Equipos</i>	25
2.2.2.2.	<i>Materiales</i>	26
2.2.2.3.	<i>Reactivos</i>	26
2.2.3.	<i>Toma de muestras, preservación, manejo y almacenamiento de muestras</i>	26
2.2.4.	<i>Condiciones ambientales</i>	27
2.2.5.	<i>Procedimiento para la determinación Aceites y Grasas</i>	27
2.2.5.1.	<i>Extracción de aceites y grasas</i>	27
2.2.5.2.	<i>Filtración de aceites y grasas.</i>	27
2.2.5.3.	<i>Lectura en equipo EFQ/058 (InfraCal TOG/TPH Analyzer)</i>	28
2.3.	Diseño Experimental	28
2.3.1.	<i>Necesidad Analítica</i>	28
2.3.2.	<i>Objetivos y parámetros de validación</i>	29
2.3.3.	<i>Análisis estadístico inferencial</i>	29
2.3.3.1.	<i>Determinación del diseño experimental y estadístico de validación.</i>	29
2.3.3.2.	<i>Tratamiento estadístico de los datos obtenidos</i>	30

2.4.	Cálculos de los datos obtenidos	31
2.4.1.	<i>Selectividad</i>	31
2.4.2.	<i>Límite de detección y cuantificación</i>	31
2.4.3.	<i>Análisis de repetibilidad (r)</i>	31
2.4.4.	<i>Análisis de reproducibilidad (R)</i>	32
2.4.5.	<i>Análisis de Varianza ANOVA</i>	32
2.4.6.	<i>Estimación a la Incertidumbre de Aceites y Grasas en Aguas y Lixiviados</i>	33
2.4.6.1.	<i>Incertidumbre del material volumétrico (pipetas y balones de aforo).</i>	33
2.4.6.2.	<i>Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas</i>	35
2.4.6.3.	<i>Incertidumbre de la calibración del equipo InfraCal</i>	36
2.4.6.4.	<i>Incertidumbre de la función respuesta</i>	36
2.4.6.5.	<i>Incertidumbre de la resolución del equipo.</i>	36
2.4.6.6.	<i>Incertidumbre del método</i>	37

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	38
3.1.	<i>Obtención de Resultados</i>	38
3.1.1.	<i>Toma de datos</i>	39
3.1.2.	<i>Linealidad de la función respuesta para aceites y grasas</i>	40
3.1.3.	<i>Límite de cuantificación y detección</i>	43
3.1.3.1.	<i>Cálculo para determinar el límite de detección</i>	43
3.1.3.2.	<i>Cálculo para determinar el límite de cuantificación</i>	43
3.1.4.	<i>Precisión</i>	44
3.1.4.1.	<i>Análisis de repetibilidad (r) de los datos primarios.</i>	44
3.1.5.	<i>Análisis de reproducibilidad (R)</i>	46
3.1.6.	<i>Análisis de Varianza ANOVA</i>	47
3.1.7.	<i>Incertidumbre a la Incertidumbre de aceites y grasas en aguas</i>	49
3.1.7.1.	<i>Incertidumbre del material volumétrico</i>	49
3.1.7.2.	<i>Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas</i>	51
3.1.7.3.	<i>Incertidumbre de los estándares de aceites y grasas</i>	52
3.1.7.4.	<i>Incertidumbre de la calibración del equipo InfraCal</i>	53
3.2.	<i>Interpretación de Resultados</i>	60

CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES.....	63
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Tipos de Contaminación	6
Tabla 2-1:	Clasificación de aguas contaminadas según su origen.....	6
Tabla 3-1:	Características del agua.....	7
Tabla 4-1:	Límites permisibles a los Criterios de Calidad	9
Tabla 5-1:	Parámetros estadísticos para la estimación lineal.	17
Tabla 6-1:	Fuentes de Incertidumbre.....	21
Tabla 1-2:	Número de datos a tomar por los analistas	25
Tabla 2-2:	Criterios de calidad de aceites y grasas en aguas según el TULSMA	28
Tabla 3-2:	Parámetros de validación.	29
Tabla 4-2:	Diseño experimental y estadístico.....	28
Tabla 5-2:	VARIABLES para el análisis de varianza.	32
Tabla 6-2:	Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas	33
Tabla 1-3:	Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas.....	35
Tabla 2-3:	Lectura de los datos obtenidos.	38
Tabla 3-3:	Datos obtenidos de las 5 curvas de calibración.....	39
Tabla 4-3:	Parámetros estadísticos de la función respuesta.	40
Tabla 5-3:	Interceptos y pendientes máximas y mínimas.....	41
Tabla 6-3:	Datos para determinar LDO Y LQO.....	42
Tabla 7-3:	Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 1.....	44
Tabla 8-3:	Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 2.....	45
Tabla 9-3:	Análisis estadístico t-Student entre el analista 1 y 2.	46
Tabla 10-3:	Resultados del Análisis de Varianza.....	46
Tabla 11-3:	Análisis estadístico de Fisher para todos los niveles de concentración.	49
Tabla 12-3:	Incertidumbre de las Pipetas Volumétricas.....	49
Tabla 13-3:	Incertidumbre de los Balones de Aforo.	49
Tabla 14-3:	Incertidumbre de preparación del estándar de 1000 mg/L y 5000 mg/L.	50
Tabla 15-3:	Incertidumbre de la balanza para el estándar de 10000 mg/L.....	51
Tabla 16-3:	Incertidumbre de los estándares a partir del estándar de 1000 y 5000 mg/L.	51
Tabla 17-3:	Estimación lineal para todas las curvas.....	52
Tabla 18-3:	Desviación de reproducibilidad proveniente del ANOVA.	56
Tabla 19-3:	Incertidumbre de Recuperación.	56
Tabla 20-3:	Incertidumbre del método de Aceites y grasas en Aguas y Lixiviados.	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Distribución del agua	5
Figura 2-1.	Espectro Electromagnético	9
Figura 3-1.	Equipo InfraCal TOG/TPH modelo HATR-T2	10
Figura 4-1.	Medición de la absorción infrarroja de una muestra de aceite.	11
Figura 5-1.	Descripción de la cubeta porta muestras.	12
Figura 6-1.	Analizador TOG / TPH HATR-T2	13
Figura 7-1.	Panel de control frontal	13
Figura 8-1.	Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método.....	21
Figura 1-3.	Absorbancia vs Concentración.....	38

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES PARA LA DETERMINACIÓN DE ACEITES Y GRASAS.

ANEXO B: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS DE ACEITES Y GRASAS EN AGUAS.

ANEXO C : EXTRACCIÓN DE ACEITES Y GRASAS DE LAS MUESTRAS.

ANEXO D: FILTRACIÓN Y LECTURA DE LAS MUESTRAS.

ANEXO E: DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO.

ANEXO F: CARTA DE AUSPICIO AQLAB.

ANEXO G: CARTA DE CONFORMIDAD.

ANEXO H: REPORTE DE EXACTITUD.

ANEXO I: CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE NORMATIVA.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A&G	Aceites y grasas
Sr	Desviación estándar de repetibilidad
SR	Desviación estándar de reproducibilidad
r	Repetibilidad
R	Reproducibilidad
SDR	Desviación Estándar
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
CV	Coefficiente de variación
U	Incertidumbre
K	Intervalo de confianza
ISO	Organización Internacional de Normalización
TULSMA	Texto Unificado Legislación Secundaria de Medio Ambiente
STD	Estándar ITU Instructivo Técnico de Uso
ITE	Instructivo Técnico de Ensayo
LDO	Límite de detección
LQO	Límite de cuantificación
Lr	Límite de repetibilidad
LR	Límite de reproducibilidad

RESUMEN

El presente proyecto de investigación se desarrolló con el objetivo de validar el método de aceites y grasas en aguas por espectroscopia infrarroja, para el laboratorio AQLAB en la ciudad de Francisco de Orellana. Se seleccionó el método de referencia EPA 481.1, EPA 1664 (Método de validación). Posteriormente, se procedió a establecer los objetivos para la validación planteando un diseño experimental a diferentes concentraciones de los analitos y finalmente se determinaron los parámetros de validación como: Función respuesta /Linealidad, Selectividad /Especificidad, Límite de detección, Límite de cuantificación, Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad), Exactitud, Incertidumbre, Intervalo de trabajo, considerando como referencia la Norma NTE/ISO/IEC 17025:2006. Los resultados obtenidos en la validación demostraron que el método utilizado es el adecuado para el análisis estadístico. Se cumplió a cabalidad los criterios de rendimiento tales como: coeficiente de variación SDR (Desviación Estándar) menor al 15%, Exactitud (Recuperación) del 70 al 120 % en todos los niveles de concentración, una incertidumbre del U menor-igual al 30 % un intervalo de confianza (K=2), con un nivel de significancia del 95% y un intervalo de trabajo de 0,3 a 70 mg/L por lo cual, la declaración del método fue aceptado. Se concluye que los parámetros críticos de validación de aceites y grasas, en cuanto a la función respuesta / linealidad con un grado de ajuste. Se obtuvo un coeficiente de determinación de 0,9969, el porcentaje del coeficiente de variación es <15%, el porcentaje de recuperación es de 70 a 105 %, declarando una incertidumbre del método 28% y un intervalo de trabajo 0,11-914,41 mg/L debido que se tomaron muestras de descargas de lavadoras y lubricadoras que contenían elevadas concentraciones de aceites y grasas por esta razón se obtuvo un rango muy alto. Se recomienda realizar un ajuste de las curvas de calibración y verificar las interferencias.

Palabras clave: <ACEITES Y GRASAS>, <ESPECTROSCOPIA INFRARROJA>, <ANÁLISIS ESTADÍSTICO>, <MÉTODOS DE ENSAYO>, <MÉTODOS DE REFERENCIA>, <VALIDACIÓN>, <DETERMINACIÓN EN AGUAS >, <FRANCISCO DE ORELLANA (CANTÓN) >.

 **LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE**

Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO
MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, ou=ENTIDAD
DE CERTIFICACION DE INFORMACION-ECIBCE,
l=QUITO, serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.11.11 18:00:22 -05'00'



2089-DBRA-UTP-2021

SUMMARY /ABSTRACT

This research project was developed with the aim of validating the method of oils and fats in water by infrared spectroscopy, for the AQLAB laboratory in the city of Francisco de Orellana. Reference method EPA 481.1, EPA 1664 (Validation method) was selected. Subsequently, the objectives for validation were established by proposing an experimental design at different concentrations of the analytes and finally the validation parameters were determined such as: Response function / Linearity, Selectivity / Specificity, Limit of detection, Limit of quantification, Precision (repeatability and / or reproducibility), Accuracy, Uncertainty, Work interval, considering as reference the NTE / ISO / IEC 17025: 2006 Standard. The results obtained in the validation demonstrated that the method used is suitable for statistical analysis. Performance criteria such as: coefficient of variation SDR (Standard Deviation) less than 15%, Accuracy (Recovery) of 70 to 120 % at all concentration levels, an uncertainty of U less than 30 % a confidence interval ($K = 2$), with a significance level of 95 % and a working interval of 0.3 to 70 mg / L were fully met, therefore, the method statement was accepted. It is concluded that the critical parameters of validation of oils and fats, in terms of the response function / linearity with a degree of adjustment. A coefficient of determination of 0.9969 was obtained, the percentage of the coefficient of variation is <15%, the percentage of recovery is from 70 to 105%, declaring an uncertainty of the method 28% and a working interval 0.11-914.41 mg / L due to samples of discharges from washing machines and lubricators containing high concentrations of oils and greases for this reason a very high range was obtained. It is recommended adjusting the calibration curves and check for interference.

Keywords: OILS AND FATS, INFRARED SPECTROSCOPY, STATISTICAL ANALYSIS, TEST METHODS, REFERENCE METHODS, VALIDATION, DETERMINATION IN WATER, FRANCISCO DE ORELLANA (CANTON).

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es una problemática importante que se presenta en todo el mundo, por la falta de compromiso, desde el ciudadano hasta grandes industrias principales generadoras de desechos contaminantes y peligrosos para el ambiente (Barrera, 2015, p.16).

La validación de un método analítico es un procedimiento que demuestra si el método a utilizar es apto para el uso indicado mediante la realización de un análisis de laboratorio se verifica las peculiaridades del método y que este cumpla con todos los criterios de calidad requeridos por la normativa para resolver el problema analítico (Paho, 2002, p.4).

El Laboratorio AQLAB es el encargado de brindar servicios de calidad en lo que concierne al análisis microbiológicos y fisicoquímicos de aguas, suelos y alimentos. Estos análisis se realizan bajo el régimen de la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006 lo cual hace que los resultados sean válidos y confiables. Actualmente el laboratorio AQLAB realiza el análisis de aceites y grasas en matrices de aguas, pero no cuenta con la validación de un método analítico es por esto que existe la necesidad de hacerlo y así demostrar que el procedimiento analítico a realizar es apto, confiable y reproducible.

El propósito del presente trabajo de titulación es validar un método para la determinación de aceites y grasas usando la técnica de espectroscopia infrarroja, concluyendo de esa manera la validación del mismo, proporcionando así un servicio de calidad y mayor confiabilidad a los clientes al obtener la acreditación de dicho método.

La técnica aplicada es la de espectroscopia infrarroja, en la cual se puede detectar el grado de concentración de aceites y grasas en muestras de aguas provenientes de fuentes: naturales, consumo, descarga y lixiviados. El resultado obtenido de este método se validará con un análisis estadístico donde se determinará el límite de detección y cuantificación, precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad), exactitud, incertidumbre y el intervalo de trabajo.

JUSTIFICACIÓN

El laboratorio AQLAB presta servicios de análisis en aguas, suelos, lixiviados y alimentos. Para llevar a cabo estas funciones se rige en parámetros los cuales enmarcan funciones dentro de un Sistema de Gestión de Calidad con la finalidad de cumplir con los requisitos establecidos en la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006 para garantizar la calidad y fiabilidad de los resultados (Aqlab, 2017, p. 1).

El Laboratorio AQLAB dentro de su alcance de acreditación no posee la validación de un método analítico para determinar aceites y grasas en aguas. Por ello validar este método es importante en la zona industrial/ petrolera puesto que estas deben cumplir con normativas ambientales para las descargas de efluentes.

La importancia de validar esta metodología de aceites y grasas en aguas naturales, consumo, descarga y lixiviados, empleando el equipo de espectroscopia infrarroja y siguiendo una serie de requerimientos basados en los principios básicos para su desarrollo puesto que el método a utilizar en el laboratorio de análisis debe ser evaluado y sometido a pruebas para asegurar que los resultados sean válidos y confiables.

El presente trabajo se ejecutó con el auspicio y en las instalaciones de AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑÍA ubicado en la provincia de Francisco de Orellana, el cual me brindó la oportunidad de realizar este proyecto de investigación con el propósito de validar un método analítico para determinar aceites y grasas en aguas empleando espectroscopia infrarroja y rigiéndonos a la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Validar un método para la determinación de aceites y grasas por espectroscopia infrarroja en aguas naturales, de consumo y residuales para la acreditación del mismo en AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑÍA.

Objetivos Específicos

- Determinar la metodología para la validación de aceites y grasas en aguas a fin de cumplir con la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006 para la validación del método.
- Establecer los parámetros críticos de validación para la determinación de aceites y grasas por la técnica de espectroscopia infrarroja.
- Calcular la incertidumbre del método para la determinación de aceites y grasas por espectroscopia infrarroja en aguas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En la investigación “VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ENSAYO PARA DBO5 EN AGUAS RESIDUALES, TPH, ACEITES Y GRASAS EN AGUAS RESIDUALES Y SUELOS” Realizada en el Departamento de Petróleos, Energía y Contaminación (DPEC) se siguieron procedimientos establecidos basándose en el Standard Methods 5210 D, 55320 B y EPA 418.1 para validar los métodos utilizaron de referencia la norma NTE ISO/IEC: 17025. Posteriormente procedieron a fijar objetivos de validación, se establecieron parámetros para la validación y finalmente, declaran el método cumpliendo con los parámetros requeridos por la normativa siendo una investigación exitosa (Fernandez, 2013, p. 18).

En la investigación “EVALUACIÓN ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES EN AGUAS POR EL MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA”. Realizada en la planta de tratamiento El Bosque trabajaron con el método 5520 C y F, APHA-AWWA-WEF (2012), contenido en el Standard Methods for the Examination of Water and Waste water 22th Edition (APHA-AWWA-WEF, 2012). Los TPHS se extrajeron con tetrafluoretileno y sílice gel mientras que para la curva de calibración se prepararon seis patrones y siete blancos. Las muestras y patrones fueron medidas en el equipo de espectroscopia IR en el intervalo de 3200 a 2700 cm^{-1} y al pico máximo de 2925 cm^{-1} determinando que el procedimiento propuesto presenta adecuadas características de desempeño, por lo que definieron que el método es preciso (coeficientes de variación <10%), veraz (no presenta sesgo significativo), con un adecuado intervalo de concentración y un límite de detección relativamente bajo (3.4 mg/L) (Castillo et al, 2013, pp. 2-7).

Entre los requisitos técnicos establecidos en la norma ISO/IEC 17025 se encuentra la validación de métodos, es por esto que el laboratorio AQLAB, obtuvo la acreditación INEN ISO 17025:2006 a nivel nacional por el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE) en el año 2013, con la finalidad de garantizar que el laboratorio analice y tenga bajo control factores que inciden en la conformidad y exactitud de los resultados. Actualmente el laboratorio AQLAB cuenta con la acreditación en muestras de aguas, suelos, alimentos (Aqlab, 2017, pp. 2).

1.2. Marco Conceptual

1.2.1. El agua

El agua ocupa aproximadamente más del 70 % de la superficie del planeta se la localiza en océanos, lagos, ríos (Química Viva, 2012, p. 3).

Es una fuente de vida debido a que posee propiedades únicas que la hacen esencial, en los océanos se localiza casi el 97,5 % de agua en el planeta .Por lo tanto 2,5% es agua dulce lo cual los glaciares poseen casi el 80% . (Química Viva, 2012, p. 3).

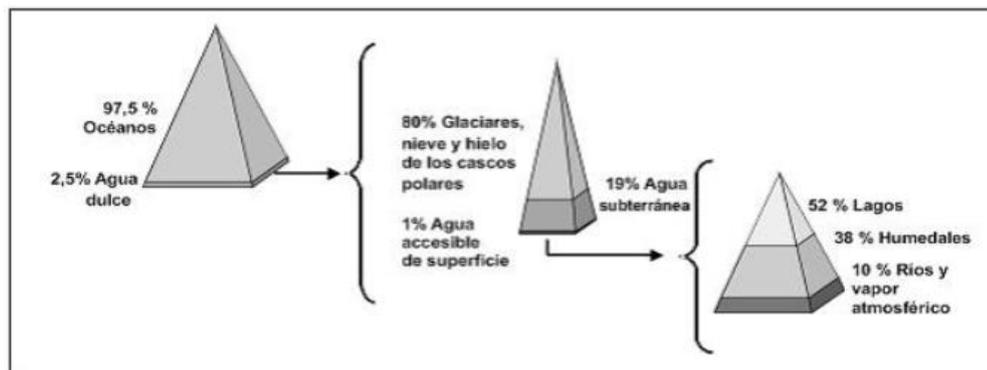


Figura 1-1. Distribución del agua

Fuente: Química Viva, 2012, p.4.

1.2.2. Contaminación del agua

El agua es un recurso importante para la vida humana y el sostenimiento del medioambiente como consecuencia del uso inapropiado ha sufrido un desgaste, los principales contaminantes en el medio ambiente son las aguas residuales, urbanas, industriales, descargas y las de origen agrícola o ganadero (Barcelo y López, 2014, p. 3).

Los diversos efectos que provocan el echar el aceite en el agua ya sea de forma directa en ríos o por medio de vías de alcantarillado. En el caso de talleres u servicios técnicos ubicados cerca de ellos, produce que el aceite se concentre demasiado en la superficie de estos ríos formando una capa impenetrable de oxígeno que causa la muerte de seres vivos que habitan en ese medio, así como animales terrestres que beben del agua del lugar. Al analizar el aceite se sabe que este contiene ciertas partículas que en combinación con el agua pueden fácilmente disolverse y filtrarse en las profundidades de los suelos acuáticos; con lo cual vienen a causar la muerte de la fauna y flora de ríos, mares u océanos al transcurso de los años (Barrera, 2015 p. 22).

Tabla 1-1: Tipos de Contaminación

Tipo de contaminación del agua	
Origen	<ul style="list-style-type: none"> • Natural: erosión, volcanes. • Antropogénico: vertidos urbanos, agrícolas, industriales.
Naturaleza de los contaminantes.	<ul style="list-style-type: none"> • Física: materiales disueltos o en suspensión que afectan a las propiedades físicas. • Química: presencia de agentes químicos. • Biológica: presencia de microorganismos patógenos.
Vía de entrada	<ul style="list-style-type: none"> • Contaminación intensiva: a través de canales bien definidos en el tiempo y el espacio (vertidos urbanos e industriales). • Contaminación extensiva: a través de vías más imprecisas como la lluvia ácida, aporte de nutrientes por escorrentía, etc.

Fuente: Fernandez, 2013, p.28.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Tabla 2-1: Clasificación de aguas contaminadas según su origen

Clasificación de aguas contaminadas según su origen.		
Tipo	Origen	Caracterización
Aguas negras	Aguas fecales procedentes de usos domésticos o urbanos.	Contiene materia en suspensión y disolución: papel, detergentes, residuos, jabones, etc.
Efluentes industriales	Muy diversos: talleres químicas, textiles, metálicos, etc.	Hidrocarburos, colorantes, ácidos, etc.
Aguas con contaminación agrícola y ganadera	Explotaciones agrarias, ganaderas, forestales, mataderos.	DBO elevada, materia en suspensión, ácidos, etc.
Aguas pluviales	Agua proveniente de la lluvia arrastrada por el suelo y la atmósfera.	Teóricamente pura pero puede tener materiales en suspensión arrastrados a través del aire y suelo.

Fuente: Fernandez, 2013, p.29.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

1.2.3. Características del agua

El agua es un buen disolvente en compuestos orgánicos e inorgánicos, sean de naturaleza polar o apolar, se la encuentra en gran cantidad de sustancias en estado sólido, líquido y gaseoso.

Criterios o parámetros de calidad que se clasifican en:

Tabla 3-1: Características del agua

Hidrológicos	Caudal, velocidad, mezcla.
Físicos:	Color, temperatura, turbiedad, olor, sabor, también son considerados como parámetros organolépticos es decir que se detectan en primera instancia por los órganos de los sentidos.
Químicos:	Alcalinidad, pH, conductividad, dureza, oxígeno disuelto, coloides, acidez mineral, sólidos disueltos, sólidos en suspensión, sólidos totales, residuo seco, nitrógeno: NH_4^+ , NO_3^- , cloruros, detergentes, fenoles, pesticidas, material orgánico oxidable, sulfatos, fosfatos, fluoruros, sílice, bicarbonatos y carbonatos, sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, metales tóxicos, dióxido de carbono, ácido sulfhídrico, demanda química de oxígeno.
Biológicos:	Demanda bioquímica de oxígeno, carbón orgánico total.
Bacteriológicos:	Coliformes fecales y totales, demanda de cloro.

Fuente: Fernandez, 2013, p.24.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

1.2.4. Aceites y grasas

Las grasas y aceites más bien conocidos como ésteres de ácidos grasos, por lo tanto, los ésteres líquidos en temperaturas ordinarias se llaman aceites y los esteres sólidos se llaman grasas. Ambos son químicamente semejantes debido a que están compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno en diversas proporciones. Las grasas son compuestos orgánicos estables y no se descomponen fácilmente por la acción de las bacterias (Fernandez, 201, p. 41).

Los aceites y grasas ocasionan contaminación del agua donde son descargadas, son inmiscibles en el agua, estas permanecen en la superficie originando natas y espumas (Vidales et al., 2010, p. 2).

1.2.5. Contaminación de aceites y grasas en aguas

La contaminación del agua por aceites y grasas en sistemas de almacenamiento, fuentes subterráneas y superficiales se da con mucha frecuencia, pero no se hallan disueltos por el agua, no están relacionadas con una posible contaminación, pero ocasionan un cambio en las características organolépticas del agua debido a que su ingestión produce riesgos en la salud, el ecosistema padece de afectaciones originadas por este impacto negativo que producen estos contaminantes (García, 2016, pp. 28-29).

La presencia de hidrocarburos en aguas es de gran relevancia para las entidades ambientales debido a los daños ocasionados. Entre los principales factores son los derramamientos, vertimientos de residuos industriales (Castillo et al., 2013, p.3).

Los aceites y grasas en aguas son de mucho interés debido a su efecto perjudicial como al impacto negativo que se ocasiona en la vida acuática, por ende, se ha establecido reglamentos y normativas para su monitoreo en aguas y efluentes (Castillo et al., 2013, p.3).

1.2.6. Criterios de calidad según el Anexo 1 del libro del TULSMA

Según la normativa del Anexo 1 del libro del TULSMA en el anexo VI establece los criterios de calidad de fuentes de aguas para aceites y grasas.

Tabla 4-1: Límites permisibles a los Criterios de Calidad

NORMA LMP	CRITERIO DE CALIDAD	Unidad	MATRIZ	TIPO DE MUESTRA
Tabla 1	0,3	mg/L	Agua de consumo Agua Natural	Potable Ríos, Superficiales, Captaciones.
Tabla 8	70,0	mg/L	Residual	Descarga Alcantarilla
Tabla 9	30,0	mg/L	Residual Lixiviados	Descarga a Río Lixiviados

Fuente: TULSMA, 2015, Anexo 1.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

1.2.7. Método Instrumental de Análisis

Los métodos espectroscópicos determinan la radiación absorbida. Por lo general a estos métodos de espectroscopia se los clasifica en relación a la región del espectro usado para realizar la medición, estas regiones incluyen los rayos gamma, rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas y radiofrecuencias (Fernandez, 2013, p. 57).

1.2.7.1. Espectroscopia

La absorción IR es una técnica en el análisis cualitativo y cuantitativo valioso para la identificación de los grupos funcionales. La absorción de radiación en la región del IR puede dar información acerca de la naturaleza de los compuestos, la presencia o no de grupos funcionales (Fernandez, 2013, p. 55).

La espectroscopia IR se emplea para analizar las características vibracionales de las moléculas, estructuras cristalinas y cristales. Su efecto sobre la materia orgánica es producir deformaciones de los enlaces de la sustancia, utilizando la radiación del espectro electromagnético cuya longitud de onda (λ) está comprendida entre los 800 y los 400 nm (0.8 y 400 μ m, 1 μ m=10⁻⁴ cm) como lo muestra la figura 2-1 (Fernandez, 2013, p. 56).

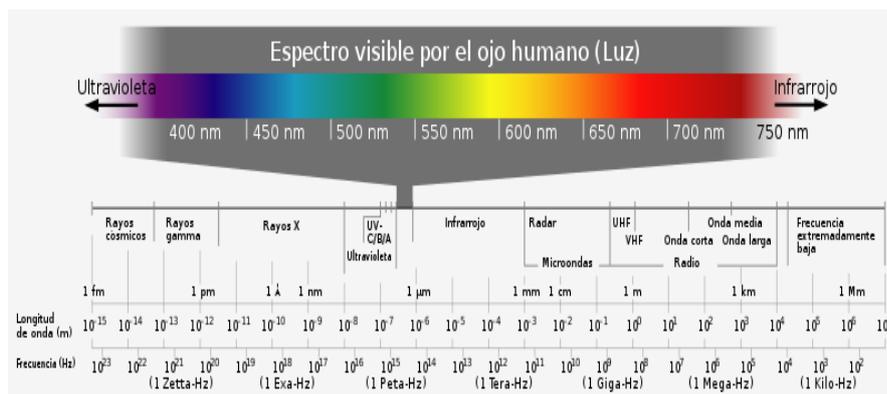


Figura 2-1. Espectro Electromagnético

Fuente: Fernandez, 2013.

1.2.8. Equipo IR InfraCal TOG/TPH Modelo HATR-T2 y CH

El equipo InfraCal TOG/TPH Analyzer sirve para medir hidrocarburos como aceites y grasas, usando un solvente de extracción el mismo que está diseñado para absorber la energía infrarroja de los hidrocarburos extraídos en una determinada longitud de onda específica y la cantidad de energía absorbida, siendo proporcional a la concentración de aceites y grasas en el disolvente. Se utiliza un detector doble en el analizador TOG / TPH para medir concentraciones de hidrocarburos a 3,4 micrómetros (2940 cm^{-1}) con una referencia de 2,7 micrómetros (3700 cm^{-1}) (Wilks, 2009 pp. 4-5).



Figura 3-1. Equipo InfraCal TOG/TPH modelo HATR-T2

Fuente: Wilks, 2009.

El modelo HATR-T2 aprovecha el hecho de que los hidrocarburos como el aceite y la grasa se pueden extraer de agua o suelo mediante el uso de un solvente apropiado. Los hidrocarburos extraídos absorben infrarrojos energía a una longitud de onda IR común y la cantidad de energía absorbida es proporcional a la concentración del aceite / grasa en el disolvente. Esto se puede calibrar directamente o convertir a la cantidad de aceite en la muestra original (Wilks, 2009, p. 4-5).

El analizador InfraCal TOG / TPH, modelo HATR-T2, está diseñado como un sustituto equitativo de EPA Método 1664 con la extracción de hexano como disolvente. Un volumen fijo del extracto el cual se coloca directamente en una cubeta de plataforma IR con una longitud de trayectoria conocida y se deja evaporar el solvente, cuando la plataforma infrarroja se coloque en la plataforma de muestra, un haz de luz infrarroja se va a reflejar internamente hacia abajo y la salida se enfoca directamente en el paquete de detector dual. Dado que hay una onda que penetra la muestra en cada punto de reflexión interno y la energía se absorbe en la longitud de onda analítica por muestra (Wilks, 2009, p. 20).

La energía recolectada en la longitud de onda analítica (I_a), se reduce en comparación con la energía recolectada en la longitud de onda de referencia (I_r). La concentración de aceite se determina mediante un cálculo del logaritmo de la relación entre la transmisión de luz en la longitud de onda de referencia y la transmisión de luz en la analítica longitud de onda (ley de Beer-Lambert) como se muestra en la figura. La ley de Beer-Lambert asume una relación que existe entre absorbancia y concentración (Wilks, 2009, p. 20).

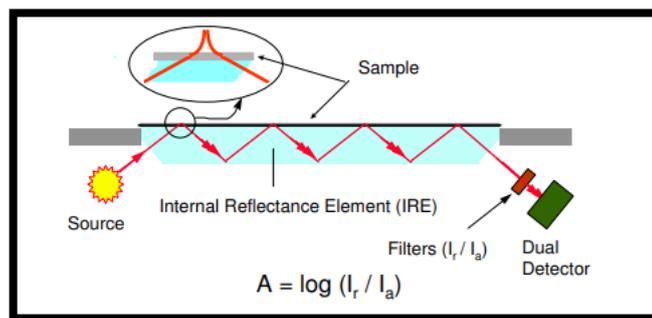


Figura 4-1. Medición de la absorción infrarroja de una muestra de aceite.

Fuente: Wilks, 2009.

1.2.8.1. Consideraciones sobre el lector de tarjetas IR

Para una mejor reproducibilidad es recomendable:

- Utilizar pipetas o jeringas de precisión de volumen fijo.
- Limpiar siempre la ventana de la placa de muestra IR con hexano de grado espectrofotométrico o un disolvente adecuado que no deje residuos y sostener la placa verticalmente para que fluya una pequeña cantidad de solvente.
- Bajar la placa y agitar para asegurarse que se elimine todo el aceite y que el solvente esté seco. Para mejores resultados limpiar con alcohol metílico o etílico y secar con un paño antiestático.

- Las diferencias en las características de transmisión entre placas pueden introducir errores cuantitativos. En este caso es recomendable que se compruebe el valor cero de cada placa de muestra IR se sugiere limpiar las placas.

Se producen problemas de repetibilidad y deriva cuando la ventana se encuentra contaminada con sustancias extrañas, produciendo una acumulación de carga. Estas condiciones pueden ocasionar que la muestra se seque de forma no uniforme, manera que el aceite migre con el tiempo una vez que el hexano se haya evaporado. (Wilks, 2009, p. 18).

1.2.8.2. Descripción de la etapa de muestra del lector de tarjetas IR

El modelo CH se suministra con un porta muestras de lector de tarjetas IR extraíble y un sensor óptico integrado sistema. La platina de muestra incluye la fuente de infrarrojos (modulada) y el sistema detector, colocados que un rayo de energía elíptico se transmite a través del cristal del lector de tarjetas IR y se enfoca directamente en la ventana de detección del detector.

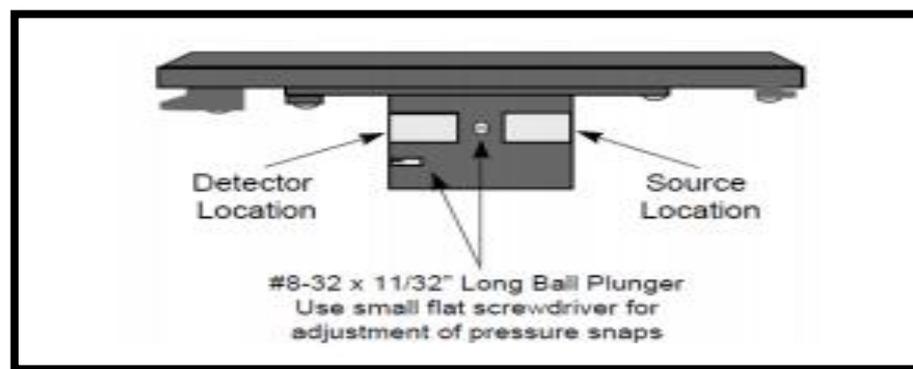


Figura 5-1. Descripción de la cubeta porta muestras.

Fuente: Wilks, 2009.

El Analizador InfraCal TOG/TPH posee un sistema integrado el cual soporta una cubeta de 10 mm y posee un sistema de detección óptico. Consta de una fuente de infrarrojos modulada y el sistema detector, colocados de tal manera que un haz de energía se transmite a través de la muestra y se centra directamente por la ventana del detector (Wilks, 2009, p. 20).

El Analizador InfraCal está diseñado para el uso con Métodos EPA 413.2 y 418.1, cuando la cubeta se coloca en la porta muestras un haz de energía elíptica se transmite a través de la muestra y se centra directamente por la ventana del detector y la energía recogida en la longitud de onda analítica (IA), se reduce en comparación con la energía recogida en la longitud de onda de referencia (IR) (Wilks, 2009, p. 20).

1.2.8.3. Descripción del Analizador del equipo InfraCal

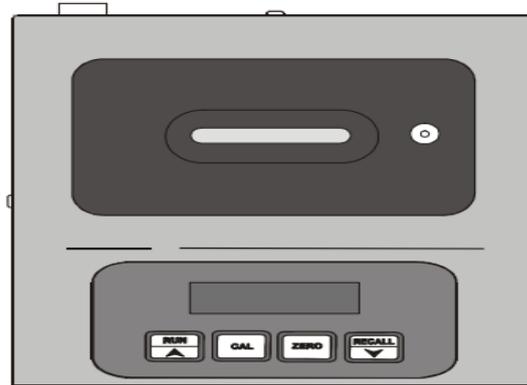


Figura 6-1. Analizador TOG / TPH HATR-T2

Fuente: Wilks, 2009.

1.2.8.4. Panel de control frontal

El panel frontal consta de una pantalla LED de 4 dígitos y cuatro botones de control sensibles al tacto, como se ilustra en la Figura 7-1. La pantalla LED permanece iluminada mientras que el analizador se encuentra conectado (encendido).

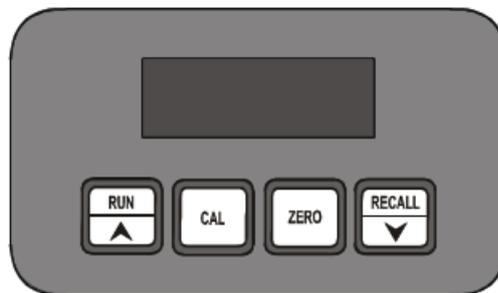


Figura 7-1. Panel de control frontal

Fuente: Wilks, 2009.

1.2.8.5. Descripción de los controles de pulsador

-  Se utiliza para iniciar el análisis de la muestra, para grabar la calibración previa al análisis de la muestra. El control de flecha se usa para aumentar los valores numéricos utilizados en la función CAL.
-  CAL.- Mantener presionado el botón durante 2 segundos para seleccionar el tipo de calibración.



CERO. - Mantener presionado el botón durante 2 segundos para verificar el equilibrio del equipo. También se utiliza para salir de CAL.



RECUPERAR. - Pulsar y soltar rápidamente para recuperar hasta los diez últimos resultados. Control de flecha abajo se utiliza para disminuir los valores numéricos utilizados en la función CAL.

1.2.9. Validación del Método de Análisis

La validación es una confirmación a través de la contribución de evidencias objetivas que cumplan con los requisitos, mediante estudios sistemáticos de laboratorio. Por medio de esta se verifica que un método cumpla con la finalidad requerida (Acosta, 2014, p. 44).

Un método de análisis se considera como una guía de operaciones a llevar a cabo, mientras que un procedimiento analítico constituye más bien el modo de hacerlo.

1.2.9.1. Tipos de validación

La validación puede ser clasificada en función de si uno o varios laboratorios intervienen directamente en el proceso de validación de un método analítico de modo que puede ser validación interna o validación externa (Garrido, 2011, p. 29).

- **Validación interna**

Se presenta cuando el proceso se limita al ámbito de intervención de un laboratorio único, esta se lleva a cabo cuando un laboratorio desarrolle un método analítico o realice modificaciones a un método externo al laboratorio, de modo que se lo ha sometido a un cierto grado de validación (Garrido, 2011, p. 29).

- **Validación externa**

Se presenta cuando un mismo método analítico es objeto de interés de varios laboratorios, por lo que se utiliza un proceso de intercomparación. La validación externa es el procedimiento empleado cuando el método que va a ser validado busca ser un método de referencia (Garrido, 2011, p. 29).

1.2.9.2. Selección del método de análisis

La selección del método de análisis constituye una etapa crucial en la resolución de un problema analítico. En esta etapa se decide el diseño y la planificación del proceso analítico más adecuado para alcanzar los objetivos propuestos. El proceso analítico debe proyectarse en toda su extensión diseñando todos y cada uno de los pasos que une a la muestra con la obtención de los resultados, puesto que todos ellos afectarán al resultado final (Eurachem, 2016, p. 13).

1.2.9.3. Planificación para el análisis del problema analítico

- Toma, almacenamiento y conservación de la muestra.
- Tratamiento de una parte de la muestra para el posterior análisis.
- Determinación del analito o analitos.
- Evaluación y presentación de resultados.
- Informe final.

1.2.9.4. Elección, desarrollo y evaluación de método

La tarea de seleccionar el método más apropiado no es sencilla, ya que se cuenta con una gran cantidad de herramientas que van desde los numerosos procedimientos de puesta en disolución de la muestra hasta diferentes técnicas de medida pasando por las herramientas que se encaminan a la preparación previa de la muestra (Reisacho, 2009, p. 79).

Para la determinación del desempeño de un método se sugiere utilizar una o varias técnicas que se mencionan a continuación:

- Calibración con patrones o materiales de referencia.
- Comparación de resultados derivados por otros métodos.
- Evaluación sistemática de los factores que influyen en el método de análisis.
- Evaluación de la incertidumbre de los resultados obtenidos en base a los principios teóricos del método y en la experiencia práctica.

El laboratorio puede evaluar si los métodos existentes son los apropiados o necesita desarrollar un nuevo método el proceso de evaluación y el desarrollo continúa hasta que el método cumpla con las exigencias (Reisacho, 2009, p. 79).

1.2.10. Parámetros de desempeño de un método

Los parámetros de desempeño de un método son:

- Selectividad/ especificidad
- Función de respuesta /linealidad / sensibilidad
- Límite de cuantificación
- Límite de detección
- Intervalo de trabajo
- Incertidumbre
- Exactitud
- Precisión (repetibilidad y reproducibilidad)

1.2.10.1. Selectividad/ Especificidad

Se conoce como selectividad a la capacidad de un método analítico para medir exactamente los analitos sin interferencias de impurezas, productos de degradación que puedan estar presentes en las muestras. La selectividad se describe como la técnica de un procedimiento analítico para diferenciar el analito entre varias sustancias de la muestra, es un método que se prueba adicionando de manera deliberada a una muestra las interferencias específicas, es decir aquellas que tengan mayor probabilidad de estar presente en las muestras (Castillo y González, 1996 pág. 4).

La especificidad es conocida como la capacidad de evaluar el analito en presencia de componentes que se espera que estén presentes, las interferencias pueden producir efectos si el analista no es consciente de su presencia o no puede separar el analito de interés. La pendiente de la curva de calibración es afectada por las interferencias, el método de adiciones puede afectar la linealidad de la curva. La especificidad se considera generalmente que es el 100% de la selectividad (Reisacho, 2009, p. 31).

1.2.10.2. Función de respuesta

Es la relación que existe entre la concentración del analito y la respuesta del método. Esta relación es denominada comúnmente como curva de calibración. Para la determinación de la función respuesta de un método se evalúan con los siguientes parámetros (Sannmiguel y Guerrero, 2017, p. 36).

El analista prepara una serie de muestras es decir tres, cuatro y posiblemente cinco en las que se conoce la concentración del analito, estas calibraciones estándar se miden en el instrumento analítico, en las mismas condiciones que se usa para muestras desconocidas, al determinar la gráfica de la calibración se puede obtener la concentración del analito de la muestra desconocida por interpolación (Reisacho, 2009, p. 31).

Tabla 5-1: Parámetros estadísticos para la estimación lineal.

Variable	Ecuación
Pendiente, m	$m = \frac{\sum (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sum (X_i - \bar{X})^2}$
Intercepto, a	$a = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i - m \sum_{i=1}^N X_i}{N}$
Coefficiente de determinación, r^2	$r^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 * \sum (Y_i - \bar{Y})^2}}$
Error tipo de la estimación de Y	$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (Y_i - \bar{Y})^2}{N - 2}}$
Error tipo de la estimación de X	$S_{xy} = \frac{S_{yx}}{b}$
Desviación estándar de la pendiente, Sb	$S_b = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$
Desviación estándar del intercepto, Sa	$S_a = S_{yx} \sqrt{\frac{\sum_i^n X_i^2}{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$
Intervalo de confianza para la pendiente	$b_{\min} = b - t * S_b$ $b_{\max} = b + t * S_b$
Intervalo de confianza para el intercepto	$a_{\min} = a - t * S_a$ $a_{\max} = a + t * S_a$
T de Student	Calculada con 95,45%

Fuente: Duffau et al., 2010, pp.8-14.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

1.2.10.3. Límite de detección

Es la concentración mínima detectable de un analito, pero no necesariamente cuantificada a un nivel de confianza especificado. Puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión y se establece utilizando una muestra o material de referencia apropiado (Quino et al., 2007, pág. 3).

Para la estimación del límite de detección se consideran dos enfoques:

- Matrices que no contengan cantidades detectables de analito o medidas replicadas de la muestra de ensayo con una baja concentración de analito.
- Se recomienda que el número de réplicas en los procedimientos sea de 10. Calcular la desviación estándar y de ser necesario corregir por el blanco de rutina del método.

$$S_0' = \frac{S_0}{n}$$

Fuente: (Eurachem, 2016 p. 24).

Corrección de la desviación estándar por rutina

$$S_0' = S_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

Fuente: (Eurachem, 2016 p. 24)

Donde:

S_0 : Desviación estándar estimada de m resultados individuales.

S_0' : Desviación estándar para calcular el LDO y LOQ.

n: Número de réplicas promediadas.

n_b : Número de observaciones blanco promediadas.

Cálculo del LOD

$$\text{LOD} = 3 * S_0'$$

Fuente: (Duffau et al., 2010, p. 34)

1.2.10.4. Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación es conocido como la cantidad menor de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el instrumento a un nivel de desempeño aceptable, la concentración del analito es calculada con respecto a la desviación estándar obtenida o a niveles bajos, multiplicada por un factor k_Q , este valor es 10 según IUPAC (Eurachem, 2016, p. 21).

Cálculo del LQO

$$\text{LQO} = k_Q * S_0'$$

Fuente: (Duffau et al., 2010, p. 34)

1.2.10.5. Precisión

Es el grado de concordancia entre los resultados independientes de una medición, obtenidos en condiciones estipuladas, ya sea de repetibilidad o de reproducibilidad y depende de la distribución de los resultados sin estar relacionada con el valor verdadero (Acosta, 2014, p. 28).

Es una medida para determinar la proximidad entre los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto o de objetos similares. La precisión solo depende de la distribución de los errores aleatorios y no tiene relación con el valor verdadero, es decir depende de errores en

la preparación y análisis de la muestra. Para el cálculo de la precisión global se debe analizar la muestra por duplicado (Eurachem, 2016, p. 35).

Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y reproducibilidad es decir son series particulares en condiciones extremas. Tanto la repetibilidad como la reproducibilidad dependen generalmente de la concentración del analito y se deberá determinar a varias concentraciones y establecer la relación entre la precisión y concentración del analito (Eurachem, 2016, p. 35).

- **Repetibilidad**

La precisión de repetibilidad se la realiza bajo condiciones experimentales en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, con el mismo operador y la misma muestra, utilizando el mismo instrumento de medida durante un corto intervalo de tiempo (Eurachem, 2016).

- **Reproducibilidad**

La evaluación de la precisión de reproducibilidad se la realiza bajo condiciones experimentales diferentes es decir diferente operador, diferente muestra, diferente instrumento, diferente laboratorio (Eurachem, 2016, p. 35).

Es la medida de la desviación cuando se realizan los ensayos variando una o más de las condiciones, por ejemplo, con el mismo método, en diferentes laboratorios, por diferentes analistas, usando diferentes equipos. Indica la variabilidad cuando un método se desarrolla en diferentes condiciones (Eurachem, 2016, p. 35).

$$t_{calculado} < t_{teórico}$$

El criterio de aceptabilidad para la precisión se puede hacer en base a coeficiente de variación de Horwitz:

$$CV_h \% = 2^{(1-0.5)\log C}$$

Donde:

C= valor nominal del analito expresado en potencia de 10, ejemplo 1ppm = 1mg/L = 10⁻⁶

1.2.10.6. Intervalo de Trabajo

El intervalo de trabajo dado en el alcance del método esta relacionada con la concentración de la muestra, el rango en el método de ensayo es proporcionado por una incertidumbre aceptable de acuerdo con los resultados obtenidos (Eurachem, 2016, p. 27).

El límite inferior de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, mientras que el extremo superior de trabajo son las concentraciones a las cuales se presentan anomalías a la sensibilidad analítica, es decir es el valor hasta dónde llega una respuesta lineal de acuerdo con una regresión lineal (Eurachem, 2016, p. 27).

1.2.10.7. Sensibilidad Analítica

Es la variación de respuesta del instrumento que corresponde a una variación de medida, es decir, la capacidad que tiene el método para discriminar entre las concentraciones iguales o parecidas de analito. Para un sistema de espectrofotometría se puede predecir la absorbancia a partir de la ley de Beer- Lambert. En la cual la absorbancia es proporcional a la concentración del analito mediante una curva de calibración, por lo cual la sensibilidad del método analítico sería la pendiente (Zumba, 2018, p. 16).

1.2.10.8. Exactitud

La exactitud de un método se determina a través de la intercomparación entre laboratorios los cuales ejecutan un análisis emitido el cual permite la interpretación y comparación de los resultados.

$$Z_{score} = \frac{|X_i - \text{Valor asignado}|}{s}$$

Donde:

- X_i = el resultado reportado de la concentración del analito en la muestra.
- Valor asignado = Valor establecido como verdadero en el certificado.
- s = desviación estándar establecido.

Interpretación del Z-score: Los resultados del cálculo de Z_{score} serán comparados de la siguiente manera:

$ Z \leq 2$ el resultado es satisfactorio	ACEPTABLE
$ Z > 2 < 3$ el resultado es cuestionable	CUESTEONABLE
$ Z > 3$ el resultado es insastifactorio	NO ACEPTABLE

Es decir: Si el valor absoluto de Z mayor que 0 pero menor o igual que 2, el resultado es aceptable; Si el resultado es mayor que 2 y menor que 3, el resultado es cuestionable; y si el resultado es 3 mayor que 3, el resultado es no satisfactorio (No aceptable) (Sanmiguel y Guerrero, 2017, p. 32).

1.2.10.9. Incertidumbre

La Guía Eurachem define incertidumbre como el parámetro asociado con el resultado de una medida que caracteriza la dispersión de los valores que se pueden atribuir razonablemente al analizado (Baez, 2009, p. 12).

La incertidumbre provee una idea de la calidad del resultado del análisis del método de la manera que indica cuanto puede alejarse un resultado del valor estimado como verdadero. Se considera a la incertidumbre como el valor asociado a un porcentaje de probabilidad (Maroto, 2002, p. 32).

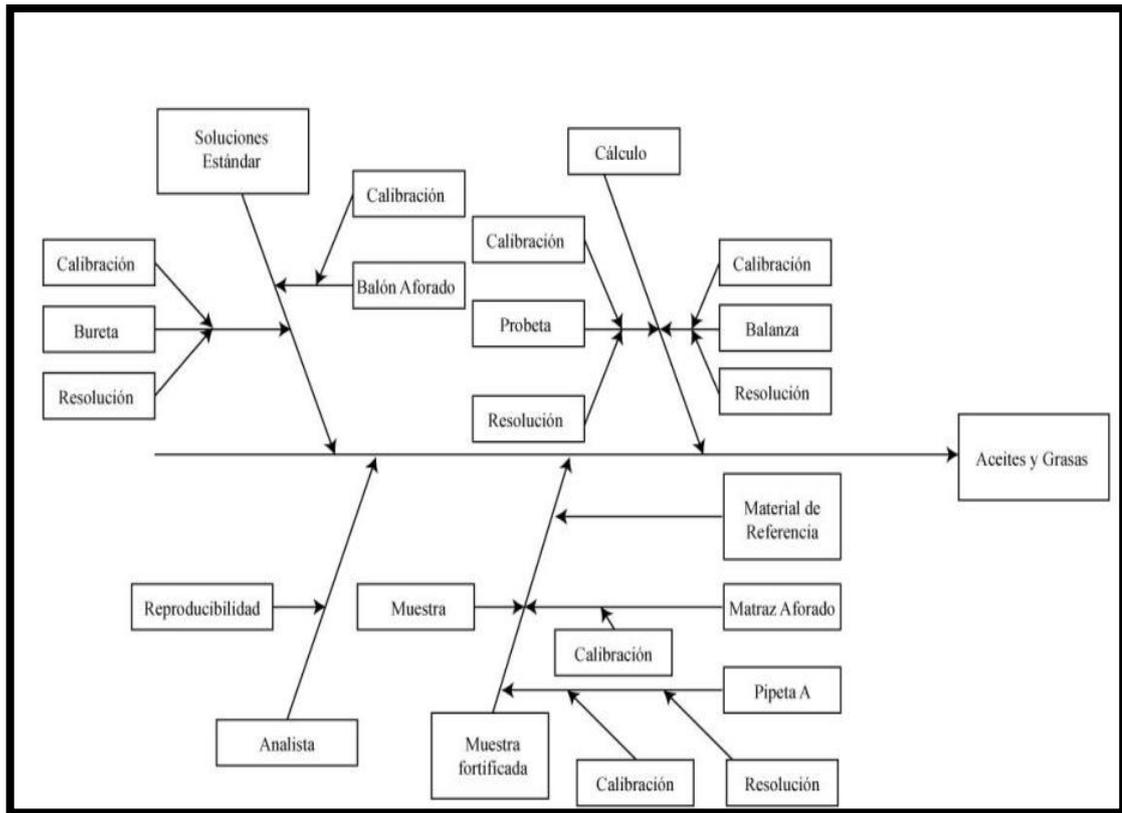


Figura 8 - 1. Diagrama de Ishikawa para el cálculo de la incertidumbre del método.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021

La incertidumbre puede provenir de varias fuentes como:

Tabla 6-1: Fuentes de Incertidumbre

<p>Identificación de fuentes de incertidumbre.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Falla de la especificación de la forma exacta del analito que se está determinando. • En ocasiones durante el muestreo la muestra no puede representar la medición definida o se puede haber degradado por el tiempo. • No se extrae completamente la concentración.
----------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<ul style="list-style-type: none"> • Efectos de interferencias en la matriz. • Contaminación de la muestra. • Las condiciones ambientales pueden interferir en el momento de la medición. • La incertidumbre de equipo y material volumétrico. • Resolución instrumental o tolerancia. • Valores asignados a los estándares y material de referencia. • Aproximaciones o suposiciones al procedimiento del método.
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Eurachem/CITAC, 2012, p.61.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

1.2.10.10. Tipos de Incertidumbre

- **Incertidumbre típica**

Para calcular la incertidumbre típica asociada a cada variable, considerando todas las contribuciones asociadas se debe:

Establecer tan detalladamente como sea posible las causas o fuentes de incertidumbre que afectan a cada x_i .

Determinar todas las fuentes de incertidumbre las cuales se pueden agrupar en dos categorías en función del método utilizado para estimar su valor numérico:

TIPO A: Es la contribución mediante el estudio estadístico de una serie de observaciones, es decir, la desviación estándar máxima de la repetibilidad y reproducibilidad.

TIPO B: Contribución de la incertidumbre y resolución de equipos calibrados, materiales de referencia y material de vidrio certificado.

- **Incertidumbre Acumulada**

La incertidumbre acumulada es el resultado que se adquiere a partir de la raíz cuadrada positiva de las contribuciones de tipo A y de tipo B (Eurachem/CITAC, 2012, p. 61).

$$U_{\text{acumulada}} = \sqrt{\text{contribuciones de Tipo A} + \text{contribuciones de Tipo B}}$$

- **Incertidumbre Expandida**

Magnitud que define un intervalo alrededor del resultado de una medición el que se espera cubra una fracción grande de la distribución de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mesurando (Eurachem/CITAC, 2012, p. 61).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

El tipo de investigación fue experimental y estadística, la parte experimental se realizó mediante la investigación bibliográfica, para llevar a cabo este método, se manipularon variables en condiciones controladas, el procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio AQLAB obteniendo datos de diferentes matrices de aguas para realizar la validación del método.

Una vez obtenido los datos experimentales se procedió a la realización de los respectivos cálculos, se diseñaron hojas de cálculo en Excel en donde se estableció; la función respuesta del método (realizando 5 curvas de calibración), análisis de repetibilidad (% SDR), análisis de reproducibilidad (t-Student, % Recuperación), Análisis de Varianza (F- Fisher), Incertidumbre para cada nivel y finalmente se declaró el método validado.

El procedimiento de validación de aceites y grasas se basó en el instructivo guía de laboratorio para la Validación de Métodos PG-AQLAB-07.

2.1.1. Localización del sitio de trabajo

La validación del método para la determinación de aceites y grasas en aguas por espectroscopia infrarroja, se realizó en Aqlab Laboratorios Acosta y Compañía que se encuentra situado en la Provincia Francisco de Orellana en la ciudad El Coca en las calles Juan Huncite y Fray Gregorio de Alúmina barrio Con Hogar. Coordenadas: 18M 0279263 9948509 UTM.

2.1.2. Población de estudio

Se utilizaron diferentes matrices de guas naturales (Río Napo), descargas (Planta de tratamiento del GADPO) y de consumo (Instalaciones del laboratorio Aqlab) y Lixiviados (Relleno sanitario perteneciente al GADPO).

2.1.3. Tamaño de la muestra

Tabla 1-2: Número de datos a tomar por los analistas

Estándar O matriz / ANALISTA	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
	Agua de consumo	Agua de rio	Agua descarga	Lixiviado	Agua de lavadora
Analista 1	10	10	10	10	10
Analista 2	10	10	10	10	10

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

2.2. Técnicas e Instrumentos Analíticos

2.2.1. Métodos de referencia

Se procedió a tomar como referencia los métodos descritos en:

- Método EPA 418.1. Petroleum Hydrocarbons (Spectrophotometric, Infrared). 1978.
- Método EPA 1664, Revisión A: N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated, N-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry. 1999.
- Además, los Instructivos Técnicos de Ensayo ITE-AQLAB-73 describen el procedimiento interno para la determinación de aceites y grasas en aguas.

2.2.2. Equipos, Materiales y Reactivos

Los equipos, materiales y reactivos utilizados en la determinación de aceites y grasas en matrices de aguas se describen a continuación:

2.2.2.1. Equipos

- IR infraCal TOG/TPH EFQ/058
- Ultrasonido EFQ/016
- Balanza analítica EFQ/006
- Estufa de secado EFQ/001

2.2.2.2. *Materiales*

- Probeta MV/032
- Viales de 1 ml
- Tubos de ensayo tapa rosca de 10 ml
- Embudos de separación de 500 y 1000 ml MV/35, MV/36
- Embudos simples (vástago)
- Papel filtro Watthman #40
- Matraz aforado de 10,25, 50 y 100 ml MV/002, MV003, MV/004, MV/005
- Pipeta volumétrica de 1, 2, 3, 5, 10, 20 ml MV/015, MV/017, MV/037, MV/018, MV/019, MV/014
- Microjeringa de 200µL

Nota: El material de vidrio preferiblemente debe ser enjuagado con n-hexano antes de usarlo y secado a temperatura ambiente o menor a 60°C.

2.2.2.3. *Reactivos*

- **N-hexano** 85% de pureza mínima, 99,0% como mínimo.
- **Sulfato de sodio anhidro:** Purificado por calentamiento a 105°C por 4 horas, o purificado mediante limpieza con solvente de extracción.
- **AccuStandard M-8440-CON-PAK:** Estándar control.

2.2.3. *Toma de muestras, preservación, manejo y almacenamiento de muestras*

- Recoger aproximadamente un litro de muestra representativa en una botella de vidrio la cual no deberá ser enjuagada con muestra antes de la recolección, no se recomienda la recolección de una muestra compuesta y la obtención en envases de vidrio.
- Una demora entre la toma de muestra y análisis de más de 24 horas, requiere de preservación química de la muestra, por la adición de 2 ml de H₂SO₄ concentrado por litro de muestra o 5 ml de HCl (1:1) por litro de muestra hasta ajustar a un pH menor a 2. Una demora mayor a 48 horas requiere también de refrigeración para la preservación de la muestra. No almacenar las muestras por más de 28 días.
- La identificación, transporte, manipulación y almacenamiento se lo realizará conforme a lo establecido en MC-AQLAB-04 y MC-AQLAB 21.

2.2.4. Condiciones ambientales

- Las condiciones óptimas de operación recomendadas son:
- Temperatura: $\leq 35^{\circ}\text{C}$
- Humedad Relativa: $\leq 85\% \text{ HR}$

2.2.5. Procedimiento para la determinación Aceites y Grasas

2.2.5.1. Extracción de aceites y grasas.

Para la extracción de aceites y grasas en lixiviados se usó el instructivo ITE-AQLAB-20 a continuación se describe el procedimiento:

1. Transferir directamente entre 250 y 1000 ml de la muestra (agua o lixiviado), al embudo de separación de 1000 ml.
2. Añadir 10 ml de n-hexano al embudo de separación, extraer la muestra agitando vigorosamente por 2 minutos. (liberar la presión constantemente abriendo la llave del embudo de separación de forma invertida). Si aplica repita la extracción con otros 10 ml de hexano.
3. Colocar el embudo de separación en el soporte y dejar en reposo hasta que la fase orgánica se separe de la fase acuosa durante un mínimo de 10 minutos una vez completada la separación de las fases (sacar la tapa del embudo para liberar la presión).

Opcional: Si el recipiente de toma de muestras lo permite, la extracción puede llevarse a cabo dentro del mismo recipiente, añadiendo una alícuota de la muestra al embudo de separación, se recomienda adicionar 10 ml de n-hexano a la botella de muestra y girar la botella para enjuagar los lados. Transferir el solvente y la muestra dentro del embudo de separación. Lave las paredes del envase con agua destilada y póngalo en el embudo. Extraiga agitando vigorosamente por dos minutos, abrir la llave del embudo para eliminar el gas que se produce, repetir varias veces la agitación del embudo hasta la eliminación del gas.

2.2.5.2. Filtración de aceites y grasas

Para aceites y grasas, filtrar la capa de solvente a través de un embudo de vidrio que contenga un papel de filtro y aproximadamente 0,5 gramos de sulfato de sodio, humedecidos con solvente y recójalo en un tubo con tapa rosca 10 ml y aforar con n-hexano. Si el volumen de hexano es mayor a 10 ml, recoger en un vaso de precipitación y evaporar hasta un volumen entre 1ml y aforar en un vial.

Para muestras de aguas naturales, consumo y lixiviados es recomendable llevar a un vial de 1 ml y para muestras de descargas, residuales llevar a un tubo con tapa rosca de 10 ml.

2.2.5.3. Lectura en equipo EFQ/058 (InfraCal TOG/TPH Analyzer)

Acondicionar una micro jeringa con la muestra a menos dos veces y tomar 200 μ L del blanco, estándar, SPK, muestra, e inyectar la alícuota en el centro de la ranura y efectuar la determinación inmediatamente.

La lectura de la muestra se realiza en Absorbancias (ABS), siguiendo lo descrito en el ITU-AQLAB-03 Instructivo Técnico de Uso del InfraCal.

Realizar la verificación del equipo midiendo un blanco de solvente y un blanco en cada serie de medida.

2.3. Diseño Experimental

2.3.1. Necesidad Analítica

Se estableció la necesidad analítica del Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental AQLAB para la determinación de aceites y grasas con la finalidad de cumplir con la normativa que rige el control de calidad y de esa manera satisfacer las demandas de servicios de sus clientes que requieren estimar el cumplimiento de las Normativas del TULSMA.

Tabla 2-2: Criterios de calidad de aceites y grasas en aguas según el TULSMA

NORMA LMP	CRITERIO DE CALIDAD	Unidad	MATRIZ	TIPO DE MUESTRA
Tabla 1	0,3	mg/L	Agua de consumo Agua Natural	Potable Ríos, Superficiales, Captaciones.
Tabla 8	70,0	mg/L	Residual	Descarga Alcantarilla
Tabla 9	30,0	mg/L	Residual Lixiviados	Descarga a Río Lixiviados

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

2.3.2. Objetivos y parámetros de validación

Antes de iniciar con la validación y demostrar que el método ensayo ITE-AQLAB-73 para la determinación de aceites y grasas en aguas es el adecuado, se determinó sus objetivos y parámetros los mismos que se deben cumplir cuando se declare un método validado.

Es preciso determinar que los parámetros de rendimiento estén conforme con los siguientes valores:

Tabla 3-2: Parámetros de validación.

Parámetros	Objetivo Establecido
Selectividad / Especificidad	Este parámetro es aplicable para la determinación de Aceites y grasas en aguas y lixiviados, tomado en consideración todas las recomendaciones dadas en el EPA 418.1 y EPA 1664.
Linealidad/Función respuesta	Elaborar curva de calibración, y regresión lineal del grado de ajuste con un $R^2 \geq 0,992$.
Límite de detección	$\leq 0,10$ mg/L
Límite de cuantificación	$\leq 0,30$ mg/L
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	RSD = CV menor igual al 15% como Coeficiente de variación en todos los niveles en estudio.
Exactitud	$70 \leq \% \text{ Recuperación} \leq 120$, en todos los niveles
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ del rango más bajo con intervalo de confianza (K=2)
Intervalo de trabajo	0,3 a 70 mg/L

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

2.3.3. Análisis estadístico inferencial

2.3.3.1. Determinación del diseño experimental y estadístico de validación

Se procedió a establecer un diseño experimental con la finalidad de determinar la cantidad de datos que se va a tomar por cada nivel de concentración y el tratamiento estadístico que se debe dar a estos.

Tabla 4-2: Diseño experimental y estadístico.

Diseño Experimental	
Curvas de calibración	<ul style="list-style-type: none"> • Se procedió a la elaboración de 5 curvas de calibración con las soluciones estándar de 50, 100, 200, 300, 500, 800 mg/L y 1000 mg/L.
Muestras	<ul style="list-style-type: none"> • Diez lecturas de muestras de aguas (consumo, naturales, residuales y lixiviados) • Los datos se tomarán en dos días distintos en condiciones de reproducibilidad.
Función respuesta	<ul style="list-style-type: none"> • Se determinó la función respuesta por regresión lineal y se realizaron mínimo 5 curvas de calibración válidas, para estimar la linealidad y función respuesta del equipo.
Tratamiento estadístico	<ul style="list-style-type: none"> • Se realizó un ANOVA simple de los resultados obtenidos para la determinar precisión para cada nivel. • Se determinó la exactitud para cada nivel, mediante porcentaje de recuperación. • Se determinó los límites de detección y límites de cuantificación • Se procedió a determinar la incertidumbre asociada a cada nivel.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

2.3.3.2. *Tratamiento estadístico de los datos obtenidos*

Para la validación del método de aceites y grasas por espectroscopía infrarroja se diseñaron hojas de cálculo en Excel en donde se estableció; la función respuesta del método (realizando 5 curvas de calibración), análisis de repetibilidad (% SDR), análisis de reproducibilidad (t-Student, %

Recuperación), Análisis de Varianza (F- Fisher), se determinó la incertidumbre para cada nivel y finalmente se declaró validado el método.

2.4. Cálculos de los datos obtenidos

Para el cálculo y análisis de los parámetros de validación se utilizó como referencia la Guía Eurachem, procedimientos internos PG-AQLAB-06 y PG-AQLAB-07.

2.4.1. Selectividad

Este método se diseñó para determinar la concentración de aceites y grasas en muestras de aguas mediante un procedimiento analítico, proporcionando una gran exactitud. No se consideró la existencia de interferencias. La lectura obtenida del equipo InfraCal indica directamente en absorbancia realizando una transformación para matrices de aguas en mg/L.

$$A\&G \text{ (mg/L)} = \left(\frac{A - b}{m} \right) * \frac{B}{C} * F$$

Donde:

A = Absorbancia

b= Intercepto

m= pendiente

B =Volumen del extractante (ml)

C = Volumen de la muestra (ml)

F=Factor de dilución

2.4.2. Límite de detección y cuantificación

LC = Es el valor asignado donde el equipo empieza a dar señal de lectura del analito $\leq 0,10$ mg/L

$$LOD = 3 * S_0'$$

LD = Es el valor bajo el límite de cuantificación $\leq 0,30$ mg/L

$$LQO = k_Q * S_0'$$

2.4.3. Análisis de repetibilidad (r)

En el análisis de repetibilidad del % SDR debe ser $< 15\%$ por cada nivel de concentración, cuando esta condición se cumple se aceptan los datos de validación.

2.4.4. Análisis de reproducibilidad (R)

En el análisis de reproducibilidad (R), se tomaron los datos del analista 1 y 2 en conjunto y se realizó el análisis estadístico t Student por cada nivel de concentración.

$$t_{\text{calculado}} < t_{\text{teórico}} \quad \text{Se aceptan los datos de validación.}$$

2.4.5. Análisis de Varianza ANOVA

Se realizó un ANOVA de un factor, para un total de N resultados, distribuidos en p grupos de n observaciones y con v grados de libertad.

Tabla 5-2: Variables para el análisis de varianza.

Días	k=	2
rep c/día	p=	5
total repet	n=	10
grad libert Vb (entre grupos)	Vb=K-1	1
grad libert Vw (dentro del grupo)	n-k	8

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Considerando las variables antes descritas, para el análisis de varianza se determinaron los siguientes datos.

La media de las medias.

La sumatoria de diferencias entre grupos “SDCb”.

SDCb =	$\sum P*(Xp-Xmed)^2$
--------	----------------------

La sumatoria de diferencia dentro de grupos SCDw.

SCDw =	$\sum (Xi-Xp) ^2$
--------	-------------------

El valor medio de las sumas de las diferencias al cuadrado entre grupos DCMb.

DCMb=	$SCDb/Yb$
-------	-----------

El valor medio de las sumas de las diferencias al cuadrado dentro de grupos “DCMw”

DCMw=	$SCDw/Yw$
-------	-----------

La desviación estándar por repetibilidad “Sr”

$$Sr = \sqrt{DCMw}$$

La precisión intermedia “SL”

$$SL = \frac{(DCMb - DCMw)}{k}$$

La desviación estándar por reproducibilidad “SR”

$$SR = \sqrt{Sr^2 + SL^2}$$

El coeficiente de variación de repetibilidad “%CVr”

$$\%CVr = \frac{Sr}{\bar{X}_{medias}} * 100$$

El coeficiente de variación de reproducibilidad “%CVR”

$$\%CVR = \frac{SR}{\bar{X}_{media}} * 100$$

Límite de repetibilidad

$$Lr = \sqrt{2} * 2 * Sr$$

- $t \approx 2$ Según EURACHEM t student equivale a 2 con un nivel de confianza del 95%
- Límite de reproducibilidad

$$LR = \sqrt{2} * 2 * SR$$

- Una vez obtenido el ANOVA se analiza el $F_{Calculado} < F_{teórico}$

2.4.6. Estimación a la Incertidumbre de Aceites y Grasas en Aguas y Lixiviados

2.4.6.1. Incertidumbre del material volumétrico (pipetas y balones de aforo)

$$u(V_f) = \sqrt{u^2V(\text{cal}) + u^2V(\text{der}) + u^2(Tp) + u^2(\text{rep})}$$

- **Incertidumbre de calibración $uV(\text{Cal})$**

Se obtiene del certificado de calibración del material volumétrico.

$$uV_{\text{cal}} = \frac{u_{\text{Cal}}}{k}$$

Donde:

μCal: Incertidumbre del certificado de calibración material volumétrico.

k: Factor de Cobertura (generalmente k = 2 corresponde a un nivel de confianza del 95%).

- **Incertidumbre de la deriva uV (der)**

Se obtiene del error clase (u der) del certificado de calibración del material volumétrico.

$$uV(\text{der}) = \frac{\text{Error clase}(u \text{ der})}{\sqrt{3}}$$

- **Incertidumbre debida a la diferencia entre la T de calibración uV(Tp)**

$$uV(Tp) = \frac{\Delta T^{\circ}\text{max} * \text{coef, de dilatación del mat. V} * \text{Volumen del mat. V}}{\sqrt{3}}$$

Donde:

$\Delta T^{\circ}\text{max}$ = Diferencia del rango de temperatura de 25 a 35 °C

Coefficiente de dilatación del vidrio boro sílice = 0,00025

- **Incertidumbre de la desviación estándar del material volumétrico uV(rep)**

Se obtiene determinando la desviación del material volumétrico.

- **Incertidumbre relativa**

Una vez obtenida estas incertidumbres se remplazan los datos en u(V_f)

$$u(V_f) = \sqrt{u^2V(\text{cal}) + u^2V(\text{der}) + u^2(Tp) + u^2(\text{rep})}$$

Se determina la u relativa del material volumétrico.

$$u \text{ relativa} = \frac{u(V_f)}{V_f}$$

Donde:

u (V_f) : Incertidumbre del material volumétrico.

V_f : Volumen del material volumétrico.

2.4.6.2. *Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas*

Tabla 6-2: Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas

Concentración del STD	[] mg/l	Ue	Uc	u relativa
STD MIX TPHS (incertidumbre 5%)	10000,0	500	250	0,02500

Realizado por: Vacacela, Jessica, 2021.

• **Incertidumbre de la estándar madre de aceites y grasas de 10000 mg/L**

$$U_{QSTD\ 10000} = \frac{Ue}{k}$$

Ue = Incertidumbre obtenida del certificado del estándar mg/L.

K: Factor de Cobertura (generalmente k = 2 corresponde a un nivel de confianza del 95%).

• **Incertidumbre relativa del estándar de A&G**

$$u\ \text{relativa Std} = \frac{Uc}{C}$$

Uc: Incertidumbre del estándar de aceites y grasas mg/L.

C : Concentración del Std AccuStandar M-8440-COM-PAK TPHs Concentrado 10000 mg/L.

• **Incertidumbre de los estándares de aceites y grasas a partir del estándar de 1000 y 5000 mg/L**

Incertidumbre a partir del estándar de 1000 mg/L.

$$u_{pp} = C * \sqrt{\left(\frac{U_{Q\ \text{std}\ 10000}}{C10000}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{pipeta}}}{V_{\text{pipeta}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{matraz}}}{V_{\text{matraz}}}\right)^2}$$

Incertidumbre a partir del estándar de 5000 mg/L.

$$u_{pp} = C * \sqrt{\left(\frac{U_{Q\ \text{std}\ 5000}}{C5000}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{pipeta}}}{V_{\text{pipeta}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{matraz}}}{V_{\text{matraz}}}\right)^2}$$

Donde:

U_{pp}: Incertidumbre de preparación de las soluciones patrón.

U_{Q std}: Incertidumbre del estándar de aceites y grasas.

C: Concentración del estándar de 10000 y 5000 mg/L

Una vez obtenida la incertidumbre de la preparación de las soluciones patrón se procede a calcular la incertidumbre de los estándares de aceites y grasas.

$$u_{PSTD} = \sqrt{u_{Balanza}^2 + u_{Balón}^2}$$

2.4.6.3. Incertidumbre de la calibración del equipo InfraCal

$$u_{cal} = \sqrt{u_{pp}^2 + u_{FR}^2 + u_{res}^2}$$

u_{pp} : Incertidumbre de preparación de las soluciones patrón

u_{FR} : Incertidumbre de la función de respuesta

u_{res} : Incertidumbre de resolución del equipo

2.4.6.4. Incertidumbre de la función respuesta

Considerando el cálculo de la función respuesta de las 5 curvas de calibración, se toma en cuenta la estimación lineal residual

$$u_{FR} = \frac{S_{xy}}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x-C)^2}{S_{xx}}}$$

Donde:

S_{xy} : Error de estimación de x

m: Pendiente

p: Número de veces que se midió las muestras.

n: Número de datos.

S_{xx}: Suma residual

x: Nivel de concentración

C: promedio de estándares de la curva.

2.4.6.5. Incertidumbre de la resolución del equipo

$$u_{res} = \frac{0,002}{\sqrt{12}}$$

Donde:

0,002 = Resolución del equipo se calcula en mg/L con el estándar más bajo de la curva de calibración.

2.4.6.6. Incertidumbre del método

$$u(A\&G) = \sqrt{(uCal)^2 + (uRe)^2 + (uR)^2}$$

uCal : Incertidumbre de la calibración instrumental

uRes : Incertidumbre de resolución

uR : Incertidumbre de reproducibilidad proveniente de la validación SR.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. Obtención de Resultados

3.1.1. Toma de datos

Tabla 1-3: Lectura de los datos obtenidos.

	Conc. VIAL	111, 2	18 7, 2	187, 8	191, 8	251, 4	389, 7	498, 5	119, 7	154, 5	881,2	907,9	1004,9	1861, 2	1937, 9	3144,6	5227,6	21050,0	25257,4
	Dilución	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3	5	10	30	30
GLOBAL	Con. Muestras	A. de consumo	Lixiviado	A. de Río	Std 20 mg/L	A. consumo + Std 20 mg/L	Std 40 mg/L	A. de río + Std 40 mg/L	Descarga a río	A. Alcantarillado	Std 1000 mg/L	Lixiviado + Std 1000 mg/L	Descarga a río + Std 1000 mg/L	Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 Std 2000 mg/L	A-Lavadora	A-Lavadora + Std 2000 mg/L	
	Conc en mg/l	0,11	0,11	0,19	0,20	0,30	0,40	0,58	2,39	6,18	20,00	17,74	20,02	80,00	78,58	125,78	198,19	842,00	914,41
1	JV	0,10	0,12	0,17	0,18	0,24	0,36	0,47	2,00	5,05	16,03	18,16	19,47	67,06	74,13	118,31	213,04	953,67	851,44
2		0,12	0,11	0,19	0,17	0,26	0,39	0,55	2,39	5,84	19,04	19,47	19,73	78,07	68,63	110,45	218,28	764,93	992,99
3		0,11	0,12	0,20	0,19	0,24	0,38	0,45	2,66	6,10	15,89	18,68	19,99	74,92	76,49	143,22	199,93	882,90	1016,59
4		0,11	0,10	0,17	0,20	0,24	0,35	0,54	2,53	6,62	19,30	15,01	21,04	79,64	85,93	111,76	223,52	796,39	985,13
5		0,10	0,09	0,19	0,19	0,26	0,40	0,53	2,79	6,36	16,16	19,73	21,30	72,56	78,85	123,56	228,76	733,48	1000,86
1	GC	0,11	0,13	0,17	0,20	0,26	0,41	0,44	2,13	5,84	19,17	18,68	21,57	59,19	67,06	141,91	207,79	733,48	992,99
2		0,13	0,12	0,21	0,19	0,25	0,44	0,55	2,39	7,41	18,91	16,58	16,85	78,85	86,72	134,04	197,31	749,20	977,27
3		0,11	0,13	0,19	0,20	0,24	0,39	0,44	2,13	6,89	16,94	18,94	20,52	65,48	74,92	124,87	210,41	914,35	1126,69
4		0,13	0,11	0,19	0,18	0,23	0,43	0,45	2,26	5,58	19,04	16,06	21,83	80,43	87,50	137,97	215,66	796,39	1040,18
5		0,09	0,12	0,20	0,22	0,28	0,36	0,56	2,66	6,10	15,76	20,25	18,68	67,84	74,92	111,76	176,34	733,48	1118,82

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

3.1.2. Linealidad de la función respuesta para aceites y grasas

Se realizó la preparación de estándares de Aceites y grasas a distintas concentraciones de 50, 100, 200, 300, 500, 800 y 1000 ml, posteriormente se tomaron los datos para realizar 5 curvas de calibración, con los cuales se determina la función respuesta de todo el método.

Se realiza una curva de calibración diaria durante los días de la validación, estas curvas deberán cumplir los objetivos planteados anteriormente, y finalmente se fijará la mejor curva para determinar los diferentes parámetros en las diferentes matrices.

Tabla 2-3: Datos obtenidos de las 5 curvas de calibración.

Estándares (ppm)	CURVA 1 (Absorbancia)	CURVA 2 (Absorbancia)	CURVA 3 (Absorbancia)	CURVA 4 (Absorbancia)	CURVA 5 (Absorbancia)	CURVA 6 Control (Absorbancia)
50	13	12	11	11	12	11
100	21	22	20	22	19	21
200	36	34	32	34	37	34
300	51	51	54	53	54	53
500	84	83	84	86	86	82
800	122	119	125	125	126	124
1000	153	150	156	152	153	153

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

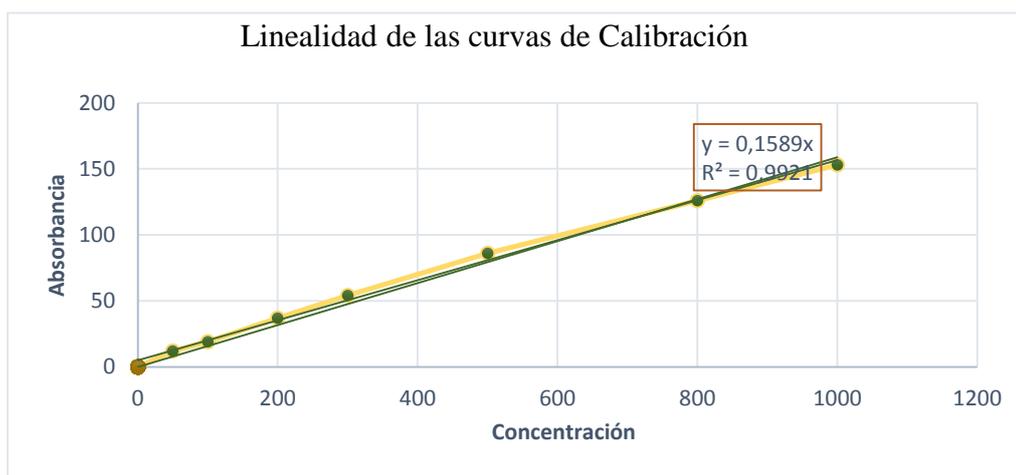


Figura 1-3. Absorbancia vs Concentración.

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021

Mediante la aplicación del método de Mínimos Cuadrados se determina la función respuesta / estimación lineal.

Tabla 3-3: Parámetros estadísticos de la función respuesta del método de aceites y grasas.

Variable	Ecuación	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
Pendiente, m	$m = \frac{\sum (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sum (X_i - \bar{X})^2}$	0,1491	0,1459	0,1526	0,1502	0,1517
Intercepto, a	$a = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i - m \sum_{i=1}^N X_i}{N}$	5,0205	4,9659	3,7324	4,3655	4,9319
Coefficiente de determinación, r²	$r^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 * \sum (Y_i - \bar{Y})^2}}$	0,9974	0,9970	0,9972	0,9978	0,9962
Error tipo de la estimación de Y	$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (Y_i - \bar{Y})^2}{N - 2}}$	3,0468	3,1751	3,2179	2,7893	3,6958
Error tipo de la estimación de X	$S_{xy} = \frac{S_{yx}}{b}$	20,4351	21,7691	21,0888	18,5715	24,3612
Desviación estándar de la pendiente, Sb	$S_b = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$	0,0031	0,0033	0,0033	0,0029	0,0038
Desviación estándar del intercepto, Sa	$S_a = S_{yx} \sqrt{\frac{\sum_i^n X_i^2}{\sum (X_i - \bar{X})^2}}$	1,5801	1,6466	1,6688	1,4465	1,9166
Intervalo de confianza	$b_{\min} = b - t * S_b$	0,1429	0,1394	0,1461	0,1446	0,1443

para la pendiente	$b_{\max} = b + t * Sb$	0,1552	0,1523	0,1591	0,1558	0,1592
Intervalo de confianza para el intercepto	$a_{\min} = a - t * Sa$	1,9220	1,7367	0,4597	1,5291	1,1725
	$a_{\max} = a + t * Sa$	8,1190	8,1952	7,0050	7,2019	8,6913
T de Student	Calculada con 95,45%	1,9610	1,9612	1,9511	1,9608	1,9615

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Posteriormente se tomaron los valores máximos y mínimos de la Tabla 15- 3 y se determinan los intercepto máximo y mínimo, así como la pendiente máxima y mínima, para el control de curvas de calibración durante y después del proceso de validación.

Tabla 4-3: Interceptos y pendientes máximas y mínimas para control de curvas de calibración.

INTERCEPTOS Y PENDIENTES MAXIMAS Y MINIMAS						
LIMITES	CURVA 1	CURVA 2	CURVA 3	CURVA 4	CURVA 5	PARA CONTROL
a MIN	1,9220	1,7367	0,6881	1,5291	1,1725	0,6881
a MAX	8,1190	8,1952	5,5362	7,2019	8,6913	8,6913
b (m) MIN	0,1429	0,1394	0,1491	0,1446	0,1443	0,1394
b (m) MAX	0,1552	0,1523	0,1587	0,1558	0,1592	0,1592

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Donde:

a=Intercepto

b= Pendiente

De acuerdo a los datos estadísticos obtenidos se establecen los rangos para pendiente e intercepto, que deberán cumplir las curvas de validación.

3.1.3. Límite de cuantificación y detección

Tabla 5-3: Datos para determinar LDO Y LQO

		GC	JV	Desviación Estándar	0,0124
	N° OBS	Día 1	Día 2	Límite de Detección	0,0371
BLANCO	1	0,100	0,11	Límite de Cuantificación	0,1238
	2	0,120	0,13		
	3	0,113	0,11		
	4	0,107	0,13		
	5	0,100	0,09		

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

3.1.3.1. Calculo para determinar el límite de detección

$$\text{LOD} = 3 * S_0'$$

$$\text{LOD} = 3 * 0,124 \qquad \qquad \qquad \text{LOD} = 0,0371$$

3.1.3.2. Calculo para determinar el límite de cuantificación

$$\text{LQO} = 10 * S_0'$$

$$\text{LQO} = 10 * 0,124 \qquad \qquad \qquad \text{LQO} = 0,1238$$

3.1.4. Precisión

3.1.4.1. Análisis de repetibilidad (r) de los datos primarios

Tabla 6-3: Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 1

Con. MUES TRAS	A. de consumo	Lixiviado	A. de Río	Std 20 mg/L	A. consumo + Std 20 me/L	Std 40 mg/L	A. de río + Std 40 me/L	Descarga a río	A. Alcantarillado	Std 1000 mg/L	Lixiviado + Std 1000 me/L	Descarga a río + Std 1000 me/L	Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Std 2000 me/L	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 me/L	A-Lavadora	A. Lavadora + Std 2000 mg/L
Conc en mg/l	0,11	0,12	0,19	0,20	0,30	0,40	0,58	2,39	6,18	20,0 0	17,7 4	20,0 2	80,0 0	78,5 8	125,7 8	198,1 9	842,0 0	914,41
JV	0,10	0,12	0,17	0,18	0,24	0,36	0,47	2,00	5,05	16,0 3	18,1 6	19,4 7	67,0 6	74,1 3	118,3 1	213,0 4	953,6 7	851,44
	0,12	0,11	0,19	0,17	0,26	0,39	0,55	2,39	5,84	19,0 4	19,4 7	19,7 3	78,0 7	68,6 3	110,4 5	218,2 8	764,9 3	992,99
	0,11	0,12	0,20	0,19	0,24	0,38	0,45	2,66	6,10	15,8 9	18,6 8	19,9 9	74,9 2	76,4 9	143,2 2	199,9 3	882,9 0	1016,5 9
	0,11	0,10	0,17	0,20	0,24	0,35	0,54	2,53	6,62	19,3 0	15,0 1	21,0 4	79,6 4	85,9 3	111,7 6	223,5 2	796,3 9	985,13
	0,10	0,09	0,19	0,19	0,26	0,40	0,53	2,79	6,36	16,1 6	19,7 3	21,3 0	72,5 6	78,8 5	123,5 6	228,7 6	733,4 8	1000,8 6
\bar{x}	0,11	0,11	0,18	0,19	0,25	0,38	0,51	2,47	5,99	17,2 8	18,2 1	20,3 1	74,4 5	76,8 1	121,4 6	216,7 0	826,2 7	969,40
s	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,05	0,30	0,60	1,73	1,89	0,82	4,96	6,35	13,26	11,06	90,42	66,96
% SDR	7,92	13,1 6	7,44	7,91	3,54	5,52	8,86	12,2 0	10,0 7	10,0 0	10,4 0	4,02	6,66	8,27	10,91	5,10	10,94	6,91

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Tabla 7-3: Repetibilidad para cada nivel de concentración Analista 2

Con. MUESTRAS	A. de consumo	Lixiviado	A. de Río	Std 20 mg/L	A. consumo + Std 20 mg/L	Std 40 mg/L	A. de río + Std 40 mg/L	Residual Descarga a río	A. Alcantarillado	Std 1000 mg/L	Lixiviado + Std 1000 mg/L	Residual Descarga a río + Std 1000 mg/L	Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	A-Lavadora	A. Lavadora + Std 2000 mg/L
Conc en mg/l	0,11	0,12	0,19	0,20	0,30	0,40	0,58	2,39	6,18	20,00	17,74	20,02	80,00	78,58	125,78	198,19	842,00	914,41
GC	0,11	0,13	0,17	0,20	0,26	0,41	0,44	2,13	5,84	19,17	18,68	21,57	59,19	67,06	141,91	207,79	733,48	992,99
	0,13	0,12	0,21	0,19	0,25	0,44	0,55	2,39	7,41	18,91	16,58	16,85	78,85	86,72	134,04	197,31	749,20	977,27
	0,11	0,13	0,19	0,20	0,24	0,39	0,44	2,13	6,89	16,94	18,94	20,52	65,48	74,92	124,87	210,41	914,35	1126,69
	0,13	0,11	0,19	0,18	0,23	0,43	0,45	2,26	5,58	19,04	16,06	21,83	80,43	87,50	137,97	215,66	796,39	1040,18
	0,09	0,12	0,20	0,22	0,28	0,36	0,56	2,66	6,10	15,76	20,25	18,68	67,84	74,92	111,76	176,34	733,48	1118,82
\bar{x}	0,11	0,12	0,19	0,20	0,25	0,40	0,49	2,32	6,36	17,97	18,11	19,89	70,36	78,22	130,11	201,50	785,38	1051,19
S	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,06	0,22	0,76	1,53	1,74	2,10	9,06	8,73	12,05	15,57	76,57	69,37
% SDR	13,67	6,11	8,10	7,39	7,85	8,32	12,10	9,47	12,01	8,53	9,63	10,57	12,88	11,16	9,26	7,73	9,75	6,60

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

El porcentaje SDR del analista 1 y 2 es < 15%, es decir se aceptan los datos de repetibilidad de validación, ya que no existe diferencia significativa entre datos.

3.1.5. Análisis de reproducibilidad (R)

Tabla 8-3: Análisis estadístico t-Student entre el analista 1 y 2

Con. MUESTRAS	A. de consumo	Lixiviado	A. de Río	Std 20 mg/L	A. consumo + Std 20 mg/L	Std 40 mg/L	A. de río + Std 40 mg/L	Residual Descarga a río	A. Alcantarillado	Std 1000 mg/L	Lixiviado + Std 1000 mg/L	Descarga a río +Std 1000 mg/L	Std 2000 mg/L	A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	Descarga A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	A-Lavadora	A. Lavadora + Std 2000 mg/L
Conc en mg/l	0,11	0,12	0,19	0,20	0,30	0,40	0,58	2,39	6,18	20,00	17,74	20,02	80,00	78,58	125,78	198,19	842,00	914,41
\bar{x} 1	0,11	0,11	0,18	0,19	0,25	0,38	0,51	2,47	5,99	17,28	18,21	20,31	74,45	76,81	121,46	216,70	826,27	969,40
\bar{x} 2	0,11	0,12	0,19	0,20	0,25	0,40	0,49	2,32	6,36	17,97	18,11	19,89	70,36	78,22	130,11	201,50	785,38	1051,19
s ² (VAR.) 1	0,000 1	0,000 2	0,000 2	0,000 2	0,000 1	0,000 4	0,002 0	0,091 1	0,364 2	2,985 8	3,587 1	0,666 6	24,614 6	40,385 2	175,74 49	122,31 71	8176,0 02	4483,81 35
s ² (VAR.) 2	0,000 2	0,000 1	0,000 2	0,000 2	0,000 4	0,001 1	0,003 5	0,048 1	0,584 1	2,348 4	3,037 3	4,418 5	82,069 2	76,193 9	145,16 56	242,57 26	5862,9 73	4811,59 58
t-teórico	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,262 2	2,2622	2,2622	2,2622	2,2622	2,2622	2,2622
T-calculado	0,548 0	1,338 9	0,754 2	0,942 8	0,447 4	1,088 7	0,420 8	0,628 5	0,561 8	0,439 9	0,060 7	0,277 3	0,5902	0,1954	0,7199	1,1865	0,5145	1,2646
Resultado	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PAS A	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

El T calculado < T teórico, por tanto, se aceptan los datos de validación es decir que no hay diferencia significativa entre las medidas tomadas por los dos analistas.

3.1.6. Análisis de Varianza ANOVA

Tabla 9-3: Resultados del Análisis de Varianza

Muestras	Sr	SL	SR	Lr	LR
Agua de consumo	0,0115	0,0000	0,0126	29	32
Lixiviado	0,0114	0,0002	0,0180	36	44
A. de río	0,0147	0,0000	0,0156	22	23
Std 20 mg/L	0,0147	0,0001	0,0179	22	26
Agua de consumo + Std 20 mg/L	0,0154	-0,0001	0,0154	17	17
Std 40 mg/L	0,0279	0,0006	0,0378	20	27
A. de río + Std 40 mg/L	0,0525	-0,0008	0,0525	30	30
Descarga a río	0,2638	-0,0039	0,2638	31	31
Descarga de A. de Alcantarillado	0,6886	-0,0687	0,6886	31	31
Std 1000 mg/L	1,6331	-0,7529	1,6331	26	26
Lixiviado + Std 1000 mg/L	1,8027	0,0451	1,8152	29	29
Residual Descarga a río +Std 1000 mg/L	1,5945	-1,0514	1,5945	22	22
Std 2000 mg/L	7,3036	-5,7671	7,3036	28	28
Descarga de A. de Alcantarillado + Std 2000 mg/L	7,6173	-26,5065	7,6173	28	28
Descarga A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	10,7737	35,5056	12,3117	24	28
Descarga A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	13,5072	197,7345	19,4982	18	26

A-Lavadora	83,7824	- 1419,3589	83,7824	29	29
A. Lavadora + Std 2000 mg/L	68,1741	6037,6868	103,3702	19	29

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Para el método de aceites y grasas se consideraron todos los datos primarios en condiciones de repetibilidad (dentro del grupo) y reproducibilidad (entre grupos) y se determinó que la S_r es menor que la S_R , es decir se aceptan los datos de validación en el análisis de varianza.

Se explica que la $S_r < S_R$ porque son datos tomadas en condiciones de repetibilidad es decir el mismo analista y día, la S_R es más alto porque son diferentes condiciones de trabajo o analista.

Tabla 10-3: Análisis estadístico de Fisher para todos los niveles de concentración

	DCMb/D CMw	DISTR.F.INV (0,05; k, p)	F cal < F tab
Nivel VIAL	F Calculado	F tab	DIAGNOSTICO
Agua de consumo	0,6757	5,7861	No hay diferencia significativa
Lixiviado	4,0333	5,7861	No hay diferencia significativa
A. de río	1,2800	5,7861	No hay diferencia significativa
Std 20 mg/L	2,0000	5,7861	No hay diferencia significativa
A. consumo + Std 20 mg/L	0,4505	5,7861	No hay diferencia significativa
Std 40 mg/L	2,6667	5,7861	No hay diferencia significativa
A. de río + Std 40 mg/L	0,3984	5,7861	No hay diferencia significativa
Descarga a río	0,8889	5,7861	No hay diferencia significativa

Descarga de Alcantarillado	0,7101	5,7861	No hay diferencia significativa
Std 1000 mg/L	0,4354	5,7861	No hay diferencia significativa
Lixiviado + Std 1000 mg/L	1,0278	5,7861	No hay diferencia significativa
Residual Descarga a río +Std 1000 mg/L	0,1730	5,7861	No hay diferencia significativa
Std 2000 mg/L	0,7838	5,7861	No hay diferencia significativa
A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	0,0863	5,7861	No hay diferencia significativa
A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	1,6118	5,7861	No hay diferencia significativa
A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	3,1676	5,7861	No hay diferencia significativa
A-Lavadora	0,5956	5,7861	No hay diferencia significativa
A. Lavadora + Std 2000 mg/L	3,5981	5,7861	No hay diferencia significativa

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

El F calculado < F teórico, es decir se aceptan los datos de validación ya que no hay diferencia significativa entre grupo de datos (analistas) y entre datos (número de repeticiones).

3.1.7. Incertidumbre a la Incertidumbre de aceites y grasas en aguas

3.1.7.1. Incertidumbre del material volumétrico

- **Incertidumbre de calibración uV(Cal)** (pipeta 2 ml)

$$uV_{cal} = \frac{\mu\text{Cal}}{k}$$

$$uV_{cal} = \frac{0,0010}{2}$$

$$uV_{cal} = 0,0005$$

- **Incertidumbre de la deriva uV (der)** (pipeta 2 ml)

$$uV(\text{der}) = \frac{\text{Error clase}(u \text{ der})}{\sqrt{3}}$$

$$uV(\text{der}) = \frac{-0,007}{\sqrt{3}}$$

$$uV(\text{der}) = -0,00404$$

- **Incertidumbre debida a la diferencia entre la T de calibración uV(Tp)** (pipeta 2 ml)

$$uV(Tp) = \frac{\Delta T^{\circ} \text{max} * \text{coef, de dilatación del mat. V} * \text{Volumen del mat. V}}{\sqrt{3}}$$

$$uV(Tp) = \frac{10 * 0,00025 * 2}{\sqrt{3}}$$

$$uV(Tp) = 0,00289$$

- **Incertidumbre de la desviación estándar del material volumétrico uV(rep)** (pipeta 2 ml)

$$uV(\text{rep}) = 0,0089$$

Se obtiene determinando la desviación del material volumétrico.

- **Incertidumbre de la pipeta volumétrica de 2ml**

$$u(V_f) = \sqrt{u^2V(\text{cal}) + u^2V(\text{der}) + u^2(Tp) + u^2(\text{rep})}$$

$$u(V_f) = \sqrt{(0,0005)^2 + (-0,00404)^2 + (0,00289)^2 + (0,0089)^2}$$

$$u(V_f) = 0,00499229$$

- **Incertidumbre relativa para la pipeta de 2ml**

$$u \text{ relativa} = \frac{u(V_f)}{V_f}$$

$$u \text{ relativa} = \frac{0.004299228}{2}$$

$$u \text{ relativa} = 0,002496144$$

Tabla 11-3: Incertidumbre de las Pipetas Volumétricas

Volumen (ml)	u(V)	u relativa
1,0	0,002385657	0,002385657
2,0	0,004992288	0,002496144
3,0	0,007274752	0,002424917
5,0	0,007595796	0,001519159
10,0	0,016074562	0,001607456
20,0	0,029618568	0,001480928

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Tabla 12-3: Incertidumbre de los Balones de Aforo

Volumen (ml)	u(V)	u relativa
10	0,343713255	0,034371326
25	0,037005935	0,001480237
50	0,072758753	0,001455175
100	0,144580554	0,001445806

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

3.1.7.2. Incertidumbre del Estándar de Aceites y Grasas

Incertidumbre para la preparación del estándar de 1000 y 5000 mg/L AccuStandar M-8440-COM-PAK (TPHs Concentrado).

Tabla 13-3: Incertidumbre de preparación del estándar de 1000 mg/L y 5000 mg/L

Concentración del STD	mg/l	Ue	Uc	u relativa

STD MIX TPHS (incertidumbre 5%)	10000,0	500	250	0,02500
------------------------------------	---------	-----	-----	---------

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

- **Incertidumbre del estándar madre de aceites y grasas de 10000 mg/L**

$$U_{QSTD\ 10000} = \frac{U_e}{k}$$

$$U_{QSTD\ 10000} = \frac{500}{2}$$

$$U_{QSTD\ 10000} = 250\ \text{mg/L}$$

- **Incertidumbre relativa del estándar de A&G**

$$u\ \text{relativa Std} = \frac{U_c}{C}$$

$$u\ \text{relativa Std} = \frac{250\ \text{mg/L}}{1000\ \text{mg/L}}$$

$$u\ \text{relativa Std} = 0,02500$$

3.1.7.3. Incertidumbre de los estándares de aceites y grasas

- **Incertidumbre del peso de preparación del estándar.**

Tabla 14-3: Incertidumbre de la balanza para el estándar de 10000 mg/L.

	u balanza
Incertidumbre de la Balanza	0,0001922
Peso de muestra (g)	0,1000000
u relativa de pesada	0,0019221
u relativa del balón de 100 ml	0,0014458

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

$$u_{PSTD} = \sqrt{\mu_{Balanza}^2 + \mu_{Balon}^2}$$

$$u_{PSTD} = \sqrt{0,0001922^2 + 0,0014458^2}$$

$$u_{PSTD} = 0,00240516$$

Incertidumbre del estándar de 1000 mg/L para el Std de 40 mg/L con una concentración en muestra de 0,40.

$$u_{pp} = 40 \text{ mg/L} * \sqrt{\left(\frac{U_{Q \text{ std } 10000}}{C10000}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{pipeta}}}{V_{\text{pipeta}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{matraz}}}{V_{\text{matraz}}}\right)^2}$$

$$u_{pp} = 40 \text{ mg/L} * \sqrt{\left(\frac{250 \text{ mg/L}}{10000}\right)^2 + \left(\frac{0,002496144}{2}\right)^2 + \left(\frac{0,0014552}{50}\right)^2}$$

$$u_{pp} = 0,001155735$$

Tabla 15-3: Incertidumbre de los estándares a partir del estándar de 1000 y 5000 mg/L

Pipeta (Alícuota)	Concentración del Std	Conc STD	Concentración en mg/L	u relativa pipeta	u relativo matraz	incertidumbre cada/estándar
1	1000	20	0,20	0,0023857	0,0014552	0,000558888
2	1000	40	0,40	0,0024961	0,0014552	0,001155735
5	1000	100	2,00	0,0015192	0,0014552	0,004207318
2	5000	200	4,00	0,0024961	0,0014552	0,011557349
3	5000	300	6,00	0,0024249	0,0014552	0,016968185
5	5000	500	10,00	0,0015192	0,0014552	0,021036585
10	5000	1000	20,00	0,0016075	0,0014552	0,043365654
20	5000	2000	80,00	0,0014809	0,0014552	0,166097483

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

3.1.7.4. Incertidumbre de la calibración del equipo InfraCal

$$u_{\text{Cal}} = \sqrt{\mu_{pp}^2 + \mu_{FR}^2 + \mu_{res}^2}$$

- **Incertidumbre de la función Respuesta**

Tabla 16-3: Estimación lineal para todas las curvas

FUNCION RESPUESTA			
pendiente (m)	0,147480543	6,418914027	a (intercepto)
Sb	0,001362419	0,734136865	Sa
r^2	0,997191692	2,706530336	Syx
F	11717,84919	33	Grad de libertad
DESVIACIÓN RESIDUAL			2,706530336
PENDIENTE			0,147480543
VECES QUE SE MIDIO LA MUESTRA(p)			10
DATOS DE LAS CURVAS(n)			35
PROMEDIO DE ESTANDARES DE LA CURVA			421
SUMA DE RESIDUAL DE X			10173614,00

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

$$uFR = \frac{S_{xy}}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x-C)^2}{S_{xx}}}$$

$$uFR = \frac{2,706530336}{0,147480543} * \sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{35} + \frac{(0,3897 - 421)^2}{10173614,00}}$$

$$uFR = 7,0121$$

Tabla 17-3: Incertidumbre de la función respuesta por niveles

	Nivel mg/L	uFR	uFR Relativa
Agua de consumo	0,1112	7,0127	0,001
Std 20 mg/L	0,1918	7,0125	0,013
Agua de consumo+STD 20mg/L	0,2514	7,0124	0,002
Agua de río	0,1879	7,0125	0,001
Std 40 mg/L	0,3897	7,0121	0,027
A. de río +Std 40 mg/L	0,4985	7,0119	0,003
Lixiviados	0,1151	7,0127	0,001
Std 1000 mg/L	17,6247	6,9785	1,230
Lixiviado + Std 1000 mg/L	18,1578	6,9775	0,127
Residual Descarga a río	2,3943	7,0081	0,168
Descarga a rio + Std 1000 mg/L	77,5156	6,8714	0,533
A. Alcantarillado	6,1780	7,0007	0,433
Std 2000 mg/L	72,4039	6,8800	4,981
A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	77,5156	6,8714	5,326

A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	125,7848162	6,7967	8,549
A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	209,102931	6,6928	13,995
A-Lavadora	842,0015609	7,0112	59,034
A. Lavadora + Std 2000 mg/L	1010,295525	7,4014	74,776

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

- **Incertidumbre de resolución**

Incertidumbre de resolución para el estándar de 40 mg/L.

Se calcula en mg/L con el estándar más bajo de la curva de calibración.

$$u_{res} = \frac{0,002}{\sqrt{12}}$$

$$u_{res} = 0,0006$$

- **Incertidumbre de la calibración del equipo infraCal**

Reemplazo de datos para el nivel de concentración de Std 40 mg/L.

$$u_{Cal} = \sqrt{\mu_{pp}^2 + \mu_{FR}^2 + \mu_{res}^2}$$

$$u_{cal} = \sqrt{0,001155735 + 0,027^2 + 0,0006^2}$$

$$u_{cal} = 0,0274$$

Cálculo del porcentaje de Incertidumbre para el nivel de Std 40 mg/L

$$\%U_{cal} = \frac{U_{cal}}{C} * 100$$

$$\%U_{cal} = \frac{0,0274}{0,40} * 100$$

$$\%U_{cal} = 6,84$$

- **Incertidumbre del método de Aceites y grasas**

$$u(A\&G) = \sqrt{(u_{Cal})^2 + (u_{Rec})^2 + (u_R)^2}$$

- **Incertidumbre de reproducibilidad (proveniente de validación SR)**

Tabla 18-3: Desviación de reproducibilidad proveniente del ANOVA.

	SR
Agua de consumo	0,0115
Lixiviado	0,0180
A. de río	0,0156
Std 20 mg/L	0,0179
A. consumo + Std 20 mg/L	0,0154
Std 40 mg/L	0,0378
A. de río + Std 40 mg/L	0,0525
Descarga a río	0,2638
Descarga de A. Alcantarillado	0,6886
Std 1000 mg/L	1,6331
Lixiviado + Std 1000 mg/L	1,8152
Residual Descarga a río +Std 1000 mg/L	1,5945
Std 2000 mg/L	7,3036
Descarga A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	7,6173
Descarga A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	12,3117
Descarga A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	19,4982
A-Lavadora	83,7824
A. Lavadora + Std 2000 mg/L	103,3702

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

- **Incertidumbre de Recuperación**

$$u(\text{Sesgo}) = \sqrt{u\text{Rec}^2 + u\text{MRC}^2}$$

Incertidumbre de Recuperación para agua de río+ std 40 mg/L.

$$u\text{Rec} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$u\text{Rec} = \frac{12,686}{\sqrt{10}}$$

$$u\text{Rec} = 0,040$$

Incertidumbre relativa

$$u \text{ rec relativa} = \frac{u_{\text{Rec}}}{\bar{x}_{\text{rec}}}$$

$$u \text{ rec relativa} = \frac{0,040}{77,659}$$

$$u \text{ rec relativa} = 0,001$$

Incertidumbre del sesgo

$$u(\text{sesgo}) = \sqrt{0,040^2 + 0,002500^2}$$

$$u(\text{sesgo}) = 0,025$$

Tabla 19-3: Incertidumbre de Recuperación.

MUESTRAS	A. consumo + Std 20 mg/L	Recuperación n	A. de río + Std 40 mg/L	Recuperación n	Lixiviado + Std 1000 mg/L	Recuperación n	Residual Descarga a río + Std 1000 mg/L	Recuperación n	A. Alcantarilla do + Std 2000 mg/L	Recuperación n	A. Alcantarilla do + Aceite 3 en 1 + Std	Recuperación n	A. Lavadora + Std 2000 mg/L	Recuperación n
Conc en muestra (mg/L)	0,20		0,40		20,00		20,00		80,00		80,00		80,00	
JV	0,24	70,52	0,47	69,79	18,16	90,21	19,47	85,37	74,13	84,94	213,04	109,06	851,44	5,90
	0,26	72,07	0,55	91,09	19,47	96,77	19,73	86,68	68,63	78,06	218,28	115,62	992,99	94,37
	0,24	70,24	0,45	66,52	18,68	92,83	19,99	87,99	76,49	87,89	199,93	92,68	1016,59	109,12
	0,24	70,53	0,54	87,82	15,01	74,49	21,04	93,24	85,93	99,69	223,52	112,17	985,13	89,46
	0,26	73,13	0,53	86,18	19,73	98,08	21,30	94,55	78,85	90,84	228,76	118,72	1000,86	99,29
GC	0,26	73,96	0,44	63,24	18,68	92,83	21,57	95,86	67,06	76,10	207,79	102,51	992,99	94,37
	0,25	71,79	0,55	89,46	16,58	82,35	16,85	72,26	86,72	100,67	197,31	89,40	977,27	84,54
	0,24	70,51	0,44	63,24	18,94	94,15	20,52	90,61	74,92	85,93	210,41	105,79	1126,69	117,93
	0,23	70,03	0,45	66,52	16,06	79,73	21,83	97,17	87,50	101,66	215,66	112,34	1040,18	113,86
	0,28	74,18	0,56	92,73	20,25	100,70	18,68	81,44	74,92	85,93	176,34	63,19	1118,82	113,01
\bar{x} recup.	70,1225	\bar{x} recup.	77,659	\bar{x} recup.	90,213	\bar{x} recup.	88,517	\bar{x} recup.	89,172	\bar{x} recup.	104,148	\bar{x} recup.	105,18	
s	7,4801	s	12,686	s	8,584	s	7,598	s	9,046	s	18,808	s	48,370	
$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,0237	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,040	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,027	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,024	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,029	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,059	$u_{Rec}=s/\sqrt{n}$	0,153	
u Rec relativa	0,0003	u Rec relativa	0,001	u Rec relativa	0,000	u Rec relativa	0,000	u Rec relativa	0,000	u Rec relativa	0,001	u Rec relativa	0,001	
u Sesgo	0,0250	u Sesgo	0,025	u Sesgo	0,025	u Sesgo	0,025	u Sesgo	0,025	u Sesgo	0,025	u Sesgo	0,025	

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

- **Incertidumbre del método de Aceites y grasas en el nivel agua de río+std 40 mg/L.**

Finalmente reemplazamos los datos en la incertidumbre del método de aceites y grasas.

$$u(A\&G) = \sqrt{(u_{Cal})^2 + (u_{Rec})^2 + (u_R)^2}$$

$$u(A\&G) = \sqrt{(0,0037)^2 + (0,0250)^2 + (0,0525)^2}$$

$$u(A\&G)=0,0583$$

$$u(A\&G) k = 2$$

$$u(A\&G)=0,0583*2$$

$$u(A\&G)=0,1166$$

Porcentaje de Incertidumbre en el nivel agua de río + std 40 mg/L.

$$\%U_{cal} = \frac{u(A\&G)}{C}$$

$$\%U_{cal} = \frac{0,1166}{0,58} * 100$$

$$\%U_{cal} = 20,19$$

Tabla 20-3: Incertidumbre del método de Aceites y grasas en Aguas y Lixiviados.

Muestras	En MUE STRA	u _{cal}	u _{recuperación}	u _R	u _{A&G}	u _{A&G} (K=2)	%U A&G
Agua de consumo	0,11	0,0010		0,0115	0,0116	0,02	20,83
Lixiviado	0,11	0,0010		0,0134	0,0134	0,03	24,01
A. de río	0,19	0,0014		0,0156	0,0157	0,03	16,73
Std 20 mg/L	0,20	0,0135		0,0179	0,0224	0,04	22,44
A. consumo + Std 20 mg/L	0,30	0,0019	0,0250	0,0154	0,0294	0,06	19,44

Std 40 mg/L	0,40	0,0274		0,0378	0,0467	0,09	23,33
A. de río + Std 40 mg/L	0,58	0,0037	0,0250	0,0525	0,0583	0,12	20,19
Descarga a río	2,39	0,1678		0,2638	0,3126	0,63	26,11
A. Alcantarillado	6,18	0,4325		0,6886	0,8131	1,63	26,32
Std 1000 mg/L	20,00	1,2307		1,6331	2,0449	4,09	20,45
Lixiviado + Std 1000 mg/L	17,74	0,1339	0,0250	1,8152	1,8203	3,64	20,53
l Descarga a río +Std 1000 mg/L	20,02	0,5344	0,0250	1,5945	1,6819	3,36	16,80
Std 2000 mg/L	80,00	4,9841		7,3036	8,8421	17,68	22,11
A. Alcantarillado + Std 2000 mg/L	78,58	5,3290	0,0250	7,6173	9,2963	18,59	23,66
A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1	125,78	8,5492		12,311 7	14,988 9	29,98	23,83
A. Alcantarillado + Aceite 3 en 1 + Std 2000 mg/L	198,19	13,9958	0,0250	19,498 2	24,001 3	48,00	24,22
A-Lavadora	842,00	7,0112		83,782 4	84,075 2	168,15	19,97
A. Lavadora + Std 2000 mg/L	914,41	74,7761	0,0250	103,37 02	127,58 08	255,16	27,90

Realizado por: Vacacela Jessica, 2021.

Para la declaración de la Incertidumbre del Método de aceites y grasas en Aguas y Lixiviados se toma el mayor %.

U Método de Aceites y grasas = 28%

3.2. Interpretación de Resultados

- La validación se realizó con los siguientes niveles de concentración: 50, 100, 200, 300, 400,500 ,1000 mg/l, considerando matrices de aguas de consumo, río, residuales, alcantarillado y lixiviados. Se elaboraron 5 curvas de calibración y por medio del método de Mínimos Cuadrados se determinó la función respuesta / estimación lineal, por lo tanto, para el control de calidad de las curvas de calibración del método se determinó que la pendiente máxima es 0,1592; pendiente mínima 0,1394; el intercepto máximo 8,6913 y el intercepto mínimo 0,6881.

- En el análisis de repetibilidad para cada nivel de concentración %SDR entre el analista 1 y 2 es $< 15\%$, es decir se aceptan los datos de repetibilidad de validación, ya que no existe diferencia significativa entre datos.
- Para el análisis de reproducibilidad se realizó un análisis estadístico t-student entre el analista 1 y 2 obteniendo así que $t_{\text{calculado}} < t_{\text{teórico}}$, por tanto, se aceptan los datos de validación es decir que no hay diferencia significativa entre las medidas tomadas por los dos analistas.
- Considerando todos los datos primarios en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad se determina que el S_r es menor que la S_R , es decir se aceptan los datos de validación en el análisis de varianza. Se explica que la S_r es menor que la S_R porque son datos tomadas en condiciones de repetibilidad (mismo analista y día), y la S_R es más alto porque son diferentes condiciones de trabajo o analista.
- El F calculado $< F$ teórico, es decir se aceptan los datos de validación ya que no hay diferencia significativa entre grupo de datos (analistas) y entre datos (número de repeticiones).
- Para la declaración de la Incertidumbre en todo el rango 0,11-914,41 mg/l del método de aceites y grasas en Aguas y Lixiviados se toma el mayor % determinado. El cual se establece la validación con una incertidumbre del 28%.

CONCLUSIONES

- Se validó un método analítico para la determinación de aceites y grasas por espectroscopia infrarroja basándose en los métodos de referencia EPA 481.1, EPA 1664 en aguas naturales, de consumo y residuales y lixiviados, finalmente declarando este método validado y aprobado por el del Laboratorio AQLAB.
- Se determinó la metodología analítica adecuada para la determinación de aceites y grasas en aguas a fin de cumplir con la validación de aceites y grasas requeridos por la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2006.
- Se estableció los parámetros críticos en la validación de aceites y grasas por espectroscopia infrarroja, determinando la función respuesta /linealidad, porcentaje de desviación estándar entre el analista 1 y 2 es $< 15\%$, el porcentaje de recuperación es de 70 a 105%, declarando una incertidumbre del método 28% y un intervalo de 0,11-914,41 mg/L debido que se tomaron muestras que contaminadas de lavadoras y lubricadoras por esta razón se obtuvo un rango muy alto.
- Se calculó la incertidumbre para el método analítico en la determinación de aceites y grasas por espectroscopia infrarroja en aguas estableciendo una incertidumbre final del 28% para todos los niveles.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda recoger aproximadamente un litro de muestra representativa en una botella de vidrio la cual no deberá ser enjuagada con muestra antes de la recolección, no se recomienda la recolección de una muestra compuesta y la obtención en envases de plástico debido a que si se recolecta en envases de plástico los aceites y grasas presentes en las muestras pueden adherirse al envase.
- En caso de formarse una emulsión se recomienda romper la emulsión sometiendo a un baño de ultrasonido por varios minutos al embudo de separación que contiene la muestra y el solvente, (Como opción puede usar magnetos)
- Para la extracción de aceites y aceites es de suma importancia trabajar con material de vidrio, lavar con detergente y enjuagar con hexano el material para evitando así interferencias.
- Es recomendable lavar la punta del embudo de separación, el papel filtro y el embudo de vidrio con solvente (n-hexano) y recoger los extractos en el tubo de ensayo de 10 ml. Adicione más solvente hasta completar el aforo.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, E. Evaluación de la fase pre analítica como influencia en la confiabilidad de los resultados en el área de microbiología del laboratorio clínico Ambalab [En línea] (Trabajo de Titulación). Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador. 2014. pp. 28. [Consulta: 02-08 - 2021]. Disponible en : <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/8700/1/TESIS.pdf>

AQLAB. 2017. Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental. [Blogs] . [Consulta: 28-12-2020]. Disponible en : <https://aqlabec.com/>.

CASTILLO, B. & GONZÁLEZ, R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia* [En línea], 1996, (La Habana) vol. 30, pp. 2-7. [Consulta 02-05-2021]. ISSN 1561-2988. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100009

CIRELLA, Alicia. El agua: un recurso esencial. *Revista Química Viva* [En línea], 2012, Argentina vol. 11, núm. 3 .pp. 147-170. [Consulta: 30 - 07 - 2021]. ISSN: 1666-7948. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>

BAEZ, M. Validación de métodos de ensayo para el análisis de parámetros físico-químicos en aguas limpias y residuales en el laboratorio de medio ambiente [En línea]. Escuela Politécnica del Ejército, Quito-Ecuador . 2009. pp 12. [Consulta: 28-12-2020] . Disponible en : <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/772/t-espe-026616.pdf?sequence=1&isallowed=y.122>

BARCELO, L. & LÓPEZ, M. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes [En línea]. Fundación Nueva Cultura del Agua, Barcelona. 2014. P 3. [30-07-2021]. Disponible en: https://fnca.eu/phocadownload/P.CIENTIFICO/inf_contaminacion.pdf

BARRERA, L. & VELECELA, F. Diagnóstico de la contaminación ambiental causada por aceites usados provenientes del sector automotor y planteamiento de soluciones viables para el gobierno autónomo descentralizado del Cantón Azogues [En línea]. Universidad Politécnica Salesiana, Quito-Ecuador. 2015. pp 22. [Consulta: 16-04-2021]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7691/1/UPS-CT004551.pdf>.

DUFFAU, B. et al. 2010. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre: Aspectos generales sobre la validación del método [En línea]. Santiago de Chile.2010. [Consulta: 21-04-2021]. Disponible en : https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2010/12/guia_t1_validacion_de_metodos.pdf

Ecuador. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). Agua Potable. 5a Ed. Quito – Ecuador. INEN. 2014. pp. 2-4.

Ecuador. TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DE MEDIO AMBIENTE. Libro VI Anexo 1 Acuerdo Ministerial 028. Quito – Ecuador. MINISTERIO DEL AMBIENTE. 2015. pp. 86-101.

EURACHEM. La adecuación al uso de métodos analíticos [En línea]. España.2012. ISBN 978-91-87461-59-0. [Consulta: 14-10-2020]. Disponible www.eurachem.org

EURACHEM/CITAC. Cuantificación de la incertidumbre en medidas analíticas [En línea]. España. 2012. [Consulta : 05-06-2021] . Disponible en : https://www.citac.cc/QUAM2012_P1_ES.pdf.

FERNANDEZ, Gabriela. Validación de los métodos de ensayo para DBO₅, en aguas residuales, TPH, aceites y grasas en aguas residuales y suelos [En línea]. Universidad Central del Ecuador. Quito - Ecuador. 2013. .pp. 24-56. [Consulta: 27 - 09 - 2020]. Disponible en : <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1883/1/T-UCE-0017-42.pdf>.

GARRIDO, Mauricio. Validación de métodos analíticos para la determinación de cobre y níquel por espectrofotometría de absorción visible y de mercurio y arsénico por voltametría, en muestras de aguas claras y residuales [En línea]. Escuela Politécnica Nacional.2011. pp. 29. [Consulta: 21 - 03 - 2021]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4247/1/CD-3895.pdf>

MAROTO, A. Incertidumbre de los métodos analíticos de rutina [En línea]. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona. 2002.pp. 32. [Consulta: 24 - 03 - 2021]. Disponible en: https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8987/tesis_Alicia_Maroto.PDF?sequence=1&isAllowed=y.

PAHO. Validación de métodos analíticos: Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico Anexo 3 informe 36 [En línea]. EE.UU. 2002. [Consulta : 21 - 05 - 2021]. Disponible en :

https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13_Modulo_VALIDACION_de_Metodos_Fisicoquicos.pdf.

QUINO, I et al. Determinación de la calidad fisicoquímica de las aguas subterráneas en la región norte y este del lago poopo [En línea]. *Revista Boliviana de Química*. 2006. La Paz- Bolivia. pp. 48-52. [Consulta: 04-08-2021]. ISSN: 0250-5460. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339668010>

REISANCHO, Lidia. Implementación de un sistema de validación de métodos físico- químicos para análisis de : aceites y grasas, cloruros, fósforo total y nitratos en muestras de aguas [En línea]. Escuela Politécnica Nacional. Ecuador. 2009. p. 31. [Consulta: 05-02-2021] . Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1793/1/CD-2379.pdf>.

SANMIGUEL, J & GUERRERO, S. Validación del método para determinar pb, cd, ni por espectrometría de absorción atómica de llama en agua y suelo [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador. 2017. pp. 30-44. [Consulta: 02- 05 -2021]. Disponible en : <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/7019/1/236T0275.pdf?fbclid=IwAR19eUTBQrTjGsaeuSwQd3csjWkXA-NHMYNYaYY7j6AQGgkZqRGFPvbKwys>.

VIDALES, A., LEOS, M. & CAMPOS, M. "Extracción de Grasas y Aceites en los Efluentes de una Industria Automotriz". *Conciencia Tecnológica* [En línea], 2010, n° 40, pp. 29-34 (México) pp. 29-34. [Consulta: 31 de 07 de 2021]. ISSN: 1405-5597. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/944/94415759007.pdf>

WILKS, E. Infracal TOG/TPH Analyzer Model HATR-T2 and CH User's Guide . 2009. [Consulta: 05 - 07 - 2021.] Disponible en : www.WilksIR.com

ZUMBA, Jennyfer. Validación de métodos de ensayo para DQO, tensoactivos; y aceites y grasas en aguas, en el Laboratorio Ambiental y Consultoría Environovalab Cía. Ltda [En línea]. Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2018. p.16. [Consulta: 06 - 05 - 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16224/1/T-UCE-0017-IQU-007.pdf>.

ANEXOS

ANEXO A: PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES PARA LA DETERMINACIÓN DE ACEITES Y GRASAS.

- El estándar utilizado para la validación de aceites y grasas es AccuStandard M-418-CON.



- Se procedió a la preparación de estándares a diferentes niveles de concentración para la determinación de aceites y grasas y luego fueron analizados en el equipo InfraCal.



ANEXO B: RECOLECCIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS DE ACEITES Y GRASAS EN AGUAS.

- Las muestras fueron recolectadas en diferentes lugares debido que se analizaron matrices de aguas de consumo,descargas,industriales,residuales y lixiviados.



ANEXO C : EXTRACCIÓN DE ACEITES Y GRASAS DE LAS MUESTRAS.

- Una vez obtenidas las muestras se realizó un proceso de extracción utilizando hexano como solvente, para la determinación de aceites y grasas en matrices de aguas.



ANEXO D: FILTRACIÓN Y LECTURA DE LAS MUESTRAS.

- Se realizó la filtración de aceites y grasas en matrices de aguas para posteriormente ser analizado en el equipo InfraCal.



ANEXO E: DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO.



DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN

MÉTODO:	DETERMINACIÓN DE ACEITES Y GRASAS.
MATRIZ:	AGUAS Y LIXIVIADOS
LÍMITE DE DETECCIÓN:	0,0371
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	0,1238

PRESICIÓN

REPETIBILIDAD

	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN
REPETICIONES	%SDR	< 15	ACEPTA

REPRODUCIBILIDAD

	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN
REPETIBILIDAD	CRITERIO F	F calculado < F critico	ACEPTA
	T STUDENT	t calculado < t critico	ACEPTA

EXACTITUD

	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN
EXACTITUD	Z-SCORE	$\geq -2 Z \leq 2$	-2,5 Cuestionable

INCERTIDUMBRE

	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN
INCERTIDUMBRE	$\leq 33\%$ RANGO BAJO	28%	ACEPTA
INCERTIDUMBRES DEL METODO			
NIVELES (mg/L)	U (k=2)	U%	
0,19	0,03	17%	✓
0,20	0,04	22%	✓
0,30	0,06	19%	✓
0,40	0,09	23%	✓
0,58	0,12	20%	✓
2,39	0,63	26%	✓
6,18	1,63	26%	✓
20,00	4,09	20%	✓
17,74	3,64	21%	✓
20,02	3,36	17%	✓
80,00	17,68	22%	✓
78,58	18,59	24%	✓
125,78	29,98	24%	✓
198,19	48,00	24%	✓
842,00	168,15	20%	✓
914,41	255,16	28%	✓

Conclusión

El método ITE-AQLAB-73 para la determinación de aceites y grasas en aguas y lixiviados.	
Se declara Validado, Una vez cumplido los objetivos establecidos para el rango de incertidumbres respectivas.	
RANGOS	U%
0,11-914,41	28%

ANEXO F: CARTA DE AUSPICIO AQLAB.



OFICIO N°: 2020-060

Francisco de Orellana, 09 de Octubre del 2020

CARTA DE AUSPICIO

Dr. Robert Cazar
DIRECTOR DE LA CARRERA DE QUÍMICA
ESPOCH
Presente

De nuestra consideración.

Por parte del Presente, quien suscribe Ing. Armando Meléndrez Lara, en mi calidad de Director Técnico de AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑIA, se complace en extender el Aval a la solicitud de la Srta. JESSICA YOLANDA VACACELA SANUNGA con cédula de identidad 060531358-4, estudiante de la Carrera de Química, para participar en el Proyecto de Tesis Titulado **“Validacion de un método para determinar aceites y grasas en aguas por espectroscopia infrarroja ”** a ser desarrollado en nuestra empresa, bajo la siguientes condiciones:

Su participación en esta actividad nos compromete a facilitar el equipamiento, estándares, reactivos y consumibles que dispone el laboratorio.

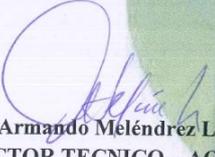
La información que se entregue será calificada por nuestra empresa y podrá ser divulgada solo con autorización expresa.

Se llevara seguimiento al trabajo efectuado, comprometiéndose a entregar una carta de conformidad al finalizar el proyecto.

Los resultados de dicho estudio son propiedad del laboratorio AQLAB.

Saludos Cordiales




Ing. Armando Meléndrez Lara
DIRECTOR TECNICO – AQLAB

Calle Juan Huncite S/N y Fray Gregorio de Alumina, Barrio Con Hogar tras concesionario Mazda
Telf.: (593) 6 2881 715 Cel. 0991666858

www.aqlabec.com - laboratorio@aqlabec.com / laboratorioaqlab@gmail.com / info@aqlabec.com

MC0202-01

Página 1 de 1

ANEXO G: CARTA DE CONFORMIDAD.


Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental

OFICIO N°: 2021-013

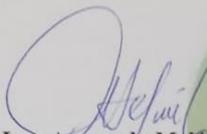
Pto. Francisco de Orellana, 02 de marzo del 2021

Doctor
Roberth Cazar.
DIRECTOR DE LA CARRERA DE QUIMICA
ESPOCH
De nuestra consideración

Por la presente, quien suscribe Ing. Armando Meléndrez Lara, en mi calidad de Director Técnico de AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y CIA., pongo en su conocimiento que la Srta. Jessica Yolanda Vacacela Sanunga con CI. 0605313584, concluyo con el proyecto de toma de datos y procesamiento de resultados que dentro de su Tesis de titulación VALIDACION DE UN METODO PARA DETERMINAR ACEITES Y GRASAS EN AGUAS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

Particularr que se comunica para los fines pertinentes

Atentamente,


Ing. Armando Meléndrez Lara
DIRECTOR TÉCNICO – AQLAB


Aqlab
Orellana Ecuador

Calle Juan Huncite S/N y Fray Gregorio de Alumina. Barrio Con Hogar tras concesionario Mazda
Telf.: (593) 6 2881 715 Cel. 0991666858

www.aqlabec.com - laboratorio@aqlabec.com / laboratorioaqlab@gmail.com / info@aqlabec.com

MC0202-01 Página 1 de 1

ANEXO H: REPORTE DE EXACTITUD.

Summary Results for WP21-2 INT
PE1083-2ML Oil & Grease - WP
- Intended use Water Pollution/Waste Water -
LRAC8240

This proficiency testing sample was produced in accordance with ISO/IEC 17043:2010.

Analyte	Reported Value	Assigned Value	Acceptance Window	z-score*
EPA 1664A 10127603				
Miscellaneous Analytes				
n-Hexane Extractable Material (O&G) ² 1803	23 mg/L	36.1 mg/L	20.4 - 51.9 mg/L	-2.5 Questionable
Analyst: Laboratorioaqlab	voluntary	Evaluation Criteria - 5*		
Analysis Date: 2021-04-30		Parameters*: deviations:3		
Group Analysis Summary	Acceptable: 1/1		Score: 100% - Acceptable	

* Evaluation parameters used for the statistical analysis: explanation at the end of report; a questionable result is acceptable but to be checked.
 ** Unable to calculate a study mean due to <4 data points being received, therefore an effective evaluation could not be performed.

¹ TNI Compliant, covered by Sigma-Aldrich RTC's ANAB Proficiency Testing Provider accreditation, Cert. AP-1469

² ISO/IEC 17043 Accredited, covered by Sigma-Aldrich RTC's ANAB Proficiency Testing Provider accreditation, Cert AP-1469

ANEXO I: CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE NORMATIVA



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 11 / 11 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Jessica Yolanda Vacacela Samunga</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Química</i>
Título a optar: <i>Química</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.11.11 18:07:48 -05'00'



2089-DBRA-UTP-2021