



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
SEDE ORELLANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROMETRÍA DE
ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA (3113B) PARA LA
DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO Y PLOMO EN MUESTRAS DE
AGUA, DEL LABORATORIO AQLAB DE LA CIUDAD DEL COCA**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto Técnico

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA/O AMBIENTAL

AUTORES: SHARON BRIGGETTE ANDI BARRERA

RUBÉN JAVIER TOAPANTA TOPÓN

DIRECTORA: Ing. TANNIA JAZMÍN VARGAS TIERRAS, Mgs.

El Coca – Ecuador

2023

© 2023, Sharon Brigette Andi Barrera & Rubén Javier Toapanta Topón

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

Nosotros, Sharon Brigette Andi Barrera y Rubén Javier Toapanta Topón, declaramos que el presente Trabajo de Integración Curricular es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autores asumimos 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.

El Coca, 20 de junio de 2023



Sharon Brigette Andi Barrera
C.I. 225002893-9



Rubén Javier Toapanta Topón
C.I. 210051951-7


ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto Técnico, **VALIDACIÓN DEL MÉTODO ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA (3113B) PARA LA DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO Y PLOMO EN MUESTRAS DE AGUA, DEL LABORATORIO AQLAB DE LA CIUDAD DEL COCA**, realizado por la señorita: **SHARON BRIGGETTE ANDI BARRERA**, y el señor: **RUBÉN JAVIER TOAPANTA TOPÓN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal 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

Ing. Sandra Elizabeth Suárez Cedillo, Mgs.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



2023-06-20

Ing. Tannia Jazmín Vargas Tierras, Mgs.
DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2023-06-20

Ing. Pablo Danilo Carrera Oscullo, Mgs.
ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



2023-06-20

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación se los dedico especialmente a mis padres Anderzon y Paulina, quienes han sido mi apoyo incondicional desde el día uno de mi carrera universitaria además, de motivarme a seguir adelante y poder cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía. A mis abuelos Pedro y Rosa quienes han sido mi apoyo y grandes consejeros toda la vida. A mis hermanos Richard, Jamileth y Julieth por darme el apoyo emocional y recordarles que siempre pueden contar conmigo. A mi mejor amiga Dayana, quien siempre estuvo a mi lado con sus palabras de aliento y consejos. Finalmente, a mis compañeros que eh conocido en el trayecto universitario y se han vuelto como mi segunda familia.

Sharon

El presente trabajo de titulación se lo dedico a mi familia especialmente a mi madre Blanca Topón por todo su amor, consejos, apoyo incondicional y por guiar mi camino, quiero agradecerle por darme la vida, y enseñarme valores y principios. A mis hermanos Sandra Topón, Diego Méndez y Víctor Topón, porque de una u otra manera me ayudaron y aconsejaron para que pueda culminar mis estudios. Con mucho cariño dedico a mis tías: María Dolores Topón y especialmente a mi tía Aida Topón que hoy no se encuentra junto a nosotros, pero sé que desde el cielo está orgullosa de mí. Finalmente, le dedico a una persona importante en mi vida y carrera universitaria a mi enamorada Karla Lucio, quien día a día vivió conmigo mi fase de estudiante, y estuvo ahí apoyándome y motivándome para nunca rendirme ante ningún obstáculo.

Rubén

AGRADECIMIENTO

Nos gustaría agradecer: A Dios por darnos sabiduría y fortaleza para continuar en los momentos difíciles y así culminar esta etapa de nuestra vida. A la ESPOCH Sede Orellana, especialmente a la carrera de Ingeniería Ambiental por abrirnos las puertas y permitirnos formarnos como profesionales llenos de valores y conocimientos. Al personal técnico y administrativo del “Laboratorio de Análisis y Evaluación Ambiental AQLAB”, de la ciudad del Coca por permitirnos realizar el trabajo de titulación en sus instalaciones, por brindarnos el conocimiento necesario, consejos y guía técnica, especialmente al Ing. Armando Meléndrez director técnico y a la Ing. Melissa Pastuizaca técnica de AQLAB. A nuestra directora de trabajo de titulación la Ing. Tannia Vargas por dirigirnos, apoyarnos y brindarnos su conocimiento.

Sharon y Rubén

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1.	DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA	2
1.1.	Planteamiento del Problema	2
1.2.	Justificación	2
1.3.	Objetivos	3
1.3.1.	<i>Objetivo general</i>	3
1.3.2.	<i>Objetivos específicos</i>	3

CAPÍTULO II

2.	MARCO TEÓRICO	4
2.1.	Marco conceptual	4
2.1.1.	<i>El Agua</i>	4
2.1.1.1.	<i>Características y propiedades del agua</i>	4
2.1.1.2.	<i>Calidad del agua</i>	5
2.1.2.	Contaminación por metales	6
2.1.2.1.	<i>Importancia del análisis de metales pesados en aguas</i>	6
2.1.2.2.	<i>Fuentes de contaminación por metales pesados en el agua</i>	6
2.1.3.	Arsénico	7
2.1.3.1.	<i>Propiedades del Arsénico</i>	7
2.1.3.2.	<i>Toxicidad del arsénico en el agua</i>	7
2.1.3.3.	<i>Importancia del análisis de arsénico en el agua</i>	8
2.1.4.	Plomo	8
2.1.4.1.	<i>Propiedades del plomo en el agua</i>	8
2.1.4.2.	<i>Toxicidad del plomo en el agua</i>	9
2.1.4.3.	<i>Importancia del análisis de plomo en el agua</i>	9

2.1.5.	Normativas	9
2.1.5.1.	Normativa de control	9
2.1.5.2.	Normativas ambientales	10
2.1.6.	Espectrometría de absorción atómica	12
2.1.6.1.	Espectrometría de absorción atómica de llama	12
2.1.6.2.	Espectrometría de absorción atómica de vapor frío	12
2.1.6.3.	Espectrometría de absorción atómica–generación de hidruros	13
2.1.6.4.	Espectrometría de absorción atómica – electrotérmica	13
2.1.6.5.	Interferencias no espectrales	16
2.1.7.	Validación de métodos analíticos	16
2.1.7.1.	Métodos y guías de referencia	16
2.1.7.2.	Parámetros de validación de un método analítico	18
2.1.7.3.	Selectividad	18
2.1.7.4.	Linealidad/Función respuesta	18
2.1.7.5.	Límite de detección (LOD)	19
2.1.7.6.	Límite de cuantificación (LOC)	20
2.1.7.7.	Intervalo de trabajo	20
2.1.7.8.	Exactitud	20
2.1.7.9.	Sensibilidad analítica	23
2.1.7.10.	Robustez	23
2.1.7.11.	Incertidumbre	24

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	29
3.1.	Ubicación del Laboratorio AQLAB	29
3.2.	Equipos, materiales y reactivos	29
3.2.1.	Equipos	29
3.2.2.	Materiales volumétricos	30
3.2.3.	Reactivos	30
3.3.	Tipo y diseño de la investigación	30
3.4.	Prueba de hipótesis	31
3.4.1.	Hipótesis nula (H_0)	31
3.4.2.	Hipótesis alterna (H_a)	31
3.5.	Muestras de aguas, muestras fortificadas, estándares y material de referencia utilizados para la validación	31

3.6.	Diseño experimental	32
3.6.1.	<i>Métodos de referencia</i>	32
3.6.2.	<i>Condiciones ambientales</i>	32
3.6.3.	<i>Procedimiento y condiciones del equipo para determinar metales por horno de grafito</i>	32
3.6.3.1.	<i>Procedimiento para el uso del equipo</i>	32
3.6.3.2.	<i>Procedimiento para la determinación de As y Pb</i>	33
3.6.3.3.	<i>Condiciones del equipo EFQ-086 para determinar Arsénico y Plomo</i>	33
3.6.4.	<i>Necesidad analítica</i>	33
3.6.5.	<i>Objetivos y parámetros de validación</i>	34
3.6.6.	<i>Determinación experimental y estadístico de la validación</i>	35
3.7.	Cálculos	36
3.7.1.	<i>Función respuesta/Linealidad</i>	36
3.7.2.	<i>Límite de detección y cuantificación</i>	37
3.7.3.	<i>Repetibilidad</i>	37
3.7.4.	<i>Veracidad</i>	37
3.7.5.	<i>Reproducibilidad</i>	37
3.7.6.	<i>Precisión</i>	37
3.7.7.	<i>Cálculos de incertidumbres</i>	38
3.7.7.1.	<i>Incertidumbre de la función respuesta</i>	38
3.7.7.2.	<i>Incertidumbre de veracidad</i>	38
3.7.7.3.	<i>Incertidumbre del material volumétrico</i>	38
3.7.7.4.	<i>Incertidumbre del estándar madre</i>	38
3.7.7.5.	<i>Incertidumbre de los estándares de trabajo</i>	39
3.7.7.6.	<i>Incertidumbre de calibración del equipo</i>	39

CAPITULO IV

4.	ÁNÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	40
4.1.	Obtención de Resultados de Arsénico	40
4.1.1.	<i>Datos experimentales para la validación de Arsénico en aguas</i>	40
4.1.2.	<i>Linealidad de la función respuesta por el método escogido para Arsénico en muestras de agua</i>	41
4.1.3.	<i>Análisis de repetibilidad (r)</i>	42
4.1.4.	<i>Análisis de veracidad</i>	43
4.1.5.	<i>Análisis de reproducibilidad (R)</i>	44

4.1.6.	<i>Análisis de precisión</i>	45
4.1.7.	<i>Incertidumbre</i>	45
4.1.7.1.	<i>Incertidumbre de función respuesta</i>	46
4.1.7.2.	<i>Incertidumbre para el material volumétrico u (Vf)</i>	46
4.1.7.3.	<i>Incertidumbre del estándar madre de Arsénico de 1000000 ug/L</i>	47
4.1.7.4.	<i>Incertidumbre del estándar de trabajo 50 ug/l</i>	47
4.1.7.5.	<i>Incertidumbre de calibración del equipo</i>	47
4.1.7.6.	<i>Incertidumbre de resolución</i>	47
4.1.7.7.	<i>Incertidumbre combinada de la muestra de ACH + 10,00 ug/l</i>	47
4.1.7.8.	<i>Incertidumbre expandida (%) de la muestra de ACH + 10,00 ug/l</i>	48
4.1.8.	<i>Declaración del método validado de Arsénico en muestras de aguas</i>	48
4.2.	Obtención de resultados de Plomo	50
4.2.1.	<i>Datos experimentales para la validación de Plomo en aguas</i>	50
4.2.2.	<i>Linealidad de la función respuesta por el método escogido para Plomo en muestras de agua</i>	51
4.2.3.	<i>Análisis de repetibilidad (r)</i>	53
4.2.4.	<i>Análisis de veracidad</i>	54
4.2.5.	<i>Análisis de reproducibilidad (R)</i>	55
4.2.6.	<i>Análisis de precisión</i>	55
4.2.7.	Incertidumbre	56
4.2.7.1.	<i>Incertidumbre de función respuesta</i>	56
4.2.7.2.	<i>Incertidumbre para el material volumétrico u_(vf)</i>	57
4.2.7.3.	<i>Incertidumbre del estándar madre de plomo de 1000000 ug/L</i>	57
4.2.7.4.	<i>Incertidumbre del estándar de trabajo de 50 ug/L</i>	58
4.2.7.5.	<i>Incertidumbre de calibración del equipo</i>	58
4.2.7.6.	<i>Incertidumbre de resolución</i>	58
4.2.7.7.	<i>Incertidumbre combinada de la muestra de A.NYG + 100 ug/L</i>	58
4.2.7.8.	<i>Incertidumbre expandida (%) de la muestra de A.NYG +100 ug/L</i>	58
4.2.8.	<i>Declaración del método validado de plomo en muestras de agua</i>	59
4.3.	Discusión de los resultados	61
4.3.1.	<i>Discusión sobre la validación de arsénico y plomo</i>	61

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1.	Conclusiones	62

5.2.	Recomendaciones	63
-------------	------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1:	Características y propiedades del agua.....	5
Tabla 2-2:	Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua.....	11
Tabla 2-3:	Límite máximos permisibles para As y Pb según la INEN 1108:2014.....	11
Tabla 2-4:	Límites permisibles según la Ordenanza Municipal del cantón Fco. Orellana	12
Tabla 2-5:	Fase de espectrometría de absorción atómica-electrotérmica.....	13
Tabla 2-6:	Características para la acreditación de un método de ensayo	17
Tabla 2-7:	Variables usadas en las fórmulas para determinar la linealidad	18
Tabla 2-8:	Ecuaciones para el análisis de la varianza.....	22
Tabla 2-9:	Fuentes generadoras de incertidumbre en un método.....	24
Tabla 3-1:	Condiciones óptimas del equipo EFQ-086 de temperatura y tiempo de rampa para la determinación As y Pb	33
Tabla 3-2:	Objetivos y Parámetros de validación	34
Tabla 3-3:	Diseño experimental y estadístico para la validación de As y Pb.....	35
Tabla 3-4:	Funciones del programa Excel	36
Tabla 4-1:	Datos primarios para la validación de Arsénico en aguas	40
Tabla 4-2:	Determinación de la curva de calibración de Arsénico	41
Tabla 4-3:	Datos estadísticos de la función respuesta	42
Tabla 4-4:	Interceptos y pendientes máximos y mínimos.....	42
Tabla 4-5:	Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra Analista 1	43
Tabla 4-6:	Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra Analista 2	43
Tabla 4-7:	Determinación de los porcentajes de recuperación de las muestras, estándar y material de referencia.....	44
Tabla 4-8:	Análisis estadístico prueba T student para los analistas 1 y 2	44
Tabla 4-9:	Resultados de análisis de precisión de los niveles con recuperación.....	45
Tabla 4-10:	Análisis de T Fisher de Arsénico	45
Tabla 4-11:	Datos para la determinación de la incertidumbre de la función respuesta por nivel	46
Tabla 4-12:	Tabla de las incertidumbres de los materiales volumétricos	47
Tabla 4-13:	Incertidumbre del Arsénico de muestras fortificadas, estándar y material de referencia	48
Tabla 4-14:	Determinación de arsénico por horno de grafito en aguas.....	49
Tabla 4-15:	Datos primarios para la validación de Plomo en aguas	50
Tabla 4-16:	Determinación de la curva de calibración de plomo	51
Tabla 4-17:	Datos estadísticos de la función respuesta	52

Tabla 4-18:	Interceptos y pendientes máximos y mínimos.....	53
Tabla 4-19:	Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra de agua, estándar y material de referencia. Analista 1.....	53
Tabla 4-20:	Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra de agua, estándar y material de referencia. Analista 2.....	54
Tabla 4-21:	Determinación de los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia	54
Tabla 4-22:	Análisis estadístico prueba T student para los analistas 1 y 2	55
Tabla 4-23:	Resultados de análisis de precisión de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia.....	56
Tabla 4-24:	Análisis de T Fisher de plomo	56
Tabla 4-25:	Datos para la determinación de la incertidumbre de la función respuesta por nivel	56
Tabla 4-26:	Tabla de las incertidumbres de los materiales volumétricos	57
Tabla 4-27:	Incertidumbre de Plomo en muestras fortificadas, estándar y material de referencia	59
Tabla 4-28:	Determinación de plomo por horno de grafito en aguas.....	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1:	Distribución global del agua	4
Ilustración 2-2:	Lámpara de cátodo hueco	14
Ilustración 2-3:	Vista transversal de un atomizador de horno de grafito	14
Ilustración 2-4:	Componentes de un monocromador.....	15
Ilustración 3-1:	Mapa de ubicación del laboratorio AQLAB	29
Ilustración 4-1:	Absorbancia vs Concentración.....	41
Ilustración 4-2:	Absorbancia vs Concentración.....	52

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PG-AQLAB-07: VALIDACIÓN DE MÉTODOS
- ANEXO B:** ITU-AQLAB-10: INSTRUCTIVO TÉCNICO DE USO DEL HORNO DE GRAFITO
- ANEXO C:** ITE-AQLAB-96: INSTRUCTIVO TÉCNICO DE ENSAYO DETERMINACIÓN DE METALES EN AGUAS POR HORNO DE GRAFITO
- ANEXO D:** CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL MATRAZ AFORADO DE 25 ML
- ANEXO E:** CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE MATRAZ AFORADO DE 50 ML
- ANEXO F:** CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE MATRAZ AFORADO DE 250 ML
- ANEXO G:** CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA PIPETA MV/046
- ANEXO H:** CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE PIPETA MV/045
- ANEXO I:** CERTIFICADO DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA DE PLOMO
- ANEXO J:** CERTIFICADO DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA DE ARSÉNICO
- ANEXO K:** CERTIFICADO DEL MATERIAL DE REFERENCIA
- ANEXO L:** TOMA DE MUESTRAS DE AGUA
- ANEXO M:** FILTRACIÓN DE MUESTRAS DE AGUA
- ANEXO N:** EQUIPO POR HORNO DE GRAFITO

RESUMEN

La implementación de normativas en los laboratorios ha aumentado con el fin de obtener resultados confiables. Sin embargo, la falta de métodos validados y capacitación del personal técnico afecta la acreditación y precisión de los resultados obtenidos. El laboratorio AQLAB se propone ampliar su acreditación en metales pesados, debido al impacto de estos metales en la salud y el medio ambiente; por lo tanto, el objetivo del presente estudio consistió en validar el método de espectrometría de adsorción atómica electrotérmica (3113 B) para la determinación de Arsénico y Plomo en muestras de agua. En el laboratorio de AQLAB, se llevó a cabo un procedimiento basado en investigación teórica utilizando fuentes bibliográficas y normas nacionales e internacionales. Además, se implementó una metodología técnica que incluyó la realización de cinco curvas de calibración para arsénico y plomo. Estas curvas permitieron determinar la linealidad del método, incluyendo la pendiente, intercepto, errores y el coeficiente de determinación. Después, se realizaron seis lecturas por analista en diferentes muestras y los resultados se registraron en hojas de Excel. Mediante esta metodología se ejecutaron cálculos estadísticos para evaluar el límite de detección y cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, veracidad e incertidumbre del método. En todos los cálculos se obtuvo valores que cumplieron con los criterios de aceptación para la validación de arsénico y plomo en muestras de agua. De esta manera se concluyó que el método es reproducible y tiene un diseño experimental adecuado que cumple con los parámetros estadísticos, por lo que la declaración de la validación fue aceptada. Además, se debe tener un procedimiento estricto de manejo de materiales volumétricos y reactivos para evitar errores en los datos resultantes.

Palabras clave: <ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA (AAE)>, <ESPECTROMETRÍA>, <CALIDAD DEL AGUA>, <HORNO DE GRAFITO>, <VALIDACIÓN DE MÉTODOS>.

Cristian Tenelanda
31-07-2023



1435-DBRA-UPT-2023

Ing. Cristian Sebastián Tenelanda S.
0604686709

SUMMARY / ABSTRACT

The present research was carried out to identify that the implementation of regulations in laboratories has increased to obtain for obtaining reliable results. However, the lack of validated methods and training of technical staff affects the accreditation and accuracy of results obtained. Therefore, AQLAB laboratory intends to extend its accreditation in heavy metals due to the impact of these metals on health and environment; thus, the aim of this study was to validate the electrothermal atomic adsorption spectrometry method (3113 B) for determination of Arsenic and Lead in water samples. In this laboratory was carried out a procedure based on theoretical research using bibliographic sources and national and international standards. In addition, a technical methodology was implemented that included the performance of five calibration curves for arsenic and lead. These curves allowed determining the linearity of the method, including slope, intercept, errors, and coefficient of determination. Then, six readings per analyst were performed on different samples and the results were recorded in Excel sheets. Using this methodology, statistical calculations were performed to evaluate the limit detection and quantification, repeatability, reproducibility, trueness, and uncertainty of method. In all calculations, values were obtained values that met the acceptance criteria for validation of arsenic and lead in water samples. Thus, it was concluded that the method is reproducible and has an adequate experimental design that complies with the statistical parameters, so the validation statement was accepted. In addition, a strict procedure for handling volumetric materials and reagents should be followed to avoid errors in the resulting data.

Keywords: <ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION (EAA)>, <SPECTROMETRY>, <WATER QUALITY>, <GRAPHITE FURNACE>, <METHOD VALIDATION>.



Lic. Zoila Victoria Herrera Andrade Mgs.

DOCENTE-SEDE ORELLANA ESPOCH

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la calidad en los métodos de ensayos es de gran importancia dentro de los laboratorios de ensayo y calibración permitiendo obtener seguridad y confianza en los resultados analíticos que emiten los laboratorios desde que ingresa la muestra hasta la emisión de sus resultados. Por tal razón, es importante tener un servicio de calidad en todos los laboratorios del mundo con la finalidad de que sus actividades estén apegadas a las normas y reglamentos con enfoque de satisfacción a sus clientes (Zapata, 2022, p. 9).

En el Ecuador, existen laboratorios que trabajan bajo estándares de calidad que son reconocidos por un organismo certificador como es el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE), ya que su principal función es la acreditación de métodos, a través de la aplicación de normas internacionales como es la ISO/IEC 17025, normas y reglamentos nacionales, de modo que garantice una credibilidad y validez en los resultados (SAE, 2018, párr. 2-3; Vásquez, 2020, p. 22). Por eso, todo laboratorio debe acreditar los métodos que realiza, ya que esto les permitirá confiar en los procedimientos de pruebas ejecutados y resultados obtenidos, además de cumplir con las normas, guías, protocolos y documentos de acreditación (Hernández, 2013, p. 25).

La necesidad de validar un método que determine metales pesados en aguas es importante por su alto grado de veracidad en sus resultados, por ende, existen diversos métodos analíticos e instrumentales como: cromatografía, voltamperometría de redisolución anódica y espectrometría. De estos el más utilizado es la espectrometría de absorción atómica de llama, horno de grafito y generador de hidruros. El método por absorción atómica de llama tiene la capacidad de detectar en muestras de agua mayor concentraciones de metales como: cadmio, cromo, níquel, zinc, hierro, etc.; otros metales como el plomo y arsénico pueden ser analizados por el método de absorción atómica electrotérmica – horno de grafito (AAE), el cual es capaz de detectar concentraciones menores, ya que este método tiene mayor sensibilidad que el de llama (López y Barrantes, 2017, p. 259).

La técnica que se aplica para la detección de metales pesados es el método espectrometría de absorción atómica electrotérmica porque permite la cuantificación de concentraciones menores en ug/l con una elevada exactitud y precisión, que ayuda a controlar interferencias de matriz y disminuir el tratamiento previo de las muestras (Cabrera et al., 1995: p. 82). Es así, que la importancia de establecer una necesidad analítica con base a los criterios de calidad para el fin de satisfacer las demandas de servicios de los clientes y cumplir con las normativas ambientales como: INEN, TULSMA y la Ordenanza Municipal de Francisco de Orellana (Morocho, 2020, p. 18).

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del Problema

En la actualidad, se ha incrementado la competencia de implementación de normativas en los laboratorios para obtener la fiabilidad en los resultados debido a que el SAE exige que todo laboratorio tenga métodos validados para su acreditación. Además, esto demanda capacitación al personal técnico y verificación mediante evidencias que cumplan con los requisitos de un método normalizado (Capelo, 2013, p. 18).

Todo laboratorio debe tener métodos analíticos e instrumentales acreditados para que sus resultados sean exactos y precisos con la finalidad de obtener un criterio de aceptación que cumpla con estándares de calidad (Maroto et al., 2019: p. 1). Sin embargo, hay casos que durante el proceso de validación se presentan errores sistemáticos y aleatorios afectando a los resultados de las lecturas, a causa de los materiales volumétricos, equipos empleados en el desarrollo de los métodos, condiciones ambientales, reactivos, entre otros., causando incumplimiento en los parámetros establecidos y corriendo el riesgo que el laboratorio no alcance con la acreditación del método que se requiere validar (Cusi, 2014, p. 13).

El laboratorio de Análisis y Evaluación Ambiental “AQLAB” presta servicios de análisis físicos-químicos y microbiológicos al sector industrial, académico y ciudadanía en general, requiriendo ampliar su acreditación en metales pesados por el método AAE para la detección de As y Pb en muestras de agua, ya que estos metales forman parte del medio ambiente de manera natural o fruto de las actividades antropogénicas, provocando así daños a la salud como anemia, aborto espontáneo, cirrosis, cáncer, disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños, entre otros enfermedades; mientras que en el ambiente puede afectar al ecosistema acuático causando problemas en la supervivencia y capacidad reproductiva, acumulación en el tejido muscular, cambios en la piel, alteración morfológicas, esto puede llegar a pasar si los niveles de concentraciones de los metales son muy elevados (Vaca, 2013, p. 20).

1.2. Justificación

Cada vez la exigencia de la calidad de los métodos de ensayos es mayor (Cujia, 2016, p. 30), razón por la cual la validación de métodos es un procedimiento importante que se establece mediante

estudios de laboratorio demostrar que el método tiene características de rendimiento adecuadas para la aplicación analítica prevista (Pérez y Alvarado, 2018, p. 389). Para ello, se utiliza parámetros de validación, los cuales son aplicados a los datos obtenidos de las muestras previamente analizadas proporcionando un alto grado de validez en los resultados del laboratorio (Ojeda, 2022, p. 2).

Dado a la problemática de obtener resultados no veraces a causa de que el método AAE no este validado para la determinación de metales pesados como As y Pb, tienen el riesgos de que el laboratorio no opere de forma competente y no sea reconocido como un ente que preste servicio de calidad y confiabilidad (Carrillo, 2021, p. 23).

Por tal razón, el laboratorio AQLAB tiene la necesidad de validar el método espectrometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de As y Pb en muestras de agua, el cual permite obtener datos de las concentraciones del analito en ug/l, con el fin de cumplir con los parámetros de validación y seguir mejorando sus políticas de calidad que garanticen resultados veraces y fiables al obtener la acreditación del método planteado. A la vez, verificar que se encuentren dentro de los límites máximos permisibles del Acuerdo Ministerial 097-A (TULSMA), NTE INEN 1108 y Ordenanza Municipal (Pabón et al., 2020: p. 10).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Validar el método espectrometría de adsorción atómica electrotrémica (3113 B) para la determinación de Arsénico y Plomo en muestras de agua, del Laboratorio AQLAB de la ciudad del Coca.

1.3.2. Objetivos específicos

- Establecer el diseño experimental para la validación de arsénico y plomo por espectrometría de adsorción atómica electrotrémica en muestras de aguas.
- Analizar los datos estadísticos para la validación de los resultados obtenidos de Arsénico y Plomo.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Marco conceptual

2.1.1. El Agua

El agua es de vital importancia para todos los seres vivos que habitan en el planeta, se encuentra en los ríos, lagos, mares, nubes, suelo y hielos teniendo un volumen estimado de 1390 millones de kilómetros cúbicos, de los cuales el agua mar cubre una gran parte del planeta (Vergara, 2017, p. 6).

Por otro lado el agua, cubre más del 70% de la superficie del planeta; posee propiedades únicas y esenciales para la vida, tiene una buena capacidad calorífica, es un buen solvente, tiene alta tensión superficial y es un material flexible. Además, el agua se distribuye de manera global como se observa en la Ilustración 2-1 (Fernández, 2012, pp. 148-150).

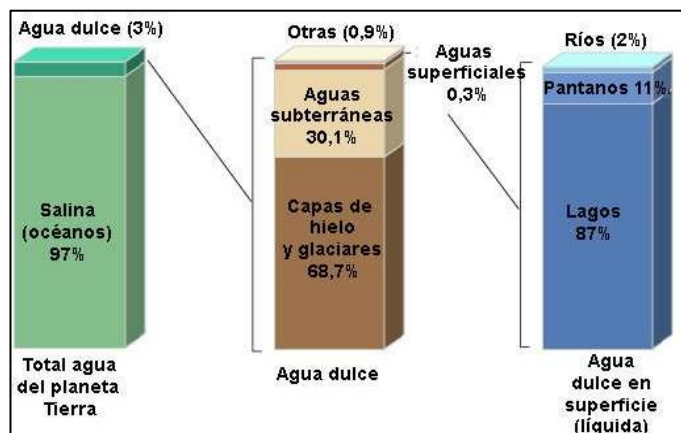


Ilustración 2-1: Distribución global del agua

Fuente: Remache A., 2013

2.1.1.1. Características y propiedades del agua

El agua siendo un recurso necesario para todos los seres vivos, tienen sus características y propiedades. Además, se la encuentra en gran cantidad de sustancias en estado sólido, líquido y gaseoso (Beguiría, 2019, párr. 2).

A continuación, se detalla las principales características y propiedades del agua:

Tabla 2-1: Características y propiedades del agua

Propiedades	Características
Densidad	Esta se caracteriza por tener una densidad estable en su situación ambiental. Su densidad es 1 (0.999 a 20°C). La congelación es distinta a otros líquidos.
Viscosidad	Esta es resistente a todo movimiento de forma interna o global del flujo, tiene una alta viscosidad en la estructura de largas cadenas, esta disminuye al momento que aumenta la temperatura.
Color	El agua es un elemento incoloro, su color interviene en los diversos factores como es el pH, temperatura, tiempo, la materia disponible y la solubilidad de compuestos coloreados.
Calor específico	Es la sustancia que tiene mayor calor específico (4,180 J/kg/°C), esta va a variar en función de la temperatura.
Calor latente	Es la cantidad de calor para que se efectúe el cambio de estado de la unidad de masa previamente llevada a la temperatura que corresponda a la tensión reinante.
Tensión superficial	Su fuerza de atracción es demasiado elevada a causa de los puentes de hidrogeno. La tensión superficial se disminuye al aumentar la temperatura.
Conductividad	El agua es ligeramente conductora de electricidad, aumenta su conductividad si se le agrega alguna otra sal u otros materiales ionizantes.

Fuente: Beguería S., 2019

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

2.1.1.2. Calidad del agua

La calidad del agua es el conjunto de parámetros o componentes físicos, químicos y biológicos necesarios para el uso de diferentes actividades. Por ejemplo, para riego, agricultura, para consumo (netamente tratada), fines recreativos, etc. Al conocer las propiedades del agua, procedentes de dichas características es fundamental para evaluar molestias o perjuicios que ocasione a los consumidores (Remache, 2013, p. 10). Las aguas se las clasifica según su calidad y utilización:

- **Agua para consumo humano:** el agua para el consumo debe estar previamente tratada, esta debe pasar por algunos parámetros los cuales son: DQO, DBO₅, NH₄⁺, conductividad eléctrica, análisis microbiológicos y determinación de metales (Zumba, 2018, p. 4).

- **Agua natural [agua de río]:** estas son cuerpos de agua natural, superficial, subterránea, ríos, mares y lagos (Zumba, 2018, p. 4).
- **Agua residual [negras y grises]:** estas aguas son provenientes de las aguas residuales domésticas e industriales, comerciales, servicio agrícola, etc., en la que contiene materia orgánica e inorgánica (Morocho, 2020, p. 12).
- **Agua de descargas industriales:** son aguas contaminadas descargadas desde fuentes a un cuerpo receptor. Las características de dicha agua a un cuerpo receptor deben estar previamente determinado por varios parámetros (Morocho, 2020, p. 12).
- **Lixiviado:** estos son líquidos contaminados que se obtiene a través de la percolación de los residuos sólidos. Es decir, mediante la descomposición de los residuos y por fuentes externas que se encuentra en el relleno (Morocho, 2020, p. 12).

2.1.2. Contaminación por metales

La contaminación por metales ha causado un gran impacto a nivel mundial poniendo en riesgo la salud humana y al medio ambiente por el alto grado de toxicidad que tiene algunos elementos como es el Cd, Pb, As, Hg, Se, etc. Cabe recalcar que su efecto es potencialmente nocivo en los ecosistemas acuáticos y ambiente, ya que los metales son persistentes, es decir que no pueden ser creados ni degradados (Remache, 2013, p. 10).

2.1.2.1. Importancia del análisis de metales pesados en aguas

El realizar análisis de metales pesados nos permite evaluar los riesgos que ocasionan en el medioambiente y a los organismos vivos por medio de sus efectos que son: su elevada toxicidad, alta persistencia y su rápida acumulación en los seres vivos por las diferentes actividades ya sea vía natural o antropogénica (Remache, 2013, p. 3).

2.1.2.2. Fuentes de contaminación por metales pesados en el agua

Los metales pesados existentes en el ambiente son elementos sumamente tóxicos cuando se encuentran en altas concentraciones afectando directamente la seguridad alimentaria, salud pública y al medio ambiente, estos contaminantes se los puede encontrar en dos formas como son: fuentes naturales y fuentes antrópicas (Reyes et al., 2016: p. 67).

- **Fuentes naturales:** Son de origen biológico o geológico (Remache, 2013, p. 4). Por ejemplo, las emisiones volcánicas, minerales primarios y secundarios, etc.

- **Fuentes antrópicas:** Son aquellas ocasionadas por el ser humano (Remache, 2013, p. 4). Por ejemplo, las actividades mineras, industrias textiles, tratamiento de aguas residuales, los fertilizantes, etc.

2.1.3. Arsénico

El Arsénico es un elemento extremadamente tóxico persistente en el ambiente y de origen orgánico e inorgánico, ocupa el lugar 20 en abundancia de todos los elementos en la corteza terrestre y es distribuido de manera no uniforme en todo el mundo, tiene una densidad de 5,72 g/cm³, este elemento es utilizado en las grandes industrias químicas para la elaboración de diferentes productos químicos. Inclusive, el arsénico puede circular en los ecosistemas naturales por largos periodos de tiempos (Espinoza, 2015, p. 21).

2.1.3.1. Propiedades del Arsénico

El As es un metal-metaloide que, está presente en sus cuatro estados de oxidación: +5, +3, 0 y -3. No tiene olor ni sabor, es de color gris con un aspecto metálico y brillante, pertenece al grupo 5 de la tabla periódica, su peso atómico es de 74,922, se rompe fácil y es de baja ductibilidad. El As puede formar varios compuestos con otros metales y a su vez unirse covalentemente con el azufre, carbono, hidrógeno y oxígeno, este metal presenta tres estados alotrópicos: gris (o metálico), amarillo y negro (Maratta, 2019, p. 16). También se encuentra distribuido en la corteza terrestre con un porcentaje aproximado de 0.0005% (Espinoza, 2015, p. 22). En cuanto al agua, se encuentra en arseniato o arsenito ya sea en aguas superficiales, subterráneas y aguas naturales (Maratta, 2019, p. 18).

2.1.3.2. Toxicidad del arsénico en el agua

La toxicidad del As va a depender de la solubilidad y el estado de oxidación que se encuentre (Rodríguez, 2021, p. 6). La intoxicación se puede producir por inhalación o ingestión (agua o alimento), si su concentración es 30 veces superior al valor tolerable (10 ug/l), causa enfermedades gastrointestinales (dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos); otras enfermedades como: crónicas (cáncer en la piel, de vejiga y pulmón) (Gómez, 2020, p. 12). En los animales el As genera retraso en el crecimiento, malformaciones, disminución del apetito, disminución de peso en mamíferos, aves y otras especies, cuando sus concentraciones son elevadas del 0,08 – 0,01 ug/l (Soler et al., 2012: p. 37).

Por otro lado, se pueden encontrar concentraciones de As desde 10 ug/l hasta 5000 ug/l en las aguas de los acuíferos, que al consumirlas causan síntomas de envenenamiento (fiebre, diarrea, dolor abdominal), estos niveles de contaminación sobrepasan el rango de tolerancia (Sepúlveda, 2019, p. 240). A su vez, en las plantas el As puede causar inhibición en el crecimiento y desarrollo de la planta, pérdida de nutrientes, disminución de las poblaciones microbianas del suelo, entre otros (Prieto et al., 2009: p. 30).

2.1.3.3. Importancia del análisis de arsénico en el agua

La importancia de realizar análisis es la identificación de su impacto en las diferentes matrices de agua, con el fin de verificar que los niveles de concentración no excedan los límites permisibles de las normativas vigentes, ya que es necesario conocer, controlar, preservar la calidad del agua y disminuir los efectos negativos al ambiente y a la salud de la población en general (Alarcón, 2011, p. 56).

2.1.4. Plomo

El plomo es un metal tóxico que se encuentra de forma natural en la corteza terrestre en la cual fue descubierto en 1899 (Corzo y Velásquez, 2014, p. 142). Este metal es utilizado en muchos productos como: pinturas, pigmentos, cerámicas, joyas, soldaduras, etc.; además, en la fabricación de baterías de plomo – ácido para vehículos a motor y otros metales. Del mismo modo, la exposición del plomo es inevitable ya que lo podemos encontrar en el aire, agua y alimentos de origen natural o antropogénico (Valdiviezo, 2016, p. 17).

2.1.4.1. Propiedades del plomo en el agua

Este metal pesado tiene una densidad de 11,34 g/cm³ es un elemento químico tóxico, flexible, denso y acumulativo, puede reaccionar de manera ácido y base, es de color gris azulado. Además, pertenece al grupo 14 de la tabla periódica, tiene un bajo punto de fusión, facilidad de fundición, y resistencia a la corrosión (Belaire y Jacobs, 2017, p. 10). En cuanto a fuentes de agua como el de consumo se combina cuando es de carácter ácido con el sistema de conducción de tuberías que están hechas a base de plomado y su nivel máximo en agua es de 10 ug/l (Valdiviezo et al., 2017: p. 49).

2.1.4.2. Toxicidad del plomo en el agua

La toxicidad del plomo puede ser absorbido por vía cutánea, respiratoria y digestiva provocando daños a corto y largo plazo. La intoxicación por Pb en el ser humano en concentraciones mayores de 5 ug/l y 10 ug/l, causa enfermedades como: renales, retraso mental, gastrointestinales, neurológicos, disminución de la fertilidad masculina debido al daño de la esperma, presión circulatoria alta, encefalopatía en niños, entre otros (Robledo y Castaño, 2012, p. 39). De igual forma, la toxicidad del Pb en animales como mamíferos, aves y organismos acuáticos, han causado problemas en la reproducción, limitaciones en el crecimiento y una menor supervivencia estando en niveles bajos de 1,0 – 5,1 ug/l (Tello, 2015, p. 41).

En las plantas al tener concentraciones de Pb superiores a 25 mg/kg en consecuencia de la contaminación del suelo agrícola, por la utilización de pesticidas u otros químicos genera disrupciones en la estructura celular y a lo largo del proceso fotosintético, reducción en el crecimiento, clorosis, cambio en el régimen hídrico y necrosis (Madueño, 2017, p. 39). Además, la contaminación por Pb, presente en acuíferos procedente de actividades antropogénicas como mineras, industriales y derrames, han provocado un espectro de efectos agudos y crónicos por los altos niveles de concentración (Mora, 2002, p. 26).

2.1.4.3. Importancia del análisis de plomo en el agua

El análisis del plomo en aguas es de gran importancia porque nos permite analizar la toxicidad de este metal ya que el plomo se encuentra en niveles bajos o altos de concentración en el agua, provocando grandes problemas a la salud del ser humano y al medio ambiente ya que estos tienen una gran capacidad de bioacumulación y persistencia. Además, este elemento se lo encuentra en el ambiente de forma natural y por actividades humanas (Morocho, 2020, p. 7).

2.1.5. Normativas

2.1.5.1. Normativa de control

Normativa ISO/IEC 17025

La ISO/IEC (International Organization for Standardization/ International Electrotechnical Commission) es una normativa internacional que establece requisitos generales para cualquier organización que realice ensayos, muestreo o calibración que desee obtener resultados veraces,

esto incluye a todo tipo de laboratorio ya sea de propiedad privada o gubernamental, industria o, de hecho, cualquier otra organización (ISO/IEC 17025:2005/Cor 1:2006).

La norma también requiere demostrar que operen los laboratorios mediante un sistema de gestión de calidad eficaz y en mejora continua en la cual administre y se utilice la documentación del laboratorio, ya sea administrativa y técnica de manera competente teniendo en cuenta los diferentes factores como métodos aprobados, personal, instalaciones, equipos, reactivos, condiciones ambientales entre otros., siguiendo el procedimiento sobre el aseguramiento de la calidad que genere resultados confiables y válidos (Jácome, 2014, p. 20).

2.1.5.2. Normativas ambientales

Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente

El presente Libro establece los procedimientos y regula las actividades y responsabilidades públicas y privadas en materia de calidad ambiental. Se entiende por calidad ambiental al conjunto de características del ambiente y la naturaleza que incluye el aire, el agua, el suelo y la biodiversidad, en relación a la ausencia o presencia de agentes nocivos que puedan afectar al mantenimiento y regeneración de los ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos de la naturaleza (TULSMA, 2015, p. 2).

Dentro del TULSMA (2015, pp. 1-187) ANEXO 1: Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua establece:

- Los principios básicos y enfoque general para el control de la contaminación del agua.
- Las definiciones de términos importantes y competencias de los diferentes actores establecidas en la ley.
- Los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos.
- Los límites permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de aguas o sistemas de alcantarillado.
- Permisos de descarga.
- Los parámetros de monitoreo de las descargas a cuerpos de agua y sistemas de alcantarillado de actividades industriales o productivas, de servicios públicas o privadas.
- Métodos y procedimientos para determinar parámetros físicos, químicos y biológicos con potencial riesgo de contaminación del agua.

Algunos de los criterios de calidad de las aguas se mencionan en la siguiente tabla:

Tabla 2-2: Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua

ACUERDO MINISTERIAL 097-A		LIMITE MÁXIMO PERMISIBLE			UNIDADES
		METAL			
		As	As total	Pb	
Anexo 1. TULSMA Norma de calidad	Tabla 1. Criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y doméstico.	100	-	100	ug/L
	Tabla 2. Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces.	50	-	-	ug/L
	Tabla 3. Criterios de calidad de aguas para riego agrícola.	100	-	-	ug/L
	Tabla 5. Criterios de calidad de aguas para uso pecuario.	200	-	50	ug/L
	Tabla 8. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público.	-	100	500	ug/L
	Tabla 9. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.	-	100	200	ug/L

Fuente: TULSMA, 2015

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108:2014

“Esta norma se aplica al agua potable de los sistemas de abastecimiento públicos y privados a través de redes de distribución y tanqueros” (NTE INEN 1108).

Tabla 2-3: Límite máximos permisibles para As y Pb según la INEN 1108:2014

NORMA		LIMITE MÁXIMO PERMISIBLE			UNIDADES
		METAL			
		As	As total	Pb	
INEN 1108	Agua para consumo humano	10	-	10	ug/L

Fuente: NTE INEN 1108

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Ordenanza Municipal del Cantón Francisco de Orellana

La ordenanza presenta los siguientes criterios de calidad de agua superficiales que son destinados al consumo humano y producción de agua potable. Los límites máximos permisibles se aprecian en la siguiente tabla:

Tabla 2-4: Límites permisibles según la Ordenanza Municipal del cantón Fco. Orellana

NORMA		LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE			UNIDADES
		METAL			
		As	As total	Pb	
Ordenanza Municipal	Tabla 1. Consumo de agua y producción de agua potable.	50	-	50	ug/L

Fuente: AQLAB, 2020

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

2.1.6. Espectrometría de absorción atómica

Alan Walsh implementó la espectrometría de absorción atómica (EAA) moderna a mediados de los años 1900 y 2000 (Harvey, 2002, p. 36). Es el método por el cual se puede determinar concentraciones mínimas de metales en muestras de agua, mediante la relación de absorbancia y concentración de los elementos a ser analizados (Sanmiguel y Guerrero, 2017, p. 19). A continuación, algunos de los métodos de espectrometría de absorción atómica para la determinación de metales.

2.1.6.1. Espectrometría de absorción atómica de llama

Utiliza una lámpara como fuente de luz para detectar la longitud de onda de cada elemento a través de una llama, ya que cada metal tiene su propia longitud de onda (Baird et al., 2017: p. 325). Al realizar la medición de una cantidad de luz absorbida, el equipo cuantifica los valores del analito presente en las muestras (Morocho, 2020, p. 15).

La absorción atómica de llama tiene cuatro sub métodos para diferentes tipos de análisis, que se relacionan con la concentración del analito, cantidad de la muestra y el elemento. Los sub métodos son: método directo de llama de aire-acetileno, método de extracción/llama de aire-acetileno, método directo de llama de óxido nitroso-acetileno, método de extracción/llama de óxido nitroso-acetileno (Baird et al., 2017: p. 325).

2.1.6.2. Espectrometría de absorción atómica de vapor frío

Este método solo determina mercurio (Hg), porque este metal tiene una presión de vapor idónea a temperatura ambiente. El Hg que se volatiliza es conducido por gases inertes como el argón y el nitrógeno, en este método se desarrollan tres etapas que son: la generación y volatilización, la transferencia y la atomización (Alarcón, 2011, p. 35).

2.1.6.3. Espectrometría de absorción atómica–generación de hidruros

La generación de hidruros como método es usado para cuantificar cierta cantidad de un analito en partes por billón (ppb), algunos metales tienen la capacidad de formar hidruros como As, Hg, Sn, Sb, Se y Te (Litter et al., 2009: p. 65).

2.1.6.4. Espectrometría de absorción atómica – electrotérmica

La absorción atómica electrotérmica (AAE) aparece en los años 70, ofreciendo una mayor sensibilidad, esto se debe a que la muestra se atomiza en menos de dos segundos, llegando a temperaturas de 2000 a 3000 °C. En este proceso el inyector automático agrega de 5 a 20 µL en el horno de grafito y se lleva a cabo la lectura, donde, acontece las siguientes fases: calentamiento, incineración, atomización y limpieza (Skoog et al., 2015: p. 59).

Tabla 2-5: Fase de espectrometría de absorción atómica-electrotérmica

Fases	Temperatura (°C)	Descripción
Calentamiento	80 - 180	Se produce el secado de la muestra elevando la temperatura del tubo de grafito
Incineración/ Pirolisis	300 - 1200	El material orgánico presente en esta fase se incinera o se puede llegar a convertirse en CO ₂ y H ₂ O
Atomización	2000 - 3000	Aumenta la temperatura rápidamente generando un pico de absorbancia que está relacionado con la concentración del analito presente en la muestra.
Limpieza	> 2000	Se aumenta la temperatura en el horno de grafito para eliminar cualquier residuo de la muestra anterior.

Fuente: Skoog D. et al., 2015

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

2.1.4.1. Componentes del espectrómetro

Fuente de radiación: Es emitida por una lámpara que puede ser de cátodo hueco (HCL), la cual genera un espectro de luz con una longitud de onda específica para analizar determinado analito (Vásconez, 2012, p. 31). Estas lámparas requieren un cierto periodo de tiempo hasta que se calienten y se encuentren en óptimas condiciones (Sanmiguel y Guerrero, 2017, p. 22). También tienen forma cilíndrica están selladas herméticamente al vacío y contienen un gas inerte (Vásconez, 2012, p. 31).

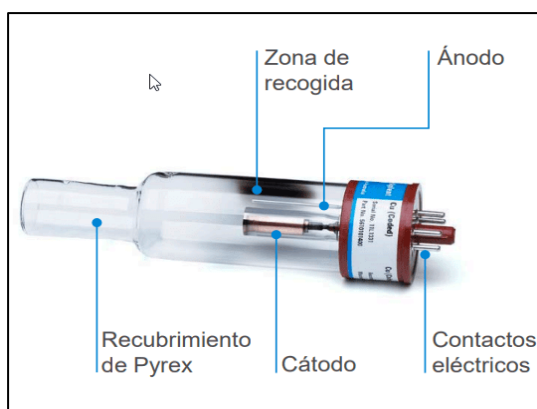


Ilustración 2-2: Lámpara de cátodo hueco

Fuente: Agilent Technologies, 2018

Horno de grafito: Es una cámara circular en forma de tubo de aproximadamente 5 cm de longitud y con 1 cm de diámetro en la parte interna, por el que atraviesa el haz de luz y tiene una perforación sobre el tubo por el cual se ingresa el analito (Skoog et al., 2015: p. 189). El analito se calienta dentro del tubo mediante energía eléctrica logrando que se desarrollen las fases de secado, incinerado y atomización (Vásconez, 2012, p. 37).

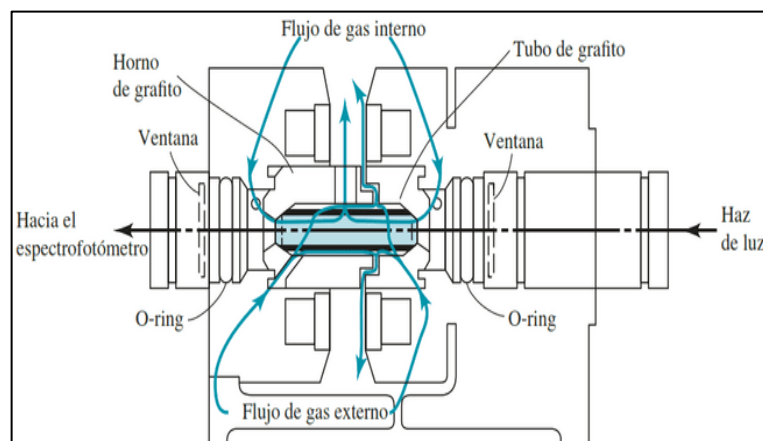


Ilustración 2-3: Vista transversal de un atomizador de horno de grafito

Fuente: Skoog D. et al., 2015

Monocromador: Se encarga de obtener la longitud de onda proveniente de la interacción del haz de luz con los átomos libres en el horno de grafito, de tal manera que se controle la pureza de la radiación. El monocromador cuenta con rejillas de entrada y salida, un espejo de enfoque y ranuras de difracción (Morocho, 2020, p. 17).

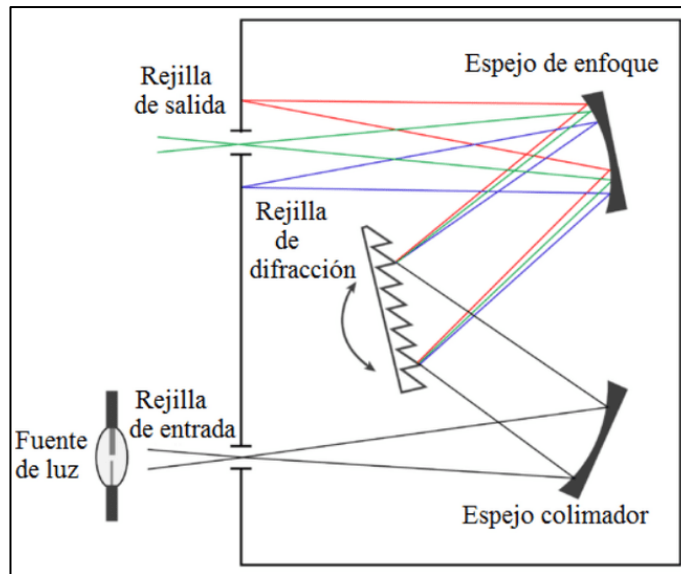


Ilustración 2-4: Componentes de un monocromador

Fuente: Morocho S., 2020

Detector: Capaz de detectar y convertir la radiación producida por la luz y los átomos libres del elemento a analizar, este sistema emite una señal eléctrica que es procesada a través de un software y posteriormente se ve reflejado en el monitor los resultados en unidades de absorbancias (Vásconez, 2012, p. 32).

2.1.4.2. Interferencias espectrales

Emisión interferente: Estas se desarrollan cuando hay radiación de un cuerpo extraño y este alcanza al detector, por lo general sucede cuando se da un incremento de ruido logrando disminuir el desempeño del equipo. La emisión interferente puede ser controlada optimizando el diseño óptico del espectrómetro, por otro lado, los analistas deben asegurarse del mantenimiento, alineación del tubo de grafito y la temperatura de atomización la cual no debe ser superior a la necesaria para atomizar el analito, ya que podemos extender el uso del tubo de grafito minimizando la generación de cuerpos extraños en el tubo (Litter et al., 2009: p. 84).

Absorción de fondo: Una de las interferencias más importantes es la producida por la absorción de fondo, ya que se genera disminución de la luz de la lámpara y esto puede ser causado por componentes de la muestra (Morocho, 2020, p. 18). Para realizar la corrección de fondo una de las opciones es utilizar una lámpara de fuente continua (Harvey, 2002, p. 178).

2.1.6.5. *Interferencias no espectrales*

Es el resultado de la inhibición de átomos libres por componentes que puedan tener las muestras y pueden dar errores en los resultados, generando valores superiores e inferiores a los normales (Morocho, 2020, p. 18).

2.1.7. *Validación de métodos analíticos*

2.1.7.1. *Métodos y guías de referencia*

Servicio de Acreditación Ecuatoriano: El Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) es una entidad de carácter técnico que, tiene como finalidad realizar la acreditación de los métodos de ensayo desarrollados en el Ecuador estableciendo los criterios basados en la Norma INEN NTE ISO/IEC 17025, aplicando normativa nacional e internacional, para que cualquier persona, empresa o institución tenga confianza en los resultados de los ensayos (SAE, 2022, párr. 1-3). A continuación, los criterios de validación aplicables por el SAE:

- a) Selectividad/Especificidad
- b) Precisión (Repetibilidad y Reproducibilidad)
- c) Veracidad (Sesgo)
- d) Intervalo de medición
- e) Sensibilidad diagnóstica
- f) Límite de Detección
- g) Límite de Cuantificación
- h) Linealidad
- i) Estabilidad
- j) Robustez
- k) Valores de referencia
- l) Interferencias
- m) Correlación con método de referencia o uno ya utilizado en el laboratorio

Eurachem: Proporciona guías que son aplicadas en todo el mundo por laboratorios que se centran en la validación interna de sus métodos, proporcionando una introducción fácil de entender sobre los procesos a desarrollar en una validación de métodos analíticos (Magnuss y Örnemark, 2016, pp. 1-54). En los “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayos” el SAE

establece que para la acreditación de ensayos los laboratorios apliquen el uso de las guías Eurachem (SAE, 2022, párr. 1-3).

Norma NTE-INEN ISO/IEC 17025:2018: Esta norma técnica fue adoptada en el Ecuador en el año 2018, por lo tanto, los laboratorios debieron renovar su metodología de ensayos contemplando los requisitos de la norma en un tiempo de 3 años desde su publicación (Aquino, 2020, p. 40). El Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE, 2022, párr. 4-6) establece que, los laboratorios tienen que elaborar ensayos que generen resultados aceptables para la validación interna y posterior acreditación del método que contemplen las características de la Tabla 2-6.

Tabla 2-6: Características para la acreditación de un método de ensayo

N°	Características de desempeño
1	Selectividad/Especificidad
2	Límite de detección
3	Límite de cuantificación
4	Intervalo de trabajo incluyendo <ul style="list-style-type: none"> • Linealidad
5	Sensibilidad analítica
6	Veracidad <ul style="list-style-type: none"> • Sesgo • Recuperación
7	Precisión <ul style="list-style-type: none"> • Repetibilidad • Reproducibilidad
8	Estimación de la incertidumbre
9	Robustez
10	Otros parámetros según el criterio específico de acreditación

Fuente: SAE, 2022

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Standard Methods/Métodos estándar: La primera publicación del libro “Métodos normalizados para el análisis de aguas” fue en el año 1905, en él se incluyeron métodos físicos, químicos y bacteriológicos de las aguas (Baird et al., 2017: p. 1). Este libro es una guía que describe una gran variedad de métodos de análisis de muestreo, preservación de muestras y control de calidad de los ensayos, entre otros más (Morocho, 2020, p. 24).

2.1.7.2. Parámetros de validación de un método analítico

2.1.7.3. Selectividad

Es la medida dada por el analito según su concentración, se puede dar en presencia de interferencias que llegan a alterar la señal, causando un error en los resultados del analito (Sanmiguel y Guerrero, 2017, p. 32). En esta técnica se trata de determinar los efectos de las posibles interferencias y si se encuentran deben ser eliminadas (Instituto de Salud Pública, 2010, p. 27).

2.1.7.4. Linealidad/Función respuesta

Es la técnica con la que se puede obtener resultados del método en relación a la concentración del analito, esta técnica es más conocida como curva de calibración (Vacacela, 2021, p. 40). Para la determinación de la linealidad o función respuesta se consideran los siguientes parámetros/ecuaciones estadísticas.

Tabla 2-7: Variables usadas en las fórmulas para determinar la linealidad

Variable	Descripción
X_i	Concentración, mg/L
Y_i	Absorbancia, Abs
\bar{X}	Concentración media, Abs
\bar{Y}	Absorbancia media, Abs
\hat{Y}	Ecuación de la recta
N	Numero de muestras
t	t - student (95,5%)

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Pendiente:

$$m = \sum \frac{(X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{(X_i - \bar{X})^2} \quad (1)$$

Intercepto:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i - m \sum_{i=1}^N X_i}{N} \quad (2)$$

Coefficiente de determinación, r:

$$r = \frac{\sum(X_i - \bar{X}) * (Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum(X_i - \bar{X})^2 * \sum(Y_i - \bar{Y})^2}} \quad (3)$$

Error tipo de la estimación de Y:

$$S_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (Y_i - \hat{Y})^2}{N - 2}} \quad (4)$$

Error tipo de la estimación de X:

$$S_{xy} = \frac{S_{yx}}{b} \quad (5)$$

Desviación estándar de la pendiente, Sm:

$$S_m = \frac{S_{yx}}{\sqrt{\sum(X_i - \bar{X})^2}} \quad (6)$$

Desviación estándar de la intercepción, Sb:

$$S_b = S_{yx} \sqrt{\frac{\sum_i^n X_i^2}{N * \sum(X_i - \bar{X})^2}} \quad (7)$$

Intervalo de confianza para la pendiente:

$$I_{cmMin} = m - S_m * t \quad (8)$$

$$I_{cmMax} = m + S_m * t$$

Intervalo de confianza para la intercepción:

$$I_{cbMin} = b - S_b * t \quad (9)$$

$$I_{cbMax} = b + S_b * t$$

2.1.7.5. Límite de detección (LOD)

Es la concentración de rango más baja o mínima que se puede detectar, leer o determinar en una muestra no cuantificable, esto nos dice que si obtenemos una absorbancia menor al límite de detección es un indicador de la ausencia del analito y si el valor de la absorbancia es superior la señal indica que pertenece al analito (Aguirre, 2022, p. 7). Es recomendable para el cálculo del LOD al menos seis mediciones de blanco matriz, estándar o una concentración cercana al blanco (Instituto de Salud Pública, 2010, p. 27).

$$LOD = 3 * Sb' \quad (10)$$

Donde:

\bar{x} : Promedio de las mediciones realizadas

Sb' : Desviación estándar corregida

2.1.7.6. Límite de cuantificación (LOC)

Se le conoce como la concentración más baja que puede ser detectada cuantitativamente de forma experimental con niveles aceptables de exactitud y precisión (Aguirre, 2022, p. 8). Para estimar el LOC las muestras deben ser una muestra blanco o muestras que tengan concentraciones similares (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 20).

$$LOC = 10 * Sb' \quad (11)$$

Donde:

\bar{x} : Promedio de las mediciones realizadas

Sb' : Desviación estándar corregida

2.1.7.7. Intervalo de trabajo

En el método el intervalo de trabajo es el que proporciona el límite de cuantificación en el extremo inferior y la concentración máxima en la que se logra observar errores en la sensibilidad analítica (Aguirre, 2022, p. 8). El método a validar debe confirmar que su procedimiento puede utilizarse en ese intervalo, para eso el laboratorio y los analistas deben considerar la linealidad del método (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 27).

2.1.7.8. Exactitud

Nos da a conocer el nivel de relación y proximidad entre los resultados de una muestra y el valor real del mesurando o a su vez expresado con el valor de referencia aceptado, el que puede ser por un material de referencia certificado (MR) (Morocho, 2020, p. 29). La exactitud es un parámetro de carácter cualitativo este nos refleja posibles errores asociados a un resultado (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 31). Por otro lado, en la validación se investiga posibles efectos sistemáticos y aleatorios evaluando los resultados obtenidos en la exactitud. La exactitud de un método analítico se obtiene mediante el estudio de la precisión y veracidad (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 31).

Veracidad: Este parámetro se obtiene en términos de recuperación de concentraciones del estándar adicionado en las muestras, así expresa la cercanía del promedio de las lecturas del analito y un valor de referencia. Por ello, se realiza una evaluación práctica de la veracidad la cual es expresada como sesgo (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 31).

Porcentaje de recuperación:

$$\%R = \frac{\text{Valor de la lectura}}{\text{Valor adición}} * 100 \quad (12)$$

Precisión: Evalúa parámetros estadísticos que describen la dispersión de los resultados del método de ensayo, normalmente es la desviación estándar y el coeficiente de variación, los que son estudiados mediante la repetibilidad y reproducibilidad (Vásquez, 2012, p. 44).

- **Repetibilidad:** representa el grado de precisión en los resultados de análisis, con mismos analistas, mismas condiciones, método, materiales y equipos (Vásquez, 2012, p. 45). Como mínimo se necesita al menos 6 mediciones bajo las mismas condiciones antes mencionadas (Instituto de Salud Pública, 2010, p. 42).

Desviación estándar, s^2 :

$$s^2 = \sqrt{\frac{\sum_1^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}} \quad (13)$$

Donde:

X_i : Lecturas de las muestras

\bar{X} : Promedio del total de las muestras

Coficiente de variancia, CV en %:

$$CV(\%) = \frac{s^2}{\bar{X}} * 100 \quad (14)$$

Donde:

\bar{X} : Promedio del total de las muestras

- **Reproducibilidad:** representa el grado de precisión en los resultados de análisis, bajo las mismas condiciones (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 35). Es decir, el método pueda ser reproducido en caso de que alguna variable se presente como: temperatura, analista o cambio de equipos (Vásquez, 2012, p. 45).

$$t_{calculada} < t_{teorico}$$

Prueba t – student calculada

$$T_{calculada} = \frac{(X1 - X2) - 0}{\sqrt{\frac{(n1 - 1) * V1 + (n2 - 1) * V2}{(n1 + n2) - 2} \left[\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right]}} \quad (15)$$

Donde:

X1 y X2: Promedio de las muestras 1 y 2

n1 y n2: tamaño de las muestras 1 y 2

V1 y V2: varianzas insesgadas de las muestras

Para calcular la precisión finalmente se aplica un análisis simple de varianza en el que se incluyen las siguientes ecuaciones de la Tabla 2-8.

Tabla 2-8: Ecuaciones para el análisis de la varianza

Origen de la varianza	Grados de libertad (v)	Suma de diferencias cuadráticas	Diferencias cuadráticas medias de la varianza
Entre grupos	Vb: K-1 Vb: 2-1 Vb: 1	$SCDb = \sum_{i=1}^2 (P(X_{PA1} - X_N)^2 + (P(X_{PA2} - X_N)^2$	$DCMb = \frac{SCDb}{Vb}$
Dentro del grupo	Vw: k (p-1) Vw: 2 (6-1) Vw: 10	$SCDw = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 (P(X_{iA1} - X_{PA1})^2 + (P(X_{iA2} - X_{PA2})^2$	$CMw = \frac{SCDw}{Vw}$
Donde:	n: Numero de lecturas k: Analistas p: Numero de repeticiones Vb: Grados de libertad entre grupos (2 analistas) Vw: Grados de libertad dentro del grupo (entre datos) X _{PA} : Promedio de la muestra X _n : Media de las medias de las muestras de ambos analistas X _i : Valor de la lectura de la muestra		

Fuente: Remache A., 2013

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Desviación estándar de repetibilidad, Sr:

$$Sr = \sqrt{DCMw} \quad (16)$$

Precisión intermedia, SL²:

$$SL^2 = \frac{DCMb - DCMw}{n} \quad (17)$$

Donde:

El valor de “n” viene siendo el número de observaciones que se realiza cada día en cada nivel.

Desviación estándar de reproducibilidad, SR:

$$SR = \sqrt{Sr^2 + SL^2} \quad (18)$$

Límite de repetibilidad, Lr:

$$Lr = (2,82 * Sr) * 100/\bar{X}nivel \quad (19)$$

Donde:

\bar{X} nivel: Promedio de los promedios de los analistas

Límite de reproducibilidad, LR:

$$LR = (2,82 * SR) * 100/\bar{X}nivel \quad (20)$$

Donde:

\bar{X} nivel: Promedio de los promedios de los analistas

Fisher calculado, Fcalculado:

$$Fcalculado = \frac{DCMb}{DCMw} \quad (21)$$

2.1.7.9. Sensibilidad analítica

Es la capacidad del método para obtener una respuesta pequeña de la medición de un analito, es calculada mediante la curva de calibración, la cual tiene una relación respuesta – concentración (Zumba, 2018, p. 16).

2.1.7.10. Robustez

Parámetro analítico que da a conocer la capacidad de un método a soportar variaciones premeditadas que se puedan presentar, es por ello que, la robustez es considerado un indicador de la fiabilidad del método cuando se de uso al método (Magnuss y Örnemark, 2016, p. 38).

2.1.7.11. Incertidumbre

Ellison y Williams (2012, p. 2) definen la incertidumbre como “Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando”.

Fuentes de incertidumbre: Al momento de usar el método se pueden encontrar la incertidumbre de un resultado este puede surgir de algunas fuentes como: el muestreo, interferencias, las condiciones ambientales, de almacenamiento, entre otros que se encuentran descritos en la Tabla 2-9.

Tabla 2-9: Fuentes generadoras de incertidumbre en un método

Fuente	Descripción
Muestreo	El muestreo <i>in-situ</i> forma parte del proceso, por ello, pueden ocurrir efectos de variaciones entre muestras afectando el resultado.
Condiciones de almacenamiento	Cuando la muestra se almacena durante un largo periodo de tiempo antes de cada lectura. Por esto, el almacenamiento debe considerarse como fuente de incertidumbre.
Efectos instrumentales	Se debe considerar la calibración de los instrumentos a usar como ejemplo la exactitud de una balanza analítica.
Pureza de los reactivos	Puede variar la concentración de los reactivos preparados a partir de un material madre, ya que permanece la incertidumbre del procedimiento.
Efectos del analista	Entre analistas permanece la incertidumbre de dar lecturas bajas o altas, por la posibilidad de realizar el método ligeramente diferente uno del otro.
Condiciones de medida	La temperatura puede llegar a generar incertidumbre en los materiales volumétricos, ya que estos pueden ser utilizados en condiciones de temperatura diferentes con la que fue calibrado.
Efectos de la muestra	En la recuperación de un analito agregado en una matriz puede afectar la composición de la misma. Así como también, en algunos casos ocurre que la estabilidad de la muestra cambia, ya sea por la temperatura o efectos fotolíticos.

Fuente: Ellison S. y Williams A., 2012

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tipos de incertidumbre

- **Incertidumbre típica:** Para el cálculo de la incertidumbre típica normalmente se determinarán muchas fuentes de incertidumbre, mismas que se pueden agrupar en dos categorías:
 - a) **Tipo A:** Contribución mediante el estudio estadístico de una cadena de observaciones, es decir, la desviación estándar máxima de la reproducibilidad y repetibilidad.
 - b) **Tipo B:** Contribución de la incertidumbre y resolución de equipos calibrados, MR y material volumétrico de vidrio certificado.
- **Incertidumbre combinada:** Esta incertidumbre se obtiene mediante la resolución de la raíz cuadrada de la suma de las contribuciones de tipo A y tipo B (Ellison y Williams, 2012, p. 25).

Incertidumbre combinada

$$U_{combinada} = \sqrt{\text{Contribuciones del tipo A} + \text{Contribuciones del tipo B}} \quad (22)$$

- **Incertidumbre expandida:** Esta incertidumbre define un intervalo alrededor del resultado obtenido de una lectura o medición, mismo que se espera cubra una fracción grande de la distribución de los valores.

$$U_{expandida} = U_{combinada} * k \quad (23)$$

Donde:

k: factor de cobertura

- **Incertidumbre relativa:** Para calcular la incertidumbre relativa se utilizará en el apartado de incertidumbre de As y Pb en el parámetro de la incertidumbre de dilución de muestra. Se realiza mediante la siguiente ecuación:

$$u_{relativa} = \frac{u(V)}{V_f} \quad (24)$$

Donde:

V_f: volumen del material volumétrico

u_v: Incertidumbre del volumen

Parámetros de cálculos de incertidumbre de la validación

Los parámetros de incertidumbre permiten obtener resultados de una medición en la cual se caracteriza la dispersión de dichos valores, además son medidas cuantitativas en aspectos importantes, como control de riesgos y la credibilidad en cada uno de los resultados de ensayos analíticos (Calero y Morales, 2018, p. 22).

1) Incertidumbre de la linealidad (Función respuesta), uFR :

$$uFR = S_{xy} / m \sqrt{1/p + 1/n + (C_0 - \bar{C})^2 / S_{xx}} \quad (25)$$

Donde:

S_{xy} : Desviación estándar residual

m : Pendiente

p : número de lecturas del equipo para determinar C_0

n : número de mediciones para la calibración.

C_0 : valor de la curva a la que corresponde el nivel

\bar{C} : valor medio de los diferentes patrones de calibración

S_{xx} : Suma de residuales

• **Incertidumbre de la FR relativa**

$$uFR_{relativa} = \frac{uFR}{\bar{x}STD_{curva}} \quad (26)$$

Donde:

uFR : Incertidumbre de la función respuesta

$\bar{x}STD_{curva}$: Promedio de los estándares

2) Incertidumbres de la veracidad del método

• **Incertidumbre de recuperación, $uRec$:**

$$uRec = (s^2/100)\sqrt{n} \quad (27)$$

Donde:

s^2 : Desviación estándar

n : Número total de lecturas realizadas por los analistas en cada nivel

• **Incertidumbre de recuperación relativa, $uRec_{relativa}$:**

$$u_{Rec. relativa} = \frac{u_{Rec}}{\bar{x}_{recuperación}} \quad (28)$$

Donde:

$\bar{x}_{recuperación}$: promedio del porcentaje de recuperación

3) Incertidumbre del material volumétrico, $u(vf)$:

$$u(vf) = \sqrt{(u(cal))^2 + (u(v))^2 + (u(repet))^2} \quad (29)$$

Donde:

$u(vf)$: Incertidumbre del material volumétrico

$u(cal)$: Incertidumbre de la calibración

$u(v)$: Incertidumbre de temperatura

$u(repet)$: Incertidumbre de repetibilidad

- **Incertidumbre de la calibración, $u(cal)$:**

$$u(cal) = \frac{u(vcal)}{k} \quad (30)$$

Donde:

$u(vcal)$: Se obtiene del certificado de calibración

k : factor de cobertura (generalmente $k=2$, que corresponde a un nivel de confianza del 95%)

- **Incertidumbre de la diferencia de temperatura del material volumétrico, $u(v)$:**

$$u(v) = \frac{(Dif T) * Vf * \alpha}{\sqrt{3}} \quad (31)$$

Donde:

Vf : Volumen del material volumétrico

$Dif T$: Rango de Temperatura 20 – 30°C: 10

α : Coeficiente de dilatación de vidrio boro sílice (0,00025)

4) Incertidumbre del estándar madre de 1000000 ug/l, $u_{STDmadre}$:

$$u_{STDmadre} = \frac{uMR}{k} \quad (32)$$

Donde:

$u_{STDmadre}$: Incertidumbre del estándar madre

u_{MR} : Se obtiene del certificado de calibración.

k: factor de cobertura (generalmente $k=2$, que corresponde a un nivel de confianza del 95%)

5) Incertidumbre de los estándares de trabajo, u_{STD} :

$$u_{STD} = \sqrt{(u_{STD\ madre})^2 + (u_{Pipeta})^2 + (u_{Matraz})^2} \quad (33)$$

Donde:

$u_{STDmadre}$: incertidumbre relativa del estándar madre

u_{Pipeta} : Incertidumbre relativa de la pipeta

u_{Matraz} : Incertidumbre relativa del matraz

6) Incertidumbre de calibración del equipo (Horno de grafito)

$$u_{equipo} = \sqrt{(u_{FR})^2 + (u_{STD})^2 + (u_{Resol})^2} \quad (34)$$

Donde:

u_{STD} : Incertidumbre de la preparación del estándar

$u_{(FR)}$: Incertidumbre de la Función Respuesta.

$u_{(Resol)}$: Incertidumbre de la resolución de instrumento

- **Incertidumbre de resolución, $u(resol)$:**

Este se trata de un instrumento digital, en la que la incertidumbre se determina por la mínima división de instrumento. Por lo tanto, se debe considerar el dígito menos significativo de la resolución. Para calcular la incertidumbre de resolución se debe hacer mediante la siguiente ecuación:

$$u_{Resol} = \frac{resol.\ del\ equipo}{\sqrt{12}} \quad (35)$$

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación del Laboratorio AQLAB

La validación del método espectrometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de Arsénico y Plomo en agua se realizó en el laboratorio “AQLAB”, el cual se encuentra ubicado en el barrio Con Hogar en la parte céntrica del cantón Francisco de Orellana, Provincia de Orellana. Coordenadas UTM: 18M, 0279263, 9948509.

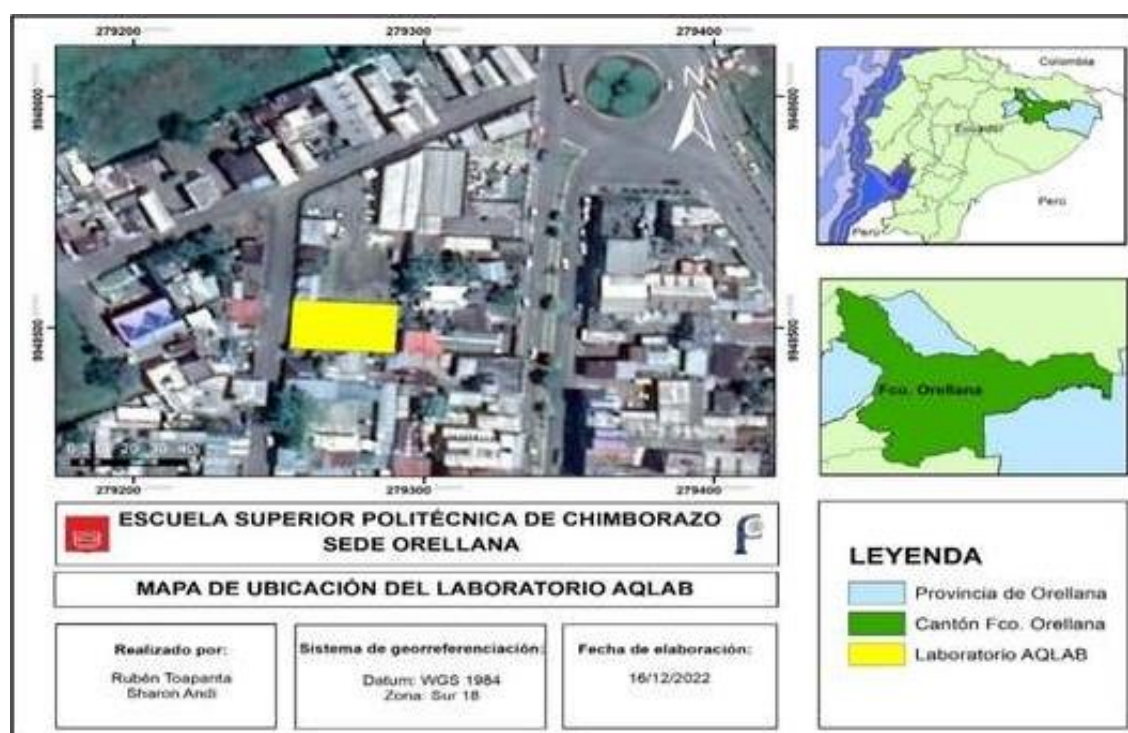


Ilustración 3-1: Mapa de ubicación del laboratorio AQLAB

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

3.2. Equipos, materiales y reactivos

3.2.1. Equipos

Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer-800 EFQ-086, digestor TECHICON EFQ/057, lámparas de cátodo hueco PerkinElmer, compresor de aire con filtro de purificación, sistema de extracción de gases.

3.2.2. Materiales volumétricos

Pipeta automática de 0,002-0,1 ml MV/038, pipeta automática de 0,5-5 ml MV/045, pipeta volumétrica de 10 ml MV/019, pipeta volumétrica 20 ml MV/020, matraz aforado de 25 ml, matraz aforado de 50 ml, matraz aforado de 250 ml, papel filtro Whatman 40, tubos de digestores Kendal, piseta de 500 ml, envases de plásticos estériles.

3.2.3. Reactivos

Estándar madre de As: solución de arsénico de 1000000 ug/l, estándar madre de Pb: solución de plomo de 1000000 ug/L, gas inerte: argón de alta pureza $\geq 98\%$, agua destilada: tipo I conductividad menor a 2 uS/cm y pH 7,00, ácido nítrico: HNO₃ grado HPCL, solución HNO₃ 2%: se disolvió 2,9 de HNO₃ concentrado al 70% en 1 litro, estándar de trabajo As y Pb: se preparó a partir del estándar madre respectivo de cada metal. Se diluyó 0,125 ml de la solución madre en un balón aforado de 250 ml con solución HNO₃ 2%, la concentración de esta solución es de 500ug/L o 0,5mg/L.

3.3. Tipo y diseño de la investigación

La metodología que se utilizó fue de investigación teórica y técnica: la teoría se investigó en fuentes bibliográficas tales como: normas nacionales e internacionales, guías y procedimientos de validación (Eurachem), artículos e instructivos internos del laboratorio "AQLAB". La necesidad analítica y el diseño experimental se planteó acorde a la normativa ambiental vigente.

La parte técnica se llevó a cabo en el Laboratorio de análisis y evaluación ambiental "AQLAB" de la ciudad del Coca, provincia de Orellana. El procedimiento aplicado en la validación del método para determinar arsénico y plomo en matrices de agua, se basó en los siguientes documentos internos del laboratorio como: PG-AQLAB-06: Validación de métodos e ITE-AQLAB-96: Instructivo técnico de ensayo determinación de metales en aguas por horno de grafito.

Se realizó cinco curvas de calibración de arsénico y plomo, determinando la función respuesta que se encuentra conformada por la pendiente, intercepto, error de tipo "y", error de tipo "x", desviaciones estándar de la pendiente e intercepto y los intervalos de confianza. Luego se procedió a realizar las lecturas de las muestras de aguas (agua de consumo, agua natural, agua negras y grises), muestras fortificadas, estándar control y material de referencia.

Los resultados de las lecturas se registraron en hojas de Excel y se realizó cálculos estadísticos como: calculó la repetibilidad, reproducibilidad, veracidad e incertidumbres del método. Donde se obtuvo valores aceptables en los parámetros de validación y se declaró el método validado.

3.4. Prueba de hipótesis

3.4.1. Hipótesis nula (H_0)

No se valida el método de espectrometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de As y Pb en muestras de agua.

3.4.2. Hipótesis alterna (H_a)

Se valida el método de espectrometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de As y Pb en muestras de agua.

3.5. Muestras de aguas, muestras fortificadas, estándares y material de referencia utilizados para la validación

Las muestras recolectadas fueron de la red de agua de consumo humano (instalaciones del laboratorio AQLAB), planta de tratamientos de aguas residuales del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Francisco de Orellana (GADMFO) y agua natural del río Payamino.

- ACH: Agua de consumo humano
- A.NAT: Agua natural
- A.NYG: Agua negras y grises
- STD CNTRL: Estándar control de trabajo 25 ug/L
- STD: Estándar de trabajo 200 ug/L
- MR-28: Material de referencia certificado de arsénico de 121 ug/L y plomo de 1750 ug/L
- Muestras fortificadas: son aquellas muestras que se les ha añadido una concentración conocida del analito como, por ejemplo: ACH + una solución de 10 ug/L de As.

3.6. Diseño experimental

3.6.1. Métodos de referencia

El procedimiento para la validación de los metales arsénico y plomo tienen como referencia las siguientes guías e instructivos:

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA 23th. Edición 2017. 3113 B (Método Espectrométrico de Absorción Atómica Electrotérmica).
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA 23th. Edición 2017. 3030 B (filtración preliminar), 3030 D (digestión preliminar de metales) y 3030 E (digestión por ácido nítrico).
- PG-AQLAB-07: Procedimiento General-Validación de Métodos.
- PG-AQLAB-06: Procedimiento General-Cálculo de Incertidumbre.
- ITU-AQLAB-10: Instructivo Técnico de Uso de Horno de Grafito.
- ITE-AQLAB-96: Instructivo Técnico de Ensayo Determinación de Metales en Aguas por Horno de Grafito.

3.6.2. Condiciones ambientales

Las condiciones óptimas de operación en el laboratorio son:

- Temperatura: $\leq 35^{\circ}\text{C}$
- Humedad: $\leq 85\% \text{ HR}$

3.6.3. Procedimiento y condiciones del equipo para determinar metales por horno de grafito

3.6.3.1. Procedimiento para el uso del equipo

Se aplicó el ITU-AQLAB-10: Instructivo Técnico de Uso de Horno de Grafito para el uso del espectrofotómetro de absorción atómica, Perkin Elmer-800-EFQ-086 del laboratorio AQLAB, en el cual se describe los pasos de manejo, calibración y configuración, ver ANEXO B.

3.6.3.2. Procedimiento para la determinación de As y Pb

Se aplicó el ITE-AQLAB-96: Instructivo Técnico de Ensayo Determinación de Metales en Aguas por Horno de Grafito, en el cual se describe. La determinación de arsénico y plomo en muestras de agua, ver ANEXO C

3.6.3.3. Condiciones del equipo EFQ-086 para determinar Arsénico y Plomo

Las condiciones óptimas del equipo para analizar arsénico y plomo se encuentran establecidas en la siguiente Tabla 3-1.

Tabla 3-1: Condiciones óptimas del equipo EFQ-086 de temperatura y tiempo de rampa para la determinación As y Pb

Elemento	Fases	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de calentamiento (s)	Flujo interno (ml/min)	Longitud de onda (λ)
Arsénico – As	Calentamiento	80	10	10	250	193,7
		130	10	10	250	
	Incineración/ Pirolisis	450	10	15	250	
	Atomización	2000	0	3	0	
	Limpieza	2100	1	3	250	
Plomo - Pb	Calentamiento	80	10	10	250	287,3
		130	10	10	250	
	Incineración/ Pirolisis	400	10	15	250	
	Atomización	1900	0	3	0	
	Limpieza	2000	1	3	250	

Fuente: AQLAB, 2020

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

3.6.4. Necesidad analítica

El Laboratorio estableció validar un método para la determinación de As y Pb por espectrometría de absorción atómica electrotrémica en agua, con la finalidad de ampliar sus servicios y cumplir con la normativa vigente en el control de la calidad de los ensayos como lo establece la NTE INEN ISO/IEC 17025 (AQLAB, 2020, párr. 3).

Para establecer la necesidad analítica primero se revisó las normativas vigentes que establecen los límites permisibles de As y Pb según: Acuerdo Ministerial 097-A (Tablas 1, 2, 3, 5, 8 y 9), Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1108: Agua potable-requisitos y la Ordenanza Municipal del cantón Francisco de Orellana: Criterios de calidad para aguas superficiales para el consumo humano y producción de agua potable descritas en el apartado 2.1.5. (AQLAB, 2020, párr. 5). Y, finalmente, se determinó el rango de trabajo del método.

3.6.5. Objetivos y parámetros de validación

Los objetivos y parámetros de validación se describen en la Tabla 3-2, para ello se aplicó el PG-AQLAB-07: Procedimiento General-Validación de métodos en el cual se encuentran descritos los parámetros mínimos que se consideran en una validación, ver ANEXO A.

Tabla 3-2: Objetivos y Parámetros de validación

Parámetros	Objetivo Establecido									
Selectividad / Especificidad	Se conoció las interferencias del método de AAS (espectrales e instrumentales) descritas en el ITE-AQLAB-96, ver anexo C.									
Linealidad/Función respuesta	Realizar 5 curvas para la calibración de cada metal, donde la regresión lineal del grado de ajuste con un coeficiente de determinación $r^2 \geq 0.995$.									
Límite de detección	<ul style="list-style-type: none"> As ≤ 5 ug/L Pb ≤ 5 ug/L 									
Límite de cuantificación	<ul style="list-style-type: none"> As ≤ 10 ug/L Pb ≤ 10 ug/L 									
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	Según los niveles de concentración de Horwitz <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>Concentración</th> <th>CV% (repetibilidad)</th> <th>CV% (reproducibilidad)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>10 ug/L</td> <td>16,0</td> <td>21,3</td> </tr> <tr> <td>100 ug/L</td> <td>11,3</td> <td>15,1</td> </tr> </tbody> </table>	Concentración	CV% (repetibilidad)	CV% (reproducibilidad)	10 ug/L	16,0	21,3	100 ug/L	11,3	15,1
Concentración	CV% (repetibilidad)	CV% (reproducibilidad)								
10 ug/L	16,0	21,3								
100 ug/L	11,3	15,1								
Exactitud	Recuperación de al menos del 85% al 115% en todos los niveles.									
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ en todos los niveles con intervalo de confianza de al menos el 95,45 %.									
Intervalo de trabajo	Se estima los siguientes intervalos de trabajo para los metales a validar: <ul style="list-style-type: none"> As: 10 - 200 ug/L Pb: 05 - 100 ug/L 									

Fuente: AQLAB, 2020

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

3.6.6. Determinación experimental y estadístico de la validación

Se estableció el diseño experimental para conocer la cantidad de datos que se obtuvo por cada nivel de concentración (estándares) y para el tratamiento de los datos se tomó como referencia el procedimiento PG-AQLAB-07: Validación de Métodos, ver el ANEXO A.

Tabla 3-3: Diseño experimental y estadístico para la validación de As y Pb

Preparación de los Estándares y curva de calibración.	<p>La preparación de estándares se realizó siguiendo el ITE-AQLAB-96: Primero, a partir del estándar madre de 1000000 ug/L de As y Pb se preparó un estándar de trabajo de 500 ug/L. Segundo, se preparó un estándar de 50 ug/L a partir del estándar de 500 ug/L. Finalmente, se configura el equipo espectrofotómetro de absorción atómica, para que realice la preparación automática de los 4 estándares con concentraciones de (5, 10, 20 ,40) ug/L a partir del estándar de trabajo de 50 ug/L.</p> <p>Para la curva de calibración se tomó 5 lecturas de los estándares a 4 niveles de concentración establecidos dentro del intervalo de trabajo de la curva.</p> <p>Los estándares se preparan en 5 días con condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.</p>											
Función de respuesta	<p>Se realizó cálculos estadísticos con los resultados de las curvas de calibración obteniendo: la pendiente, intercepto, error de tipo “y”, error de tipo “x” y posteriormente la desviación estándar de la pendiente e intercepto.</p>											
Lectura de las muestras: <ul style="list-style-type: none"> • Blancos • Estándar • Muestras • Muestras fortificadas • MR-28 	<p>Se tomaron 6 datos por cada analista con un máximo de 10 niveles, las cuales consisten en muestras de aguas como: agua de consumo, agua natural aguas negras y grises, muestras fortificadas, estándar y material de referencia.</p>											
	ARSÉNICO											
	NIVELES		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	MUESTRAS		Blanco	ACH ug/L	A.NAT ug/L	A.NYG ug/L	ACH + 10,00 ug/L	A.NAT + 20,00 ug/L	STD CNTRL 25,00 ug/L	A.NYG + 30,00 ug/L	MR-28	STD 200 ug/L
	Lecturas	Analista 1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Analista 2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Total	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	PLOMO											
	NIVELES		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	Muestra		Blanco	ACH ug/L	A.NAT ug/L	A.NYG ug/L	STD CNTRL 5,00 ug/L	ACH + 10,00 ug/L	A.NAT + 30,00 ug/L	A.NYG + 100 ug/L	MR-28	
	Lecturas	Analista 1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Analista 2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Total	12	12	12	12	12	12	12	12	12	

Tratamiento estadístico	Se calculó los siguientes parámetros estadísticos:
	● Límites de detección
	● Límites de cuantificación
	● T - student (repetibilidad)
	● ANOVA (Reproducibilidad)
	● T – Fisher (Reproducibilidad)
	● Veracidad
● Incertidumbre del método	

Fuente: AQLAB, 2020

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

3.7. Cálculos

Los cálculos de la validación se realizaron con el programa informático Excel aplicando funciones que se encuentran descritas en la siguiente Tabla 3-4.

Tabla 3-4: Funciones del programa Excel

Nombre	Función	Símbolo
Estimación lineal	ESTIMACIÓN LINEAL	E.L
Promedio	PROMEDIO	\bar{x}
Desviación estándar	DESVEST	s^2
Varianza	VAR.S	VAR
t-teórica	DISTR.T.INV	t-t
Fisher tabulado	DISTR.F.INV	Ftabulado
Análisis de varianza	Análisis de varianza de un factor	ANOVA

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

3.7.1. Función respuesta/Linealidad

Se determinó la función respuesta: Primero, se preparó los estándares de la curva de calibración de (5, 10, 20, 40) ug/L. Segundo, se tomó datos de absorbancias a diferentes concentraciones. Finalmente se calculó en Excel con la función ESTIMACIÓN LINEAL la pendiente (m), intercepto (b), error de tipo “y” (Sxy), error de tipo “x” (Sxx), desviaciones estándar de la pendiente (Sm) e intercepto (Sb) y los intervalos de confianza de cada curva.

3.7.2. Límite de detección y cuantificación

La determinación del límite de detección (LOD) y cuantificación (LOC) se calculó con la ecuación 10 y 11, respectivamente.

3.7.3. Repetibilidad

A partir de las lecturas de las muestras fortificadas, estándares de control y material de referencia, se calculó el promedio (\bar{x}), la desviación estándar (s^2) y el porcentaje del coeficiente de variación (CV%) aplicando la ecuación 14.

3.7.4. Veracidad

En el cálculo de la veracidad se usaron las muestras fortificadas, obteniendo de ellas el porcentaje de recuperación (%R) aplicando la ecuación 12 donde se agrega el valor de la lectura, valor de adición de estándar y se multiplica por cien. Posteriormente, se determinó el promedio (\bar{x}) de recuperación del total de las lecturas realizadas de los dos analistas.

3.7.5. Reproducibilidad

Se tomó los datos de las lecturas de las muestras fortificadas por analista y se determinó los siguientes cálculos: Primero, el promedio (\bar{x}) y las varianzas (VAR) de cada analista. Segundo, se obtuvo el valor de la t-teórica (t-t) con un nivel de 0,05 de probabilidad, grados de libertad de 10 y se determinó la t-calculada (t-c) con la ecuación 15. Finalmente, se compararon los resultados para comprobar el cumplimiento de la condición t-calculada < t-teórica.

3.7.6. Precisión

Primero, se aplicó las ecuaciones y variables de la Tabla 2-8, las cuales fueron utilizadas para determinar las sumatorias y diferencias cuadráticas. Segundo, se tomó los resultados de las sumatorias y diferencias cuadráticas de los dos analistas y se calculó la desviación estándar de repetibilidad (S_r) con la ecuación 16, la precisión intermedia (SL^2) con la ecuación 17 y la desviación estándar de reproducibilidad (SR) con la ecuación 18. Finalmente, se calculó los límites de repetibilidad (Lr) y reproducibilidad (LR) con las ecuaciones 19 y 20, respectivamente.

Adicional, se realizó una comparación entre el valor de Fisher calculado ($F_{\text{calculado}}$) aplicando la ecuación 21 y el resultado del análisis de varianza (ANOVA) para observar que los valores sean similares y seguir con la validación.

3.7.7. Cálculos de incertidumbres

3.7.7.1. Incertidumbre de la función respuesta

Para el cálculo de esta incertidumbre se tomaron los resultados obtenidos de la función respuesta aplicando la ecuación 25 se determinó la incertidumbre de la función respuesta (u_{FR}). Después se calculó la incertidumbre de la función respuesta relativa ($u_{FR_{\text{relativa}}}$) con la ecuación 26, en la que se utiliza los valores de la u_{FR} y el promedio de los estándares de la curva de calibración.

3.7.7.2. Incertidumbre de veracidad

Para obtener la incertidumbre de veracidad primero se calculó la desviación estándar (s^2) del total de lecturas. Segundo, se determinó la incertidumbre de recuperación (u_{Rec}) con la ecuación 27 y la incertidumbre de recuperación relativa ($u_{Rec_{\text{relativa}}}$) con la ecuación 28. Finalmente, se obtuvo la incertidumbre combinada de la veracidad ($u_{Comb.Ver}$) aplicando la ecuación 22 donde se elevan al cuadrado los valores de la incertidumbre de recuperación relativa e incertidumbre del estándar madre.

3.7.7.3. Incertidumbre del material volumétrico

Para el cálculo de la incertidumbre del material volumétrico $u(vf)$, primero se determina la incertidumbre de calibración (u_{cal}) aplicando la ecuación 30. Segundo, se calculó la incertidumbre de la repetibilidad (u_{repet}) y la incertidumbre de la diferencia de temperatura (u_v) con la ecuación 31. Finalmente, se aplicó la ecuación 29 para obtener el valor de $u(vf)$.

3.7.7.4. Incertidumbre del estándar madre

Se aplicó la ecuación 32 para determinar la incertidumbre del estándar madre ($u_{STD_{\text{madre}}}$), donde se divide el valor de la incertidumbre del material de referencia certificado (u_{MR}) con el valor del factor de cobertura (k) del material de referencia, estos valores fueron obtenidos del documento de certificación del MR, ver ANEXOS I, J, K.

3.7.7.5. Incertidumbre de los estándares de trabajo

Para el cálculo de la incertidumbre del estándar de trabajo (u_{STD}) se utilizó la ecuación 33, misma que, se encuentra constituida por las siguientes incertidumbres relativas: del estándar madre ($u_{STD_{madre}}$), de la pipeta (u_{Pipeta}) y del matraz aforado (u_{Matraz}).

3.7.7.6. Incertidumbre de calibración del equipo

Para este cálculo se aplicó la ecuación 34 tomando los valores de los promedios de cada muestra por analista. Después se determinó la incertidumbre de la preparación de los estándares (u_{STD}) con la ecuación 33, la incertidumbre de la función respuesta relativa ($u_{FR_{relativa}}$) con la ecuación 26 y la incertidumbre de la resolución del instrumento aplicando la ecuación 35.

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Obtención de Resultados de Arsénico

4.1.1. Datos experimentales para la validación de Arsénico en aguas

Se realizaron seis lecturas por cada analista con diferentes concentraciones de estándares, muestras de agua y material de referencia dando un total de seis niveles. En la Tabla 4-1 se puede apreciar los datos obtenidos para la validación de arsénico.

Tabla 4-1: Datos primarios para la validación de Arsénico en aguas

Nivel	1	2	3	4	5	6
Conc.	0,01	2	2,5	3	121	20
Muestras	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28 ug/l	STD 200 ug/l
Dilución	1	1	1	1	5	10
RT	12,75	27,48	29,53	32,15	131,00	216,00
	11,66	25,45	28,47	30,10	137,25	195,70
	12,51	23,92	29,09	30,34	123,85	197,60
	13,11	26,47	25,71	30,17	139,85	197,80
	11,44	25,06	27,33	31,59	121,55	205,50
	12,75	26,02	28,57	28,22	141,95	209,80
SA	12,43	26,38	27,25	30,29	126,65	181,70
	11,72	26,45	30,37	33,60	141,85	200,00
	11,82	25,12	29,79	32,44	141,85	221,20
	11,45	26,80	27,29	32,70	135,75	195,50
	12,43	27,18	29,09	30,58	139,85	212,60
	12,58	24,38	27,76	30,23	137,5	219,30

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.2. Linealidad de la función respuesta por el método escogido para Arsénico en muestras de agua

En la Tabla 4-2 se describe los valores de las cinco curvas en unidades de absorbancia para cada una de las concentraciones de 5 a 40 ug/l, arrojándonos un coeficiente de determinación de 0,9983 como se observa en la Ilustración 4-1, por lo tanto, se acepta las curvas de calibración en la validación. Además, en la linealidad se considera otras variables como: la pendiente (m), intercepto (b), grados de libertad, desviación estándar de la pendiente e intercepto, entre otros, como se describe en la Tabla 4-3 y nos permiten obtener otros datos para el proceso de validación.

Tabla 4-2: Determinación de la curva de calibración de Arsénico

Concentración ug/l	CURVA 1 Abs	CURVA 2 Abs	CURVA 3 Abs	CURVA 4 Abs	CURVA 5 Abs
5,00	0,0160	0,0161	0,0131	0,0135	0,0151
10,00	0,0296	0,0287	0,0315	0,0320	0,0274
20,00	0,0584	0,0615	0,0626	0,0561	0,0649
40,00	0,1207	0,1175	0,1199	0,1178	0,1185

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

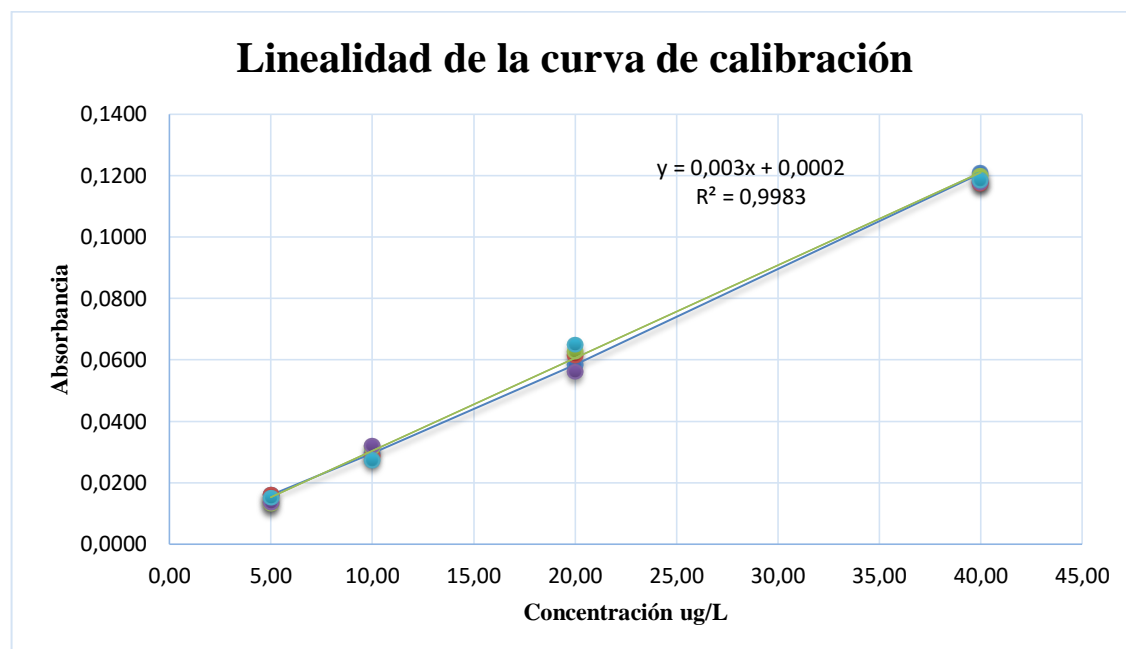


Ilustración 4-1: Absorbancia vs Concentración

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-3: Datos estadísticos de la función respuesta

Variable	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
Pendiente (m)	0,00300	0,00292	0,00302	0,00293	0,00299
Intercepto (b)	-0,00014	0,00113	0,00016	-0,00013	0,00034
Sm	0,000054	0,000069	0,000087	0,000103	0,000151
Sb	0,00124	0,00159	0,00204	0,00237	0,00348
r ²	0,99936	0,99889	0,99829	0,99754	0,99493
Sy,x	0,00145	0,0018	0,0024	0,00276	0,00405
Grados libertad (n-1)	2	2	2	2	2
t	4,30265	4,30265	4,30265	4,302653	4,30265
m Min	0,00277	0,00263	0,00264	0,002490	0,00234
m Max	0,00324	0,00322	0,00340	0,003375	0,00364
b Min	-0,00549	-0,00570	-0,00862	-0,01033	-0,01464
b Max	0,00520	0,00797	0,00893	0,01006	0,01532

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Para los máximos y mínimos se realizó de las cinco curvas de la Tabla 4-4 correspondiente a los límites de las pendientes e interceptos máximos y mínimos para luego obtener el control de las curvas durante y después del proceso.

Tabla 4-4: Interceptos y pendientes máximos y mínimos

Límites	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Para control	
m Min	0,002772	0,002627	0,002639	0,002490	0,002344	0,00234	m Min
m Max	0,003236	0,003220	0,003400	0,003375	0,003644	0,00364	m Max
b Min	-0,005490	-0,005702	-0,008617	-0,010328	-0,014641	-0,01464	b Min
b Max	0,005203	0,007971	0,008930	0,010059	0,015320	0,01532	b Max

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.3. Análisis de repetibilidad (r)

En la Tabla 4-5 y 4-6 se observa los resultados del promedio (\bar{X}), desviación estándar y el coeficiente de varianza (CV) de cada analista, se obtuvo porcentajes de CV menores al 7%, por lo que, se aceptan los valores, ya que son menores al 16% y cumplen con lo establecido en los objetivos de validación.

Tabla 4-5: Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra Analista 1

Niveles	1	2	3	4	5	6
Muestra	ACH + 10,00 mg/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28 ug/l	STD 200 ug/l
Analista	RT	RT	RT	RT	RT	RT
1	12,750	27,480	29,530	31,769	131,000	216,000
2	11,660	25,450	28,470	28,690	137,250	195,700
3	12,510	23,920	29,090	29,068	123,850	197,600
4	13,110	26,470	25,710	28,472	139,850	197,800
5	11,440	25,060	27,330	29,740	121,550	205,500
6	12,750	26,020	28,570	27,555	141,950	209,800
Promedio (\bar{x})	12,370	25,733	28,117	29,216	132,575	203,733
Desvest	0,667	1,225	1,392	1,442	8,519	8,096
CV%	5,39	4,76	4,95	4,94	6,43	3,97

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-6: Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra Analista 2

Niveles	1	2	3	4	5	6
Muestra	ACH + 10,00 mg/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28 ug/l	STD 200 ug/l
Analista	SA	SA	SA	SA	SA	SA
1	12,43	26,380	27,250	29,321	126,650	181,700
2	11,72	26,450	30,370	33,071	141,850	200,000
3	11,82	25,120	29,790	31,110	141,850	221,200
4	11,45	26,800	27,290	32,273	135,750	195,500
5	12,43	27,180	29,090	30,287	139,850	212,600
6	12,58	24,380	27,760	29,699	137,500	219,300
Promedio (\bar{x})	12,072	26,052	28,592	30,960	137,242	205,050
Desvest	0,467	1,074	1,344	1,479	5,723	15,381
CV%	3,87	4,12	4,70	4,78	4,17	7,50

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.4. Análisis de veracidad

En la Tabla 4-7 se encuentran los resultados del porcentaje de recuperación de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia de los dos analistas con un total de 12 lecturas.

Además, el promedio de la recuperación máximo es de 113,42% por lo que, estos valores son aceptados en la validación.

Tabla 4-7: Determinación de los porcentajes de recuperación de las muestras, estándar y material de referencia

# de lecturas	Muestras	ACH +10,00 ug/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28 ug/l	STD 200 ug/l
1	RT	108,48	108,82	118,12	105,90	108,26	108,00
2		102,48	99,765	113,88	95,63	113,43	97,85
3		110,13	102,625	116,36	96,89	102,36	98,80
4		116,66	112,295	102,84	94,91	115,58	98,90
5		99,03	108,56	109,32	99,13	100,45	102,75
6		113,37	107,61	114,28	91,85	101,50	104,90
1	SA	109,71	108,945	109	97,74	104,67	90,85
2		96,14	107,805	121,48	110,24	117,23	100,00
3		99,5	111,115	119,16	103,70	117,23	110,60
4		97,78	102,49	109,16	107,58	112,19	97,75
5		104,37	108,33	116,36	100,96	115,58	96,11
6		105,99	96,38	111,04	99,00	113,64	109,65
(\bar{x}) recuperación		105,30	106,23	113,42	100,29	110,18	101,35

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.5. Análisis de reproducibilidad (R)

Los resultados de la t calculada fueron aceptados en la validación porque cumplieron con la condición de $t - \text{calculada} < t - \text{teórica}$, obtenida a partir de los promedios (\bar{X}) y las varianzas de cada analista como se describe en la Tabla 4-8.

Tabla 4-8: Análisis estadístico prueba T student para los analistas 1 y 2

Niveles	1	2	3	4	5	6
Muestra	ACH + 10,00 mg/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28 ug/l	STD 200 ug/l
\bar{x}	12,370	25,733	28,117	28,117	132,575	203,733
\bar{x}	12,072	26,052	28,592	28,592	137,242	205,050
VAR. 1	0,44500	1,49951	1,93723	1,93723	72,56575	65,55067

VAR. 2	0,21774	1,15242	1,80658	1,80658	32,75042	236,56300
Tteórica	2,22814	2,22814	2,22814	2,22814	2,22814	2,22814
Tcalculada	0,90217	0,48124	0,60436	0,60436	1,11948	0,18649
RESULTADO	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.6. Análisis de precisión

En la Tabla 4-9 se observa los resultados de la desviación estándar de repetibilidad (Sr), la precisión intermedia (SL²), la desviación estándar de reproducibilidad (SR) y los límites de repetibilidad (Lr) y reproducibilidad (LR) de los seis niveles de concentración. Por otro lado, en la Tabla 4-10 se encuentran los resultados de la prueba Fisher tabulada y Fisher calculado, valores que cumplen con la condición de Fcalculado < Ftabulado y son aceptados en la validación, ya que no hay diferencia significativa.

Tabla 4-9: Resultados de análisis de precisión de los niveles con recuperación

Concentración	Sr	SL ²	SR	Lr	LR
ACH +10,00 mg/l	0,5756	-0,0054	0,5756	13	13
A.NAT +20,00 ug/l	1,1515	-0,0852	1,1515	13	13
STD CNTRL 25,00 ug/l	1,3682	-0,0996	1,3682	14	14
A.NYG+30,00 ug/l	1,4111	0,2011	1,4806	13	13
MR-28 ug/l	7,2566	1,0563	7,3290	15	15
STD 200 ug/l	12,2905	-12,1547	12,2905	17	17

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-10: Análisis de T Fisher de Arsénico

MUESTRAS	DCMb/DCMw	DISTR.F.INV (0,05;k,p)	OBSERVACIÓN
	F calculado	F tabulado	
ACH + 10.00 ug/L	1,38792	4,964602744	No hay diferencia significativa
A.NAT + 20.00 ug/L	0,22927	4,964602744	No hay diferencia significativa
STD CTRL 25.00 ug/L	0,01784	4,964602744	No hay diferencia significativa
A.RES +30.00 ug/L	2,21193	4,964602744	No hay diferencia significativa
MR-28 ug/L	0,22004	4,964602744	No hay diferencia significativa
STD 200 ug/L	0,37874	4,964602744	No hay diferencia significativa

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.7. Incertidumbre

4.1.7.1. Incertidumbre de función respuesta

Tabla 4-11: Datos para la determinación de la incertidumbre de la función respuesta por nivel

Variables	Función respuesta
m (pendiente)	0,00297
p	2
Sxy	0,0021656
n	20
Co	18,75
C	12,22 (va los datos de los niveles)
Sxx	3603,29047

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

$$u_{FR} = 0,00216/0,0029\sqrt{(1/2 + 1/20 + (18,75 - 12,22)^2 / 3603,2904)}$$

$$u_{FR} = 0,546$$

- Incertidumbre FR relativa:

$$u_{FR_{relativa}} = \frac{0,546}{18,75} = 0,02910$$

4.1.7.2. Incertidumbre para el material volumétrico u (Vf)

Cálculo de la incertidumbre de la calibración para un matraz aforado de 50 ml $u(cal)$:

$$u_{cal} = \frac{0,0056}{2} = 0,0028$$

Cálculo de la incertidumbre de la diferencia de temperatura para el matraz aforado de 50 ml, $U_{(v)}$:

$$U_{(v)} = \frac{(10) * 50 * 0,0025}{\sqrt{3}} = 0,0721$$

Cálculo de la incertidumbre relativa del matraz aforado de 50 ml:

$$u_{relativa} = \frac{0,0721}{50} = 0,0014$$

Tabla 4-12: Tabla de las incertidumbres de los materiales volumétricos

MATERIAL	U(Vf)	u relativa	MATERIAL	u (Vf)	U relativa
Pipeta 0,2 ml	0,000220	0,0110	Matraz Aforado 25 ml	0,0360	0,0014
Pipeta 5 ml	0,000438	0,00009	Matraz Aforado 50 ml	0,0721	0,0014
Pipeta 20 ml	0,000591	0,00003	Matraz Aforado 250 ml	0,3608	0,0014

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.7.3. *Incertidumbre del estándar madre de Arsénico de 1000000 ug/L*

$$U_{STD\ madre} = \frac{0,0024}{2} = 0,0012$$

- Incertidumbre relativa del estándar madre de As:

$$u_{relativa} = \frac{0,0012}{1000} = 0,000012$$

4.1.7.4. *Incertidumbre del estándar de trabajo 50 ug/l*

$$u_{STD} = \sqrt{(0,000012)^2 + (0,00009)^2 + (0,001443)^2}$$

$$u_{STD} = 0,0014$$

4.1.7.5. *Incertidumbre de calibración del equipo*

$$u_{equipo} = \sqrt{(0,029)^2 + (0,0023)^2 + (0,000289)^2}$$

$$u_{equipo} = 0,02919$$

4.1.7.6. *Incertidumbre de resolución*

$$u_{resol} = \frac{0,001}{\sqrt{12}} = 0,000289$$

4.1.7.7. *Incertidumbre combinada de la muestra de ACH + 10,00 ug/l*

$$u_{combinada} = 12,22 * \sqrt{(0,02919)^2 + (0,04710)^2 + (0,00018)^2}$$

$$u_{combinada} = 0,6772$$

4.1.7.8. *Incertidumbre expandida (%) de la muestra de ACH + 10,00 ug/l*

$$u_{expa} = 0,6772 * 2$$

$$u_{expa} = 1,3545$$

$$u_{expa} = \frac{1,3545}{100}$$

$$u_{expa} = 14\%$$

En la Tabla 4-13 se describen las incertidumbres de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia del arsénico en el rango de 10 – 200 ug/l, dando como resultado incertidumbres expandidas del 12 % hasta el 15 % y se aceptan los porcentajes en la validación, ya que estos cumplen el objetivo propuesto de $\leq 30\%$.

Tabla 4-13: Incertidumbre del Arsénico de muestras fortificadas, estándar y material de referencia

NIVEL DE CONCENTRACIÓN ug/l	ACH+10,00 ug/l	A.NAT +20,00 ug/l	STD CNTRL 25,00 ug/l	A.NYG +30,00 ug/l	MR-28	STD 200,00 ug/l
	10	20	25	30	121	200
U combinada	0,6772	1,4560	1,5984	1,8366	7,3397	12,3184
U expandida %	14%	15%	13%	12%	12%	12%

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.1.8. *Declaración del método validado de Arsénico en muestras de aguas*

Para la declaración de la validación primero se cumplieron con los siguientes parámetros: repetibilidad con un criterio ≤ 16 , reproducibilidad cumpliendo con la condición $t - \text{calculada} < t - \text{crítico}$ en un intervalo de trabajo de 0,01 – 0,20 mg/l. Segundo, se obtuvo una exactitud que cumple con los límites calculados y una incertidumbre del 15%. Finalmente, todos los resultados fueron aceptados por el laboratorio y se declaró el método validado.

Tabla 4-14: Determinación de arsénico por horno de grafito en aguas

DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN						
MÉTODO:	DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO POR HORNO DE GRAFITO EN AGUAS					
MATRIZ:	AGUA DE CONSUMO					
	AGUA NATURAL					
	AGUA NEGRAS Y GRISES					
LIMITE DE DETECCIÓN						
LD=	0,001 mg/L					
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN						
LC=	0,01 mg/L					
REPETIBILIDAD						
	CRITERIO	VALOR			OBSERVACIÓN	
REPETICIONES	%SDR	≤16			ACEPTA	
REPETIBILIDAD	CRITERIO F	F calculado < F critico			ACEPTA	
		RANGO mg/L			0,01 – 0,20	
REPRODUCIBILIDAD						
	CRITERIO	VALOR			OBSERVACIÓN	
REPETIBILIDAD	CRITERIO F	F calculado < F critico			ACEPTA	
	T STUDENT	t calculado < t critico			ACEPTA	
		RANGO mg/L			0,01 – 0,20	
EXACTITUD						
	CRITERIO	VALOR			OBSERVACIÓN	
EXACTITUD	Z – SCORE	≥ -2 Z ≤ 2			ACEPTABLE	
Z – SCORE	0,0					
INCERTIDUMBRE						
	CRITERIO	VALOR			OBSERVACIÓN	
INCERTIDUMBRE	≤ 30% RANGO BAJO	15			ACEPTA	
INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO						
NIVELES (ug/l)	Sr	SR	Recup. Media	U (k=2)	U%	
10,00	0,576	0,576	105,30	1,35	14%	ACH + 10,00 ug/L

20,00	1,152	1,152	106,23	2,91	15%	A.NAT + 20,00 ug/L
25,00	1,368	1,368	113,42	3,20	13%	STD CNTRL 25,00 ug/L
30,00	1,411	1,481	100,29	3,67	12%	A.NYG +30,00 ug/L
121,00	7,257	7,329	110,18	14,68	12%	MR-28 ug/L
200,00	12,291	12,291	101,35	24,64	12%	STD 200 ug/L
Conclusión:						
El método ITE-AQLAB-96, Para la Determinación de Arsénico en aguas: consumo, naturales, Residuales						
Se declara Validado, Una vez cumplido los objetivos establecidos para el rango e incertidumbres respectivas						
	RANGO mg/L		U%			
	0,01 – 0,20		15%			

Realizado por: Andí S. y Toapanta R., 2023

4.2. Obtención de resultados de Plomo

4.2.1. Datos experimentales para la validación de Plomo en aguas

Se realizaron seis lecturas por cada analista con diferentes concentraciones de estándares, muestras de agua y material de referencia dando un total de cinco niveles de concentración. En la Tabla 4-15 se puede apreciar los datos obtenidos para la validación de plomo.

Tabla 4-15: Datos primarios para la validación de Plomo en aguas

Nivel	1	2	3	4	5
Conc.	5	10	30	100	1079
Muestras	STD CNTRL 5,00 ug/l	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +30,00 ug/l	A.NYG +100,00 ug/l	MR-28 ug/l
Dilución	1	1	1	5	50
RT	4,75	11,20	29,90	103,00	1110
	5,38	10,40	29,60	103,50	1125
	5,15	11,90	29,20	100,50	1140

	5,38	10,90	29,80	106,00	1135
	5,34	10,20	30,00	103,00	1145
	5,27	11,30	29,90	99,00	1120
SA	5,12	10,40	29,10	105,50	1135
	5,84	11,30	29,90	110,00	1130
	5,17	10,30	30,70	104,00	1140
	5,39	10,50	30,60	106,00	1145
	5,15	10,60	29,20	99,50	1155
	5,77	10,50	30,80	99,50	1135

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.2. Linealidad de la función respuesta por el método escogido para Plomo en muestras de agua

En la Tabla 4-16 se describe las cinco curvas con valores obtenidos de la absorbancia para cada una de las concentraciones de 5 a 40 ug/l, arrojándonos un coeficiente de determinación de 0,9999 como se observa en la Ilustración 4-2, por lo tanto, se acepta las curvas de calibración en la validación. Además, en la linealidad se considera otras variables como: la pendiente (m), intercepto (b), grados de libertad, desviación estándar de la pendiente e intercepto, entre otros, como se describe en la Tabla 4-17 y nos permiten obtener otros datos para el proceso de validación.

Tabla 4-16: Determinación de la curva de calibración de plomo

Concentración ug/l	CURVA 1 Abs	CURVA 2 Abs	CURVA 3 Abs	CURVA 4 Abs	CURVA 5 Abs
5,00	0,0152	0,0191	0,0169	0,0194	0,0185
10,00	0,0333	0,036	0,0315	0,0345	0,0375
20,00	0,065	0,0675	0,0622	0,0671	0,0721
40,00	0,1309	0,1258	0,1247	0,1316	0,1374

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

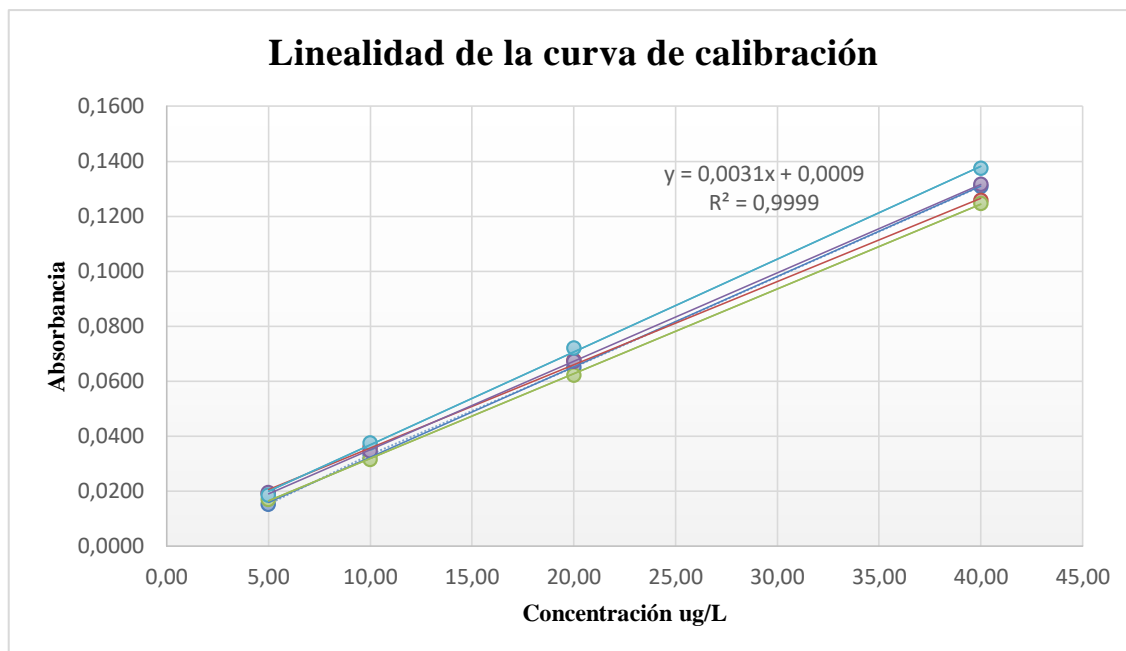


Ilustración 4-2: Absorbancia vs Concentración

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-17: Datos estadísticos de la función respuesta

Variable	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
Pendiente (m)	0,00329	0,00303	0,00309	0,00322	0,00338
Intercepto (b)	-0,00053	0,00523	0,00092	0,00284	0,00305
Sm	0,000032	0,000059	0,000022	0,000019	0,000061
Sb	0,0007359	0,00136	0,00050	0,00043	0,00140
r ²	0,99981	0,99924	0,99990	0,99993	0,99935
Sy,x	0,00086	0,00159	0,00058	0,00050	0,00163
Grados libertad (n-1)	2	2	2	2	2
t	4,30265	4,30265	4,30265	4,30265	4,30265
m Min	0,00315	0,00278	0,00299	0,00314	0,00312
m Max	0,00342	0,00329	0,00318	0,00330	0,00364
b Min	-0,00370	-0,00063	-0,00123	0,00100	-0,00299
b Max	0,00264	0,01109	0,00308	0,00469	0,00909

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Para los máximos y mínimos se realizó de las cinco curvas de la Tabla 4-18 correspondiente a los límites de las pendientes e interceptos máximos y mínimos para luego obtener el control de las curvas durante y después del proceso.

Tabla 4-18: Interceptos y pendientes máximos y mínimos

Límites	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Para control	
m Min	0,003150	0,002779	0,002995	0,003136	0,003115	0,00278	m Min
m Max	0,003424	0,003287	0,003182	0,003296	0,003639	0,00364	m Max
b Min	-0,003697	-0,000633	-0,001234	0,000998	-0,002989	-0,00370	b Min
b Max	0,002636	0,011094	0,003078	0,004689	0,009093	0,01109	b Max

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.3. Análisis de repetibilidad (*r*)

En la Tabla 4-19 y 4-20 se observa los resultados del promedio (\bar{X}), desviación estándar y el coeficiente de varianza (CV) de cada analista, se obtuvo porcentajes de CV menores al 6%, por lo que, se aceptan los valores, ya que son menores al 16% y cumplen con lo establecido en los objetivos de validación.

Tabla 4-19: Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra de agua, estándar y material de referencia. Analista 1

Nivel	1	2	3	4	5
Muestras	STD CNTRL 5,00 ug/l	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +30,00 ug/l	A.NYG +100,00 ug/l	MR-28 ug/l
Analista	RT	RT	RT	RT	RT
1	4,75	11,20	29,90	103,00	1110
2	5,38	10,40	29,60	103,50	1125
3	5,15	11,90	29,20	100,50	1140
4	5,38	10,90	29,80	106,00	1135
5	5,34	10,20	30,00	103,00	1145
6	5,27	11,30	29,90	99,00	1120
Promedio (\bar{x})	5,21	10,98	29,73	102,50	1129,17
Desvest (s)	0,24	0,62	0,29	2,45	13,20
CV%	4,65	5,68	0,99	2,39	1,17

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-20: Repetibilidad de los niveles de concentración de cada muestra de agua, estándar y material de referencia. Analista 2

Nivel	1	2	3	4	5
Muestras	STD CNTRL 5,00 ug/l	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +30,00 ug/l	A.NYG +100,00 ug/l	MR-28 ug/l
Analista	SA	SA	SA	SA	SA
1	5,12	10,40	29,10	105,50	1135,00
2	5,84	11,30	29,90	110,00	1130,00
3	5,17	10,30	30,70	104,00	1140,00
4	5,39	10,50	30,60	106,00	1145,00
5	5,15	10,60	29,20	99,50	1155,00
6	5,77	10,50	30,80	99,50	1135,00
Promedio (\bar{x})	5,41	10,60	30,05	104,08	1140,00
Desvest (s)	0,32	0,36	0,77	4,07	8,94
CV%	5,99	3,38	2,55	3,91	0,78

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.4. Análisis de veracidad

En la Tabla 4-21 se encuentran los resultados del porcentaje de recuperación de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia de los dos analistas con un total de 12 lecturas. Además, el promedio de la recuperación máximo es de 107,92% por lo que, estos valores son aceptados en la validación.

Tabla 4-21: Determinación de los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia

# de lecturas	Muestras Fortificadas	STD CNTRL 5,00 ug/l	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +30,00 ug/l	A.NYG +100,00 ug/l	MR-28 ug/l	
1	RT	Recuperación (%)	95,00	112,00	99,67	103,00	102,87
2			107,60	104,00	98,67	103,50	104,26
3			103,00	119,00	97,33	100,50	105,65
4			107,6	109,00	99,33	106,00	105,19
5			106,80	102,00	100,00	103,00	106,12
6			105,40	113,00	99,67	93,40	103,80

1	SA		102,40	104,00	97,00	105,50	105,19
2			116,80	113,00	99,67	110,00	104,73
3			103,4	103,00	102,33	104,00	105,65
4			107,80	105,00	102,00	106,00	106,12
5			103,00	106,00	97,33	99,50	101,32
6			115,40	105,00	102,67	99,50	105,19
(\bar{x})recuperación			106,18	107,92	99,64	102,82	104,67

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.5. Análisis de reproducibilidad (R)

Los resultados de la t calculada fueron aceptados en la validación porque cumplieron con la condición de $t - \text{calculada} < t - \text{teórica}$, obtenida a partir de los promedios (\bar{X}) y las varianzas de cada analista como se describe en la Tabla 4-22.

Tabla 4-22: Análisis estadístico prueba T student para los analistas 1 y 2

Niveles	1	2	3	4	5
Muestra	STD CNTRL 5,00 ug/l	ACH + 10,00 ug/l	A.NAT +30,00 ug/l	A.NYG +100,00 ug/l	MR-28 ug/l
\bar{x}	5,212	10,983	29,733	102,500	1129,167
\bar{x}	5,407	10,600	30,050	104,083	1140,000
VAR. 1	0,05870	0,38967	0,08667	6,00000	174,16667
VAR. 2	0,10483	0,12800	0,58700	16,54167	80,00000
T. TEORICA	2,22814	2,22814	2,22814	2,22814	2,22814
T.CALCULADA	1,18714	1,31162	0,94981	0,82099	1,67286
RESULTADO	PASA	PASA	PASA	PASA	PASA

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.6. Análisis de precisión

En la Tabla 4-23 se observa los resultados de la desviación estándar de repetibilidad (S_r), la precisión intermedia (SL^2), la desviación estándar de reproducibilidad (SR) y los límites de repetibilidad (L_r) y reproducibilidad (LR) de los seis niveles de concentración. Por otro lado, en la Tabla 4-24 se encuentran los resultados de la prueba Fisher tabulada y Fisher calculado, valores

que cumplen con la condición de $F_{calculado} < F_{tabulado}$ y son aceptados en la validación, ya que no hay diferencia significativa.

Tabla 4-23: Resultados de análisis de precisión de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia

MUESTRAS FORTIFICADAS	Sr	SL ²	SR	Lr	LR
STD CNTRL 5,00 ug/L	0,2859	0,0027	0,2906	15	15
ACH +10,00 ug/L	0,5088	0,0152	0,5235	13	14
A.NAT +30,00 ug/L	0,5804	-0,0030	0,5804	5	5
A.NYG +100 ug/L	3,3572	-0,3125	3,3572	9	9
MR-28 ug/L	11,2731	18,7500	12,0761	3	3

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

Tabla 4-24: Análisis de T Fisher de plomo

MUESTRAS FORTIFICADAS	DCMb/DCMw	DISTR.F.INV (0,05;k,p)	OBSERVACIÓN
	F calculado	F tabulado	
STD CNTRL 5,00 ug/L	1,39521	4,96460	No hay diferencia significativa
ACH +10,00 ug/L	1,70316	4,96460	No hay diferencia significativa
A.NAT +30,00 ug/L	0,89312	4,96460	No hay diferencia significativa
A.NYG +100 ug/L	0,66728	4,96460	No hay diferencia significativa
MR-28 ug/L	2,77049	4,96460	No hay diferencia significativa

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.7. Incertidumbre

4.2.7.1. Incertidumbre de función respuesta

Tabla 4-25: Datos para la determinación de la incertidumbre de la función respuesta por nivel

Variables	Función respuesta
m (pendiente)	0,00320
p	2
Sxy	0,0032809
n	20
Co	18,75
C ⁻	5,31 (va los datos de los niveles)
Sxx	3612,66752

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

$$u_{FR} = 0,00328/0,0032\sqrt{(1/2 + 1/20 + (18,75 - 5,31)^2/ 3612,6675)}$$

$$u_{FR} = 0,794$$

- Incertidumbre FR relativa:

$$u_{FR_{relativa}} = \frac{0,794}{18,75} = 0,04235$$

4.2.7.2. Incertidumbre para el material volumétrico $u_{(vf)}$

Cálculo de la incertidumbre de la calibración para un matraz aforado de 250 ml $u_{(cal)}$:

$$u_{cal} = \frac{0,0084}{2} = 0,0042$$

Cálculo de la incertidumbre de la diferencia de temperatura para el matraz aforado de 250 ml, $U_{(v)}$:

$$U_{(v)} = \frac{(10) * 250 * 0,0025}{\sqrt{3}} = 0,3608$$

Cálculo de la incertidumbre relativa del matraz aforado de 250 ml:

$$u_{relativa} = \frac{0,3608}{250} = 0,0014$$

Tabla 4-26: Tabla de las incertidumbres de los materiales volumétricos

MATERIAL	U(Vf)	u relativa	MATERIAL	u (Vf)	U relativa
Pipeta 0,2 ml	0,000220	0,0110	Matraz Aforado 50 ml	0,0721	0,0014
Pipeta 5 ml	0,000438	0,00009	Matraz Aforado 250 ml	0,3608	0,0014
Pipeta 10 ml	0,000600	0,00006			

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.7.3. Incertidumbre del estándar madre de plomo de 1000000 ug/L

$$U_{STD\ madre} = \frac{0,0024}{2} = 0,0012$$

- Incertidumbre del estándar madre de Pb:

$$u_{relativa} = \frac{0,0012}{1000} = 0,000012$$

4.2.7.4. *Incertidumbre del estándar de trabajo de 50 ug/L*

$$u_{STD} = \sqrt{(0,000012)^2 + (0,00009)^2 + (0,001443)^2}$$

$$u_{STD} = 0,0014$$

4.2.7.5. *Incertidumbre de calibración del equipo*

$$u_{equipo} = \sqrt{(0,087)^2 + (0,0020)^2 + (0,000289)^2}$$

$$u_{equipo} = 0,08884$$

4.2.7.6. *Incertidumbre de resolución*

$$u_{resol} = \frac{0,001}{\sqrt{12}} = 0,000289$$

4.2.7.7. *Incertidumbre combinada de la muestra de A.NYG + 100 ug/L*

$$u_{combinada} = 103,29 * \sqrt{(0,08884)^2 + (0,03250)^2 + (0,00006)^2}$$

$$u_{combinada} = 9,7710$$

4.2.7.8. *Incertidumbre expandida (%) de la muestra de A.NYG +100 ug/L*

$$u_{expa} = 9,7710 * 2$$

$$u_{expa} = 19,5419$$

$$u_{expa} = \frac{19,54}{100}$$

$$u_{expa} = 20\%$$

En la Tabla 4-27 se describen las incertidumbres de las muestras fortificadas, estándares y material de referencia del arsénico en el rango de 10 – 200 ug/l, dando como resultado

incertidumbres expandidas del 2 % hasta el 20% y se aceptan los porcentajes en la validación, ya que estos cumplen el objetivo propuesto de $\leq 30\%$.

Tabla 4-27: Incertidumbre de Plomo en muestras fortificadas, estándar y material de referencia

NIVEL DE CONCENTRACIÓN ug/l	STD CNTRL 5,00 ug/L	ACH +10,00 ug/L	A.NAT +30,00 ug/L	A.NYG +100 ug/l	MR-28 ug/L
	5	10	30	100	1079
U combinada	0,3677	0,7145	1,3789	9,7710	12,8455
U expandida %	15%	14%	9%	20%	2%

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.2.8. Declaración del método validado de plomo en muestras de agua

Para la declaración de la validación primero se cumplieron con los siguientes parámetros: repetibilidad con un criterio ≤ 16 , reproducibilidad cumpliendo con la condición $t - \text{calculada} < t - \text{crítico}$ en un intervalo de trabajo de 0,05 – 0,10 mg/l. Segundo, se obtuvo una exactitud que cumple con los límites calculados y una incertidumbre del 20%. Finalmente, todos los resultados fueron aceptados por el laboratorio y se declaró el método validado.

Tabla 4-28: Determinación de plomo por horno de grafito en aguas

DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN			
MÉTODO:	DETERMINACIÓN DE PLOMO POR HORNO DE GRAFITO EN AGUAS		
MATRIZ:	AGUA DE CONSUMO		
	AGUA NATURAL		
	AGUA NEGRAS Y GRISES		
LÍMITE DE DETECCIÓN			
LD=	0,005 mg/L		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN			
LC=	0,02 mg/L		
REPETIBILIDAD			
	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN
REPETICIONES	%SDR	≤ 16	ACEPTA

REPETIBILIDAD	CRITERIO F	F calculado < F critico	ACEPTA			
		RANGO mg/L	0,05 – 0,10			
REPRODUCIBILIDAD						
	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN			
REPETIBILIDAD	CRITERIO F	F calculado < F critico	ACEPTA			
	T STUDENT	t calculado < t critico	ACEPTA			
		RANGO mg/L	0,05 – 0,10			
EXACTITUD						
	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN			
EXACTITUD	Z – SCORE	$\geq -2 \leq Z \leq 2$	ACEPTABLE			
Z – SCORE			-0,4			
INCERTIDUMBRE						
	CRITERIO	VALOR	OBSERVACIÓN			
INCERTIDUMBRE	$\leq 30\%$ RANGO BAJO	20	ACEPTA			
INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO						
NIVELES (ug/l)	Sr	SR	Recup. Media	U (k=2)	U%	
5,00	0,286	0,291	106,18	0,74	15%	STD CNTRL 5,00 ug/L
10,00	0,509	0,523	107,92	1,43	14%	ACH + 10,00 ug/L
30,00	0,580	0,580	99,64	2,76	9%	A.NAT + 30,00 ug/L
100,00	3,357	3,357	102,82	19,54	20%	A.NYG +100 ug/L
1079	11,273	12,076	104,67	25,69	2%	MR-28 ug/L
Conclusión:						
El método ITE-AQLAB-96, Para la Determinación de Arsénico en aguas: consumo, naturales, Residuales						
Se declara Validado, Una vez cumplido los objetivos establecidos para el rango e incertidumbres respectivas						
	RANGO mg/L	U%				
	0,05 – 0,10	20%				

Realizado por: Andi S. y Toapanta R., 2023

4.3. Discusión de los resultados

4.3.1. Discusión sobre la validación de arsénico y plomo

- En la obtención de la linealidad los estándares utilizados en la curva de calibración fueron preparados automáticamente por el equipo, dando como resultado 0,998 de coeficiente de correlación (r^2) para As y 0,999 para Pb. Cevallos (2017, pp. 56-59), menciona que los estándares deben ser preparados por el equipo para evitar introducir errores de preparación por analistas.
- Correia et al. (2006, p. 9313) en su investigación mencionan que, para determinar la precisión se debe considerar como mínimo 4 niveles de concentración para el método de AAE, ya que de esta manera se puede establecer mayor precisión. Por ello, hemos tomado la misma metodología obteniendo valores aceptables para la validación de As y Pb.
- En la investigación de Hidalgo (2017, p. 26), para calcular la veracidad tomó en cuenta 6 muestras fortificadas para su validación y así obtener un mejor porcentaje de recuperación, ya que de este modo se puede cumplir con los rangos de aceptación que van del 85% al 115%. Por ello, en la presente investigación se aplicó el uso de 6 muestras fortificadas y se cumplió con el rango de aceptación en As y Pb.
- Sanmiguel y Guerrero (2017, pp. 58-73), en su investigación para el cálculo de la incertidumbre utilizaron ecuaciones estadísticas tales como: incertidumbre de la linealidad (u_{Fr}), incertidumbre de recuperación (u_{Rec}), incertidumbre del material volumétrico $u(vf)$, incertidumbre del estándar madre $u_{STD_{madr}}$ y la incertidumbre del equipo (u_{equipo}), misma que, fueron aplicadas en nuestra investigación obteniendo resultados de incertidumbre aceptables dentro del rango de aceptación $u < 30\%$.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Para establecer el diseño experimental primero se tomó como referencia los métodos nacionales e internacionales, así como también los instructivos internos del laboratorio AQLAB. Segundo, se establecieron los objetivos y parámetros a cumplir tales como: linealidad, precisión, veracidad, límite de detección, cuantificación e incertidumbre. Por último, se fijó las siguientes pruebas estadísticas: ANOVA, T. Fisher, T student y varianza, para cumplir con los criterios de validación.
- En el análisis de los datos estadísticos del As y Pb en los parámetros de linealidad cumplen con el coeficiente de correlación (R^2) < 0.995 , a su vez en la repetibilidad los resultados son menores al 16%, por lo que son aceptados. Mientras que, en la veracidad se obtuvo valores de 113,42% para As y 107,92% para Pb, que se encuentran debajo del límite de aceptación. Y en la reproducibilidad cumple con la condición de $t - \text{calculada} < t - \text{teórica}$, de modo que, el método AAE es declarado válido para la determinación de As y Pb en muestras de agua con incertidumbres menores al 30%.

5.2. Recomendaciones

- Tener en consideración que todos los materiales volumétricos y auxiliares estén limpios, ya que esto interfiere en las lecturas de las muestras y estándares.
- Todo el material volumétrico que vaya a ser utilizado en el proceso de validación, debe estar debidamente certificado y calibrado.
- Usar material de referencia y estándares certificados.
- Es de gran importancia ajustar a las condiciones óptimas al equipo en temperatura y tiempo de rampa según el metal que se vaya a analizar.

BIBLIOGRAFÍA

AGILENT, T.A. *Lámparas de cátodo hueco* [en línea]. Santa Clara-Estados Unidos: Agilent Technologies, Inc., 2018. [Consulta: 05 febrero 2023]. Disponible en: https://www.agilent.com/cs/library/competitiveanalysis/public/5991-5023ES_Hollow_Cathode_Lamps_WhitePaper.pdf.

AGUIRRE TUBÓN, Ana Belén. Validación del método para determinación de detergentes en muestras de agua por espectrofotometría UV-Vis en el laboratorio AQLAB de la ciudad del Coca [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Ambato, Ecuador. 2022. pp. 7-8. [Consulta: 2023-02-10]. Disponible en: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34959/1/BQ_300.pdf.

ALARCÓN QUINAPANTA, Cristina Fernanda. Validación del Método analítico para la determinación de Mercurio en muestras de agua natural, residual y de consumo por medio de espectroscopía de absorción atómica con técnica de vapor frío [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Ambato, Ecuador. 2011. pp. 35-56. [Consulta: 2022-12-15]. Disponible en: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1916/1/BQ_27.pdf.

AQLAB. *Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental* [blog]. Francisco de Orellana, Ecuador, 2020. [Consulta: 18 enero 2023]. Disponible en: <https://www.AQLABec.com/index.html>.

AQUINO RUIZ, Elena Liceth. Diseño de una propuesta de migración a la Norma NTE INENISO/IEC 17025:2018 en el Laboratorio de Calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana – Cayambe [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Andina Simón Bolívar Sede Ecuador, Quito, Ecuador. 2020. pp. 38-40. [Consulta: 2023-02-08]. Disponible en: <https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/7452/1/T3249-MGCI-Aquino-Diseño.pdf>.

BAIRD, Rodger; et al. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23^a ed. Washington-Estados Unidos: American Public Health Association, 2017. ISBN 087553287X, pp. 1-325.

BEGUERÍA, Sofía. *El agua. Sus características y propiedades* [blog]. CEUPE, 2019. [Consulta: 03 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.ceupe.com/blog/el-agua-sus-caracteristicas-y-propiedades.html>.

BELAIRE CERVANTES, Alejandra Catalina, & JACOBS FANTASSI, Benjamín. Tratamiento de aguas contaminadas con plomo (II) mediante una técnica en continuo de bioadsorción en columna de corcho (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España. 2017. pp. 10.

CABRERA, C.; et al. “Determinación de hierro, cobre, zinc y manganeso en bebidas alcohólicas por espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica”. *Ars Pharmaceutica* [en línea], 1995, (España) 36(1), pp. 81-91. [Consulta: 12 septiembre 2022]. ISSN 2340-9894. Disponible en: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/download/24674/23116>.

CALERO BLANDÓN, Glenda Michel, & MORALES FERNÁNDEZ, Kendys Scarleth. Validación y Estimación de la Incertidumbre de una Metodología Analítica para Determinar la Fracción Media de Hidrocarburos Totales de Petróleo en Agua, en el Centro para la Investigación en Recursos Acuáticos de Nicaragua, Septiembre 2016-Noviembre 2017 (Trabajo de titulación) (Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Departamento de Química. Managua, Nicaragua. 2018. pp. 22-27.

CAPELO AGUIRRE, Emily Gabriela. Validación del método analítico por espectrofotometría de absorción atómica para la determinación de Ba, Co, y V en suelos [En línea] (Trabajo de titulación). (Química) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química de Alimentos. Quito, Ecuador. 2013. pp. 18. [Consulta: 2022-09-13]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4375/1/T-UCE-0008-15.pdf>.

CARRILLO PULLUTASIG, Carolina Michelle. Validación de métodos de ensayo para cianuros, fenoles, sólidos sedimentables, sólidos totales, manganeso, zinc y aluminio en agua y suelo [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Central de Ecuador, Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleos y Ambiental, Carrera de Ingeniería Ambiental. Quito, Ecuador. 2021. pp. 23. [Consulta: 2022-09-14]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23460/1/UCE-FIGEMPA-CARRILLO CAROLINA.pdf>.

CEVALLOS RAZA, Mónica Gisell. Desarrollo e Implementación de un método para la determinación de plomo por absorción atómica en horno de grafito en agua natural y potable en el L3C-EPMAPS [En línea] (Trabajo de titulación). (Química) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química. Quito, Ecuador. 2017. pp. 56-59. [Consulta: 2023-05-25]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14909/1/T-UCE-0008-Q013-2018.pdf>.

CORREIA, L.; et al. “Validation of an electrothermal atomization atomic absorption spectrometry method for the determination of aluminum”. *Agricultural and Food Chemistry* [en línea], 2006, (Portugal) 54(25), pp. 9312-9316. [Consulta: 29 mayo 2023]. ISSN 1520-5118. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0620564>.

CORZO EXPÓSITO, I.; & VELÁSQUEZ HERNÁNDEZ, M. “El plomo y sus efectos en la salud”. *Acta Médica del Centro* [en línea], 2014, (Cuba) 8(3), pp. 141-148. [Consulta: 15 diciembre 2022]. ISSN 2709-7927. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2014/mec143x.pdf>.

CUJIA ALMEIDA, Marian Moreinys. Validación de métodos analíticos para la determinación de nitratos, nitritos, ortofosfatos y nitrógeno amoniacal en aguas, en el laboratorio de SIAMA LTDA. (Trabajo de titulación). (Químico) Universidad Santo Tomás, División de Ingenierías y Arquitectura, Facultad de Química Ambiental. Bucaramanga, Colombia. 2016. pp. 30.

CUSI LIMA, Neida Lizeth. Validación de una Técnica Analítica por espectrofotometría de absorción UV/Visible entre 400-780 nm para la determinación de Hierro (II) en vinos Blancos (Trabajo de titulación). (Tecnología) Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Tecnología, Carrera de Química Industrial. La Paz, Bolivia. 2014. pp. 13.

ELLISON, S.; & WILLIAMS, A. (ed.). *Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas* [en línea]. Madrid-España: Eurolab - Eurachem/Citac, 2012. [Consulta: 10 febrero 2023]. Disponible en: https://www.citac.cc/QUAM2012_P1_ES.pdf.

GUTIÉRREZ ESPINOZA, Michelle Genevieve. Validación y Determinación de Plomo, Arsénico y Mercurio en especies marinas por Espectrometría de Absorción Atómica (Trabajo de titulación). (Licenciatura) Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Escuela de Química. Ciudad Universitaria, El Salvador. 2015. pp. 21-22.

FERNÁNDEZ CIRELLI, A. “El agua: un recurso esencial”. *Química Viva* [en línea], 2012, (Argentina) 11(81), pp. 147-170. [Consulta: 23 septiembre 2022]. ISSN 1666-7948. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>.

GÓMEZ FERNÁNDEZ, Sonsoles. Relación de la contaminación del suelo con la salud ambiental: Toxicidad del Arsénico (Trabajo de titulación). (Farmacéutica) Universidad Complutense, Facultad de Farmacia. Madrid, España. 2020. pp. 12.

HARVEY, D. *Química Analítica Moderna*. Madrid-España: McGraw-Hill/Interamericana de España, 2002. ISBN: 84-481-3635-7, pp. 56-178.

HERNÁNDEZ REVILLA, Marta. Validación de métodos de ensayo y estimación de la incertidumbre de medida conforme a la norma ISO/IEC 17025 [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctoral) Universidad de Valladolid, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica. Valladolid, España. 2013. pp. 25. [Consulta: 2022-09-12]. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/4284/1/TESIS457-140212.pdf>.

HIDALGO PORRAS, J. “Cuantificación de V, Ni, Zn y Fe en asfalto por espectroscopia de absorción atómica”. *Métodos y Materiales por LanammeUCR* [en línea], 2017, (Costa Rica) 7(1), pp. 20-28. [Consulta: 02 junio 2023]. ISSN 2215-4558. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/materiales/article/view/30322/32680>.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos* [en línea]. Santiago de Chile-Chile: Instituto de Salud Pública, 2010. [Consulta: 09 febrero 2023]. Disponible en: [https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia Técnica 1 validación de Métodos y determinación de la incertidumbre de la medición_1.pdf](https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia_Técnica_1_validación_de_Métodos_y_determinación_de_la_incertidumbre_de_la_medición_1.pdf).

ISO/IEC 17025:2005/COR 1:2006. *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración — Corrección técnica 1*.

JÁCOME YÁNEZ, Juan Andrés. Validación de Métodos analíticos para la determinación de la demanda química de oxígeno (rango bajo, rango medio, rango alto), sólidos totales disueltos y sólidos totales suspendidos en matrices de agua clara y residual en el Centro de Investigaciones y Control Ambiental “CICAM” [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato, Ecuador. 2014. pp.

20. [Consulta: 2023-01-13]. Disponible en: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8461/1/BQ_62.pdf.

LITTER, M.; et al. *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de Arsénico en aguas y suelos* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: CYTED. 2009. [Consulta: 23 enero 2023]. Disponible en: https://paginas.fe.up.pt/~cigar/html/documents/Monografia2_000.pdf.

LÓPEZ PÉREZ, E.; & BARRANTES MURILLO, C. “Evaluación de tres métodos para la recuperación de metales pesados en fertilizantes”. *UNED Research Journal* [en línea], 2017, (Costa Rica) 9(2), pp. 257-265. [Consulta: 12 septiembre 2022]. ISSN 1659-4266. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/cinn/v9n2/1659-4266-cinn-9-02-00257.pdf>.

MADUEÑO VENTURA, Frescia Maria. Determinación de metales pesados (plomo y cadmio) en lechuga (*Lactuca sativa*) en mercados del Cono Norte, Centro y Cono Sur de Lima Metropolitana (Trabajo de titulación). (Toxicología) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, E.A.P. de Toxicología. Lima, Perú. 2017. pp. 39.

MAGNUSS, B.; & ÖRNEMARK, U. (ed.) *La adecuación al uso de los métodos analíticos - Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados* [en línea]. Madrid-España: Eurolab, 2016. [Consulta: 08 febrero 2023]. Disponible en: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf.

MARATTA MARTÍNEZ, Sergio Ariel. Micropreconcentración y especiación de As y Sb empleando una aguja cargada con nanotubos de carbono en un sistema de microextracción en fase sólida (Trabajo de titulación). (Doctoral) Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, Departamento de Química - Área de Química Analítica. San Luis, Argentina. 2019. pp. 16-18.

MAROTO, A.; et al. “Incertidumbre y Precisión”. *Técnicas de laboratorio* [en línea], 2019, (España) 23(266), pp. 834-837. [Consulta: 13 septiembre 2022]. ISSN 0371-5728. Disponible en: <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/incert.pdf>.

MORA LÓPEZ, Héctor Jaime. Migración de plomo a través de facies hidroquímicas del agua subterránea (Trabajo de titulación). (Doctoral) Universidad Politécnica de Madrid, Departamento de Ingeniería Civil: Hidráulica y Energética, Escuela Técnica de Caminos, Canales y Puertos. Madrid, España. 2002. pp. 18-26.

MOROCHO PINTADO, Stephanie Elizabeth. Validación del Método Generador de Hidruros por espectrometría de absorción atómica para la determinación de Selenio en Aguas naturales, de consumo y residuales [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Carrera de Ingeniería en Biotecnología Ambiental. Riobamba, Ecuador. 2020. pp. 7-29. [Consulta: 2022-09-13]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/14490/1/236T0507.pdf>.

NTE INEN 1108. *Norma Técnica Ecuatoriana. Agua potable. Requisitos.*

OJEDA ARMIJOS, Segundo Javier. Validación del método de cuantificación simultánea de conservantes y cafeína presentes en bebidas azucaradas por espectroscopía ultravioleta en la provincia de Tungurahua [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Carrera de Ingeniería Bioquímica. Ambato, Ecuador. 2022. pp. 2. [Consulta: 2022-09-13]. Disponible en: http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34976/1/BQ_317.pdf.

PABÓN, S.; et al. “Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción”. *Entre Ciencia e Ingeniería* [en línea], 2020, (Colombia) 14(27), pp. 9-18. [Consulta: 14 septiembre 2022]. ISSN 1909-8367. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1909-83672020000100009&script=sci_arttext.

PÉREZ LÓPEZ, E.; & ALVARADO RODRÍGUEZ, D. “Cuantificación por absorción atómica de Cu, Fe y Zn en alcohol destilado y agua”. *UNED Research Journal* [en línea], 2018, (Costa Rica) 10(2), pp. 387-396. [Consulta: 13 septiembre 2022]. ISSN 1659-441X. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/cinn/v10n2/1659-4266-cinn-10-02-387.pdf>.

PRIETO, J.; et al. “Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua”. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea], 2009, (México) 10(1), pp. 29-44. [Consulta: 13 diciembre 2022]. ISSN 1870-0462. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93911243003.pdf>.

REMACHE TIXE, Ana María. Validación de Métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería Química, Carrera de

Ingeniería Química. Quito, Ecuador. 2013. pp. 3-10. [Consulta: 2022-09-23]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1859/1/T-UCE-0017-39.pdf>.

REYES, Y.; et al. “Contaminación por Metales Pesados: Implicaciones en Salud, Ambiente y Seguridad Alimentaria”. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo* [en línea], 2016, (Colombia) 16, pp. 66-77. [Consulta: 03 diciembre 2022]. ISSN 2422-4324. Disponible en: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ingenieria_sogamoso/article/view/5447/4518.

ROBLEDO VÉLEZ, Laura Melissa, & CASTAÑO PUERTA, Alfredo. Validación de la metodología para el análisis de los metales cadmio y plomo en agua tratada por absorción atómica con horno de grafito en el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira (Trabajo de titulación). (Tecnología) Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Escuela de Química. Pereira, Colombia. 2012. pp. 39.

RODRÍGUEZ, C. “Intoxicación por arsénico”. *Medicina Legal de Costa Rica* [en línea], 2021, (Costa Rica) 38(2), pp. 4-16. [Consulta: 10 diciembre 2022]. ISSN 1409-0015. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v38n2/2215-5287-mlcr-38-02-4.pdf>.

SAE. *Guía validación y/o verificación de métodos de ensayos en laboratorios* [blog]. Quito-Ecuador: Gobierno de la República del Ecuador, 2022. [Consulta: 08 febrero 2023]. Disponible en: <https://www.acreditacion.gob.ec/plan-estrategico-institucional-sae/>.

SAE. *Servicio de acreditación con reconocimiento internacional* [blog]. Quito-Ecuador: Gobierno de la República del Ecuador, 2018. [Consulta: 12 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.acreditacion.gob.ec/servicios-de-acreditacion/>.

SANMIGUEL TORRES, Jessica Ximena, & GUERRERO CARRERA, Santiago Ricardo. Validación del método para determinar Pb, Cd, Ni por espectrometría de absorción atómica de llama en agua y suelo [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba, Ecuador. 2017. pp. 58-73. [Consulta: 2023-01-18]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/7019/1/236T0275.pdf>.

SEPÚLVEDA, S. “El arsénico en la contaminación de aguas subterráneas”. *Ciencia-UANL* [en línea], 2019, (México) 12(3), pp. 239-244. [Consulta: 13 diciembre 2022]. ISSN 1405-9177. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/402/40211814002.pdf>.

SKOOG, Douglas; et al. *Fundamentos de Química Analítica*. 9ª ed. México D.F.-México: Cengage Learning Editores S.A. de C.V., 2015. ISBN 978-6075193779, pp. 59-189.

SOLER, F.; et al. “Riesgos de los residuos de minería: Intoxicación intencional en vacuno por arsénico inorgánico”. *Revista de Toxicología* [en línea], 2012, (España) 29(1), pp. 36-39. [Consulta: 11 diciembre 2022]. ISSN 02127113. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91925068008>.

TELLO ATIENCIA, María. Evaluación del riesgo toxicológico de plomo y cadmio en suelos del entorno del parque industrial de la ciudad de Cuenca [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Estatal de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Maestría en Toxicología Industrial y Ambiental. Cuenca, Ecuador. 2015. pp. 41. [Consulta: 2023-01-07]. Disponible en: [https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/22973/1/TESIS TOXICOLOGÍA 12.pdf](https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/22973/1/TESIS_TOXICOLOGÍA_12.pdf).

TULSMA. *Anexo 1 del libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de Calidad Ambiental y de descarga de Efluentes al recurso agua.*

VACA CALAHORRANO, Rodrigo Javier. Validación del método analítico para la determinación de arsénico, mercurio y selenio por espectroscopía de absorción atómica con un sistema de generación de hidruros, en lixiviados con fines de acreditación en el laboratorio de Química Ambiental del OSP [En línea] (Trabajo de titulación). (Química) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química de Alimentos. 2013. pp. 20. [Consulta: 2022-09-13]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1867/1/T-UCE-0008-11.pdf>.

VACACELA SANUNGA, Jessica Yolanda. Validación de un método para determinar aceites y grasas en aguas por espectroscopía infrarroja [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Carrera de Química. Riobamba, Ecuador. 2021. pp. 40. [Consulta: 2023-02-09]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/15443/1/156T0041.pdf>.

VALDIVIEZO AVENDAÑO, Juliza Catherine. Validación del método de análisis de cadmio y plomo mediante voltamperometría de redisolución anódica en agua potable del cantón Machala [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Machala, Unidad

Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, Carrera de Ingeniería Química. Machala, Ecuador. 2016. pp. 17. [Consulta: 2022-12-21]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7750/1/valdiviezo.pdf>.

VALDIVIEZO, J.; et al. “Validación de método electroanalítico para determinación *in-situ* de cadmio y plomo en agua potable”. *Cumbres* [en línea], 2017, (Ecuador) 3(1), pp. 47-53. [Consulta: 05 enero 2023]. ISSN 1390-9541. Disponible en: <https://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/82/81>.

VÁSCONEZ NOVOA, Mayra Verónica. Validación del Método de Espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de Cobre y Vanadio en aguas limpias y residuales [En línea] (Trabajo de titulación). (Químico) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química de Alimentos. Quito, Ecuador. 2012. pp. 31-45. [Consulta: 2023-02-03]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1198/1/T-UCE-0008-05.pdf>.

VÁSQUEZ RODRÍGUEZ, Jessandra Elizabeth. Análisis de la perspectiva de la acreditación conforme la norma ISO/IEC 17025 para el cumplimiento de los reglamentos técnicos ecuatorianos de alimentos [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Andina Simón Bolívar Sede Ecuador, Área de Gestión, Maestría en Gerencia de la Calidad e Innovación. Quito, Ecuador. 2020. pp. 22. [Consulta: 2022-09-12]. Disponible en: <https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/7931/1/T3415-MGCI-Vásquez-Analisis.pdf>.

VERGARA, I. *Formatoregistro documento consolidado PAT colectivo* [en línea]. Cartagena-Colombia: Corporación Universitaria Rafael Núñez, 2017. [Consulta: 23 septiembre 2022]. Disponible en: http://site.curn.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/287/1/Bactariologia_2-2019.pdf.

ZAPATA YAMUNAQUE, Fausto Segundo. Propuesta de diseño de un sistema de gestión basado en la norma ISO/IEC 17025:2017 para mejorar la gestión del laboratorio de control de calidad en DSM Marine Lipids, Piura, 2021 (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería Industrial. Piura, Perú. 2021. pp. 9-17.

ZUMBA OCHOA, Jeniffer Alexandra. 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] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería Química, Carrera de Ingeniería Química. Quito, Ecuador. 2018. pp. 4-16. [Consulta: 2022-12-03]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16224/1/T-UCE-0017-IQU-007.pdf>.

Cristian Tenelanda.S
24-07-2023.



ANEXOS

ANEXO A: PG-AQLAB-07: VALIDACIÓN DE MÉTODOS

1. OBJETO

El objeto de este procedimiento es describir el proceso seguido por AQLAB para la validación de los métodos de los Instructivos Técnicos de Ensayos Físico Químicos y Microbiológicos.

2. ALCANCE

Este procedimiento es de aplicación a todos los Instructivos Técnicos de Ensayo desarrollados por el laboratorio y a los basados en métodos normalizados, desde la propuesta de la validación hasta la declaración del método validado.

3. REFERENCIAS

NORMA NTE-INEN ISO/IEC 17025:2006: Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

PG-AQLAB-01 Procedimiento para la elaboración de documentos.

OAE CR EA01 R00 Criterios específicos para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos.

MC-AQLAB-18. Métodos de Ensayo y Validación de Métodos.

4. GENERAL

4.1. Definiciones

4.1.1. Validación de un método de ensayo

La validación de un método de ensayo establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características técnicas de dicho método cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de los resultados analíticos.

5. DESCRIPCIÓN

5.1. Necesidad analítica del método

Una vez establecida la necesidad de tener a disposición del laboratorio, métodos de ensayo que satisfaga una determinada demanda, deberá procederse a la elección del método más adecuado en base a procedimientos normalizados.

Aún en el caso de que el método elegido esté publicado como norma internacional, nacional o regional, es conveniente complementar la norma con información adicional para asegurar su correcta aplicación y proceder a la elaboración de un instructivo interno.

5.2. Puesta a punto

La “Puesta a punto” de un método es una actividad previa a la validación que debe realizar el laboratorio para llegar a tener un conocimiento general del mismo. Con esta actividad se consigue que el método “funcione” produciendo unas respuestas razonablemente aceptables y consistentes.

Para ello, es necesario “afinar” el proceso del método en todos sus apartados, prestando una especial consideración a los diversos parámetros instrumentales de aplicación (longitudes de onda, paso de celda, velocidad de aporte de muestra, temperaturas de horno y otras variables del método).

Puede ser necesario volver a esta etapa si los resultados de la validación no son aceptables (no se cumplen los objetivos predefinidos).

5.3. Elección de parámetros de validación. Fijación de objetivos

Teniendo en cuenta lo que dicen las guías de aplicación y la experiencia obtenida en la puesta a punto, se eligen los parámetros de validación.

Los requisitos que deben cumplir los métodos (de sus parámetros de validación) deben ser especificados previamente a la validación. Estos requisitos establecidos “a priori” son los objetivos de validación.

En algunos casos, la fijación de estos objetivos está establecida por la propia demanda que ha originado la necesidad analítica (la demanda está reglamentada y tiene establecido el método a utilizar y por ejemplo el límite de cuantificación máximo, y las exactitud y precisión mínimas aceptables).

En otros casos no se dispone de requisitos “de obligado cumplimiento” y nos resulta más complicado establecer objetivos de validación. En estos casos, la fuente de información debe ser, además de las diferentes referencias bibliográficas, la propia experiencia adquirida en la puesta a punto del método o nuestra experiencia con métodos similares o la experiencia del “mercado”.

5.4. Diseño experimental y estadístico

Se establece el diseño experimental que se va a seguir en la validación, así como el tratamiento estadístico que se va a realizar a los datos experimentales que obtengamos.

5.5. Realización de Ensayos. Tratamiento estadístico de datos obtenidos

El procesamiento de todas las muestras y estándares previstos cada día, de acuerdo con el diseño experimental, se realizará en condiciones de repetibilidad y siguiendo el instructivo completo.

Se obtendrán los distintos parámetros de validación, siguiendo el diseño estadístico (5.4). Ver apartado 6 y 7.

Los datos, debidamente organizados y estudiados nos permiten realizar el tratamiento estadístico. Si se cumplen los objetivos previamente definidos se procede a declarar el método validado, caso contrario se analizan los incumplimientos y se buscan las posibles causas.

Si se encontraron las posibles razones corregir y volver a realizar el diseño experimental, y estadístico y la realización de los ensayos diseñados. Caso contrario cambiar los objetivos.

5.6. Declaración de método validado

Si los objetivos predefinidos se han cumplido, podemos proceder a declarar el método validado, en este se recogen las características del método (parámetros de validación), y se guarda todos los registros que justifican el proceso seguido de acuerdo al SGC.

Para declarar el método validado de un determinado ensayo se considera realizar y/o registrar la siguiente información, si aplica:

- Origen de la necesidad analítica.
- Borrador del método con todos sus documentos anexos y relacionados.
- Parámetros de validación seleccionada y objetivos preestablecidos.
- Diseño experimental
- Registros de ensayos realizados.
- Tratamiento de los datos obtenidos.
- Declaración de método validado.

6. DEFINICIONES

6.1. Coeficiente de Variación (C.V.) (en %):

Magnitud que caracteriza la dispersión de una serie de n mediciones de un mismo mesurando, expresada como medida relativa a la media aritmética de los n resultados considerados. Su valor se

calcula como: $C.V.(%) = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 = \%R.S.D$

Donde S es la desviación típica de la serie de mediciones y \bar{X} la media aritmética.

6.2. Exactitud de Medida

Grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.

6.3. Función respuesta / linealidad

Es la relación entre la concentración de analito y la respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva de calibración. Cuando no sea posible la linealidad para un método, se deberá encontrar un algoritmo adecuado.

6.4. Interferencia

Modificación de la función de respuesta del método producida por la presencia de otras sustancias distintas al analito problema.

6.5. Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo de un método es el intervalo de concentración en el que puede obtenerse una exactitud y precisión adecuadas al objetivo del método.

6.6. Límite de cuantificación del método

Concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Se establece utilizando una muestra o material de referencia apropiado. Normalmente corresponde al punto inferior de la curva de calibración (excluido el blanco). No debe determinarse por extrapolación. Cuando lo anterior no es posible se debe determinar con las desviaciones estándar del blanco.

$$LC = 10 \cdot s$$

La otra opción es el nivel de concentración más bajo con una incertidumbre $\leq 30\%$ del valor en ese nivel.

6.7. Límite de detección del método

Mínima concentración de analito que se puede detectar siguiendo el proceso completo del método con un nivel aceptable de confianza de que dicha concentración es mayor que el blanco, puede determinarse con la fórmula.

$$LD = 3 \cdot s$$

6.8. Material de Referencia (MR.)

Material o sustancia en el que una o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y se encuentran suficientemente bien definidos para permitir emplearlo en la calibración de un instrumento, en la evaluación de un método de medida o en la atribución de valores a un material.

6.9. Material de Referencia Certificado (MRC.)

Material de Referencia, acompañado de un Certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresan los valores de la propiedad, y para la cual, cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con la indicación del nivel de confianza.

6.10. Método normalizado

Es todo aquel método recogido en una norma, reglamento o publicación de un organismo sectorial (EPA, APHA, INEN, DIN, etc.).

6.11. Muestra

(También llamada muestra aleatoria o simplemente muestra) es un subconjunto de casos o individuos de una población estadística.

6.12. Exactitud

Es la cercanía entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado. Se puede determinar la exactitud de un método mediante estudios de Inter comparación y recuperabilidad.

6.13. Recuperabilidad

Parámetro que evalúa la exactitud del método, es la capacidad del método de obtener el analito en la concentración más cercana a la real.

$$\% \text{ Recuperabilidad} = \frac{\text{Valor obtenido} \times 100}{\text{Valor teórico}}$$

6.14. Repetibilidad

Precisión bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, con el mismo operador, utilizando el mismo instrumento de medida y durante un corto intervalo de tiempo.

6.15. Reproducibilidad

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

6.16. Límite de Repetibilidad

Es la mínima diferencia que debe existir entre análisis duplicados de una muestra determinados bajo condiciones de repetibilidad con una probabilidad del 95,45%.

$$Lr = \sqrt{2}xtx\sigma$$

6.17. Límite de reproducibilidad

El valor menor o igual a aquél de la diferencia absoluta entre dos resultados de pruebas individuales, obtenidos bajo condiciones de reproducibilidad, el cual se espera con una probabilidad de 95%.

$$LR = \sqrt{2}xtx\sigma$$

6.18. Selectividad / especificidad

Grado por el cual un método puede determinar un analito particular dentro de una mezcla compleja, sin ser interferido por otros componentes de la mezcla.

6.19. Sensibilidad

Es la diferencia en la concentración de analito que corresponde a la diferencia más pequeña en la respuesta del método que puede detectarse. Se calcula a partir de la pendiente de la curva de calibración o, experimentalmente, utilizando muestras que contengan distintas concentraciones del analito.

6.20. Sesgo

Diferencia entre la esperanza matemática de los resultados de una medición y el valor de referencia aceptado

NOTA: El sesgo es un error sistemático total en contraposición al error aleatorio. Puede haber uno o varios componentes de errores sistemáticos que contribuyen al sesgo. Una diferencia sistemática importante en relación al valor de referencia aceptado se refleje en un mayor valor del sesgo.

6.21. Z Score

Es un parámetro de desempeño que permite la interpretación y comparación de los resultados de los participantes.

$$Z_{score} = \frac{|(x_i - \text{Valor Asignado})|}{s}$$

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.

7. CRITERIOS PARA PROCEDER CON LA VALIDACIÓN

7.1. Selección de los parámetros de validación

Para demostrar que un método es adecuado para la aplicación que se pretende, es preciso determinar mediante estudios de laboratorio sus características de funcionamiento (parámetros), que se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo:

Parámetros	Objetivo Establecido
Selectividad / Especificidad	Definido por bibliografía normativa Nacional o internacional
Linealidad/Función respuesta	Elaborar curva de calibración, y regresión lineal del grado de ajuste con un $r^2 \geq 0.995$.
Límite de detección	3s del blanco, o establecido por métodos bibliográficos.
Límite de cuantificación	10s del blanco, o determinado por la concentración más baja determinada experimentalmente, que cumpla con la Incertidumbre $\leq 30\%$ de dicho valor del nivel.
Precisión (repetibilidad y/o reproducibilidad)	Límite de Repetibilidad/ Reproducibilidad * % en todos los niveles en estudio. F calculado \leq F Tabulado t student calculado \leq t student Tabulado (veracidad)
Exactitud	Recuperación de al menos del 85 al 115% en todos los niveles. (material de referencia Z score $>-2 < 2$)
Incertidumbre	$U \leq 30\%$ del rango más bajo, asumiendo (k=2)
Intervalo de trabajo	Definido por el tratamiento estadístico, y por los niveles de las muestras y estándares utilizados.

7.2. Diseño experimental y estadístico

A continuación, se da a conocer las indicaciones que nos permitirán calcular los mencionados parámetros.

Es necesario resaltar que a la hora de determinar los parámetros que se hayan seleccionado, estos no se obtendrán, normalmente, de un modo secuencial, sino que se obtendrán como resultado final de un diseño experimental adecuado, que contemplará los objetivos que se persigue conseguir, y en el que algunos de los elementos que se emplean pueden servir, simultáneamente, para la determinación de más de un parámetro.

7.3. Diseño Experimental

A continuación, se presenta, a modo general un esquema de diseño experimental y una serie de criterios elementales para la determinación de los diversos parámetros de validación.

Límite de detección	3 blancos en condiciones de Repetibilidad y reproducibilidad
Límite de cuantificación	Nivel más bajo determinado experimentalmente o 10*s blancos o la Concentración más baja determinada experimentalmente que cumpla con la Incertidumbre $\leq 30\%$
Linealidad	En métodos instrumentales se procederá a realizar al menos 5 curvas de calibración en condiciones de reproducibilidad Las curvas se aceptan si $r^2 \geq 0.995$
Repetibilidad	Muestras mínimo cuatro niveles de concentración, determinadas bibliográficamente o según experiencia técnica: <ul style="list-style-type: none"> • Bajo • Medio • Medio • Alto (mínimo 5 repeticiones por muestra (estándar ó MRC ó matriz) en condiciones de repetibilidad) Nota: Es recomendable que las muestras seleccionadas deben usarse durante toda la validación, las mismas que deben ser rotuladas con sus datos como fechas de recolección, procedencia.
Reproducibilidad	Muestras mínimo cuatro niveles de concentración, determinadas bibliográficamente, por Normativa o según experiencia técnica: <ul style="list-style-type: none"> • Bajo • Medio • Medio • Alto Nota: Es recomendable que las muestras seleccionadas deben usarse durante toda la validación, las mismas que deben ser rotuladas con sus datos como fechas de recolección, procedencia.
Exactitud	Determinación de la exactitud de materiales de referencia. Por participación en interlaboratorios o Proficiency Testing
Tratamiento estadístico	FUNCION RESPUESTA ANOVA T STUDENT CRITERIO F (cuando este no cumpla aplica Cochran) % RECUPERABILIDAD Z SCORE
Incertidumbre	Estimación de la incertidumbre

ANEXO B: ITU-AQLAB-10: INSTRUCTIVO TÉCNICO DE USO DEL HORNO DE GRAFITO

1. OBJETO

El presente describe la sistemática para el correcto uso del Equipo Espectrómetro de Absorción Atómica electrotérmica EFQ-086, para su puesta en marcha y su optimización.

2. ALCANCE

Este Instructivo es aplicable para el Espectrómetro de Absorción Atómica EFQ-086, PERKIN ELMER AANALYST 800 por el método de espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica utilizando un gas inerte (Argón). Así también establecer el mecanismo de operación en el laboratorio para realizar un manejo apropiado en el momento de uso del equipo y evitar daños de este o resultados erróneos de las mediciones de los diferentes análisis.

3. REFERENCIAS

Para la elaboración de este Instructivo de uso se han utilizado como referencia los siguientes documentos:

- **PG-AQLAB-01. Procedimiento para la Elaboración de Documentos.**
- **MANUAL DE SERVICIO AAnalyst 600/700/800.**

4. GENERAL

El espectrómetro de absorción atómica AAnalyst 800 es un instrumento multi elemento secuencial diseñado para usarse con la llama, el horno de grafito calentado (HGA), el horno de grafito calentado transversalmente (THGA) o la inyección de flujo de hidruro - técnicas de atomización con vapor frío.

El HGA es un horno de grafito calentado longitudinalmente para atomización electrotérmica en espectrometría de absorción atómica. El horno se calienta eléctricamente. El voltaje se aplica a lo largo del tubo de grafito, paralelo al haz de radiación. El horno de grafito está montado en un carro que puede entrar y salir del compartimiento del atomizador mediante un comando de software. De esta manera, puede cambiar fácilmente entre la atomización electrotérmica y la atomización por llama en unos pocos segundos.

5. DESCRIPCION

5.1. Controles previos.

5.1.1. Ubicación y transporte del equipo

El equipo AAnalyst 800 está ubicado en el área de Instrumental II, tomando en cuenta los siguientes criterios:

- Un lugar con una superficie plana
- Libre de vibraciones
- Libre de polvo, humo, y vapores corrosivos

- Fuera de la luz solar directa
- Lejos de radiadores y calefactores
- Contar con un sistema de ventilación adecuado de humos
- Temperatura ambiente entre 15°C y 35°C
- Humedad relativa entre 35 y 85% sin condensación
- Toma corriente de 230V

5.1.2. Componentes del equipo de absorción atómica por electrometría

- Lámparas de cátodo hueco, HCL (Longitudes de onda ajustadas a las establecidas en Estándar Métodos.)
- Automuestreador AS-800
- Sistema de refrigeración recirculante- Chiller
- Compresor de aire con filtro de purificación.
- Suministro de gas inerte (Argón).
- Tubos de grafito

5.1.3. Condiciones de operación

Gas	Características	Flujo Presión PSI
Aire	Libre de aceite, Humedad o Polvo	50 +/- 4
Argón	Pureza $\geq 98\%$	60

5.2. Uso del equipo

Antes de usar el equipo de absorción atómica por electrometría usar los equipos de protección personal (mandil, guantes, mascarilla de gases y gafas).

- Purgar el agua del compresor.
- Cargar la presión del aire mínimo a 80 psi en la trampa de agua y aceite.
- Abrir la válvula del gas-argón a 60 psi.
- Subir la palanca de la caja.
- Encender el chiller, así mismo el equipo Perkin Elmer AAnalyst 800 y el computador.

5.3. Introducción de lámpara

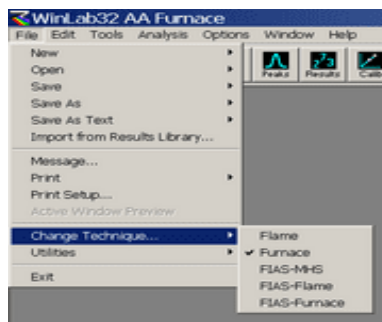
Para introducir la lámpara de cátodo hueco ponerla en posición para que los conectores dorado los cuales se encuentran enumerados, se puedan introducir en las cavidades del dispositivo del equipo donde van las lámparas. Tanto para introducir como retirar la lámpara se requiere de un poco de presión y cuidado por el material del que está hecha la misma. Se recomienda no tocar con las manos la parte del cristal.

5.4. TÉCNICA HORNO DE GRAFITO

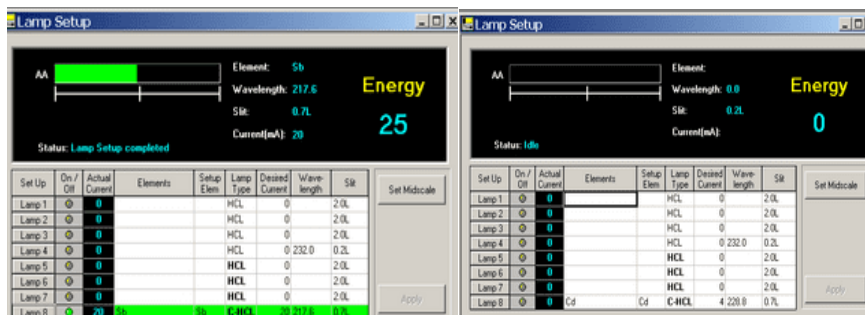
5.4.1 Programa WinLab32 for AA



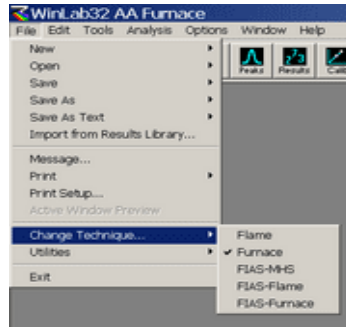
En este programa se manejará el software del equipo, al abrir se inicia una ventana en donde aparecerá un visto si todas las conexiones están correctas (Espectrofotómetro, Horno y automuestrador) como nos indica en la Figura 1; le daremos click en OK a la ventana que se abrirá A continuación ingresar a **File** ➔ **Change Technique** opción **Furnace**, verificar que este la tecnica de Furnace tanto en el Winlab32 como tambien en el equipo AAnalyst 800.



Seguido de esto ingresar a la opcion de Lamps, el cual me dara una opcion de 8 lamparas, prender según el metal que se vaya analizar y verificar la corriente del mismo esto podremos observar en las siguientes figuras.

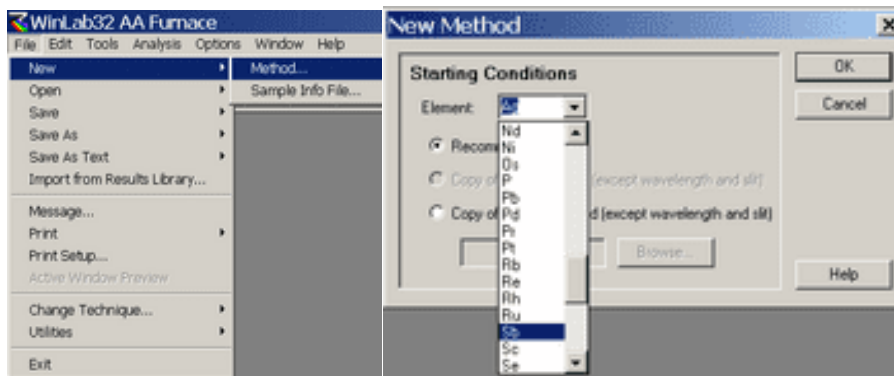


*En caso de que no se habilite la opción de Lámpara proceder a cambiar de técnica a Llama (Flame) después de esto volver a ingresar a la técnica de horno (Furnace), de lo contrario verificar las conexiones (desconectar y volver a conectar).

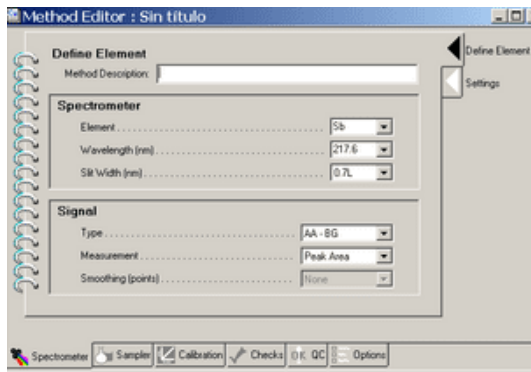


5.4.2 Creación de un nuevo método

En la ventana File, haga clic en NewMethod. Aparecerá el cuadro de diálogo New Method, donde se deberá elegir el símbolo del metal que se desee crear y le daremos click en Ok.

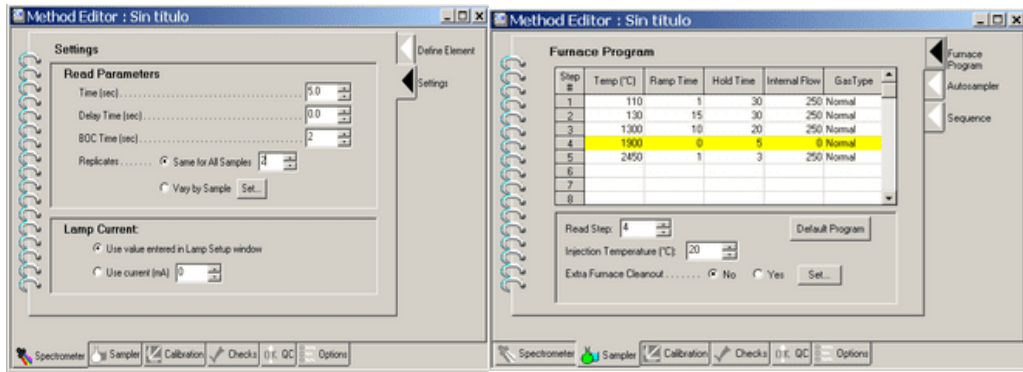


Luego de haber elegido el símbolo del elemento a crear se coloca los criterios y condiciones para el mismo como:

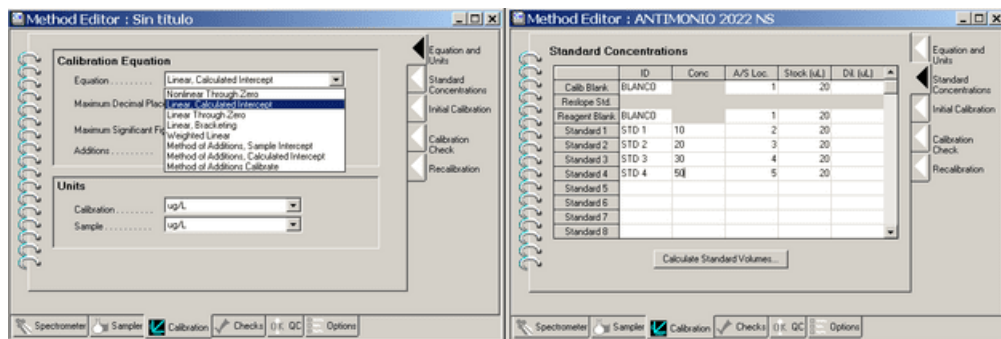


En la primera pestaña Spectrometer se debe de tomar en cuenta la opción de Settings Same for All Sample (número de réplicas para las muestras) que será asignado 2 véase en la siguiente figura.

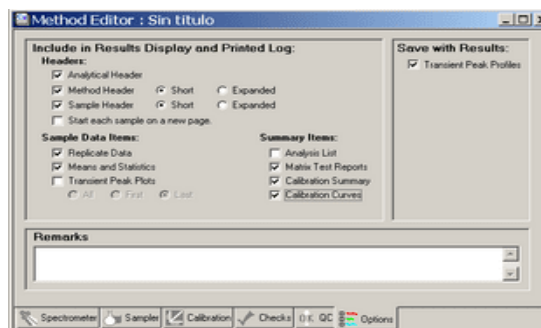
A continuación, la pestaña de Sample nos mostrara la opción de Furnace Program en la cual se definirá las condiciones de RAMPA las cuales pueden ser dados por el programa o modificadas según se requiera para el análisis.



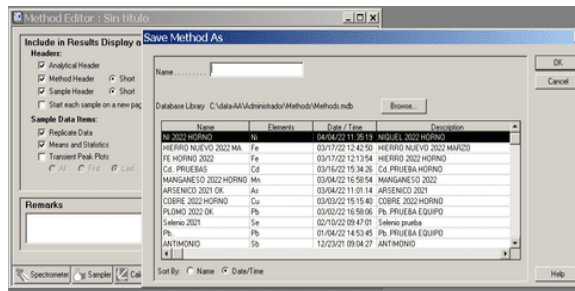
Para la pestaña de Calibration la opción de Equation seleccionar Linear calculated Intercept. Seguido procedemos a la opción de Standard Concentrations donde se abrirá una ventana para colocar las concentraciones que se vaya a medir, se debe tomar en cuenta que la locación de los estándares para que el Tip tenga dirección, así mismo el volumen de Stock (20 ul) se puede observar como ejemplo en la siguiente figura.



En la pestaña de Options se verificará que tenga todos los vistos como muestra en la Figura 6, esto ayudará a obtener la información necesaria al momento de imprimir los resultados.



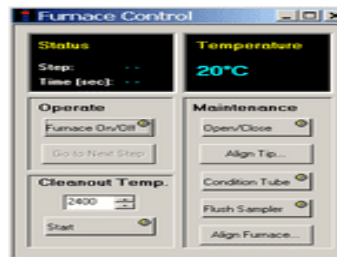
Para guardar el método nos dirigimos a la opción File Save As Method y procedemos a colocar el nombre del Método el cual puede ser el mismo con el que ubicamos en Descripción del método.



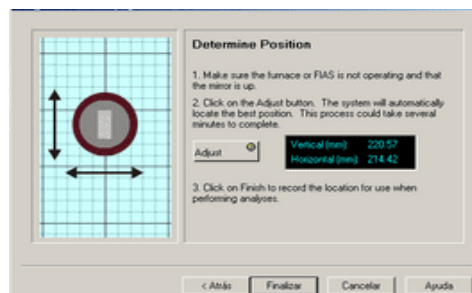
5.5 Calibración del Horno y Tip

5.5.1 Alineación del Horno

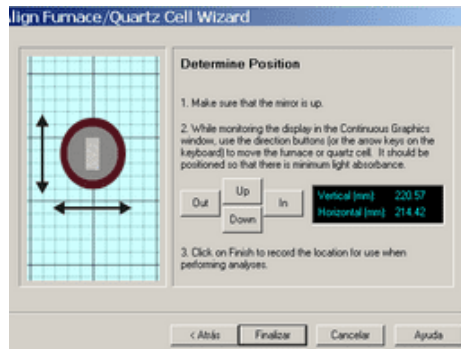
Para alinear el horno vamos a la pestaña de Furnace y le damos clic en Align Furnace en este tendremos dos opciones para calibrar el horno.



De una manera automática la cual el software se encarga de alinear el horno, procedemos a darle clic en siguiente Automatically align the device seguido, Adjust Finalizar.



La otra manera de calibrar el horno es de una manera manual en la ventana de **I want to manually align the device** el cual nos permite mover a la **izquierda o derecha y hacia arriba o abajo** para guardar el procede debemos dar clic en **Finalizar** caso contrario el proceso no se guardará.

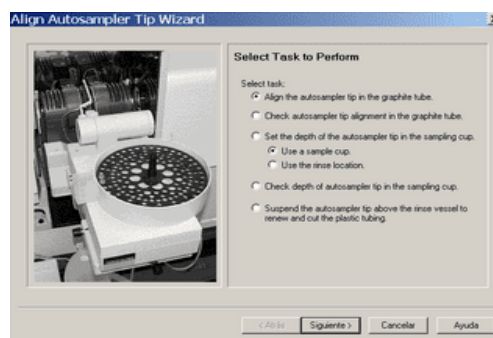


5.5.2 Alineación del Tip

En la ventana de Furnace le damos click en Aling Tip y procedemos a calibrar el Tip tanto para el horno de grafito como para el automuestreador.



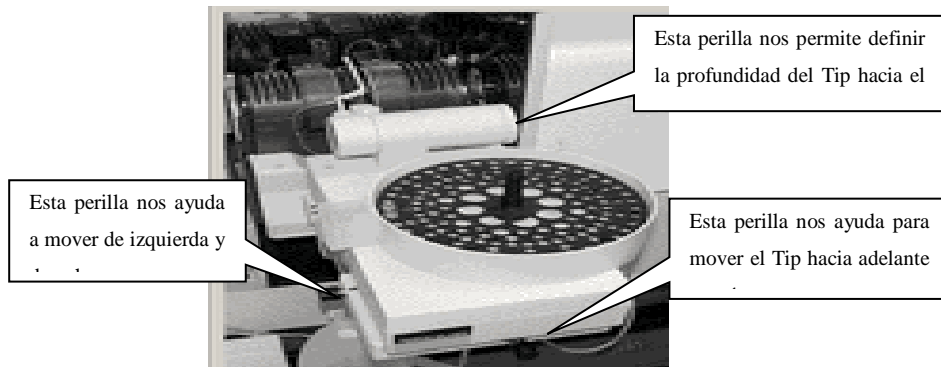
Aquí se abrirá una ventana la cual nos dará 5 opciones para calibrar el Tip correctamente, después de elegir la opción le daremos click en (Siguiente) para proceder a la alineación. Los puntos son los siguientes:



1. Align the autosampler tip in the graphite tube. Nos ayuda para la alineación del Tip al tubo de grafito para esto tenemos perillas localizadas en la parte del autosampler las cuales podemos moverlas de manera manual para que el Tip quede correctamente calibrado.

*Para verificar si el Tip se encuentra correctamente dentro del tubo debemos bajar el espejo que se encuentra a un lado del horno de grafito y verificar si este no se encuentra muy abajo ya que el Tip no deberá chocar con las paredes de entrada al tubo de grafito.

Seguido le damos click en Finalizar para que este guarde la calibración realizada anteriormente.



2. **Check autosampler tip alignment in the graphiete tuve.** esta opción nos ayuda para comprobar la alineación del Tip dentro del tubo de grafito en caso de que este se encuentre muy bajo o a los lados volver a la primera opción y calibrar manualmente nuevamente.
 3. **Set the depth of the autosampler tip in the sampling cup.** Nos permite establecer la profundidad de la punta del inyector automático (Tip) a los viales que se encuentran en el automuestreador.
 4. **Check depth of autosampler tip in the sampling cup.** Nos permite verifica si la profundidad establecida anteriormente es la correcta.
 5. **Suspend the autosampler tip above the rinse vessel to renew and cut the plastic tubing.** En esta opción procedemos a ver la suspensión del Tip hacia el vial de enjuague
- 5.6. Creación de una curva de calibración, lectura de control, material de referencia y muestras.**

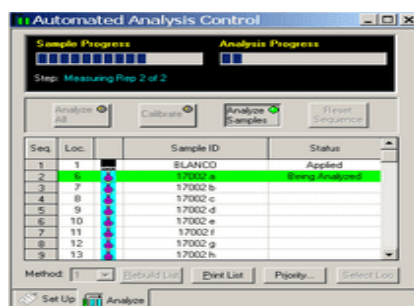
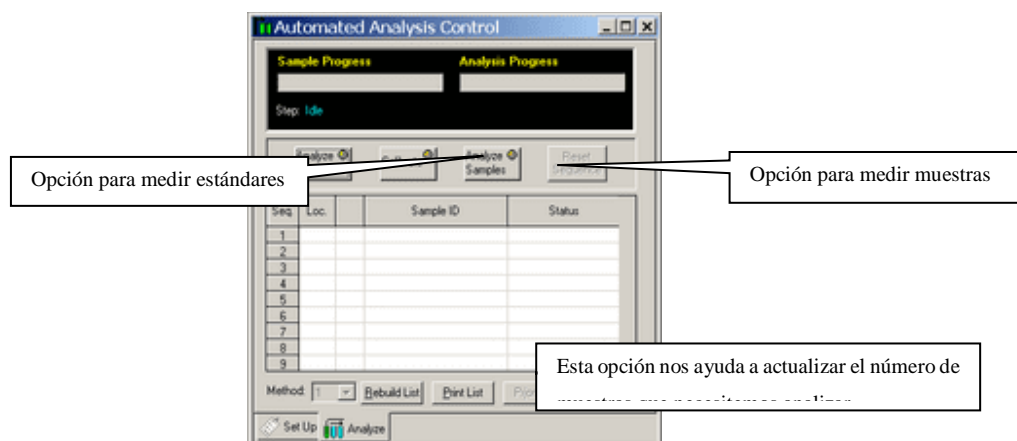
Para cada elemento a ser determinado revisar los criterios de aceptación y rechazo de la validación de estos elementos, con la finalidad de realizar los ensayos acordes a las especificaciones del equipo y la validación. Seguido de esto procedemos a:

- Colocar las muestras en lo viales que se encuentran en el automuestreador.
- Encender el equipo, chiller y computadora, abrir el software y encender la lámpara, seguidamente realizar la calibración del horno y Tip los cuales se encuentran especificados en los puntos anteriores.
- Abrir el método del elemento que requiere ser analizado esto lo podemos encontrar en la opción de File Open ► Methodo.

- Procedemos abrir distintas ventanas necesarias para el análisis estas son: Auto, Calib Furnace y Results.



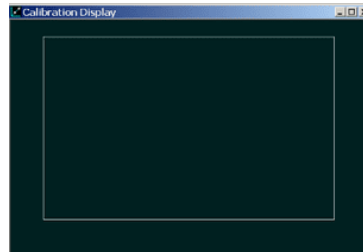
- En la pestaña de Auto tenemos diferentes opciones donde para realizar la curva de calibración le daremos click en Analyze Calibrate en el cual el método que se ha elegido ya está guardado las concentraciones de estadares que se va a analizar así mismo la ubicación de cada uno.
- Es importante distinguir la opción para analizar estadares (Calibrate) y para medir muestras (Analyze Samples). Antes de medir las muestras que se requiera debemos ingresarlas en New Sample Info File el cual esta descrito en el paso 5.4.2.1 seguido de esto procedemos a dar click en Rebuilt List donde se actualizará el listado de muestras que hayamos ingresado para medirlas y procedemos a darle click en Analyze Sample véase la Figura 8 como ejemplo.



- En la ventana control de Furnace podremos observar el tiempo y la temperatura con que transcurre la medición de los estándares o muestra

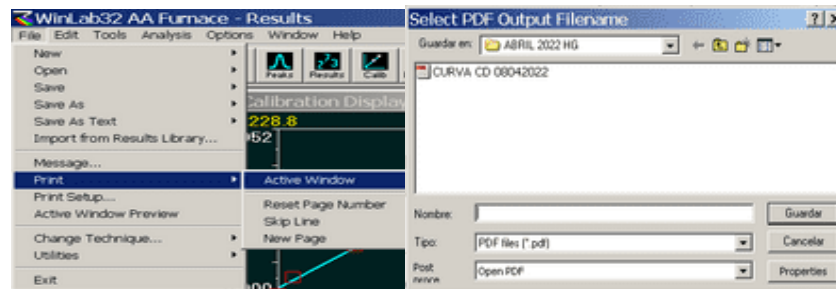


- En la ventana de Calib podremos observar nuestra curva de calibración y el criterio de coeficiente de correlación.



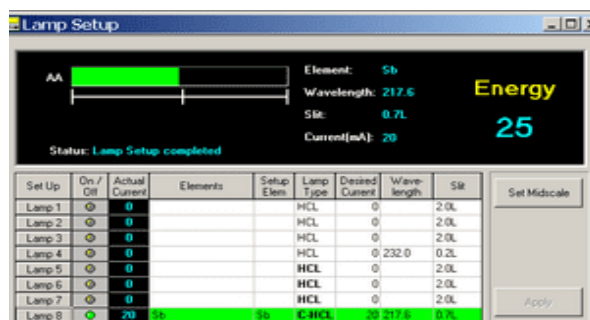
- En esta ventana Results podremos observar los resultados de los estándares y muestras que se ha asignado para el análisis.

Se debe tomar en cuenta que tanto para estándar y muestra se realizara dos réplicas del mismo. Para guardar los resultados le damos click en la ventana de resultados anteriormente descrita nos vamos a File Print Active Window donde se nos abrirá una ventana y se pondrá el nombre donde se especificará el símbolo del metal y la fecha que se realizó el análisis y finalmente le daremos click en Guardar.



5.8. Finalización del análisis

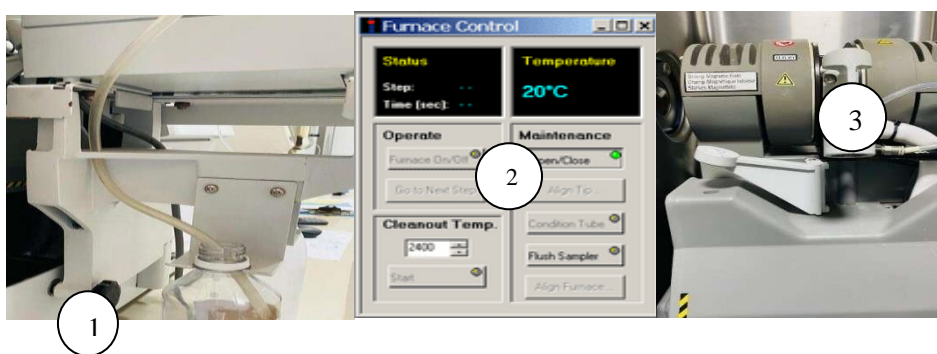
Concluido el análisis se procede a apagar la lámpara en la pestaña de Lamps y luego en el botón verde, cerrar el programa, apagar el computador, seguidamente el equipo, el chiller y bajar el breaker. Finalmente cerrar el gas argón y es importante purgar el compresor.



5.9. Cambio del tubo de grafito

Para el cambio del TUBO DE GRAFITO empezamos aflojando la perilla del autosampler y seguidamente le daremos click en la ventana de Furnace Control, Open/ Close.

*Quitar el seguro que se encuentra en la parte delantera del horno.

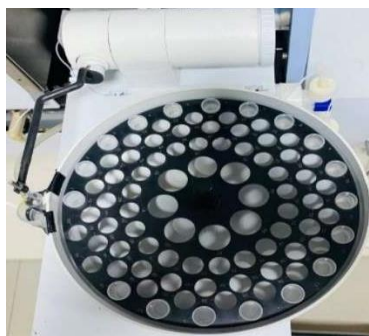


Con la ayuda de una pinza se retira el tubo y se procede a limpiar el espacio donde se encuentra el horno. Para finalizar se coloca el nuevo tubo y le daremos click en Open/Close para asegurar el horno y aseguramos la perilla.



5.10. Limpieza del autosampler.

Después de apagar el equipo y haber leído los lotes de muestras establecidos se procede a desechar los viales para su posterior lavado. El autosampler se limpiará con alcohol todos los derrames que se hayan producidos durante la lectura.



ANEXO C: ITE-AQLAB-96: INSTRUCTIVO TÉCNICO DE ENSAYO DETERMINACIÓN DE METALES EN AGUAS POR HORNO DE GRAFITO

1. OBJETO

Describir la sistemática para la determinación de metales como Arsénico, Antimonio, Plomo, Níquel y Cromo en muestras de aguas mediante el método de Absorción Atómica con la técnica Electrotérmica.

2. ALCANCE

El método es aplicable a una gran cantidad de metales mediante el análisis atómico por horno de grafito para muestras de aguas de consumo, natural, residual y lixiviados.

El rango de trabajo comprende niveles de concentración detallados a continuación:

Parámetro	Rango en mg/L
Arsénico, As	0,005-0,2
Antimonio, Sb	0,01-0,1
Plomo, Pb	0,005-0,1
Cromo, Cr	0,005-0,1
Níquel, Ni	0,010-0,7

Interferencia:

Aunque el problema de la formación de óxido se reduce en gran medida en el horno de grafito (porque la atomización se produce en una atmósfera inerte), la técnica todavía está sujeta a interferencias químicas. La composición de la matriz de la muestra puede tener un efecto importante en el análisis. Son esos efectos los que deben ser determinados y tomados en consideración en el análisis de cada matriz diferente encontrada.

Ciertas muestras, cuando se atomizan, pueden absorber o dispersar la luz de la lámpara. Este puede ser causado por la presencia de especies moleculares gaseosas, partículas de sal o humo en el haz de muestra. Si no se realiza ninguna corrección, la absorbancia de la muestra será mayor de lo que debería ser, y el resultado analítico será erróneamente alto. La corrección de fondo es efectiva para superar las interferencias de composición o de fondo estructurado. Es

particularmente útil cuando se vaya analizar As que no exista presencia de Al y para Se presencia de Fe.

Los efectos de memoria ocurren cuando el analito no se volatiliza totalmente durante la atomización. Esta condición depende de varios factores: la volatilidad del elemento y su forma química, si se utiliza grafito donde exista la pirolisis, la tasa de atomización y el diseño del horno. Esta situación es detectada a través de quemaduras en blanco. El tubo debe limpiarse para que este funcione al máximo.

Los gases generados en el horno durante la atomización pueden tener absorción molecular bandas que abarcan la longitud de onda analítica. Cuando esto ocurra, utilizar el fondo de corrección o elija una longitud de onda alternativa. La corrección de fondo también puede compensar interferencia de absorción de banda ancha no específica y dispersión de luz. La corrección de fondo continuo no puede corregir todos los tipos de fondo interferencia. Cuando la interferencia de fondo no se puede compensar, químicamente elimine el analito o use una forma alternativa de corrección de fondo

La interferencia de una matriz de muestra que produce humo a veces puede reducirse extendiendo el tiempo de carbonización a una temperatura más alta o utilizar un ciclo de incineración en presencia de aire. Sin embargo, se debe tener cuidado para evitar la pérdida del analito.

Los estudios de interferencia de aniones en el horno de grafito indican que, en condiciones distintas al isotérmico, se prefiere el anión nitrato. Por lo tanto, el ácido nítrico es preferible para cualquier etapa de digestión. Cuando se necesita otro ácido además del ácido nítrico, se debe utilizar la cantidad mínima, esto se aplica particularmente al clorhídrico y en menor medida ácido sulfúrico y fosfórico.

La interferencia espectral puede ocurrir cuando una longitud de onda absorbente de un elemento presente en la muestra, pero no es determinado esto se debe a que cae dentro del ancho de la línea de absorción del elemento de interés. Los resultados de la determinación serán entonces erróneamente altos, debido a la contribución del elemento de interferencia a la señal de absorción atómica.

Interferencias de analitos individuales.

- **Arsénico:** Sus compuestos son volátiles; por lo tanto, las muestras pueden estar sujetas a pérdidas de arsénico durante la toma de muestras, preparación, así mismo, se debe tener precaución en la selección de temperatura y tiempos para los ciclos seco y carbonizado (cenizas). Un modificador de matriz tal como nitrato de níquel o nitrato de paladio debe agregarse antes del análisis para minimizar las pérdidas por volatilización durante el secado y la incineración.

Además de las interferencias normales experimentadas durante el análisis de horno de grafito, puede sufrir de graves inespecíficos de absorción y dispersión de la luz causada por los

componentes de la matriz durante la atomización. El análisis de arsénico es particularmente susceptible a estos problemas debido a su baja longitud de onda analítica (193,7 nm). La corrección de fondo simultánea debe ser para evitar resultados erróneamente altos. El aluminio es un positivo severo interferente en el análisis de arsénico.

- **Plomo:** Se obtienen recuperaciones deficientes, se puede utilizar un modificador de matriz necesario, agregar 10 uL de ácido fosfórico a 1 mL de muestra preparada.

3. REFERENCIAS

- PG-AQLAB-01. Procedimiento General para la Elaboración de Documentos.
- PG-AQLAB-07. Validación de métodos.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA 23th. Edition 2017. 3030 B (Filtración preliminar) 3030 D (Digestión preliminar de metales), 3030 e (Digestión por ácido nítrico).
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA 23th. Edition 2017. 3113B. (Método Espectrométrico de absorción atómica Electrotérmica).
- Manual Service 67800
- ITU-AQLAB-10. Instructivo Técnico de Uso del Horno de grafito.

4. GENERAL

4.1. Definiciones.

4.1.1. Agua residual

Vertido de agua residual o de líquidos contaminantes al ambiente durante un periodo determinado o permanente.

4.1.2. Agua tratada

Aguas sometidas a procesos físicos, químicos o bacteriológicos para disminuir la concentración de analitos o establecerlos dentro de márgenes de permisibilidad y tolerancia.

4.1.3. Agua natural

Aquellas cuyas propiedades originales no han sido modificadas por la actividad humana; y se clasifican en: superficiales, subterráneas y meteóricas o atmosféricas.

4.1.4. Lixiviados

Solución que resulta del transporte de agua por los poros y fisuras del suelo u otro medio sólido poroso y las interacciones físico-químicas de esta agua con los componentes minerales y orgánicos del suelo.

4.1.5. Cadmio (Cd)

Elemento químico relativamente raro, número atómico 48; tiene relación estrecha con el zinc, con el que se encuentra asociado en la naturaleza. Es un metal dúctil, de color blanco argentino con un ligero matiz azulado. El cadmio no se encuentra en estado libre en la naturaleza.

4.1.6. Cromo (Cr)

Elemento químico, número atómico 24, metal que es de color blanco plateado, duro y quebradizo. Sin embargo, es relativamente suave y dúctil cuando no está tensionado o cuando está muy puro. Sus principales usos son la producción de aleaciones anticorrosivas de gran dureza y resistentes al calor.

4.1.7. Níquel (Ni)

Es un elemento químico de número atómico 28. Es un metal de transición de color blanco con un ligerísimo tono amarillo, conductor de la electricidad y del calor, muy dúctil y maleable por lo que se puede laminar, pulir y forjar fácilmente, y presentando ferromagnetismo a temperatura ambiental.

4.1.8. Plomo (Pb)

Es un metal pesado de densidad relativa o gravedad específica 11,4 a 16 °C, de color plateado con tono azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico y se funde con facilidad.

4.1.9. Metales recuperables totales

Es la concentración de metales presentes en una muestra que no ha sido filtrada y que se ha tratado con ácido mineral diluido y en caliente.

4.1.10. Metales disueltos

La concentración de los metales es determinada en la muestra luego de que esta se ha filtrado a través de una membrana de 0.45 µm.

4.1.11. Metales suspendidos

La concentración del metal es determinada en la porción de una muestra que es retenida por el filtro de 0.45 µm.

4.1.12. Metales totales

La concentración de metales determinados en una muestra no filtrada después de realizar una vigorosa digestión o la suma de las concentraciones de fracciones disueltos y en suspensión, tenga en cuenta que los metales totales se definen operacionalmente por el procedimiento de digestión.

4.2 Toma de muestra, Preservación, Manejo y Almacenamiento.

Recoger un volumen de 500 a 1000 ml en una botella de vidrio ámbar. El uso de contenedores plásticos es permitido si se conoce que no están presentes contaminantes orgánicos en los recipientes. Refrigerar todas las muestras a 4°C desde el momento de la toma hasta su previa extracción.

Las muestras contenidas en los recipientes deberán ser bien mezcladas, preferiblemente homogeneizar para obtener alícuotas representativas. Para mayor referencia respecto a la toma de muestra y conservación, consulte el instructivo operativo ITO-AQLAB-01.

5. DESCRIPCIÓN

5.1. Equipos, Materiales Y Reactivos.

5.1.1. Equipos y materiales

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer-800 EFQ-086
- Digestor TECHICON EFQ/057
- Lámparas de Cátodo Hueco PerkinElmer
- Compresor de aire con filtro de purificación y condensador de humedad.
- Sistema de extracción de gases.
- Sorbona EFQ/068
- Refrigeradora EFQ/063
- Envases plásticos con tapa para almacenar los estándares.
- Embudos de vástago
- Papel filtro whatman40 o su equivalente.
- Pipeta volumétrica de 5 ml MV/018
- Pipeta volumétrica de 10 ml MV/019
- Pipeta volumétrica de 25 ml MV/020
- Pipeta automática de 1 ml MV/024-01
- Pipeta automática de 0,02-0,1 ml MV/038
- Pipeta automática de 1-5 ml MV/038
- Pipeta automática de 1-10 ml MV/039-01
- Balón aforado de 25ml
- Balón aforado de 50ml
- Balón aforado de 100 ml
- Balón aforado de 250 ml
- Tubos de digestores Kendal
- Vasos de precipitación 50 ml
- Gradilla metálica
- Probeta de 100 ml
- Piceta de 500 ml

5.1.2. Reactivos

Agua destilada de conductividad inferior a 2 uS/Cm y pH 7.

Ácido nítrico concentrado HNO_3 grado HPLC.

- **Solución HNO_3 2%** Disolver 2,9 ml de HNO_3 concentrado al 70% grado HPLC a 1L, caso contrario realizar los cálculos.

Gas Inerte: Argón de Alta pureza es generalmente aceptable. Es utilizado para reducir al mínimo la oxidación del tubo de horno y evitar la formación de óxidos metálicos.

El aire puede ser suministrado de una línea del compresor, o un cilindro de aire comprimido al cual se le debe limpiar y secar.

Soluciones estándar de metales: Soluciones de metales pesados grado de absorción atómica. Estas soluciones son de 1000 mg/L.

Estándar trabajo. - Se prepara a partir del estándar madre de 1000 mg/L respectivo a cada metal.
**Para el estándar de trabajo para cada metal diluya 0,125 ml de la solución madre de 1000 mg/L del analito a determinar en un matraz aforado de 250 ml con solución de HNO₃ 2%, la concentración de esta solución es de 0,5mg/L o 500 ug/L*

5.2. Preparación de la muestra

Antes de la medición dejar que se establezcan a temperatura ambiente tanto la muestra como los materiales de referencia y el blanco. El equipo de Horno de grafito Perkin Elmer 600-700-800 **EFQ086**; deberá ser operado según lo señala el ITU-AQLAB-10.

5.2.1 Condiciones Ambientales.

Las condiciones óptimas de operación recomendadas son:

Temperatura: $\leq 35^{\circ}\text{C}$

Humedad: $\leq 85\% \text{ HR}$

5.3. Realización

5.3.1. Procedimientos preliminares

Es necesario el tratamiento preliminar de muestras acuosas debido a la complejidad y variabilidad de las matrices. Los sólidos, lodos y material suspendido podrían sujetarse a proceso de estabilización antes del análisis. Estos procedimientos pueden variar debido a la naturaleza de la muestra y de los metales a determinarse. Las muestras en las cuales se analizan constituyentes disueltos, no es necesario el procedimiento de digestión si estas son filtradas y acidificadas.

Todos los ensayos mediante el horno de grafito deberán ser ejecutados usando una adecuada forma de corrección del fondo. Generalmente se utilizará una lámpara de cátodo hueco.

En general, luego de escoger la lámpara adecuada para el análisis, permita que la lámpara se caliente de 15-20 minutos.

Durante este periodo, calibrar el Horno y el Tip correctamente, esto se puede realizar conforme se establece en el ITU-AQLAB-10.

Preparar los estándares cada vez que se va a realizar la curva de calibración, luego de esto desechar los mismos no se debe guardar, esto se realiza con el de evitar la contaminación cruzada.

Construya la curva de calibración del elemento por lo menos utilizando 4 estándares de diferente concentración (Abs vs [concentración]) verificar la curva con un estándar preparado de otro lote o preparado nuevamente por otro analista o a su vez con MR.

Crear en el equipo el registro de muestras (**Sample Info file**) ya sea con su código o nombre que se vaya analizar en la misma colocar la ubicación de ellos para que el Tip proceda a la inyección de cada muestra.

5.3.2.1. Digestión de aguas para metales Totales, Recuperables y Disueltos.

Este método describe el procedimiento de digestión usado para la preparación de muestras de agua superficial y subterránea para el análisis mediante Absorción Atómica por horno de grafito para analizar los siguientes metales: arsénico, antimonio, plomo cadmio y níquel.

Cuando analice metales disueltos totales, filtre la muestra, en el mismo tiempo de recolección de la muestra previa la acidificación con ácido nítrico.

Procedimiento.

Para muestras acuosas en las que se determinará metales disueltos, solamente filtre la muestra por un filtro de 40 μm , acidifíquela y analice.

- Filtre aproximadamente 50 mL de una alícuota de una muestra bien mezclada a un vaso de precipitación.
- Coloque 1ml de ácido nítrico concentrado y un balón aforado de 50ml, y afore con la alícuota que previamente fue filtrada.
- La muestra está lista para analizar por Horno de grafito.

Para muestras en las que se determinará metales totales recuperables, siga los siguientes pasos.

- Transfiera 50 mL de una alícuota de una muestra bien mezclada a un tubo de digestión. Añada 1 mL de HNO_3 concentrado grado HPLC.
- Colocar 3 o 4 granallas de vidrio, previamente lavadas y secadas para evitar que la digestión sea controlada y no se riegue la muestra de los tubos durante este proceso.
- Someta a calentamiento la muestra a $150 \pm 5^\circ\text{C}$ en el bloque de digestión por 30min
- Remueva el tubo del bloque de digestión y permita que se enfrié. Lave las paredes del tubo y, de ser necesario, filtre la muestra para remover cualquier material insoluble.
- Ajuste el volumen final a 50 mL con agua destilada.

5.3.2. Condiciones de funcionamiento

Revisar y seguir las indicaciones del instructivo **ITU-AQLAB-10**

5.3.3. Medición de las muestras

Establecer las condiciones óptimas para cada elemento que se vaya analizar tal como lo describe en el apartado 6.

Una vez que la muestra esté preparada se debe verificar que la curva de calibración este realizada y cumpla con los criterios de aceptación y rechazo.

Todas las muestras deben estar establecidas en el Sample Id, donde deberá constar el código o nombre y su ubicación para que así el Tip puede tomar la muestra e inyectar al tubo del horno de grafito.

Se debe realizar una medición a un blanco, un estándar control que este dentro de la curva del elemento a ser analizado y proseguir con el lote de muestras. En caso de que el valor este fuera de la curva se debe proceder a realizar una dilución según sea correspondiente.

La medición en aguas se la realizará en ug/L y se reportará en unidades de mg/L con la debida conversión de unidades, en caso exista una dilución se deberá multiplicar el valor de la lectura por el número de la dilución que se realizó.

5.4. Preparación de la curva de calibración

A partir de nuestra estándar madre de 1000000 ug/L preparamos un estándar de trabajo medio de 500 ug/L para todos los metales, de este estándar se prepara un estándar de trabajo según el metal que se vaya a realizar.

Para la elaboración de la curva de calibración para cada elemento preparamos un estándar superior (estándar de trabajo) a los ya establecidos esto debido a que el equipo es quien realiza las debidas diluciones para las diferentes concentraciones de curva, esto lo observamos en el apartado 7.

5.5. Tratamiento de resultados

El espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER 600, 700, 800 presenta los resultados directamente en unidades de ug/L, los resultados serán reportados considerando el factor de conversión de unidades, en el protocolo ITE9601-01. Formato para la determinación de los metales Pesados en Aguas por horno de grafito. Los resultados de los análisis serán expresados con dos cifras decimales.

5.5.1. Cálculos de la Incertidumbre

La asignación y expresión de incertidumbres se realiza siguiendo los criterios establecidos en PG-AQLAB-06

5.6. Medidas de seguridad

- Todo reactivo, muestra, solución o cualquier material deberá estar claramente identificado de acuerdo con las políticas de registros que el laboratorio establezca.
- Lavarse las manos antes y después de cada operación. Se procurarán de estar libres de cortes y en su caso, se usará un apósito y guantes para evitar la contaminación o la penetración de cualquier sustancia.
- Tomar en cuenta las medidas de seguridad y elementos de protección personal para trabajar con el equipo de absorción atómica.
- Verificar el correcto funcionamiento de la campana de extracción para el trabajo del equipo

- De igual forma proceder con protección para el manejo de reactivos como en el caso del ácido nítrico, ácido clorhídrico y vapores de N que se emiten en la digestión.
- No hacer funcionar el calefactor en presencia de personas que lleven marcapasos cardiacos electrónicos u otros implantes metálicos ya que el HG genera y utiliza un fuerte campo magnético durante los ciclos de medición.

5.7. Control de Calidad.

Se efectuarán actividades de Control de Calidad según lo establecido en la Programación de Aseguramiento de la Calidad formato MC2201.

5.7.1 Criterios de aceptación rechazo

Cada análisis se realizará duplicados de las muestras con una aceptación de margen de variación detallado a continuación, este criterio será para todo el rango de trabajo y se registra en ITE9601, se grafica en una carta de control, caso contrario se prepara un nuevo estándar y si no cumple se realiza una nueva curva de calibración.

El criterio de aceptación y rechazo del estándar control y duplicados en todo el rango se detallan a continuación para cada parámetro y se registraran en el formato ITE9601.

Parámetro	Rangos de estándar control (ug/L)	%Aceptación rechazo de Estándar Control	% Criterio de Duplicados
Arsénico, As	5,00-40,00	90-110%	16%
Antimonio, Sb	10,00-50,00	91-109%	11%
Cromo, Cr	5,00-40,00	90-110%	10%
Plomo, Pb	5,00-1000	90-110%	10%
Níquel, Ni	10,00-700	80-120%	18%

El porcentaje de recuperación para todo el rango de trabajo tanto en estándar y matriz son:

Parámetro	% Rec. SPK o MR
Arsénico, As	84-116%
Antimonio, Sb	87-113%
Plomo, Pb	88-112%
Cromo, Cr	90-110%
Níquel, Ni	80-120%

Los Criterios de Aceptación y rechazo de las curvas de calibración son:

Parámetro	Pendiente		Intercepto	
	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo
Arsénico, As	0,0036	0,0023	0,0153	-0,0146
Antimonio, Sb	0,0025	0,0013	0,0119	-0,0173
Plomo, Pb	0,0034	0,0023	0,0124	-0,0055
Cromo, Cr	0,0204	0,0119	0,1009	-0,0548

Níquel, Ni	0,0029	0,0021	0,0108	-0,0149
------------	--------	--------	--------	---------

6. Condiciones instrumentales recomendadas para la optimización del equipo según el elemento.

- Condiciones de rampa para cada elemento establecidas.

Elemento	Temperatura °C	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de calentamiento (s)	Flujo interno
Arsenico, As	80	10	10	250
	130	10	10	250
	450	10	15	250
	2000	0	3	0
	2100	1	3	250
Antimonio, Sb	110	10	15	250
	130	10	15	250
	450	10	15	250
	1900	0	3	0
	2000	1	3	250
Plomo, Pb	80	10	10	250
	130	10	10	250
	450	10	15	250
	1900	0	3	0
	2000	1	3	250
Cromo, Cr	80,00	10	10	250
	120,00	10	15	250
	450,00	10	15	250
	2300	0	3	0
	2400	1	2	250
Níquel, Ni	110	10	15	250
	130	10	15	250
	450	10	15	250
	1900	0	3	0
	2000	1	3	250

- *En caso que no se este recuperando el estandar en matriz revisarlas condicones de rampa y modificar en caso que sea necesario.*
- Condiciones dadas por el equipo para cada elemento:

Elemento	Wavelength (nm)	Low slit (nm)
Arsénico, As	193,7	0,7
Antimonio, Sb	217,6	0,7
Plomo, Pb	283,3	0,7

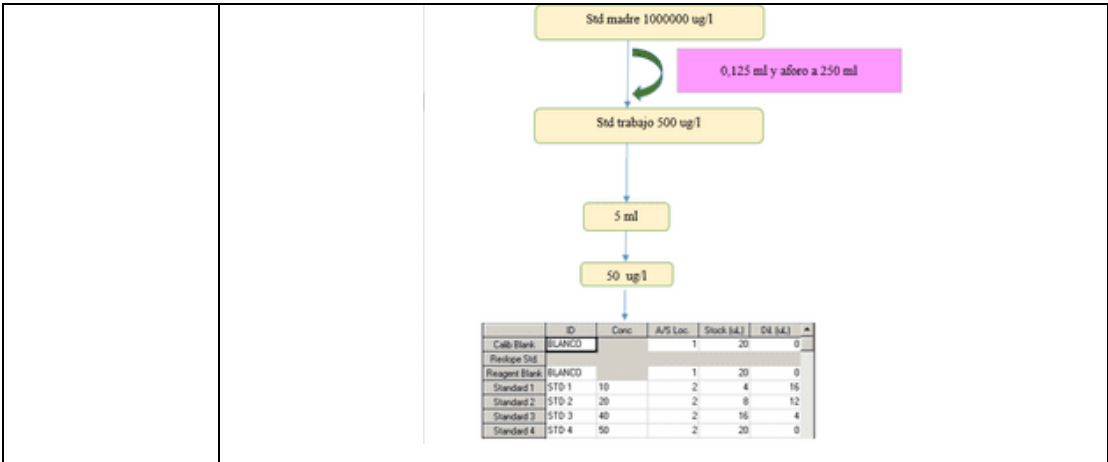
Cromo, Cr	357,9	0,7
Níquel, Ni	232,0	0,2

7. Preparación de estándar para la curva de calibración.

- Concentraciones para curva de calibración según el elemento

Elemento	Identificación	Concentración	Stock-solucion de estandar(uL)	Stock-solucion de blanco (uL)																																			
Arsénico, As	Blanco	0,00	20,00	0,00																																			
	Estandar 1	5,00	2,00	18,00																																			
	Estandar 2	10,00	4,00	16,00																																			
	Estandar 3	20,00	8,00	12,00																																			
	Estandar 4	40,00	16,00	4,00																																			
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ID</th> <th>Conc.</th> <th>A/S Loc.</th> <th>Stock (uL)</th> <th>Dil. (uL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Calib Std 1</td> <td>5</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>Calib Std 2</td> <td>10</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>Calib Std 3</td> <td>20</td> <td>2</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Calib Std 4</td> <td>40</td> <td>2</td> <td>16</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>					ID	Conc.	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)	BLANCO		1	20	0	BLANCO		1	20	0	Calib Std 1	5	2	2	18	Calib Std 2	10	2	4	16	Calib Std 3	20	2	8	12	Calib Std 4	40	2	16	4
ID	Conc.	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)																																			
BLANCO		1	20	0																																			
BLANCO		1	20	0																																			
Calib Std 1	5	2	2	18																																			
Calib Std 2	10	2	4	16																																			
Calib Std 3	20	2	8	12																																			
Calib Std 4	40	2	16	4																																			
Antimonio, Sb	Blanco	0,00	20,00	0,00																																			
	Estandar 1	10,00	4,00	16,00																																			
	Estandar 2	20,00	8,00	12,00																																			
	Estandar 3	30,00	12,00	8,00																																			
	Estandar 4	50,00	20,00	0,00																																			
<table border="1"> <thead> <tr> <th>ID</th> <th>Conc.</th> <th>A/S Loc.</th> <th>Stock (uL)</th> <th>Dil. (uL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calib Stank</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>Reagent Std</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>Standard 1</td> <td>STD 1</td> <td>10</td> <td>2</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Standard 2</td> <td>STD 2</td> <td>20</td> <td>2</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>Standard 3</td> <td>STD 3</td> <td>30</td> <td>2</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Standard 4</td> <td>STD 4</td> <td>50</td> <td>2</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>					ID	Conc.	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)	Calib Stank	BLANCO		1	20	Reagent Std	BLANCO		1	20	Standard 1	STD 1	10	2	4	Standard 2	STD 2	20	2	8	Standard 3	STD 3	30	2	12	Standard 4	STD 4	50	2	20
ID	Conc.	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)																																			
Calib Stank	BLANCO		1	20																																			
Reagent Std	BLANCO		1	20																																			
Standard 1	STD 1	10	2	4																																			
Standard 2	STD 2	20	2	8																																			
Standard 3	STD 3	30	2	12																																			
Standard 4	STD 4	50	2	20																																			
Plomo, Pb	Blanco	0,00	20,00	0,00																																			


	Estandar 1	5,00	2,00	18,00																																																						
	Estandar 2	10,00	4,00	16,00																																																						
	Estandar 3	20,00	8,00	12,00																																																						
	Estandar 4	40,00	16,00	4,00																																																						
	<p>Flowchart for Chromium (Cr) standard preparation:</p> <ul style="list-style-type: none"> Std madre 1000000 ug/l 0,125 ml y aforo a 250 ml Std trabajo 500 ug/l 5 ml 50 ug/l <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>ID</th> <th>Conc</th> <th>A/S Loc.</th> <th>Stock (uL)</th> <th>Dil. (uL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calib Blank:</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Reslope Std:</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reagent Blank:</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Standard 1</td> <td>Calib Std 1</td> <td>5</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>Standard 2</td> <td>Calib Std 2</td> <td>10</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>Standard 3</td> <td>Calib Std 3</td> <td>20</td> <td>2</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Standard 4</td> <td>Calib Std 4</td> <td>40</td> <td>2</td> <td>16</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>					ID	Conc	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)	Calib Blank:	BLANCO		1	20	0	Reslope Std:						Reagent Blank:	BLANCO		1	20	0	Standard 1	Calib Std 1	5	2	2	18	Standard 2	Calib Std 2	10	2	4	16	Standard 3	Calib Std 3	20	2	8	12	Standard 4	Calib Std 4	40	2	16	4						
	ID	Conc	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)																																																					
Calib Blank:	BLANCO		1	20	0																																																					
Reslope Std:																																																										
Reagent Blank:	BLANCO		1	20	0																																																					
Standard 1	Calib Std 1	5	2	2	18																																																					
Standard 2	Calib Std 2	10	2	4	16																																																					
Standard 3	Calib Std 3	20	2	8	12																																																					
Standard 4	Calib Std 4	40	2	16	4																																																					
Cromo, Cr	Blanco	0,00	20,00	0,00																																																						
	Estandar 1	5,00	2,00	18,00																																																						
	Estandar 2	10,00	4,00	16,00																																																						
	Estandar 3	20,00	8,00	12,00																																																						
	Estandar 4	40,00	16,00	4,00																																																						
	<p>Flowchart for Chromium (Cr) standard preparation:</p> <ul style="list-style-type: none"> Std madre 1000000 ug/l 0,125 ml y aforo a 250 ml Std trabajo 500 ug/l 5 ml 50 ug/l <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="6">Standard Concentrations</th> </tr> <tr> <th></th> <th>ID</th> <th>Conc</th> <th>A/S Loc.</th> <th>Stock (uL)</th> <th>Dil. (uL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calib Blank:</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Reslope Std:</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Reagent Blank:</td> <td>BLANCO</td> <td></td> <td>1</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Standard 1</td> <td>Calib Std 1</td> <td>5</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>Standard 2</td> <td>Calib Std 2</td> <td>10</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>Standard 3</td> <td>Calib Std 3</td> <td>20</td> <td>2</td> <td>8</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Standard 4</td> <td>Calib Std 4</td> <td>40</td> <td>2</td> <td>16</td> <td>4</td> </tr> </tbody> </table>				Standard Concentrations							ID	Conc	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)	Calib Blank:	BLANCO		1	20	0	Reslope Std:						Reagent Blank:	BLANCO		1	20	0	Standard 1	Calib Std 1	5	2	2	18	Standard 2	Calib Std 2	10	2	4	16	Standard 3	Calib Std 3	20	2	8	12	Standard 4	Calib Std 4	40	2	16	4
Standard Concentrations																																																										
	ID	Conc	A/S Loc.	Stock (uL)	Dil. (uL)																																																					
Calib Blank:	BLANCO		1	20	0																																																					
Reslope Std:																																																										
Reagent Blank:	BLANCO		1	20	0																																																					
Standard 1	Calib Std 1	5	2	2	18																																																					
Standard 2	Calib Std 2	10	2	4	16																																																					
Standard 3	Calib Std 3	20	2	8	12																																																					
Standard 4	Calib Std 4	40	2	16	4																																																					
Niquel, Ni	Blanco	0,00	20,00	0,00																																																						
	Estandar 1	10,00	4,00	16,00																																																						
	Estandar 2	20,00	8,00	12,00																																																						
	Estandar 3	40,00	16,00	4,00																																																						
	Estandar 4	50,00	20,00	0,00																																																						




	ID	Conc	A/S Loc	Stock [μg]	DE [μg]	▲
Calli Blank	BLANCO		1	20	0	
Respo Std						
Reagent Blank	BLANCO		1	20	0	
Standard 1	STD 1	10	2	4	16	
Standard 2	STD 2	20	2	8	12	
Standard 3	STD 3	40	2	16	4	
Standard 4	STD 4	50	2	20	0	



ANEXO D: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL MATRAZ AFORADO DE 25 ML

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-1352-028-21





SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO
Acreditación N° SAE LC 10-009
LABORATORIO DE CALIBRACIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE							
NOMBRE:	AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑÍA						
DIRECCIÓN:	FRANCISCO DE ORELLANA, CALLE JUAN HUNGITE SIN Y FRAY GREGORIO DE ALUMINIA						
TELÉFONO:	62881715						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	ING. ARMANDO MELÉNDEZ LARA						
IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN							
ÍTEM:	MATRAZ AFORADO	CLASE:	A				
MARCA:	GLASSCO	UNIDAD DE MEDIDA:	ml				
MODELO:	NO ESPECÍFICA	RESOLUCIÓN:	NO APLICA				
SERIE:	NO ESPECÍFICA	INTERVALO DE MEDIDA:	25 ml				
CÓDIGO ASIGNADO:	E-18862	UBICACIÓN:	NO ESPECÍFICA				
EQUIPAMIENTO UTILIZADO							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
EL ET. 121	BALANZA ANALÍTICA	SARTORIUS	SECURA 2250-1S	34004249	2022-02-24	CC-0602-021-21	
EL PT. 035	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST9215	NO ESPECÍFICA	2021-07-06	CC-1935-001-20	
EL PT. 466	BAROMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	2021-09-04	CC-2945-019-20	
EL PT. 771	TERMOMIGROMETRO	JUMO	LOGOSCREEN 600	4776450	2021-07-03	CC-1935-002-20	
DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA							
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrompida de calibraciones a través del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt - Alemania) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).							
CALIBRACIÓN							
MÉTODO:	GRAVIMÉTRICO						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 4787:2010						
PROCEDIMIENTO:	PEC EL.25						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	21,1 °C ±0,1 °C						
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	47,2 %RH ±0,6 %RH						
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1010 hPa ±0 hPa						
DENSIDAD MEDIA DEL AIRE:	1,196 kg/m³ ±0,002 kg/m³						
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN							
Nominal	Resultado	Error de Medición	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura ⁽¹⁾	emp	Cumplimiento
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
25	25,0322	0,0322	0,0037	2,00	20,5	0,04	Cumple
OBSERVACIONES							
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición U (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación de la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C).							
NOTA: El error de indicación se muestra con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).							
⁽¹⁾ Temperatura Media del Agua (Líquido de Referencia) durante la calibración.							
⁽²⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.							
INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD							
Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si la suma del valor absoluto del error de medición con la incertidumbre expandida de medición es menor o igual al error máximo permitido (emp).							
Nota: El error máximo permitido (emp) está dado en el Apartado 7 (Tabla 1) de la ISO 1042:1998 y se muestra en la tabla de resultados.							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Nicolás Arellano						
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2021-03-31						
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2021-04-05						
					FECHA DE EMISIÓN:	2021-04-06	
					FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2022-04	



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:





Gerente técnico - Autorización EC220319SP



Sustento legal de firma electrónica

ANEXO E: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE MATRAZ AFORADO DE 50 ML

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-1352-029-21

		 <p>SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO Acreditación N° SAE I.C. 10-009 LABORATORIO DE CALIBRACIÓN</p>		  <p>ILAC-MRA ACCREDITED Calibration Laboratory Cert. No. 4281 21</p>			
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE							
NOMBRE:	AOLAB LABORATORIOS AGOSTA Y COMPAÑÍA						
DIRECCIÓN:	FRANCISCO DE ORELLANA, CALLE JUAN HUNGITE S/N Y FRAY GREGORIO DE ALUMINA						
TELÉFONO:	62861715						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	ING. ARMANDO MELÉNDEZ LARA						
IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN							
ITEM:	MATRAZ AFORADO	CLASE:	A				
MARCA:	GLASSCO	UNIDAD DE MEDIDA:	ml				
MODELO:	NO ESPECÍFICA	RESOLUCIÓN:	NO APLICA				
SERIE:	NO ESPECÍFICA	INTERVALO DE MEDIDA:	50 ml				
CÓDIGO ASIGNADO:	E-18663	UBICACIÓN:	NO ESPECÍFICA				
EQUIPAMIENTO UTILIZADO							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
EL.ET.121	BALANZA ANALÍTICA	SARTORIUS	SECURA 225D-1S	34004249	2022-02-24	CC-0602-021-21	
EL.PT.035	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST9215	NO ESPECÍFICA	2021-07-06	CC-1935-001-20	
EL.PT.456	BAROMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322577	2021-09-04	CC-2945-019-20	
EL.PT.771	TERMOMEGROMETRO	JUMO	LOGOSCREEN 600	4776450	2021-07-03	CC-1935-002-20	
DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA							
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterumpida de calibraciones a través del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt - Alemania) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).							
CALIBRACIÓN							
METODO:	GRAVIMÉTRICO						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 4787:2010						
PROCEDIMIENTO:	PEC.EL.25						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	20,9 °C	±0,1 °C					
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	48,1 %RH	±1,1 %RH					
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1010 hPa	±0 hPa					
DENSIDAD MEDIA DEL AIRE:	1,197 kg/m ³	±0,002 kg/m ³					
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN							
Nominal	Resultado	Error de Medición	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura ⁽¹⁾	emp	Cumplimiento
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
50	50,0032	0,0032	0,0056	2,00	20,5	0,06	Cumple
OBSERVACIONES							
<p>La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición U (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C).</p> <p>NOTA: El error de indicación se muestra con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).</p> <p>⁽¹⁾ Temperatura Media del Agua (Líquido de Referencia) durante la calibración.</p> <p>⁽²⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.</p>							
INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD							
<p>Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si la suma del valor absoluto del error de medición con la incertidumbre expandida de medición es menor o igual al error máximo permitido (emp).</p> <p>Nota: El error máximo permitido (emp) está dado en el Apartado 7 (Tabla 1) de la ISO 1042:1998 y se muestra en la tabla de resultados.</p>							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Nicolas Arellano						
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2021-03-31		FECHA DE EMISIÓN:	2021-04-06			
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2021-04-05		FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2022-04			



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:





Gerente técnico - Autorización EC220319SP



Sustento legal de firma electrónica

ANEXO F: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE MATRAZ AFORADO DE 250 ML

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-1352-033-21

		 <p>SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO Acreditación N° SAE LC 10-009 LABORATORIO DE CALIBRACIÓN</p>					
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE							
NOMBRE:	AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑIA						
DIRECCIÓN:	FRANCISCO DE ORELLANA, CALLE JUAN HUNCITE S/N Y FRAY GREGORIO DE ALUMINIA						
TELÉFONO:	62861715						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	ING. ARMANDO MELÉNDEZ LARA						
IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN							
ÍTEM:	MATRAZ AFORADO	CLASE:	A				
MARCA:	GLASSCO	UNIDAD DE MEDIDA:	ml				
MODELO:	NO ESPECIFICA	RESOLUCIÓN:	NO APLICA				
SERIE:	NO ESPECIFICA	INTERVALO DE MEDIDA:	250 ml				
CÓDIGO ASIGNADO:	E-16665	UBICACIÓN:	NO ESPECIFICA				
EQUIPAMIENTO UTILIZADO							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
ELET.044	BALANZA DE PRECISIÓN	KERN	PLS 1200-3A	WI 1000514	2022-01-22	CC-0007-077-21	
EL.PT.035	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST9215	NO ESPECIFICA	2021-07-06	CC-1935-001-20	
EL.PT.466	BAROMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	2021-09-04	CC-2945-019-20	
EL.PT.771	TERMOHIGROMETRO	JUMO	LOGOSCREEN 600	4776450	2021-07-03	CC-1935-002-20	
DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA							
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt - Alemania) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).							
CALIBRACIÓN							
MÉTODO:	GRAVIMÉTRICO						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 4787:2010						
PROCEDIMIENTO:	PEC.EL.25						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	21.0 °C	±0.2 °C					
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	47.5 %HR	±0.7 %HR					
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1010 hPa	±0 hPa					
DENSIDAD MEDIA DEL AIRE:	1.197 kg/m³	±0.002 kg/m³					
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN							
Nominal	Resultado	Error de Medición	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura ⁽¹⁾	emp	Cumplimiento
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
250	249.967	-0.033	0.013	2.00	21.0	0.15	Cumple
Temperatura de Referencia: 20 °C				Nota: Se ha realizado 10 mediciones por cada punto de calibración.			
OBSERVACIONES							
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición U (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C). NOTA: El error de indicación se muestra con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM). ⁽¹⁾ Temperatura Media del Agua (Líquido de Referencia) durante la calibración. ⁽²⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.							
INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD							
Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si la suma del valor absoluto del error de medición con la incertidumbre expandida de medición es menor o igual al error máximo permitido (emp). Nota: El error máximo permitido (emp) está dado en el Apartado 7 (Tabla 1) de la ISO 1042:1998 y se muestra en la tabla de resultados.							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Nicolás Arellano						
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2021-03-31	FECHA DE EMISIÓN:	2021-04-06				
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2021-04-05	FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2022-04				



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:





Gerente técnico - Autorización EC:2203195P



Sustento legal de firma electrónica

ANEXO G: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA PIPETA MV/046

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-4321-017-21

							
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE							
NOMBRE:	AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑIA						
DIRECCIÓN:	FRANCISCO DE ORELLANA, CALLE JUAN HUNGITE SIN Y FRAY GREGORIO DE ALUMINIA						
TELÉFONO:	82661713						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	ING. ARMANDO MELÉNDEZ LARA						
IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN							
ITEM:	PIPETA DE PISTÓN	TIPO:	A				
MARCA:	MICROLIT	UNIDAD DE MEDIDA:	µl				
MODELO:	NO ESPECIFICA	DIVISIÓN DE ESCALA:	0.2				
SERIE:	21107029	INTERVALO DE MEDIDA:	(20 - 200) µl				
CÓDIGO ¹⁾ :	MV046	UBICACIÓN ²⁾ :	AREA INSTRUMENTAL 2				
EQUIPAMIENTO UTILIZADO							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
EL.ET.121	BALANZA ANALITICA	SARTORIUS	SECURA 225D-15	0034004249	2022-03-24	CC-0602-021-21	
EL.PT.091	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST-0215A	NO ESPECIFICA	2022-09-13	CC-4175-032-21	
EL.PT.466	BAROMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	2022-09-06	CC-4175-001-21	
EL.PT.771	TERMOHIGROMETRO	JUMO	LOGOSCREEN 600	04776450	2022-07-03	CC-2620-004-21	
DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA							
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt - Alemania) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).							
CALIBRACIÓN							
METODO:	GRAVIMETRICO						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 8655-6:2002						
PROCEDIMIENTO:	PEC.EL.25						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	21,1 °C	±0,1 °C					
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	49,2 %HR	±0,4 %HR					
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1011 hPa	±1 hPa					
DENSIDAD MEDIA DEL AIRE:	1,197 kg/m ³	±0,002 kg/m ³					
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN							
Volumen Nominal	Volumen Medido	Error de Medición	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (k)	Temperatura ¹⁾	emp	Cumplimiento
					°C		
200	200,05	-0,05	0,51	2,32	20,2	1,6	Cumple
100	100,18	-0,18	0,51	2,32	20,2	1,6	Cumple
20	20,13	-0,13	0,23	2,32	20,2	1,6	Cumple
Temperatura de Referencia: 20 °C					Nota: Se ha realizado 10 mediciones por cada punto de calibración.		
OBSERVACIONES							
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición U (intervalo de confianza) la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la autorización escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C).							
NOTAS:							
El error de indicación se muestra con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).							
¹⁾ Temperatura Media del Agua (Líquido de Referencia) durante la calibración.							
²⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.							
INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD							
Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si la suma del valor absoluto del error de medición con la incertidumbre expandida de medición es menor o igual al error máximo permitido (emp). Nota: El error máximo permitido (emp) está dado en el Apartado 7 (Tabla 1) de la ISO 8655-2:2002 y se muestra en la tabla de resultados.							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Nicolas Arellano						
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2022-01-11			FECHA DE EMISIÓN:	2022-01-13		
FECHA DE CALIBRACIÓN:	2022-01-13			FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:	2024-01		



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:






Gerente Técnico



Firma electrónica

ANEXO H: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE PIPETA MV/045

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-6321-018-21

							
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE							
NOMBRE:	AQLAB LABORATORIOS ACOSTA Y COMPAÑIA						
DIRECCIÓN:	FRANCISCO DE ORELLANA, CALLE JUAN HUNCITE SIN Y FRAY GREGORIO DE ALUMINA						
TELÉFONO:	62881715						
PERSONA(S) DE CONTACTO:	ING. ARMANDO MELÉNDEZ LARA						
IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN							
ÍTEM:	PIPETA DE PISTÓN	TIPO:	A				
MARCA:	GLASSCO	UNIDAD DE MEDIDA:	ml				
MODELO:	NO ESPECÍFICA	DIVISIÓN DE ESCALA:	0,05				
SERIE:	365046	INTERVALO DE MEDIDA:	(0,5 - 5) ml				
CÓDIGO ¹⁾ :	MV/045	UBICACIÓN ²⁾ :	AREA INSTRUMENTAL 1				
EQUIPAMIENTO UTILIZADO							
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO	
EL.ET.121	BALANZA ANALITICA	SARTORIUS	SECURA 2250-15	0034004249	2022-02-24	CC-0602-021-21	
EL.PT.091	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST-9215A	NO ESPECÍFICA	2022-09-13	CC-4170-032-21	
EL.PT.466	SARÓMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	2022-09-06	CC-4170-001-21	
EL.PT.771	TERMOHIGRÓMETRO	JUMO	LOGSCREEN 600	04776450	2022-07-03	CC-2920-004-21	
DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA							
Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt - Alemania) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).							
CALIBRACIÓN							
MÉTODO:	GRAVIMETRICO						
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 8655-6:2002						
PROCEDIMIENTO:	PECEL 25						
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)						
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	21,0 °C	±0,1 °C					
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	47,3 %HR	±0,3 %HR					
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1011 hPa	±1 hPa					
DENSIDAD MEDIA DEL AIRE:	1,198 kg/m ³	±0,002 kg/m ³					
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN							
Volumen Nominal	Volumen Medido	Error de Medición	Incertidumbre (U)	Factor de Cobertura (K)	Temperatura ³⁾	emp	Cumplimiento
ml	ml	ml	ml		°C	ml	
5	5,02962	-0,02962	0,00089	2,03	20,2	0,04	Cumple
2,5	2,53594	-0,03594	0,00051	2,06	20,2	0,04	Cumple
0,5	0,53678	-0,03678	0,00019	2,20	20,2	0,04	Cumple
Temperatura de Referencia: 20 °C					Nota: Se ha realizado 10 mediciones por cada punto de calibración.		
OBSERVACIONES							
La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición U (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente al 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C).							
NOTAS:							
El error de indicación se muestra con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).							
¹⁾ Temperatura Media del Agua (Líquido de Referencia) durante la calibración.							
²⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.							
INFORMACIÓN SOBRE DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD							
Regla de Decisión (Aceptación Simple): El ítem de calibración se acepta como conforme con el requisito especificado de emp (error máximo permitido) si la suma del valor absoluto del error de medición con la incertidumbre expandida de medición es menor o igual al error máximo permitido (emp). Nota: El error máximo permitido (emp) está dado en el Apartado 7 (Tabla 1) de la ISO 8655-2:2002 y se muestra en la tabla de resultados.							
DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD: De acuerdo a los resultados reportados en este certificado, el ítem de calibración CUMPLE con el requisito especificado de error máximo permitido (emp).							
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:		Nicolas Arévalo					
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:		2022-01-11		FECHA DE EMISIÓN:		2022-01-13	
FECHA DE CALIBRACIÓN:		2022-01-13		FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN:		2024-01	



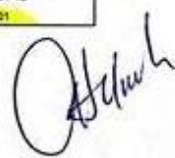
Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:


Gerente Técnico



Firma electrónica



ANEXO I: CERTIFICADO DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA DE PLOMO

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA

AccuStandard®

Tel (203)786-5299
Fax (203)786-5287
www.AccuStandard.com


CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard


Catalog No: AA29N-1
Description: Lead AA Standard
Element: Lead (Pb)
SRM: 3128
Lot: 221C25033
Matrix: 2-5% Nitric acid
Hazards: Refer to SDS for complete safety information

Date Certified: Feb 10, 2021
Expiration: Feb 10, 2026
Sample Size: 100 mL
Component: 1
Storage Condition: Ambient (>5 °C)

Signal Word: Danger



Certified Reference Material

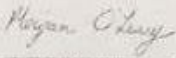


Component	SRM #	Prepared Concentration (µg/mL)
Pb Lead	3128	1000

This Certified Reference Material was verified in accordance with ISO/IEC 17025. A product with a suffix (-1A, -2B, etc. or -01, -02, etc.) on its lot number has had its expiration date extended and is identical to the same lot number without the suffix. The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±2.4%. In order to verify the concentration(s), the final solution was checked by plasma emission spectroscopy (ICP) against material traceable to the above listed NIST SRM(s).

This standard was prepared using ACS grade or better starting materials, high purity acids and ASTM Type 1 10-megohm deionized water. All weights are traceable through NIST, Test No. 654/2695/1-17. All glassware used in preparation is Class A.

Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only deionized Class A volumetric glassware. Keep bottle tightly capped.

Certified By: 
Megan O'Leary, Organic QC Manager

Page 1 of 1 - Rev. 2

For use in routine laboratory analysis

AccuStandard is accredited to ISO 17034, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001:2015

CR-ORG-IND-001
Rev. 100

ANEXO J: CERTIFICADO DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA DE ARSÉNICO

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



Tel: (203) 786-3290
Fax: (203) 786-3287
www.AccuStandards.com

546

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Catalog No: AA03N-1
Description: Arsenic AA Standard
Element: Arsenic (As)
SRM: 3103a
Lot: 218125035-01
Matrix: 2-5% Nitric acid
Hazards: Refer to SDS for complete safety information

Date Certified: Mar 12, 2021
Expiration: Mar 12, 2026 ✓
Sample Size: 100 mL
Components: 1
Storage Condition: Ambient (>5 °C)

5-46
Meyer 29-09-2022



Signal Word: Danger



ANAB AR-1463
HAC-META

Component	SRM #	Prepared Concentration (µg/mL)
As Arsenic	3103a	1000

This Certified Reference Material was verified in accordance with ISO/IEC 17025. The gravimetric uncertainty for this product is ±0.24%. The CRM uncertainty is ±2.4%. In order to verify the concentration(s), the final solution was checked by plasma emission spectroscopy (ICP) against material traceable to the above listed NIST SRM(s). This standard was prepared using ACS grade or better starting materials, high purity acids and ASTM Type 1 18 megohm deionized water. All glassware used in preparation is Class A. All weights are traceable through NIST, Test No. 684/269871-17. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware. Keep bottle tightly capped.

Megan O'Leary
Certified By: Megan O'Leary, Inorganic QC Manager

Page 1 of 1

For use in routine laboratory analysis.

AccuStandard is accredited to ISO 17034, ISO/IEC 17025 and certified to ISO 9001:2015

QR-ORG-IND-001 Rev: 7/20

ANEXO K: CERTIFICADO DEL MATERIAL DE REFERENCIA

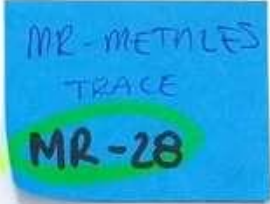
Certificate of Analysis

Trace Metals 1-WP

*Certified
Reference
Material*

Description

Product ID: QC1132-20ML
 Lot: LRAC9388
 Expiration Date: March 2024
 Manufacturing Date: March 2021
 Storage Conditions: ROOM TEMPERATURE
 Solvent/Matrix: 5% NITRIC ACID




Certified Values

Analyte	Units	Certified Value ^{1,4}
Aluminum, Al	µg/L	807 ± 12
Arsenic, As	µg/L	121 ± 2
Beryllium, Be	µg/L	316 ± 4
Cadmium, Cd	µg/L	166 ± 2
Chromium	µg/L	186 ± 1
Cobalt, Co	µg/L	554 ± 6
Copper, Cu	µg/L	133 ± 1
Iron, Fe	µg/L	395 ± 7
Lead, Pb	µg/L	1079 ± 10
Lithium, Li	µg/L	540 ± 24
Manganese, Mn	µg/L	1001 ± 17
Mercury, Hg	µg/L	10.9 ± 0.6
Nickel, Ni	µg/L	788 ± 10
Selenium, Se	µg/L	157 ± 3
Vanadium, V	µg/L	1406 ± 18
Zinc, Zn	µg/L	629 ± 7

Informational Values

Analyte	Units	Suggested Acceptance Windows	Standard Deviation
Aluminum, Al	µg/L	659 to 956	49.5
Arsenic, As	µg/L	90.4 to 152	10.3
Beryllium, Be	µg/L	269 to 363	15.8
Cadmium, Cd	µg/L	141 to 191	8.30
Chromium	µg/L	158 to 214	9.30
Cobalt, Co	µg/L	471 to 637	27.7
Copper, Cu	µg/L	113 to 153	6.65
Iron, Fe	µg/L	336 to 454	19.8



Page 1 of 3

SIGMA-ALDRICH
2931 Soldier Springs Rd. Laramie, Wyoming 82070 USA
 800-325-5832
 TechService@mail.porelsigma.com www.sigma-aldrich.com

ANEXO L: TOMA DE MUESTRAS DE AGUA



ANEXO M: FILTRACIÓN DE MUESTRAS DE AGUA



ANEXO N: EQUIPO POR HORNO DE GRAFITO





esPOCH

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: 20 / 07 / 2023

INFORMACIÓN DE LOS AUTORES
Nombres – Apellidos: Sharon Briggette Andi Barrera Rubén Javier Toapanta Topón
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias.
Carrera: Ingeniería Ambiental.
Título a optar: Ingeniera/o Ambiental.
f. responsable: Ing. Cristian Sebastian Tenelanda Santillan.

Cristian Tenelanda.S

24-07-2023.



1435-DBRA-UPT-2023