

Capítulo IV

Validación del método de análisis (4500 NO₃-B) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta

.....

Jhon Jairo Rios Acevedo
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-9972-4591

Carolina Castillo Suárez
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-9459-3032

Jhonny Randall Manzano Lozano
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-8172-2467

Capítulo IV

Validación del método de análisis (4500 NO₃-B) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta

Jhon Jairo Rios Acevedo
Carolina Castillo Suárez
Jhonny Randall Manzano Lozano

Resumen. *Se validó el método de espectroscopia UV para la determinación de nitratos en muestras de agua potable para consumo humano. Se realizó la evaluación del rango lineal encontrándose que la expectativa de determinar este analito se encuentra entre 0.5 y 10.0 mg/L con un coeficiente de correlación (r) de 0.9997 a una longitud de onda de 220nm. La cantidad mínima detectable y cuantificable en las condiciones analíticas desarrolladas bajo este método son de 1.26 y 1.33 mgNO₃/L respectivamente. En la precisión se encontró un coeficiente de variación para la repetibilidad en muestras adicionadas a niveles bajos y altos entre 0.17%-0.21 % y 0.14%-0.25% respectivamente y para la reproducibilidad se encontró un coeficiente de variación en muestras adicionadas a niveles bajos y altos entre 0.20%-0.26 % y 0.26%-0.30% correspondientemente. Los porcentajes de recuperación del analito estuvieron entre el 101.0% y 105.2%.*

Palabras clave: espectroscopia UV-Vis, trazabilidad, validación.

Abstract. *The method UV spectroscopy was validated for the determination of nitrate in drinking water samples for human consumption. Evaluation was made linear range was found that the expectation determine analyte is between 0.5 and 10.0 mg/L with a correlation coefficient (r) of 0.9997 at a wavelength 220 nm. The*

minimum detectable and quantifiable analytical conditions developed under this method are 1.26 and 1.33 mgNO₃⁻/L respectively. The accuracy was found a coefficient of variation for repeatability in spiked samples at low and high levels between 0.17%-0.21 % and 0.14%-0.25 % respectively and for reproducibility coefficient was found variation in spiked samples at low and high levels between 0.20%-0.26 % and 0.26%-0.30 % respectively. The analyte recoveries were between 101.0 % and 105.2 %.

Keywords: UV-Vis spectroscopy, traceability, validation.

4.1. Introducción

La calidad de vida de todos los seres del planeta está íntimamente ligada a la calidad y cantidad disponible de agua. En Colombia, no obstante a su altísimo potencial hídrico, aún hoy, es escaso para muchas poblaciones, otras no disponen de ella en la cantidad y calidad adecuadas, debido a un manejo inadecuado del recurso, unido a un insuficiente control de su contaminación.

Si bien, la solución a esta problemática exige políticas de manejo y conservación de los recursos en general y particularmente del agua, junto con políticas económicas, sociales y educativas bien diseñadas, se demanda inevitablemente de investigación científica que aporte explicaciones a los problemas ambientales, plantee alternativas de solución a los mismos y metodologías de seguimiento y control. En este sentido, el desarrollo de técnicas de análisis fisicoquímico de aguas constituye una herramienta de alta relevancia.

Una de las causas de degradación de los cuerpos de agua es el vertimiento de aguas residuales sin un adecuado tratamiento previo; con estos se aportan entre otros contaminantes, altas cargas de compuestos de nitrógeno en sus diversas formas: nitritos, nitratos, nitrógeno orgánico, nitrógeno gaseoso disuelto y nitrógeno amoniacal, principalmente de las aguas residuales domésticas, de uso agrícola y de algunos sectores industriales como el de procesamiento de carnes y de leche [1].

La determinación de los nitratos en aguas potables para consumo humano es significativo, concentraciones de nitrógeno que sobrepasan los 10 ppm pueden causar una enfermedad infantil conocida como metahemoglobinemia o “síndrome del bebé azul”. En infantes o en fetos, una mayor proporción de hemoglobina se convierte más fácilmente en metahemoglobina, generando trastornos en el transporte de oxígeno en sangre [2, 3].

Por otra parte, los nitratos así como los fosfatos, constituyen parte de los nutrientes esenciales para muchos organismos autótrofos o fotosintéticos; concentraciones altas pueden causar eutrofización o crecimiento desmedido de algunas especies vegetales, tales como el buchón de agua, que cubren con un manto vegetal la superficie

del agua, impidiendo de esta forma la oxigenación natural de ríos y lagos [4, 5].

Los nitratos y el amonio, constituyen indicadores apropiados de aguas residuales domésticas. Los primeros, son típicos de las aguas residuales domésticas frescas y son móviles y estables en condiciones aeróbicas, mientras que el segundo, aunque es también típico de aguas residuales frescas, se evapora con facilidad y/o se absorbe fácilmente en el subsuelo [6], [7].

Implementar sistemas de aseguramiento de calidad, con métodos analíticos validados para especies nitrogenadas, permite avalar el cumplimiento a las especificaciones y atributos de calidad del agua [8]. En este estudio se validó e implementó un sistema de aseguramiento de calidad para nitratos en muestras de aguas potables por el método de análisis ($4500 \text{ NO}_3\text{-B}$) *screening* por espectrofotometría ultravioleta, permitiendo avalar el cumplimiento a las especificaciones y atributos de calidad del agua del corregimiento Paso de la Bolsa, perteneciente al municipio de Jamundí, Valle del Cauca.

4.2. Metodología

El proceso se llevó a cabo contemplando la norma oficial recomendada de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales [8]. La muestra se pasó a través de un papel filtro (Whatman No. 1) de 150 mm para eliminar las posibles interferencias de las partículas en suspensión, luego se acidificó con ácido clorhídrico 1.0 N, como inhibidor de interferencias de hidróxido o carbonato hasta $1000 \text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$, seguido de agitación vigorosa.

4.2.1. Equipos

Las mediciones de masa se realizaron en balanza analítica Metter Toledo (serie: 1120413608; modelo: AB 204s), las absorbancias experimentales se obtuvieron en espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific (serie: 2L6P354001; modelo: G10s UV-VIS; precisión fotométrica ± 0.005 unidades de absorbancia), todas las soluciones se prepararon con agua tipo I, obtenidas de un sistema de purificación de agua (Milli-Q. serie: B8JM23840-E; modelo: Academic / Osmosis Inversa. Serie: F8NN17319-F; modelo: Elix 5)

4.2.2 Reactivos

En la siguiente tabla se relaciona los reactivos utilizados y su trazabilidad.

Tabla 4.1. Trazabilidad de los reactivos empleados.

Reactivo	Concentración y/o Pureza	Código	Marca/Lote	Trazabilidad
Estándar de nitrato	1000 mg/L NO ₃ ⁻	1.19811.0500	MERCK HC086318	SRM desde NIST NaNO ₃ en H ₂ O 1000 mg/L NO ₃ <u>CertiPUR</u>
<u>Ftalato</u> ácido de potasio	99.55 %	471865	Carlo <u>Erba</u> 7L263058E	No aplica

Fuente: Elaboración propia

4.2.3. Preparación de los reactivos

- Ácido clorhídrico 1.0 N: usando agua tipo I se disolvió 88.49 mL de ácido clorhídrico al 37% a 1L.
- Solución intermedia de 100 mg NO₃⁻/L y solución intermedia de 10 mg NO₃⁻/L: Se obtuvieron por dilución del estándar de NO₃⁻ de 1000 mg NO₃⁻/L.
- Ftalato ácido de potasio 500 mg/L: Se pesó 0.0251g de Ftalato ácido de potasio al 99.55% y se enrazó a 50 mL con agua tipo I.

4.2.4. Muestras

Las aguas potables analizadas fueron obtenidas en el corregimiento Paso de la Bolsa, perteneciente al municipio de Jamundí, Valle del Cauca. El proceso se llevó a cabo contemplando la norma oficial recomendada de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. El tratamiento de la muestra consistió en filtrar la muestra a través de un papel filtro Whatman No. 1 de 150 mm para eliminar las posibles interferencias de las partículas en suspensión, luego se acidificó con ácido clorhídrico 1.0N, de esta manera se evita la existencia de interferencias de concentraciones de hidróxido

o carbonato hasta 1000mg CaCO₃ L⁻¹, después se agitó vigorosamente. Seguidamente las muestras fueron analizadas.

4.2.5 Diseño experimental.

La Tabla 4.2 muestra el diseño experimental realizado:

Tabla 4.2. Cantidad de soluciones en el diseño experimental.

Tamaño de muestras	Número de lotes	Soluciones por lote	Réplicas por lote	Preparación
21	3	7	3	Diaria

Fuente: Elaboración propia

Determinación del rango lineal

Para la determinación del rango lineal se estimaron cuatro niveles de calibración, rangos bajo, medio, alto y lineal; las concentraciones de nitratos (NO₃⁻) utilizados son observables en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Cantidad de soluciones en el diseño experimental.

Concentración (mg NO ₃ ⁻ /L)	Rango
0.5 - 2.0	Bajo
2.0 - 6.0	Medio
6.0 - 10.0	Alto
0.5 - 10.0	Lineal

Fuente: Elaboración propia

Límite de detección y cuantificación

El límite de detección y cuantificación del instrumento se calculó a partir de la pendiente de la curva de calibración de rango lineal y de la desviación estándar de las determinaciones de los blancos obtenidas a través del proceso experimental [9].

El cálculo del límite de detección consideró las siguientes ecuaciones:

$$LD = k \frac{S_B}{b}, \quad k = 3 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$LD = \frac{p+3q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 2}$$

El cálculo del límite de cuantificación se estableció aplicando las siguientes ecuaciones:

$$LC = k \frac{S_B}{b}, \quad k = 10 \quad \text{Ecuación 3}$$

$$LC = \frac{p+10q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Interferencias de matriz.

Se construyeron curvas de calibración regular y de adición de estándar, en rangos de concentraciones entre 0,5-10,0 y 0,0-10,0 mg NO₃⁻/L respectivamente, datos por triplicado para cada nivel. Además, se determinó la concentración de nitratos de una muestra de agua potable por ambas curvas, realizando tres determinaciones.

Precisión.

La precisión del instrumento y del analista se determinaron por repetibilidad y por reproducibilidad (analistas) de las determinaciones con un mismo instrumento por medio de un ANOVA con lo cual se estableció la componente sistemática de la varianza y la componente por reproducibilidad [10, 11].

La repetibilidad que describe la variabilidad de las mediciones dentro de rachas y la reproducibilidad que refiere la variabilidad de las mediciones entre rachas representada por la suma de las dos componentes:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 \quad \text{Ecuación 5}$$

Se utilizó para evidenciar la existencia de posibles errores y su respectiva contribución [10, 11].

$$S_L^2 = \frac{s_R^2 - s_b^2}{-n} \quad \text{Ecuación 6}$$

Exactitud

La exactitud se evaluó mediante la recuperación en una muestra natural dopada. Para ello se realizaron dos adiciones con el 30% y el 80% respectivamente de la concentración promedio de nitratos de la muestra natural. Los valores aceptados de recuperación, como criterio de validación, fueron entre 90% y 120%.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1 Linealidad.

La respuesta de la señal (Abs) proporcionada por el instrumento para las concentraciones de nitratos (NO_3^-) entre los rangos bajo, medio, alto y lineal establecidos en la Tabla 4.3 se ajustan al modelo lineal, confirmado con los coeficientes de correlación y de determinación como medidas descriptivas (Tabla 4.4).

Las figuras 4.1, 4.2, 4.3 exhiben gráficamente la respuesta de la asociación entre la concentración en $\text{mg NO}_3^-/\text{L}$ y la respuesta del instrumento en unidades de absorbancia, para los rangos bajo, medio y alto respectivamente.

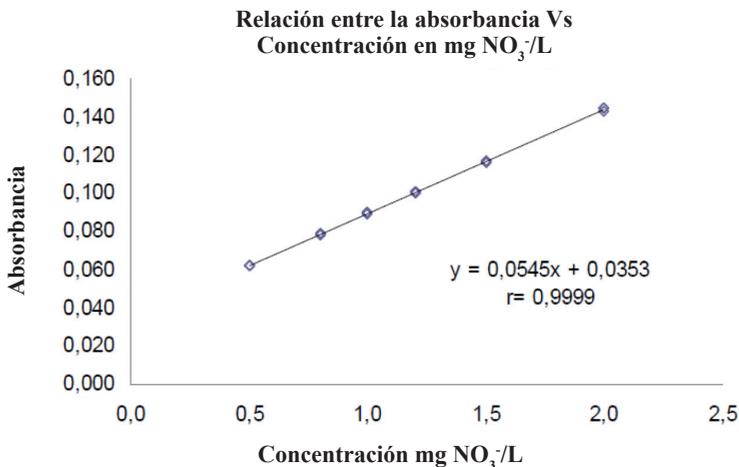


Figura 4.1. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango bajo.

Fuente: Elaboración propia

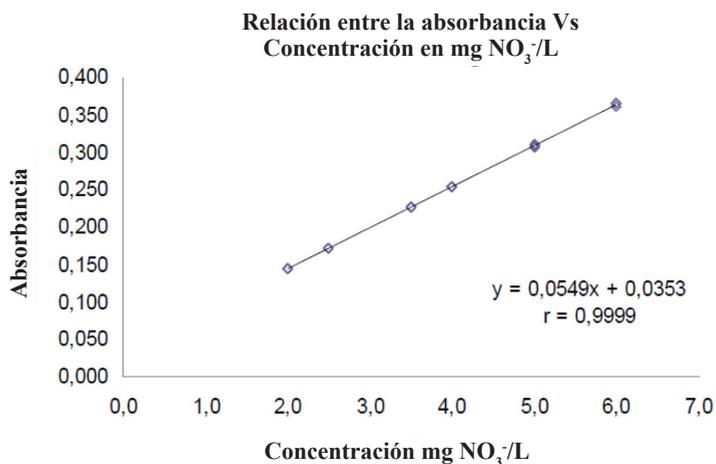


Figura 4.2. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango medio.
Fuente: Elaboración propia

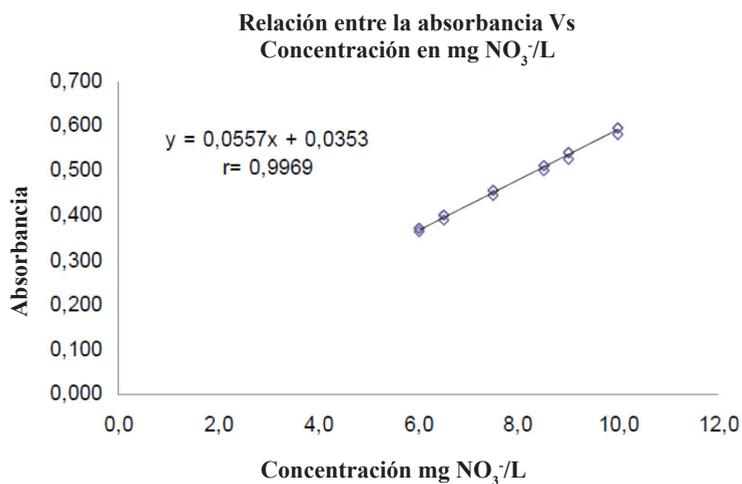


Figura 4.3. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango alto.
Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.4, corresponde a la representación gráfica del rango lineal de la asociación entre 0,5 y 10 mg NO₃⁻/L con la respuesta del instrumento en unidades de absorbancia.

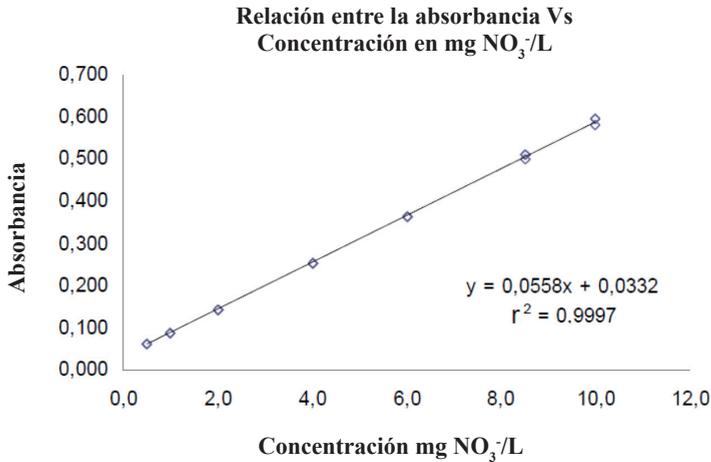


Figura 4.4. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango lineal.

Fuente: Elaboración propia

Los valores hallados de la pendiente, el intercepto con sus respectivas desviaciones estándar, el coeficiente de determinación, el coeficiente de correlación y la desviación estándar de la regresión, describen que existe una adecuada relación causa-efecto según los resultados experimentales.

Tabla 4.4. Parámetros de regresión lineal para las rectas de calibración

Parámetros	Estimado			
	RB	RM	RA	RL
Ecuación de la recta de calibración	Y=0,0545x+0,0353	Y=0,0549x+0,0353	Y=0,0557x+0,0353	Y=0,0546x+0,0353
Pendiente (b)	0,05447 ± 0,00017	0,05490 ± 0,00016	0,05566 ± 0,00109	0,05576 ± 0,00027
Intercepto (a)	0,03530 ± 0,00022	0,03530 ± 0,00065	0,03534 ± 0,00879	0,03316 ± 0,00157
Coefficiente de determinación (r ²)	0,9998	0,9998	0,9939	0,9995
Coefficiente de correlación	0,9999	0,9999	0,9969	0,9997
Desviación estándar de la regresión (S _R)	0,0003518	0,0009331	0,0064804	0,0043374

RB: Rango Bajo, RM Rango Medio, RA: Rango alto, RL: Rango Lineal

Fuente: Elaboración propia

Coefficiente de correlación momento-producto de Pearson

La medición del grado en que dos (o más) variables varían conjuntamente es materia del análisis de correlación, la medida relativa de la bondad del ajuste es el coeficiente de determinación, r^2 , en relación con la regresión entre Y y X [14].

En los análisis realizados, el coeficiente de correlación entre la asociación lineal existente entre la absorbancia a 220 nm (Y) y la concentración de nitratos X fueron altas, cercanas a uno (1). Los valores de los coeficientes de correlación para los rangos bajo, medio, alto y lineal fueron 0.9999; 0.9999; 0.9969 y 0.9997 respectivamente, correspondientes a correlaciones positivas que coinciden con el tipo de pendientes obtenidas que establecen incremento de la concentración de nitratos con el aumento la absorbancia detectada por el equipo. Los valores de correlación experimentales superan el coeficiente de correlación $r=0.9950$ establecido por los métodos normalizados para análisis de aguas y aguas residuales como criterio de aceptación para los procedimientos de calibración.

Coefficiente de determinación.

Los valores de los coeficientes de determinación, r^2 , para los rangos bajo, medio, alto y lineal fueron 0.9998, 0.9998, 0.9939 y 0.9995 muy cercanos a uno (1) indican la poca diferencia entre los puntos de calibración y el promedio de las observaciones lo que significa que los puntos de calibración se ajustan perfectamente a la recta de regresión. Además, se denota que la variable de concentración de nitratos atribuye el 99.98%, 99.98%, 99.39% y 99.95% respectivamente de su asociación lineal con la absorbancia a 220 nm.

Desviación estándar de la regresión (S_R).

La variabilidad de las regresiones lineales ajustadas para los rangos bajo, medio, alto y lineal y fueron de 0.0003518, 0.0009331, 0.0064804 y 0.0043374 mg NO₃⁻/L respectivamente. Estos valores muestran poca dispersión de los valores experimentales con respecto a los datos ajustados que describen cada una de las rectas de regresión, indicando que la diferencia entre los valores experimentales y predichos es muy baja.

Análisis de varianza.

Las causas de variabilidad de la variable *Y* se deben a la relación lineal (regresión) y a la resultante de la variabilidad experimental (error). El análisis de varianza corresponde a la significancia del ajuste, separando estas dos causas, y su incidencia sobre la variable dependiente *Y* reportada en la Tabla 4.5. Las variabilidades totales de la variable dependiente *Y*, en el rango bajo, absorbancia de nitratos son de 0.01258044 atribuible en 0.01257846 (99.99%) a la asociación lineal entre *X* e *Y*, y a la variación aleatoria o error en 1.97987×10^{-6} (0.015%); no dista de los datos encontrados en el rango medio con 99.9% de asociación y 0.014% error; y el rango lineal con 99.97% y 0.046%. Sin embargo, en rango alto se encontró alta asociación lineal de 99.69% pero con un error mayor del 0.61%. En general, la mayor parte de la variabilidad de *Y* se explica por la regresión, más que por el efecto aleatorio, por lo tanto el supuesto de regresión lineal es razonable.

La comprobación de la certeza de las causas de variabilidades mediante prueba de hipótesis (Tabla 4.5) con un nivel de significancia del 5%, establecen valores *F* experimentales mayores que los valores críticos para todos los rangos bajo, medio, alto y lineal, atribuyendo que la fuente principal de la probabilidad son las asociaciones lineales entre las variables con muy baja contribución al azar, el cual es menor al nivel de significación de α para dos colas (0.025).

Tabla 4.5. Resultado del ANOVA para las curvas de calibración para los rangos bajo, medio, alto y lineal.

		Coefficientes	Error típico	t *	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
RB	a	0,0353	0,00022	163,528	$3,21 \times 10^{-27}$	0,03484	0,03576
	b	0,05447	0,00017	318,827	$7,39 \times 10^{-32}$	0,05410	0,05483
RM	a	0,0353	0,00065	54,1705	$1,47 \times 10^{-19}$	0,03392	0,03668
	b	0,0549	0,00016	343,081	$2,29 \times 10^{-32}$	0,05456	0,05524
RA	a	0,0353	0,00877	4,02311	0,00098	0,01670	0,05390
	b	0,05567	0,00109	51,0015	$3,84 \times 10^{-19}$	0,05335	0,05798
RL	a	0,03316	0,00157	21,0965	$1,20 \times 10^{-14}$	0,02987	0,03645
	b	0,05576	0,00027	203,133	$3,59 \times 10^{-33}$	0,05519	0,05634

RB: Rango Bajo, RM Rango Medio, RA: Rango alto, RL: Rango Lineal

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de hipótesis

La Tabla 4.6 muestra la prueba de hipótesis con un nivel de significación del 5% y planteando la hipótesis nula: No existe asociación lineal entre las variables de absorbancia y concentraciones de nitrato; se consideró el estadístico t estimado para los grados de libertad y se concluyó que la hipótesis nula se rechaza, es decir, sí existe una asociación lineal entre la concentración de nitratos y la absorbancia a 220nm.

La validez de los interceptos con la hipótesis nula para cada uno de los rangos (bajo, medio, alto y lineal) en donde estadísticamente no existe correlación entre X e Y , a un nivel de confianza del 95% es observable en la Tabla 4.7; en cada uno de los datos el $t_{crítico}$ a dos colas es menor que el $t_{estadístico}$ rechaza la hipótesis nula y concluye que existe una correlación significativa entre los puntos evaluados.

Tabla 4.6. Valores estadísticos de t y error típico para las pendientes y el intercepto de la ecuaciones de regresión.

		Coefficientes	Error típico	t^*	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
RB	a	0,0353	0,00022	163,528	$3,21 \times 10^{-27}$	0,03484	0,03576
	b	0,05447	0,00017	318,827	$7,39 \times 10^{-32}$	0,05410	0,05483
RM	a	0,0353	0,00065	54,1705	$1,47 \times 10^{-19}$	0,03392	0,03668
	b	0,0549	0,00016	343,081	$2,29 \times 10^{-32}$	0,05456	0,05524
RA	a	0,0353	0,00877	4,02311	0,00098	0,01670	0,05390
	b	0,05567	0,00109	51,0015	$3,84 \times 10^{-19}$	0,05335	0,05798
RL	a	0,03316	0,00157	21,0965	$1,20 \times 10^{-14}$	0,02987	0,03645
	b	0,05576	0,00027	203,133	$3,59 \times 10^{-33}$	0,05519	0,05634

* Tomada de Miller, J.c.; Miller, J.n; **2002**. Estadística y quimiometría para química analítica. p. 263.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4.7. Prueba de la hipótesis nula estimada para cada rango, de acuerdo a su respectivo grado de libertad, a un nivel de confianza t de $\alpha= 5\%$

Rangos	n	r	r ²	t _{calculado}	GL	t _{teórico (n-2) $\alpha= 5\%$}
RB	18	0,9999	0,9998	318,827479	16	2,12
RM	18	0,9999	0,9998	343,080659	16	2,12
RA	18	0,9969	0,9939	51,0015316	16	2,12
RL	21	0,9997	0,9995	203,132638	19	2,10

Fuente: Elaboración propia

Diagramas de dispersión.

Como se observa en las Figuras 4.5 a 4.8 existe una dispersión de los residuos contra los valores predichos, de manera uniforme, así mismo la distribución de los puntos es aleatoria y no muestra ninguna tendencia, lo que significa que los puntos son homocedásticos (homogeneidad de la varianza), es decir que los errores en la señal analítica son constantes al aumentar la concentración.

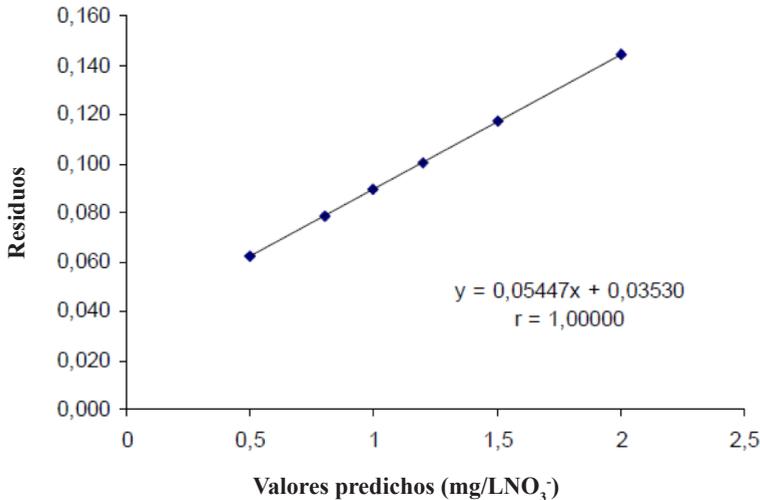


Figura 4.5. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango bajo.

Fuente: Elaboración propia

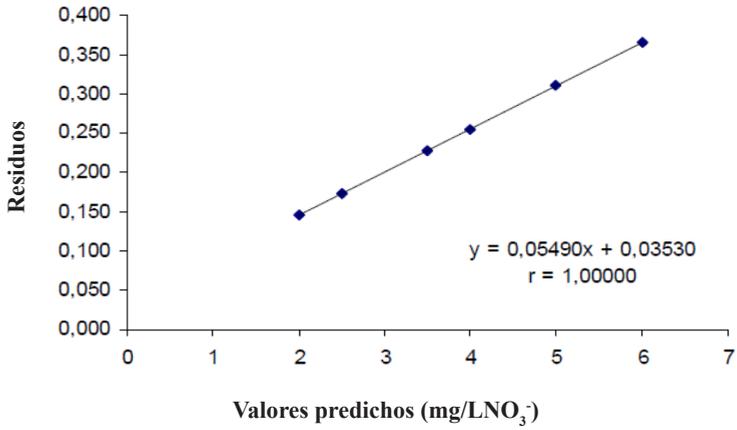


Figura 4.6. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango medio.
Fuente: Elaboración propia

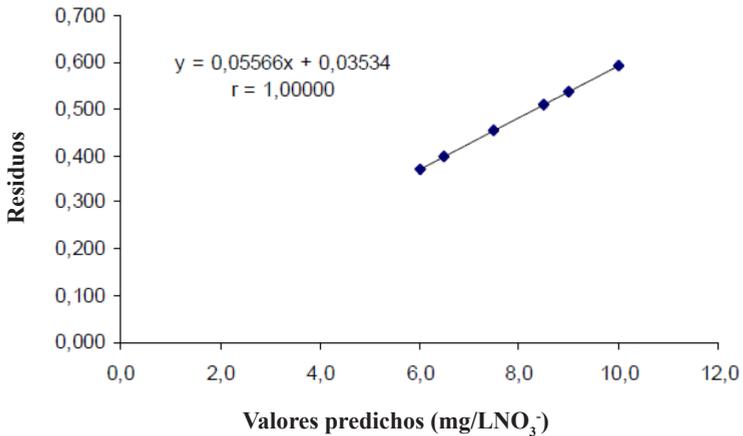


Figura 4.7. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango alto.
Fuente: Elaboración propia

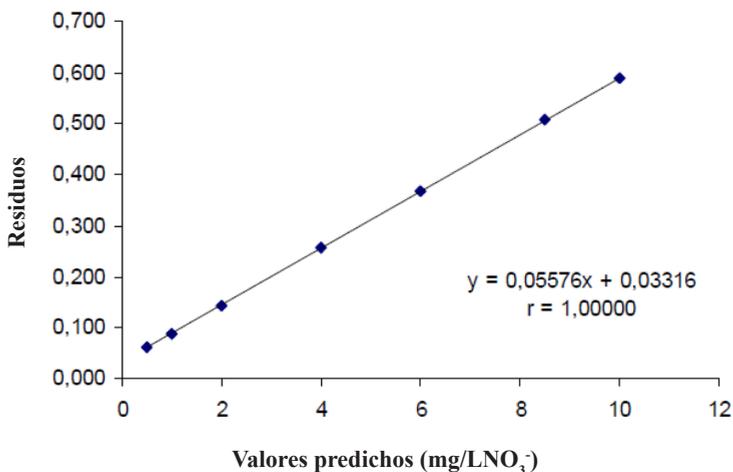


Figura 4.8. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango lineal.

Fuente: Elaboración propia

Análisis de residuales.

La Figura 4.9 muestra la existencia de la posibilidad de dos datos con características de *Out-Layer* de acuerdo con los valores anteriormente analizados y sus residuos estándares, Tabla 4.8.

El análisis de los valores anómalos mediante el estadístico Q de Dixon concluye que el ajuste lineal es congruente y confiable para la estimación de la concentración de nitratos en mg NO₃⁻/L a partir de la absorbancia leída por el espectrofotómetro Thermoelectron a 220 nm, luego de llevada la reacción con los reactivos en solución utilizados durante el ensayo, debido a que el estadístico calculado es menor que el crítico. El modelo que cumple con esta linealidad es $y = 0,058x + 0,0332$; donde X , es la concentración de nitratos en mg/L y Y es la absorbancia a 220 nm, Tabla 4.9.

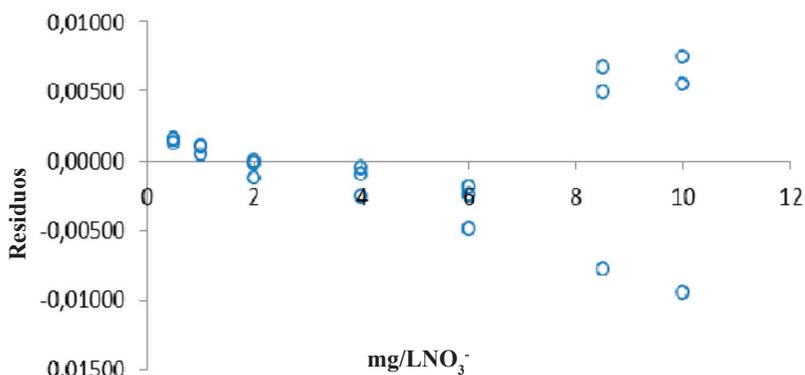


Figura 4.9. Representación de los residuos determinados en el intervalo lineal.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.8. Valores de residuos y residuos estándares

n	Pronóstico (Abs)	R	R _s
1	0,061042718	0,00156	0,368360769
2	0,061042718	0,00161	0,380187812
3	0,061042718	0,00131	0,309225557
4	0,088924607	0,00098	0,230720389
5	0,088924607	0,00108	0,254374474
6	0,088924607	0,00048	0,112449964
7	0,144688383	-0,00019	-0,044560371
8	0,144688383	0,00001	0,002747799
9	0,144688383	-0,00119	-0,281101222
10	0,256215937	-0,00252	-0,595121891
11	0,256215937	-0,00092	-0,21665653
12	0,256215937	-0,00052	-0,12204019
13	0,367743491	-0,00244	-0,57798537
14	0,367743491	-0,00184	-0,436060859
15	0,367743491	-0,00484	-1,145683412
16	0,507152933	0,00500	1,182010537
17	0,507152933	0,00670	1,584129983
18	0,507152933	-0,00775	-1,833885312
19	0,590798598	0,00550	1,301306311
20	0,590798598	0,00750	1,774388013
21	0,590798598	-0,00950	-2,246806453

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.9. Caracterización de los datos Out-Layer en la representación de los residuos.

X_i (mg/L)	Y_i (Abs)	Y_i Abs Corregida	$H_0 = Q_{\text{estadístico}} < Q_{\text{crítico}}$ $Q_{\text{crítico}} = 0,97$	
8.5	0.5122	0.51215		
8.5	0.5139	0.51385	0.88235294	Acepta
8.5	0.4994	0.4994		
10.0	0.5963	0.5963		
10.0	0.5983	0.5983	0.88235294	Acepta
10.0	0.5813	0.5813		

Fuente: Elaboración propia

4.3.2. Límite de detección y límite de cuantificación del instrumento.

El límite de detección y cuantificación del instrumento se calcula a partir de la pendiente de la curva de calibración de rango lineal reportada en la Tabla 4.4, y de la desviación estándar de las determinaciones de los blancos obtenidas a través del proceso experimental. El límite de detección reportado para el instrumento es de 0,201 mg NO₃⁻/L comparado con el límite de detección obtenido a partir de la ecuación 1 fue de 0,233 mg NO₃⁻/L. Además, el límite de cuantificación reportado para el equipo es de 0,65 mg NO₃⁻/L, comparado con el límite de cuantificación aplicando la ecuación 3 fue de 0,777 mg NO₃⁻/L; en ambos casos se puede considerar aceptable.

Límite de detección y límite de cuantificación del método.

La Tabla 4.10 muestra los datos utilizados para la determinación de los límites de detección y cuantificación por análisis de extrapolación a partir del rango inferior de la curva de calibración y por triplicado de cuatro muestras de concentraciones bajas: 0,2, 0,4, 0,6 y 1,0 ppm generan una curva lineal con $Abs = 0.05392[NO_3^-] + 0.03308$. La extrapolación a concentración cero correspondiente a la señal del ruido correspondiente: $A_{bco} = p = 0.6135$.

Por otro lado, la desviación estándar del blanco se calcula de la recta $SD = 0.0166 [NO_3^-] + 2.77 \times 10^{-4}$, el intercepto corresponderá a la desviación estándar del blanco, $SD_{bco} = q = 0.0166$.

Tabla 4.10. Determinación del LD y LC a partir del rango de concentraciones bajas.

<i>mgNO₃⁻/L</i>	<i>Abs</i>		\overline{Abs}	<i>SD</i>
0,2	0,04436	0,04378	0,04318	0,00059003
0,4	0,05552	0,05484	0,05356	0,00099519
0,6	0,06668	0,06614	0,06434	0,00122523
0,8	0,07784	0,07552	0,07472	0,00162053

Fuente: Elaboración propia

Aplicando la ecuación 2 se obtiene que el límite de detección es:

$$LD = \frac{p+3q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} = 1,257865914$$

El límite de cuantificación determinado mediante la ecuación 4 es:

$$LC = \frac{\overline{A}_{bco} + 10S_{bco}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} = 1,329879456$$

4.3.3. Análisis de interferencias de matriz.

Las curvas de calibración regular y de adición de estándar entre 0,5-10,0 y 0,0-10,0mg NO₃⁻/L respectivamente, con tres mediciones para cada nivel de concentración son observables en la Tabla 4.11.

La Tabla 4.12 muestra el análisis de diferencia significativa entre las dos curvas con respecto a los valores de las pendientes, los datos prueban con un el contraste estadístico *t* (ecuación 7) que las pendientes estadísticamente no son significativamente diferentes [12].

Tabla 4.11. Curvas de calibración normal y por adición estándar

Curva de calibración regular		Curva de calibración de adición estándar	
Estándar mg NO ₃ ⁻ /L	Abs	Estándar mg NO ₃ ⁻ /L	Abs
0.5	0.062533	0	0.059926
1	0.089767	0.5	0.081644
2	0.144233	1	0.102989
4	0.254900	2	0.157579
6	0.364700	4	0.273373
8.5	0.508467	6	0.381761
10.0	0.591967	8.5	0.534663
		10.0	0.616865

Parámetro	Regular	Adición de estándar
b	0,05576 ± 0,0002	0,05637 ± 0,0006
a	0,03316 ± 0,0012	0,05064 ± 0,0033
r	0,99997	0,99964
mg NO₃⁻/L	0,948 ± 0,040	0,898 ± 0,066

Fuente: Elaboración propia

$$t = \frac{(\bar{x}_a - \bar{x}_s)}{s \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_s}}} \quad s^2 = \frac{(n_a - 1)s_a^2 + (n_s - 1)s_s^2}{(n_a + n_s - 2)} \quad \text{Ec 7.}$$

Tabla 4.12. Contraste de significación entre las pendientes de las calibraciones regular y de adición de estándar.

Pendiente b_a, b_{ac}	Hipótesis	t _{estadístico}	t _{crítico}	Comparación	Decisión
0.56676	H ₀ : b _a = b _{ac}	0.1748	2.20	t _{estadístico} < t _{crítico}	Se acepta H ₀
0.05064	H ₁ : b _a ≠ b _{ac}				

Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.10 muestra que las curvas son paralelas, lo que corresponde a que no existen interferencias de matriz en el método, es decir, que las señales analíticas medidas por ambas curvas difieren en un valor constante y que cualesquiera de ellas es útil para medir la concentración, como lo confirman las concentraciones determinadas

por ambas curvas. El método de adición de estándar es dispendioso y no proporciona la misma precisión que el método convencional, ya que las concentraciones se determinan por extrapolación y, por tal razón es más conveniente y práctico utilizar una curva de calibración regular; sin embargo en la comparación realizada las precisiones son muy similares como lo demuestra la desviación estándar de la concentración encontrada por ambas curvas.

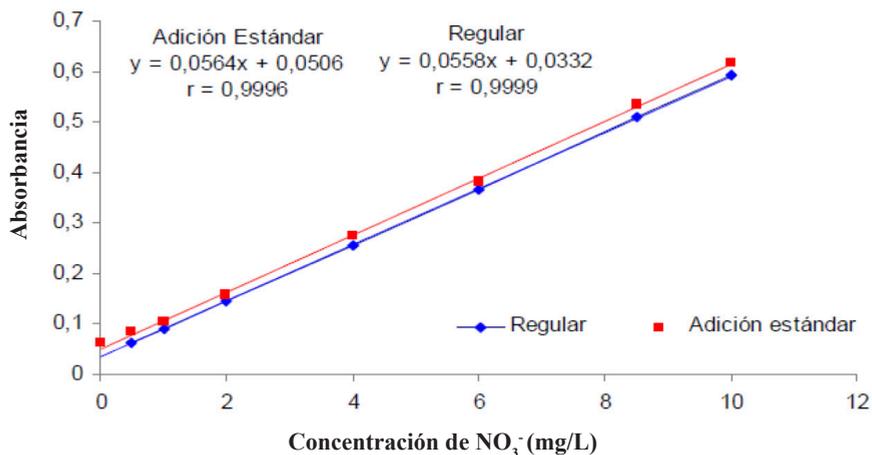


Figura 4.10. Representación de las curvas regular y de adición de estándar para la evaluación de interferencias de matriz en el método.

Fuente: Elaboración propia

4.3.4. Precisión.

La precisión del instrumento determinada desde la repetibilidad de las determinaciones de dos analistas con un mismo instrumento analizado por ANOVA y determinando la componente sistemática de la varianza, realizando doce mediciones por cada analista es observable en la Tabla 4.13. Las diferencias de la desviación estándar entre analistas son despreciables.

La repetibilidad del instrumento (Tabla 4.14) establece un valor de desviación estándar (S_r) de 0,0084 mg NO₃⁻/L y un coeficiente de variación (CV_r) de 0,86%, este resultado indica que la variación por azar es de uno (1) por cada 120 datos o también que aproximadamente en 1 mg NO₃⁻/L se tendrá una variación de 0,0084 mg NO₃⁻/L. El criterio de aceptación (CV) para la precisión establecido es menor

al 2%, es decir, que se acepta por una variación de 2 en 100 o de 0.02 mg NO₃⁻/L por cada 1 mg NO₃⁻/L.

Tabla 4.13. Colección de mediciones para estimar la precisión del instrumento.

Analista 1		Analista 2	
n	Y	n	Y
1	0,983	1	0,965
2	0,988	2	0,973
3	0,974	3	0,979
4	0,979	4	0,986
5	0,989	5	0,990
6	0,980	6	0,992
7	0,982	7	0,980
8	0,989	8	0,983
9	0,985	9	0,970
10	0,979	10	0,979
11	0,958	11	0,975
12	0,980	12	0,990
\bar{X}	0,981	\bar{X}	0,980
S	0,00844	S	0,00847
%CV	0,86047	%CV	0,86442

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.14. Determinación de la precisión del instrumento por repetibilidad.

Instrumento	S _r	CV _r
Thermoscientific UV-VIS	0,0084	0,862

Fuente: Elaboración propia

La precisión del método se encuentra en las tablas 4.15, 4.16 y 4.17 y se consolida en los resultados de precisión entre analistas por cada día, correspondiente a cinco replicas para cada una de las cinco muestras por cada uno de los tres analistas durante tres días.

Tabla 4.15. Repetibilidad, día 1.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_d</i>
PB	2,050	0,00553	0,270	0,00349	0,170	0,00519	0,253	-4,0x10 ⁻⁶	0,40	
PA	9,048	0,00514	0,057	0,00465	0,051	0,00505	0,056	-1,0x10 ⁻⁶	0,82	
M	1,430	0,00618	0,432	0,00089	0,063	0,00554	0,388	-7,0x10 ⁻⁶	0,02	3,88
MA ₁	1,881	0,00450	0,239	0,00052	0,027	0,00403	0,214	-4,0x10 ⁻⁶	0,01	
MA ₂	2,590	0,00725	0,280	0,00184	0,071	0,00654	0,253	-1,0x10 ⁻⁵	0,06	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.16. Repetibilidad, día 2.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_c</i>
PB	2,052	0,00484	0,236	0,00338	0,165	0,00459	0,223	-2,4x10 ⁻⁶	0,49	
PA	9,051	0,00618	0,068	0,00262	0,029	0,00565	0,062	-6,3x10 ⁻⁶	0,18	
M	1,435	0,00758	0,528	0,00000	0,000	0,00678	0,473	-1,1 x10 ⁻⁵	0,00	3,88
MA ₁	1,885	0,00394	0,209	0,00195	0,103	0,00363	0,193	-2,3 x10 ⁻⁶	0,24	
MA ₂	2,596	0,00674	0,260	0,00329	0,127	0,00621	0,239	-6,9 x10 ⁻⁶	0,24	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.17. Repetibilidad, día 3.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_c</i>
PB	2,057	0,00511	0,249	0,00155	0,075	0,00462	0,225	-4,7x10 ⁻⁶	0,09	
PA	9,056	0,00458	0,051	0,00645	0,071	0,00501	0,055	4,1x10 ⁻⁶	1,99	
M	1,440	0,00766	0,532	0,00207	0,143	0,00691	0,480	-1,1x10 ⁻⁵	0,07	3,88
MA ₁	1,886	0,00327	0,173	0,00330	0,175	0,00327	0,173	4,0x10 ⁻⁸	1,02	
MA ₂	2,599	0,00382	0,147	0,00207	0,079	0,00354	0,136	-2,1x10 ⁻⁶	0,29	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Aporte por azar (S_r).

Los aportes por azar (S_r) en todas las muestras y patrones analizados presentan coeficientes de variación que determinan que se obtendrá por azar una variación en aproximadamente uno de cada cinco datos. A manera de ejemplo, se explica de las tablas 4.15 a 4.17: en el campo de la fila 2 columna 3, se muestran las desviaciones estándar por repetibilidad y sus coeficientes de variación (columna 4) obtenidos por los tres analistas durante los tres días en el rango bajo, concentración media de 2,0 mg/L (PB), el S_r está comprendido entre 0,00484 mg/L y 0,00553mg/L con coeficientes de variación de 0,236 % y 0,270 % respectivamente.

Entre las muestras analizadas se resalta que la muestra de agua potable (M) es la que presenta mayor S_r (entre 0,00618 y 0,00766 mg/L) y CV_r (entre 0,432% y 0,532%); la muestra de agua potable dopada con patrón rango bajo (MA_r) presenta los valores más bajos de S_r (0,00327 y 0,00450) y CV_r (0,173% y 0,239%).

Aporte por analista (S_b).

El aporte de la desviación (S_b) y los coeficientes de variación (S_R) obtenidos por parte de los tres analistas durante los tres días, es observable en las columnas 5 y 6 de las tablas 4.15 a 4.17, respectivamente.

Los valores de S_b para el rango bajo están comprendidos entre 0,00155 mg/L y 0,00349 mg/L con coeficientes de variación de 0,075 % y 0,170 % respectivamente, lo que significa que el analista aporta una variación de 0,00349 mg/L en una concentración media de 2,00 mg/L, comparado con la contribución por azar (S_r) que es de 0,00553 mg/L, se observa que es mayor, esto puede explicarse en virtud de la ecuación 8, donde se aprecia que la variación entre analistas está asociada con la varianza por azar y la varianza sistemática en este caso $S_b^2 < S_r^2$, lo que quiere decir que la contribución sistemática S_L^2 es menor que cero como lo corrobora la prueba F , donde el $F_{estadístico}$ es 0,09 mucho menor que el $F_{crítico}$ 3,88.

$$S_b^2 = S_r^2 + \bar{n}S_L \quad \text{Ecuación 8}$$

Los valores de S_b para todos los otros patrones y muestras analizadas con la prueba F donde el $F_{estadístico}$ siempre fue menor de que el $F_{crítico}$ que indican que la contribución sistemática (S_L^2) es menor que cero.

Aporte por reproducibilidad (S_R).

El campo de las columnas 7 y 8, en cada una de las tablas citadas, muestra las desviaciones estándar por repetibilidad (S_R) y sus coeficientes de variación (CV_R) obtenidos por los tres analistas durante los tres días. Los valores de S_R para el rango bajo están comprendidos entre 0,00459 mg/L y 0,00519 mg/L, con coeficientes de variación de 0,223 % y 0,253 % respectivamente, lo que significa que él analista aporta una variación de 0,00519 mg/L en una concentración media de 2,00 mg/L.

Teniendo en cuenta que la varianza por reproducibilidad se encuentra asociada con la varianza por repetibilidad mediante la ecuación 5, reemplazando, tenemos que: $0,00519^2 = 0,00553^2 + S_L^2$. Ahora, se ordena la ecuación en términos de S_L^2 y la ecuación resultante es: $S_L^2 = 0,00519^2 - 0,00553^2 = -4,0 \times 10^{-6}$, correspondiente a la componente sistemática, que se determinó a través de la varianza entre analistas S_b^2 por medio de la ecuación 6, donde el valor de la varianza entre analistas es de $0,00349^2$. Comparando las tres varianzas, se observa que la reproducibilidad es menor que la varianza por repetibilidad y mayor que la varianza entre analistas, esto quiere decir que la variación del método sólo está contribuida por el azar y que la contribución sistemática es despreciable.

$$S_b^2 = S_r^2 + \bar{n}S_L^2 \Leftrightarrow S_L^2 = \frac{S_b^2 - S_r^2}{\bar{n}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Tomando la ecuación 6, se demuestra lo anterior:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$$

$$-5,2440 \times 10^{-6} \cong -4,0 \times 10^{-6}$$

Entonces:

$$S_L^2 \cong -2,9512 \times 10^{-6}$$

Lo anterior permite inferir que:

$$S_R^2 \cong S_r^2 \cong S_b^2$$

$$0,00519^2 \cong 0,00553^2 \cong 0,00349^2$$

Esto quiere decir, que los valores no son estadísticamente diferentes, además, permite concluir que:

- » La variación del método sólo está contribuida por el azar
- » No existen diferencias significativas entre analistas como lo confirma la prueba F y la magnitud, despreciable, de la componente sistemática de la varianza, es de un orden de magnitud menor que S_R^2 ; S_r^2 ; S_b^2 .

Datos similares fueron obtenidos para las otras muestras y patrones objetos de análisis. Se resalta que el S_R (0,00327 y 0,00691 mg/L) y el CV_R (0,173% y 0.480%) más altos se obtuvieron para la muestra de agua potable (M) los cuales están en correspondencia con los resultados obtenidos en la S_r y CV_r .

4.3.5. Reproducibilidad.

Las tablas 4.18 a 4.20 consolidan los resultados de reproducibilidad entre días por cada analista. Se realizaron cinco replicas para cada una de las cinco muestras por cada día durante los tres días por cada analista. El campo de las columnas 3 y 4 en cada una de las tablas citadas muestra los aportes por azar (S_r) de las desviaciones estándar y el coeficiente de variación por repetibilidad (CV_r).

En las columnas 5 y 6 se encuentran las desviaciones y el coeficiente de variación con contribución por parte del analista, obtenidos por los tres analistas durante los tres días. En las columnas 7 y 8 reposan las desviaciones de repetibilidad (S_R) y el coeficiente de variación de respetabilidad (CV_R) correspondiente al analista. Los datos de coeficiente de variación por azar (CV_r) para todas las muestras no superan el 0.540 % por lo cual se obtendrá por azar una variación en la reproducibilidad aproximadamente de 1 de cada 5 datos.

Los valores de desviación estándar de la reproducibilidad debida al analista (S_b) superan a las obtenidas por azar (S_r), luego $S_b^2 > S_r^2$, lo que quiere decir que la contribución sistemática S_L^2 en todas las muestras y patrones objeto de análisis, es mayor que cero como lo corrobora la prueba F , donde el $F_{\text{estadístico}}$ más alto fue de 3.65 menor que el valor crítico $F_{\text{crítico}}$ de 3,88.

Tabla 4.18. Reproducibilidad, analista 1.

Análisis	X	S_r	CV_r	S_b	CV_b	S_R	CV_R	SL^2	F_e	F_c
PB	2,052	0,00530	0,259	0,00913	0,445	0,00626	0,305	$1,0 \times 10^{-5}$	2,96	
PA	9,054	0,00609	0,067	0,01082	0,120	0,00728	0,080	$2,0 \times 10^{-5}$	3,16	
M	1,435	0,00695	0,485	0,01029	0,717	0,00774	0,539	$1,0 \times 10^{-5}$	3,19	3,88
MA ₁	1,885	0,00422	0,224	0,00716	0,380	0,00495	0,263	$1,0 \times 10^{-5}$	2,88	
MA ₂	2,595	0,00604	0,233	0,00874	0,337	0,00667	0,257	$1,0 \times 10^{-5}$	2,10	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.19. Reproducibilidad, analista 2.

Análisis	X	S_r	CV_r	S_b	CV_b	S_R	CV_R	SL^2	F_e	F_c
PB	2,053	0,00382	0,186	0,00601	0,292	0,00435	0,212	$4,3 \times 10^{-6}$	2,47	
PA	9,050	0,00451	0,050	0,00805	0,089	0,00541	0,060	$8,9 \times 10^{-6}$	3,19	
M	1,435	0,00766	0,534	0,01299	0,906	0,00899	0,626	$2,2 \times 10^{-5}$	2,87	3,88
MA ₁	1,883	0,00366	0,194	0,00462	0,245	0,00387	0,205	$1,6 \times 10^{-6}$	1,60	
MA ₂	2,595	0,00643	0,248	0,01177	0,454	0,00779	0,300	$1,9 \times 10^{-5}$	3,35	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.20. Reproducibilidad, analista 3.

Análisis	X	S _r	CV _r	S _b	CV _b	S _R	CV _R	SL ²	F _c	F _c
PB	2,053	0,00612	0,298	0,00984	0,479	0,00702	0,342	1,2x10 ⁻⁵	2,59	
PA	9,051	0,00530	0,059	0,00987	0,109	0,00648	0,072	1,4x10 ⁻⁵	3,46	
M	1,435	0,00687	0,479	0,01075	0,749	0,00780	0,544	1,4x10 ⁻⁵	2,44	3,88
MA ₁	1,884	0,00390	0,207	0,00716	0,380	0,00474	0,251	7,2x10 ⁻⁶	3,36	
MA ₂	2,595	0,00590	0,228	0,01129	0,435	0,00731	0,281	1,8x10 ⁻⁵	3,65	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.
 MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.
 MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto
Fuente: Elaboración propia

Aporte por reproducibilidad (S_R).

Los aportes a la reproducibilidad debida a la repetibilidad, estimados en las desviaciones estándar por repetibilidad (S_R) y sus coeficientes de variación (CV_r) de las columna 8 y 9, alcanzados por los tres analistas durante los tres días de ensayo presentan correspondencia general a los obtenidos en los datos de precisión y permitieron determinar la desviación sistemática S_L, que es de carácter despreciable para todas las muestras y presenta valores que no superiores 2,2x10⁻⁵.

Los datos de S_r, S_b y S_R en los aportes de la reproducibilidad, establecen que los valores no son estadísticamente diferentes, además, que la variación del método sólo está establecida por el azar y que no existe diferencias significativas entre analistas como lo confirma la prueba F y la magnitud despreciable, de la componente sistemática de la varianza (S_L), que es de un orden de magnitud menor que S_R²; S_r²; S_b².

4.3.6. Exactitud

La recuperación en una muestra natural con adiciones baja y alta del 30% y el 80% respectivamente permitió establecer la exactitud con que son reportadas en la Tabla 4.21 donde se exhibe la concentración promedio inicial de la muestra (CM), el porcentaje adicionado (%A), la concentración adicionada correspondiente ([A]), los volúmenes de muestra adicionados (VM), los volúmenes de patrón adicionado (VP), la concentración de patrón que se adicionó (P) y la concentración promedio de la muestra adicionada (\overline{MP}) y el porcentaje de recuperación (%R). Los volúmenes de adición

fueron dispuestos para no exceder el 5% del volumen final de aforo (volumen de muestra más volumen de aforo).

Tabla 4.21. Cálculo de la recuperación entre días.

Muestra + Adicionado 1 (entre días)								
V	CM (mg/L)	%A	[A] (mg/L)	VM (mL)	VP (mL)	P (mg/L)	\overline{MA} (mg/L)	%R
A ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.883	104.1
A ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.884	104.3
Muestra + Adicionado 2 (entre días)								
A ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de recuperación entre días están dentro del 104,1% y 104,5% para la “muestra más adicionado uno (1)”, y de 101,0% para la “muestra más adicionado dos (2)”. Los porcentajes de recuperación entre analistas están entre 103,6% y 105,2% para la “muestra más adicionado uno (1)” y de 100,6% y 101,5% para la “muestra más adicionado dos (2)”. Para evaluar la aceptabilidad de la recuperación, se compara con los criterios de aceptación establecidos en los métodos normalizados de análisis que reportan un rango de recuperación entre 80-120%, por consiguiente se valora la eficacia del método desarrollado como positiva.

Tabla 4.22. Cálculo de la recuperación entre analistas.

<i>Muestra + Adicionado 1 (entre días)</i>								
V	CM (mg/L)	%A	[A] (mg/L)	VM (mL)	VP (mL)	P (mg/L)	\overline{MA} (mg/L)	%R
A ₁ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₁ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₁ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.888	105.2
A ₂ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₂ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.884	104.3
A ₂ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₃ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₃ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.886	104.8
A ₃ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.887	105.0
<i>Muestra + Adicionado 2 (entre días)</i>								
V	CM (mg/L)	%A	[A] (mg/L)	VM (mL)	VP (mL)	P (mg/L)	\overline{MA} (mg/L)	%R
A ₁ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.591	100.7
A ₁ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.596	101.1
A ₁ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.599	101.4
A ₂ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.590	100.6
A ₂ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₂ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.600	101.5
A ₃ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.590	100.6
A ₃ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.598	101.3
A ₃ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.599	101.4

Fuente: Elaboración propia

4.4. Conclusiones

Los resultados en la validación del método de análisis de NO₃⁻ en muestras de aguas potables, obtenidos para cuantificar las características de desempeño del instrumento y del método empleado son consistentes con los valores de referencia establecidos como criterios de aceptación por las normas existentes para tal propósito; indicando con ello que el método produce resultados aceptables a los requerimientos del laboratorio.

Se encontró que la correlación en el rango lineal (0,5-10,0 mgNO₃⁻ / L) es significativa demostrando un alto grado de concordancia entre las mediciones propuestas, además es muy cercano a uno (1), que al compararlo con la correlación de referencia es superior, dando un alto grado de confiabilidad del método.

La validación del método de análisis de NO_3^- se realizó teniendo en cuenta las capacidades del instrumento, capacidad del laboratorio y las características específicas de la muestra (interferentes, concentración de materia orgánica, que depende de las tasas de fertilizantes usados en la agricultura, así como también de las purinas vertidas en las fuentes naturales, buenas prácticas en la toma de muestras, así como el seguimiento post conserva). Considerando que las condiciones antes mencionadas pueden variar en el futuro, debido a factores como los tratamientos a las aguas naturales que ingresan a la zona de tratamiento, –que luego son suministradas– a la comunidad, el crecimiento de las zonas agrícolas, etc., se recomienda evaluar tales características, revalidar o realizar una nueva validación y adecuar el equipo en caso de ser necesario, teniendo en cuenta los nuevos parámetros.

4.5. Referencias

- [1]. Collao, G-C. Contaminación de las aguas subterráneas por nitratos provenientes de la utilización de purines de cerdo en la agricultura. Tesis Ing. Civil. Santiago de Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Físicas y Matemáticas. Departamento de ingeniería civil. 2008. 163 p.
- [2]. Knobeloch, L., Salna, B., Hogan, A., Postle, J., y Anderson, H. 2000. Blue babies and nitrate-contaminated well water. *Environmental Health Perspectives*. 108, 7, 675–678.
- [3]. Van Meter, K-J., Basu, N-B., Veenstra, J-J., Burras. CL. 2016. The nitrogen legacy: emerging evidence of nitrogen accumulation in anthropogenic landscapes. *Environmental Research Letters*. 11, 035014, 3.
- [4]. Awual, R. 2019. Efficient phosphate removal from water for controlling eutrophication using novel composite adsorbent *Journal of Cleaner Production*. 228, 1311-1319.
- [5]. Ménesguen, A., Desmit, X., Dulière, V., Lacroix, G., Thouvenin, B., Thieu, V., Dussauze, M. 2018. How to avoid eutrophication in coastal seas? A new approach to derive river-specific combined nitrate and phosphate maximum concentrations. *Science of the Total Environment*. 628–629, 400–414
- [6]. De Paz Becares, J-M y Ramos-Mompó, C. *Evaluación del riesgo de contaminación de las aguas subterráneas por nitrato con un acople sig; modelo de simulación de nitrógeno en suelos agrícolas*. Valencia, España: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 1998. Pp 11.
- [7]. Ansola, G. Utilización de humedales artificiales en la depuración de aguas residuales. En: El agua, un bien para todos. Conservación, recuperación y usos. 6as Jornadas Ambientales. Salamanca: 2003. Ed. P. Ramos, S.A., p. 145-170. Citado por Arroyo Hernández, Paula. La biorremediación como medida correctora en los impactos ambientales de agua contaminada con metales pesados. En: II Jornadas Técnicas de Ciencias Ambientales (10 – 19, noviembre: Madrid), 2004. p. 1 - 9.

[8]. APHA, AWWA, WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: 4500-NO₃⁻, Nitrogen (Nitrate)*. Washington. 1999. Pp. 198-213.

[9]. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. *Validación de Métodos Analíticos*. España, 1989, 315 p.

[10]. Skoog, D., Leary, J. *Análisis Instrumental*. 4 ed. Madrid: McGraw-Hill, 1994. p. 7, 10.

[11]. Miller, J. y Miller, J. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4 ed. Madrid: Pearson Educación, 2002. p. 125-127.

[12]. Norma Técnica Colombiana (NTC) 3529-1. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y resultados. Parte 1: método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado de medición. Icontec. 1999. p. 14,15.

[13]. Norma Técnica Colombiana (NTC) 3529-2. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y resultados. Parte 2: método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado de medición. Icontec. 1999. p. 3,4.

[14]. Harnett, D.; Murphy, J. *Introducción al Análisis Estadístico*. 2 ed. Massachussets: Addison-Wesley Iberoamérica, 1980. p. 478 – 531.