

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**PROPUESTA DE VERIFICACION DE LOS PARAMETROS DE  
CALIBRACION PARA UN ESPECTROFOTOMETRO VISIBLE HACH  
DR2700**

**TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR**

**GUZMAN VALLE ALEJANDRA ASTRID  
RIVERA AGUIRRE ROBERTO LUIS**

**PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA**

**SEPTIEMBRE 2020**

**SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

**MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO**

**SECRETARIO GENERAL**

**MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL**

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

**LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ**

**SECRETARIA**

**LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS**

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

**MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez**

**TRIBUNAL CALIFICADOR**

**ASESORES DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS  
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

**MSc. Rocio Ruano de Sandoval**

**MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía**

**DOCENTE ASESOR**

**Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras**

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestro padre celestial; por siempre estar con nosotros a lo largo de la carrera y trabajo de graduación.

Al Lic. Henry Hernández; por su dedicación brindada hacia nosotros, por ser nuestro tutor apoyándonos con sus enormes conocimientos.

Al MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía y a la MSc. Rocío Ruano de Sandoval; miembros del jurado del área por sus consejos, correcciones y tiempo dedicado a nuestro trabajo de graduación.

A MSc. Cecilia Gallardo de Velásquez; directora de trabajos de graduación, por sus consejos y correcciones, por ser siempre una persona en quien se puede confiar en cualquier adversidad.

A nuestras familias; que apoyaron y motivaron nuestros esfuerzos y que hoy se congratulan de este logro tan importante para nosotros.

Y a todas las personas que nos motivaron y apoyaron en nuestro trabajo, nuestro más sincero agradecimiento.

Alejandra y Roberto

## DEDICATORIA

A Dios, primeramente, por darme la sabiduría, la fuerza, la fortaleza, las bendiciones y la salud para culminar mi trabajo de graduación y llegar a poder cumplir mi objetivo de vida y seguir cosechando muchos más logros de la mano de él, ya que sin Dios somos nada.

A mis padres, Rosa Margarita de Rivera y Carlos Luis Rivera por ser esos pilares fundamentales y apoyarme incondicionalmente a lo largo de mis estudios, ya que el estudio es la mejor herencia que me pueden dejar y que este logro es para ustedes que los amo muchísimo.

A mi esposa, Reina Beatriz Villalta Alvarado y a mi hijo Aarón Roberto Rivera Villalta por ser mi motivo de vida y agradecer ese apoyo que me han dado incondicionalmente, ya que este logro lo han podido vivir conmigo en todo momento.

A mi hermano Franklin Alexander Rivera Aguirre por alentarme y brindarme su apoyo cada día.

Y también de forma especial hasta el cielo, ya que sé que estará alegre por lo que he logrado; a mi abuela Blanca Concepción Moreno que desde un principio me ayudo incondicionalmente en la culminación de mis estudios y este logro va hasta ti al cielo.

A mis amigas y amigos que de alguna manera me ayudaron y se involucraron brindándome su apoyo y motivación en todo momento durante la elaboración del trabajo de graduación.

A mi asesor de trabajo de graduación Lic. Henry Hernández muchas gracias por ayudarnos y habernos aceptado y lograr terminar con mucho éxito el trabajo.

Roberto Luis Rivera Aguirre

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por brindarme la fuerza para culminar la carrera y el proceso de trabajo de graduación, ya que sin él nada es posible.

A mi padre, Wilfredo Guzmán Vásquez y a mi madre Ángela Regina Valle por haberme dado su apoyo incondicional, amor infinito y paciencia en todo momento; por su esfuerzo y dedicación para ayudarme a lograr todos mis objetivos en la vida.

A mí querido hermano, Víctor Guzmán porque siempre está presente cada momento de mi vida, brindándome consejos y motivación para salir adelante cada día.

A mis demás seres queridos de mi familia que siempre me apoyan.

A mis amigos y amigas que siempre me brindan su apoyo y ayuda, se involucran en mi vida y me motivan a culminar mis objetivos.

Alejandra Astrid Guzmán Valle

## INDICE GENERAL

	Pág. N°
<b>RESUMEN</b>	
<b>CAPITULO I</b>	
1.0 INTRODUCCIÓN	xxviii
<b>CAPITULO II</b>	
2.0 OBJETIVOS	30
<b>CAPITULO III</b>	
3.0 MARCO TEÓRICO	32
3.1 GENERALIDADES	32
A. Finalidad de la calibración del instrumento	32
B. ¿Cuándo es necesario calibrar los instrumentos?	33
3.2 CALIBRACIÓN DEL INSTRUMENTO	34
3.3 PARÁMETROS DE LA CALIBRACIÓN / VERIFICACIÓN DE UN ESPECTROFOTÓMETRO VISIBLE	36
a. Control de la exactitud de la longitud de onda	
b. Control de la exactitud fotométrica	
c. Control de la precisión fotométrica	
d. Control de la linealidad fotométrica	
e. Control de Luz difusa o parásita	
3.4. EVALUACION DE LA LINEALIDAD FOTOMÉTRICA	36
3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD	37
A. Generalidades	37
B. Elección de los estados de referencia.	39
C. Elección del número de estados de referencia, I, y (número de) repeticiones del procedimiento, J, K y L.	39

	<b>Pág. N°</b>	
3.6	LOS VALORES CRÍTICOS $y_c$ Y $x_c$ DE UNA SERIE DE MEDICIONES	40
3.6.1	Supuestos básicos.	40
3.6.2	Caso 1 - Desviación estándar constante	41
	A. Modelo	41
	B. Estimación de la función de calibración y la desviación estándar residual.	42
	C. Cálculo de valores críticos.	42
3.6.3	Caso 2: desviación estándar que depende linealmente de la variable de estado neto	43
	A. Modelo	43
	B. Estimación de la relación lineal entre la desviación estándar residual y la variable de estado neta	43
	C. Estimación de la función de calibración	45
	D. Cálculo de valores críticos	45
3.6.4	Valores críticos	46
3.7	GENERALIDADES DE LA ESPECTROFOTOMETRIA	47
3.7.1	Espectrofotometría UV-Visible (27)	47
3.7.2	Absorción de luz por las moléculas	48
3.7.3	Espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta-visible	49
3.7.4	Ley de Lambert y Beer	49
3.7.5	Limitaciones de la ley de Lambert y Beer	51
3.7.6	Instrumentación utilizada en la espectrofotometría UV-visible	53
	A. La fuente fotónica continúa	54
	B. El monocromador	54
	C. Celdas y porta muestras	54



	<b>Pág. N°</b>
D. El detector fotónico y procesamiento de la señal	55
3.7.7 Aplicaciones de la espectrofotometría UV-visible	56
3.7.8 El espectrofotómetro Visible Hach DR 2700	57
3.8 RIESGOS ASEGURANDO ANÁLISIS CONFIABLES	58
A. Exactitud de longitud de onda (espectral)	59
B. Exactitud y precisión	59
C. Sensibilidad	61
3.9 CONTROLES EN EL ASEGURAMIENTO DE LOS RESULTADOS	61
A. Control de la exactitud de la longitud de onda	61
B. Control de la exactitud fotométrica	62
C. Control de la precisión fotométrica	62
D. Control de la linealidad fotométrica	62
E. Control de Luz difusa o parásita	63
F. Ruido de fondo	63
3.10 DOCUMENTACIÓN EN EL LABORATORIO	64
3.11 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD POR MEDIO DE CARTAS DE CONTROL	65
<b>CAPITULO IV</b>	
4.0 DISEÑO METODOLÓGICO	69
4.1 TIPO DE ESTUDIO	69
4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA	69
4.3 PARTE EXPERIMENTAL	69
4.3.1 Protocolo para la verificación de la calibración del espectrofotómetro Hach DR-2700.	70
4.3.2 Parámetros de verificación de la calibración del equipo	80
4.3.3 Equipo, materiales y reactivos	80

	<b>pág. N°</b>
4.3.4 Procedimiento para la lectura en el espectrofotómetro Visible HACH DR2700	80
4.3.5 Controles para el aseguramiento analítico de los resultados	82
A. Control de la exactitud de la longitud de onda	82
B. Control de la exactitud fotométrica	86
C. Control de la precisión fotométrica	88
D. Control de la linealidad fotométrica	90
E. Control de Luz difusa o parásita	92
F. Determinación del ruido de fondo: se realiza un barrido en modo de absorbancia	92
4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN	92
4.5 INFORME DE CALIBRACIÓN	93
4.6 CARTAS CONTROL	96
4.6.1 Interpretación del control del proceso.	96
 <b>CAPITULO V</b>	
5.0 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	99
5.1 PROTOCOLO PARA LA VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR 2700.	99
5.2 RESULTADOS DEL PROCEDIMIENTO DE VERIFICACION DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR 2700.	99
5.2.1 Verificación de la escala de longitud de onda	100
5.2.2 Control de la exactitud fotométrica	103
5.2.3 Control de la precisión fotométrica	104
5.2.4 Control de la linealidad fotométrica	105

	<b>pág. N°</b>	
5.2.5	Control de Luz difusa o parásita	105
5.2.6	Control de ruido	105
5.3	ANALISIS DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES	106
5.3.1	Escala de longitud de onda	106
	A. Verificación de la escala de longitud de onda	106
	B. Control de la exactitud de la longitud de onda	108
5.3.2	Control de la exactitud fotométrica	119
5.3.3	Control de la precisión fotométrica	127
5.3.4	Control de la linealidad fotométrica	129
	a. Prueba de carencia de ajuste (Lack of fit)	129
	b. El coeficiente de correlación $r$	130
	5.3.4.1 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 445 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck - Análisis de Regresión Simple	130
	5.3.4.2 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 525 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck - Análisis de Regresión Simple	131
	5.3.4.3 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 690 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck- Análisis de Regresión Simple	132
	a. Estimados de la prueba de linealidad	135
5.3.5	Control de luz difusa o parásita	140
5.3.6	Determinación del ruido de fondo	142
5.4	Informe de los resultados de las verificaciones de la calibración realizadas al espectrofotómetro Hach DR 2700.	143

	<b>pág. N°</b>
5.5 Propuesta de formato para el registro de las evaluaciones periódicas del equipo.	147
5.6 Aplicación del formato para el registro de las evaluaciones periódicas del equipo para el control de linealidad periódico.	153
<b>CAPITULO VI</b>	
6.0 CONCLUSIONES	155
<b>CAPITULO VII</b>	
7.0 RECOMENDACIONES	158
BIBLIOGRAFÍA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

## INDICE DE ANEXOS

### ANEXO N°

1. Simbología matemática
2. Especificaciones técnicas del espectrofotómetro Hach DR 2700
3. Certificado de calidad del Kit de verificación
4. Formato para elaboración de protocolos en el laboratorio
5. Protocolo para la elaboración de cartas de control
6. Preparación de reactivos, especificaciones de equipo y cristalería
7. Protocolo para el análisis de varianza
8. Tablas estadísticas
9. Esquema del Equipo Hach DR 2700
10. Resumen Estadístico del control de la exactitud de la longitud de onda.
11. Resumen Estadístico del control de la exactitud fotométrica.
12. Resumen Estadístico del control de la precisión fotométrica.
13. Resumen Estadístico del control de la linealidad fotométrica.

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>		<b>pág. N°</b>
1.	Especificaciones de los reactivos a utilizar en las verificaciones del equipo Hach DR 2700	71
2.	Descripción de la cristalería a utilizar	71
3.	Especificaciones de los equipos a utilizar en la investigación	72
4.	Formato de registro de resultados para el control de exactitud de la longitud de onda a 640 nm por 6 días.	74
5.	Formato del análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 640 nm.	74
6.	Formato para sesgo en cada promedio de longitudes de onda	74
7.	Formato para el registro de resultados para el control de exactitud fotométrica a 750 nm por 6 días.	75
8.	Formato para el análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 750 nm.	75
9.	Formato para sesgo de cada promedio de absorbancia	76
10.	Formato de sesgo entre los promedios experimentales de absorbancia con el valor de referencia del NIST.	76
11.	Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a 750 nm por 6 días.	77
12.	Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.	77
13.	Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.	78
14.	Formato para el registro de absorbancia en la prueba de luz difusa	78
15.	Formato de la absorbancia en función del tiempo a 500 nm	79

	<b>pág. N°</b>
16. Cálculos, evaluación de resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro	79
17. Longitudes de onda de máxima absorción esperadas en una película de óxido de holmio en el rango visible.	82
18. Formato de registro de resultados para el control de exactitud de la longitud de onda a 640 nm por 6 días.	83
19. Formato del análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 640 nm.	85
20. Formato para sesgo en cada promedio de longitudes de onda	85
21. Formato para el registro de resultados para el control de exactitud fotométrica a 750 nm por 6 días.	86
22. Formato para el análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 750 nm.	87
23. Formato para sesgo de cada promedio de absorbancia	87
24. Formato de sesgo entre los promedios experimentales de absorbancia con el valor de referencia del NIST.	88
25. Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a 750 nm por 6 días.	89
26. Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.	90
27. Formato de registro de resultados de regresión lineal para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.	91
28. Formato para el registro de absorbancia en la prueba de luz difusa	92
29. Formato de la absorbancia en función del tiempo a 500 nm	92
30. Cálculos, evaluación de resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro	93

	<b>pág. N°</b>
31. Longitudes de onda de máxima absorción esperadas en una película de óxido de holmio en el rango visible.	100
32. Resultados de la medición de absorbancia utilizando el espectrofotómetro de trabajo Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Fisicoquímico de Aguas vrs. HACH DR 2700	101
33. Resultados de absorbancia para el control de exactitud de la longitud de onda durante seis días.	101
34. Resultados para el control de exactitud fotométrica en 6 días.	103
35. Resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a cada longitud de onda en nm por 6 días.	104
36. Resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica por 6 días.	105
37. Resultados de absorbancia a 500 nm para la prueba de luz difusa.	105
38. Resultados de absorbancia en función del tiempo a 500 nm.	106
39. Programa recomendado para el control de las propiedades fotométricas	106
40. Resultados de la prueba de Bartlett para el control de longitud de onda.	109
41. Sesgo espectral para promedios totales de los resultados de absorbancia a cada longitud de onda.	110
42. Porcentaje de inexactitud de los promedios de absorbancia en la prueba de exactitud fotométrica.	115
43. Sesgo de los promedios de absorbancia en la prueba de exactitud fotométrica.	116
44. Resumen de prueba de exactitud para los resultados de linealidad a 445, 525 y 690 nm para seis días de análisis.	116



	<b>pág. N°</b>
45. Análisis de variancia - prueba de Falta de Ajuste para los resultados de absorbancia para las longitudes de onda en nm.	117
46. Resultados del cálculo de porcentaje de transmitancia a 500 nm a partir de la absorbancia obtenida para la prueba de luz difusa.	125
47. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) para los resultados de % Transmitancia a 500 nm durante seis Días.	126
48. Resumen de prueba de exactitud para los resultados de linealidad a 445, 525 y 690 nm para seis días de análisis.	133
49. Análisis de variancia - prueba de Falta de Ajuste para los resultados de absorbancia para las longitudes de onda en nm.	136
50. Resultados del cálculo de porcentaje de transmitancia a 500 nm a partir de la absorbancia obtenida para la prueba de luz difusa.	141
51. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) para los resultados de % Transmitancia a 500 nm durante seis Días.	142
52. Simbología matemática	174
53. Especificaciones técnicas del espectrofotómetro Hach DR 2700	177
54. Especificaciones de los reactivos a utilizar en las verificaciones del equipo Hach DR 2700	189
55. Especificaciones de los equipos a utilizar en la investigación	190
56. Descripción de la cristalería a utilizar	190
57. Análisis de varianza para comparar la falta de ajuste y el error puro bajo el supuesto de desviación estándar residual constante.	192
58. Análisis de varianza para comparar la falta de ajuste y el error puro bajo el supuesto de una desviación estándar residual proporcional.	194
59. Tabla de la distribución t-Student	196
60. Tabla de distribución chi-cuadrado	197

	<b>pág. N°</b>
61. Tablas de la distribución f de Fisher	198
62. Resumen estadístico para las mediciones de Absorbancia por cada longitud de onda en nm para cada día.	204
63. Sesgo espectral para promedios diarios de los resultados de absorbancia a cada longitud de onda.	205
64. Resultado del análisis de varianza (ANOVA) en la medición de absorbancia en cada longitud de onda por seis Días.	206
65. Resumen estadístico del sesgo y curtosis estandarizada de la medición de absorbancia en cada longitud de onda nm para cada día.	207
66. Resultados de la prueba de rangos múltiples para las mediciones de Absorbancia en para cada Longitud de onda de nm para seis días.	208
67. Prueba de contraste de los resultados de promedios de absorbancia de cada longitud de onda en nm entre los días de prueba.	209
68. Prueba de verificación de Varianza - prueba de Levene's	210
69. Prueba de Kruskal-Wallis para los resultados de Absorbancia en cada longitud de onda para seis Días	213
70. Resumen de cálculos estadísticos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm.	216
71. Resumen Estadístico para de los resultados de Absorbancia a las longitudes de onda en nm establecidas.	217
72. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) de las Absorbancias a cada longitud de onda en nm para los seis días.	217
73. Resultados para la Prueba de Múltiples Rangos de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días	218

	<b>pág. N°</b>
74. Resultados del contraste en pares para la prueba de múltiples rangos de absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis días.	218
75. Prueba de verificación de Varianza para los resultados de Absorbancia a las longitudes de onda en nm establecidas.	219
76. Prueba de Kruskal-Wallis para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días	221
77. Tabla resumen de cálculos estadísticos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm.	222
78. Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 445 nm para seis días.	224
79. Coeficientes de regresión simple obtenidos por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 445 nm para seis días.	224
80. Registro de resultados de absorbancia a 445 nm para el control de linealidad fotométrica por 6 días.	225
81. Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 445 nm para seis días de análisis.	225
82. Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 525 nm para seis días.	226
83. Coeficientes de regresión simple obtenidos por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 525 nm para seis días.	227
84. Registro de resultados de absorbancia a 525 nm para el control de linealidad fotométrica por 6 días.	227

	<b>pág. N°</b>
85. Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 525 nm para seis días de análisis.	228
86. Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 690 nm para seis días.	229
87. Coeficientes de regresión simple obtenidos por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 690 nm para seis días.	229
88. Registro de resultados de absorbancia a 690 nm para el control de linealidad fotométrica por 6 días.	230
89. Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 690 nm para seis días de análisis.	230

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro N°</b>		<b>pág. N°</b>
1.	Procedimiento de verificación instrumental	71
2.	Formato de informe de verificación instrumental	95
3.	Informe de resultados de la verificación de calibración	144
4.	Propuesta de formato para verificación periódica	147
5.	Aplicación del formato para verificación para la obtención de cartas control de linealidad	153

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°</b>		<b>pág. N°</b>
1.	Desviaciones a la ley de Beer	52
2.	Ejemplos de interferencias instrumentales en la ley de Beer debido a los efectos de la muestra y las celdas	54
3.	Esquema de un fotómetro de haz simple Hach DR2700.	57
4.	Espectrofotómetro Hach DR 2700	59
5.	Set de soluciones de verificación Spectroquant PhotoCheck	62
6.	Filtro de paso largo de transmitancia interna, 3 mm de espesor.	64
7.	Representación del ruido fotométrico	65
8.	Espectro visible del barrido de una película de óxido de holmio obtenido con un espectrofotómetro de referencia de trabajo (Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Físicoquímico de Aguas).	84
9.	Reglas de decisión para la detección de patrones no aleatorios en las cartas de control.	98
10.	Comparación del espectro visible del filtro de óxido de holmio con un gráfico en Excel obtenido de los datos utilizando el espectrofotómetro Hach DR 2700.	101
11.	Longitudes de onda de máxima absorbancia esperadas para un patrón de óxido de holmio en el rango visible	108
12.	Diagramas de dispersión de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.	113
13.	Diagramas de análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.	114
14.	Diagramas de los residuos de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.	115
15.	Cartas control del sesgo de absorbancias a cada longitud de onda para la prueba de exactitud de longitud de onda.	119

	<b>Pág. N°</b>
16. Gráficos del análisis de varianza ANOVA para cada longitud de onda en la prueba de exactitud fotométrica.	122
17. Gráficos de Caja y Bigotes para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días.	125
18. Gráficos de residuos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días.	126
19. Cartas control del sesgo de absorbancias a cada longitud de onda para la prueba de exactitud fotométrica.	128
20. Gráficos de dispersión para las absorbancias obtenidas a las longitudes de onda de 600, 650, 700 y 750 nm durante seis días. Gráficos para verificación de linealidad a 445 nm: a) Modelo de	129
21. regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.	135
22. Gráficos para verificación de linealidad a 525 nm: a) Modelo de regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.	136
23. Gráficos para verificación de linealidad a 690 nm: a) Modelo de regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.	136
24. Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 445 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck	139
25. Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 525 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck	140
26. Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 690 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck	140
27. Desempeño esperado de un filtro de paso largo	141

	<b>Pág. N°</b>
28. Gráfico de dispersión de los resultados de % de transmitancia de la prueba de luz difusa a 500 nm.	141
29. Certificado de calidad del kit de verificación	178
30. Diagrama esquemático de una carta de control para validar la curva de calibración asumiendo de una desviación residual constante.	184
31. Carta de control para validar la curva de calibración para línea espaciada asumiendo una desviación estándar residual proporcional	185
32. Formato de registro de resultados propuesto por el proveedor Esquema para el registro de los datos resultantes de un experimento de verificación para el material de referencia 1	186
33. Esquema para el registro de los datos resultantes de un experimento de verificación para el material de referencia 1	187
34. Representación gráfica del espectrofotómetro Hach DR2700 y sus elementos de control.	202



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>APHA</b>	American Public Health Association
<b>APLAC</b>	Cooperación de Acreditación de Laboratorios Asia Pacifico
<b>AOAC</b>	Association of Analytical Chemists
<b>ASTM</b>	American Section of the International Association for Testing Materials
<b>BIPM</b>	Buró Internacional de Pesas y Medidas
<b>CIPM</b>	Comité Internacional de Pesas y Medidas
<b>IAAC</b>	Cooperación Interamericana de Acreditación
<b>ILAC</b>	Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>K</b>	Kelvin
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>L</b>	Litro
<b>mg</b>	Miligramo
<b>mL</b>	Mililitro
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>MRC</b>	Material de Referencia Certificado
<b>NSO</b>	Norma Salvadoreña Obligatoria
<b>OEC</b>	Organismo de Evaluación de la Conformidad
<b>OSA</b>	Organismo Salvadoreño de Acreditación
<b>PMR</b>	Proveedor de Material de Referencia
<b>ppm</b>	Partes por millón (equivalente a mg/L o µg/mL)
<b>SI</b>	Sistema Internacional
<b>UES</b>	Universidad de El Salvador
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta visible
<b>µL</b>	Microlitro
<b>VIM</b>	Vocabulario Internacional de Metrología

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es proponer la verificación de los parámetros de calibración para un espectrofotómetro visible modelo Hach DR2700.

Se determinó: la exactitud de la longitud de onda, la exactitud fotométrica, la precisión fotométrica, la precisión de la linealidad fotométrica, la Luz difusa o parásita y el ruido de fondo. El estudio fue realizado en el periodo de abril – junio de 2019.

En el estudio se utilizó: solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico, solución de ácido sulfúrico  $0.005 \text{ mol L}^{-1}$  y patrones para fotómetro Spectroquant PhotoCheck, para la evaluación de los parámetros a longitudes de onda específicas en el rango visible, el método de espectroscopia visible y se siguió la misma metodología de manejo y lectura de soluciones de referencia en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

De las pruebas realizadas, la mayoría mostraron resultados conformes a excepción de la exactitud y precisión fotométrica, cuyos valores sobrepasaron los criterios establecidos, lo cual pudo deberse principalmente a la calidad de los reactivos utilizados ya que no presentaban trazabilidad metrológica con un patrón reconocido (como el National Institute of Standards and Technology).

Sin embargo, en las pruebas en las cuales se aseguró el uso de un material de referencia trazable como escala y exactitud de la longitud de onda, Linealidad fotométrica y la Luz difusa o parásita los resultados fueron conformes.

Por lo cual el desarrollo de este trabajo aporta un insumo importante debido a la poca cantidad de investigaciones realizadas en el área de calibraciones y sirve como referencia para futuras investigaciones que puedan ser ampliadas a otros equipos en el aseguramiento de la validez de los resultados obtenidos y que en los laboratorios que se utilicen provean de datos confiables.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

En todo laboratorio se realizan mediciones a muestras que se desean cuantificar, contrastándolas con estándares o patrones de referencia con un fin determinado.

Para verificar la buena medición utilizamos patrones internos de laboratorio o patrones de referencia trazables a un organismo de metrología, que son ampliamente utilizados para las calibraciones de los equipos, esto sirve para conocer el estado del equipamiento analítico y poder efectuar las correcciones necesarias para asegurar su correcto funcionamiento (Norma ISO 11843, en referencia a los procesos y los tipos de equipo de medición).

El trabajo experimental se realizó en el periodo de abril a junio de 2019, en el Laboratorio Físicoquímico de aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Como resultado se obtuvo información de la medida actual del equipo, es decir un diagnóstico del instrumento, que garantiza la comparación de los parámetros esenciales como: la exactitud de la longitud de onda, la exactitud fotométrica, la precisión fotométrica, la precisión de la linealidad fotométrica, la luz difusa o parásita y el ruido de fondo.

Este tipo de investigación será de beneficio para entidades y organismos públicos y privados que llevan a cabo análisis cuantitativos en equipos de espectroscopia, ya que podrá servir como aporte para la aplicación de protocolos relacionados al tema de aseguramiento de la validez de resultados de análisis utilizando técnicas espectroscópicas; además de ser una fuente de información o antecedente en la aplicación de protocolos de calibración.

**CAPITULO II**  
**OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Proponer la verificación de los parámetros de calibración para un espectrofotómetro visible modelo Hach DR2700.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

2.2.1 Elaborar el protocolo para la verificación de la calibración del espectrofotómetro Hach DR 2700.

2.2.2 Determinar los parámetros: exactitud de la longitud de onda, exactitud fotométrica, precisión fotométrica, precisión de la linealidad fotométrica, Luz difusa o parásita y el ruido de fondo del equipo Hach DR 2700.

2.2.3 Especificar el formato para el registro de las evaluaciones para la verificación periódica del equipo, en los parámetros de control de: la exactitud de la longitud de onda, la exactitud fotométrica, la precisión fotométrica, la linealidad fotométrica, Luz difusa o parásita y la determinación del ruido de fondo.

2.2.4 Redactar un informe de los resultados de las verificaciones de la calibración realizadas al espectrofotómetro Hach DR 2700.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

### 3.0 MARCO TEORICO

#### 3.1 GENERALIDADES <sup>(9)</sup>

La calibración en el análisis instrumental está presente en distintas áreas del desarrollo profesional del químico farmacéutico, como, por ejemplo: la industria farmacéutica, la agricultura, la fabricación de alimentos, el tratamiento de agua, el control de la calidad y en otras áreas.

La calibración se debería realizar, por la convicción de que su ejecución aporta valor al sistema de calidad, aunque la principal motivación de realizar una calibración suele ser por un requerimiento normativo o legal, como un requisito de un sistema de gestión, por ejemplo, la norma ISO 17025. En ambos casos debe ser una operación planificada y sus resultados deben ser verificables conformes a un criterio de aceptación/rechazo preestablecido.

Cada laboratorio debe tener personal competente para ser capaz de superar los alcances para calibrar equipos de medición. <sup>(30)</sup>

El personal del laboratorio puede realizar la calibración de estos instrumentos emitiendo un certificado, lo cual consiste en la comparación del equipo con materiales de referencia certificados y de preferencia utilizando métodos validados. <sup>(6)</sup>

#### A. FINALIDAD DE LA CALIBRACIÓN DEL INSTRUMENTO <sup>(9)</sup>

La calibración se refiere al acto de evaluar y ajustar la precisión y la exactitud de los equipos de medición y por lo tanto está destinada a eliminar o reducir el sesgo en las lecturas de un instrumento en un rango para todos los valores continuos.

<sup>(11)</sup>



La precisión es el grado en que las mediciones repetidas en condiciones sin cambios muestran el mismo resultado mientras que la exactitud es el grado de cercanía de las mediciones de una cantidad a su valor real. <sup>(11)</sup>

Para este propósito, los estándares de referencia con valores conocidos para puntos seleccionados que cubren el rango de interés se miden con el instrumento. Luego se establece una relación funcional entre los valores de los estándares y las medidas correspondientes, presentando dos situaciones básicas: <sup>(32)</sup>

- **Instrumentos que requieren corrección por sesgo:** el instrumento lee en las mismas unidades que los estándares de referencia. El propósito de la calibración es identificar y eliminar cualquier sesgo en el instrumento en relación con la unidad de medida definida. No obstante, estos instrumentos deben calibrarse a los valores de los estándares de referencia para que las mediciones coincidan entre sí.
- **Instrumentos cuyas medidas actúan como sustitutos de otras mediciones:** el instrumento lee en unidades diferentes a las normas de referencia. El propósito de la calibración es convertir las lecturas del instrumento a las unidades de interés.

## B. ¿CUÁNDO ES NECESARIO CALIBRAR LOS INSTRUMENTOS? <sup>(9)</sup>

- En el momento de su instalación inicial
- Antes de las principales medidas críticas.
- Antes de realizar cualquier medición que requiera datos altamente precisos: los instrumentos deben prepararse para su calibración y no utilizarse antes de la prueba.

- Después de importantes mediciones críticas: se puede preparar el instrumento para la calibración después de que la prueba ayude al analista a decidir si los datos obtenidos fueron confiables o no.
- Cuando se utiliza un instrumento durante mucho tiempo, las condiciones del instrumento cambiarán.
- Después de un evento: entendiéndose aquí que se refiere a cualquier evento que suceda con el instrumento. Por ejemplo, cuando algo golpea el instrumento o cualquier tipo de accidente que pueda afectar la precisión del instrumento.
- Cuando las mediciones parecen cuestionables.
- Cuando se sospeche que la precisión de los datos se debe a errores instrumentales.
- Por requerimientos del sistema de gestión de calidad implementado: algunos métodos requieren certificados de calibración por lo que es importante verificar los requisitos antes de comenzar el experimento.
- Por indicación del fabricante: cada instrumento deberá calibrarse periódicamente para asegurarse de que pueda funcionar correctamente y de manera segura por lo que los fabricantes indican con qué frecuencia deberá calibrarse el instrumento.

### **3.2 CALIBRACIÓN DEL INSTRUMENTO <sup>(9)</sup>**

Los equipos de medición deben calibrarse debido a que sus respuestas no son estables con el paso del tiempo. Estas respuestas a patrones establecidos varían por diversas causas como: el envejecimiento, el deterioro, limpieza inadecuada o falta de ella, así como de un mantenimiento ineficiente.

La variación, como consecuencia, genera una deriva que debe ser verificada periódicamente para controlar la desviación lenta de una característica metrológica del instrumento de medición.

La calibración de un equipo para el análisis químico implica el proceso de evaluar y ajustar la precisión de los equipos de medición y permite al analista tener un entorno de trabajo seguro y producir datos válidos para futuras referencias. <sup>(27)</sup>

El Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) reconoce que la calidad de los productos y servicios se demuestra a través de las mediciones realizadas por los laboratorios las cuales deben ser confiables y trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI). <sup>(25)</sup>

La Política de Trazabilidad para calibración del Organismo Salvadoreño de Acreditación establece que para equipos y patrones de referencia que deben calibrarse, la política de OSA establece que deberán ser calibrados por: <sup>(25)</sup>

- I. Un Instituto Nacional de Metrología cuyo servicio es adecuado para la necesidad prevista y está cubierto por el MRA del CIPM.
- II. Un Instituto Nacional de Metrología o un laboratorio acreditado cuyo servicio es adecuado para la necesidad prevista (es decir, el alcance de acreditación específicamente cubre la calibración apropiada) y el Organismo de Acreditación está cubierto por el Arreglo de ILAC o por uno de los acuerdos regionales reconocidos por ILAC.
- III. Institutos Nacionales de Metrología y Laboratorios de calibración acreditados por un Organismo de Acreditación que tenga acuerdos de reconocimiento mutuo con el OSA.
- IV. Un Instituto Nacional de Metrología cuyo servicio es adecuado para la necesidad prevista, pero no está cubierto por el CIPM MRA.

Es por ello que ningún laboratorio (aunque presente competencia técnica para realizar sus propias calibraciones), puede encargarse de esta actividad internamente por lo que el concepto de calibración debe considerarse como verificación de la calibración internamente.

### 3.3 PARÁMETROS DE LA CALIBRACIÓN / VERIFICACIÓN DE UN ESPECTROFOTÓMETRO VISIBLE <sup>(1)</sup>

- a. **Control de la exactitud de la longitud de onda:** se utiliza para verificar el grado de concordancia entre la longitud de onda seleccionada para la máxima absorbancia y la longitud de onda de referencia.
- b. **Control de la exactitud fotométrica:** se determina comparando la absorbancia de una solución de referencia con la lectura de ésta, obtenida en el espectrofotómetro.
- c. **Control de la precisión fotométrica:** determina la dispersión de una serie de mediciones de absorbancia alrededor de la media con referencia.
- d. **Control de la linealidad fotométrica:** permite establecer el rango de absorbancia en el que el instrumento tiene respuesta proporcional a los cambios de concentración, realizando lecturas de absorbancia de la serie de soluciones de referencia certificadas.
- e. **Control de Luz difusa o parásita:** es toda radiación electromagnética de longitud de onda distinta a la seleccionada por el monocromador, que alcanza el detector y por lo tanto queda registrada por el instrumento.

### 3.4 EVALUACION DE LA LINEALIDAD FOTOMÉTRICA <sup>(28)</sup>

Para fines de establecer el alcance del control de la linealidad fotométrica se utiliza la norma ISO 11843 la cual especifica métodos básicos para:

- Diseñar experimentos para la estimación del valor crítico de la variable de estado neto, el valor crítico de la variable de respuesta y el valor mínimo detectable de la variable de estado neto,
- Estimar estas características a partir de datos experimentales para los casos en los que la función de calibración es lineal y la desviación estándar es constante o linealmente relacionada con la variable de estado neto.

La norma ISO 11843 es aplicable a cantidades medidas en escalas que son fundamentalmente continuas, a los procesos y los tipos de equipos de medición en los que la relación funcional entre el valor esperado de la variable de respuesta y el valor de la variable de estado se describe mediante una función de calibración. Si la variable de respuesta o la variable de estado es una cantidad vectorial, los métodos de la norma ISO 11843 son aplicables por separado a los componentes de los vectores o funciones de los componentes.

### **3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD**

#### **A. Generalidades** <sup>(29)</sup>

El procedimiento para determinar los valores de un estado real desconocido incluye el muestreo, la preparación y la medición en sí. Como cada paso de este procedimiento puede producir distorsión, es esencial aplicar el mismo procedimiento para: la caracterización, uso en la preparación y determinación de los valores del estado real desconocido, para todos los estados de referencia y para el estado básico utilizado en la calibración. <sup>(20)</sup>

Con el fin de determinar las diferencias entre los valores que caracterizan uno o más estados reales desconocidos y el estado básico, es necesario elegir un diseño experimental adecuado para la comparación. Las unidades

experimentales de tal procedimiento analítico se obtienen a partir de los estados reales a medir y todos los estados de referencia utilizados para la calibración. <sup>(21)</sup>

Un diseño ideal mantendría constantes todos los factores conocidos que influyen en el resultado y el control de factores desconocidos al proporcionar un orden aleatorio para preparar y realizar las mediciones.

En realidad, puede ser difícil proceder de esta manera, ya que los preparativos y la determinación de los valores de los estados involucrados se realizan de manera consecutiva durante un período de tiempo. Sin embargo, para detectar cambios importantes en el tiempo, se recomienda realizar la mitad de la calibración antes y la mitad después de la medición de los estados desconocidos (muestras).

Sin embargo, esto solo es posible si el tamaño de la serie de medición se conoce de antemano y si hay tiempo suficiente para seguir este enfoque. Si no es posible controlar todos los factores que influyen, se presentarán las declaraciones condicionales que contienen todos los supuestos no comprobados. <sup>(22)</sup>

Muchos métodos de medición requieren un tratamiento químico o físico de la muestra antes de la medición en sí. Ambos pasos del procedimiento de medición agregan una variación a los resultados de la medición. Si se requiere repetir las mediciones, esto consistiría en una repetición completa de la preparación y la medición.

Sin embargo, en muchas situaciones el procedimiento de medición no se repite completamente, en particular, no se repiten todos los pasos de preparación para cada medición. <sup>(17)</sup>

## **B. Elección de los estados de referencia** (28, 29)

El rango de valores de la variable de estado neto abarcado por los estados de referencia debe incluir:

- el valor cero de la variable de estado neto, en química analítica se refiere una muestra del material en blanco, y
- al menos un valor cercano al sugerido por una información a priori sobre el valor mínimo detectable; Si este requisito no se cumple, el experimento de calibración debe repetirse con otros valores de la variable de estado neto, según corresponda.

Los estados de referencia deben elegirse de modo que los valores de la variable de estado neto (incluidos los valores de escala de registro) estén aproximadamente equidistantes en el rango entre el valor más pequeño y el más grande.

En los casos en que los estados de referencia están representados por preparaciones de materiales de referencia, su composición debe ser lo más cercana posible a la composición del material a medir.

## **C. Elección del número de estados de referencia, I, y (número de) repeticiones del procedimiento, J, K y L** (28, 29)

La elección de los estados de referencia, el número de preparaciones y las mediciones repetidas será la siguiente:

- el número de estados de referencia que se utilice en el experimento de calibración será de al menos 3; sin embargo, se recomienda  $I = 5$ ;
- el número de preparaciones para cada estado de referencia J (incluido el estado básico) debe ser idéntico; se recomiendan al menos dos preparaciones ( $J = 2$ );

- el número de preparaciones para el estado real  $K$  debe ser idéntico al número  $J$  de preparaciones para cada estado de referencia;
- el número de mediciones repetidas realizadas por preparación  $L$  será idéntico; Se recomiendan al menos dos mediciones repetidas ( $L = 2$ ).

**NOTA:**

Las fórmulas para los valores críticos y el valor mínimo detectable en la cláusula 5 solo son válidos bajo el supuesto de que el número de mediciones repetidas por preparación es idéntico para todas las mediciones de estados de referencia y estados reales.

Como las variaciones y el costo debido a la preparación generalmente serán mucho más altos que los debidos a la medición, la elección óptima de  $J$ ,  $K$  y  $L$  puede derivarse de una optimización de las restricciones con respecto a la variación y los costos.

### **3.6 LOS VALORES CRÍTICOS $y_c$ Y $x_c$ DE UNA SERIE DE MEDICIONES** (28, 29)

#### **3.6.1 Supuestos básicos.**

Los siguientes procedimientos para el cálculo de los valores críticos y el valor mínimo detectable se basan en los supuestos de la norma ISO 11095, los cuales se utilizan con una generalización.

Las suposiciones básicas de ISO 11095 son que:

- La función de calibración es lineal,
- Se supone que las mediciones de la variable de respuesta de todas las preparaciones y estados de referencia son independientes y distribuidos normalmente con la desviación estándar denominada "desviación estándar residual,



- La desviación estándar residual es una constante, es decir, no depende de los valores de la variable de estado neto [caso 1], o forma una función lineal de los valores de la variable de estado neto [caso 2].

La decisión con respecto a la aplicabilidad de esta parte de la norma ISO 11843 junto con la elección de uno de estos dos casos debe basarse en el conocimiento previo y en un examen visual de los datos.

### 3.6.2 Caso 1 - Desviación estándar constante (28, 29)

**A. Modelo:** basándose en los supuestos de: linealidad de la función de calibración y de desviación estándar constante, la variable respuesta  $y_{ij}$  está dado por:

$$Y_{ij} = a + bx_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

$x_i$ = es el símbolo de la variable de estado neto en el estado  $i$ ;

$\varepsilon_{ij}$ = son variables aleatorias que describen el componente aleatorio del error de muestreo, preparación y medición.

Esto asumiendo que el error  $\varepsilon_{ij}$  es independiente y se distribuye normalmente con la expectativa cero y la desviación estándar residual teórica  $\sigma$ :  $\varepsilon_{ij} \sim N(0; \sigma^2)$ .

Por lo tanto, los valores  $Y_{ij}$  de la variable de respuesta son variables aleatorias. Con la expectativa  $E(Y_{ij}) = a + bx_i$  y la varianza  $V(Y_{ij}) = \sigma^2$ , no depende de  $x_i$ .

NOTA: En los casos en que las  $J$  muestras son preparadas para la medición y cada una de ellas se mide  $L$  veces para que las mediciones de  $J \times L$  se realicen en conjunto para el estado de referencia  $i$ , entonces  $Y_{ij}$  se refiere al promedio de las  $L$  mediciones obtenidas en la muestra preparada.

## B. Estimación de la función de calibración y la desviación estándar residual (28, 29)

De acuerdo con la norma ISO 11095, las estimaciones para  $a$ ,  $b$  y  $\sigma^2$  vienen dadas por:

$$\hat{b} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (x_i - \bar{x})(\bar{y}_{ij} - \bar{y})}{S_{xx}}$$

$$\hat{a} = \bar{y} - \hat{b}\bar{x}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{I * J - 2} \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (\bar{y}_{ij} - \hat{a} - \hat{b}x_i)^2$$

Los símbolos matemáticos utilizados de la norma ISO 11843 se definen en el Anexo N°1.

NOTA Las estimaciones se indican mediante un símbolo  $\hat{\phantom{x}}$  para diferenciarlas de los parámetros que son desconocidos.

## C. Cálculo de valores críticos. (28, 29)

El valor crítico de la variable de respuesta viene dado por:

$$y_c = \hat{a} + t_{0,95}(\mathcal{V})\hat{\sigma} \sqrt{\frac{1}{K} + \frac{1}{I * J} + \frac{\bar{x}^2}{S_{xx}}}$$

El valor crítico de la variable de estado neto está dado por:

$$x_c = t_{0,95}(\mathcal{V}) \frac{\hat{\sigma}}{\hat{b}} \sqrt{\frac{1}{K} + \frac{1}{I * J} + \frac{\bar{x}^2}{S_{xx}}}$$

Dónde:

$t_{0,95}(\mathcal{V})$  es el cuantil al 95% de la distribución t con  $\mathcal{V} = I * J - 2$  grados de libertad.

### 3.6.3 Caso 2: desviación estándar que depende linealmente de la variable de estado neto (28, 29)

**A. Modelo:** basándose en los supuestos de que la función de calibración es lineal y que la desviación estándar depende linealmente de la variable de estado neto y viene dada por:

$$Y_{ij} = a + bx_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

$x_i$ ,  $a$ ,  $b$  y  $Y_{ij}$  son como se definen en 5.2.1 y  $\varepsilon_{ij}$  son independientes y normalmente se distribuyen con la expectativa  $E(\varepsilon_{ij}) = 0$  y la varianza:

$$V(\varepsilon_{ij}) = \sigma^2(x_i) = (c + dx_i)^2$$

es decir, la desviación estándar residual es linealmente dependiente de  $x$

$$\sigma(x_i) = c + dx_i$$

### **B. Estimación de la relación lineal entre la desviación estándar residual y la variable de estado neta** (28, 29)

Los parámetros  $c$  y  $d$  se estiman mediante un análisis de regresión lineal con las desviaciones estándar:

$$S_i = \sqrt{\frac{1}{j-1} \sum_{j=1}^j (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_i)^2}$$

Como valores de la variable dependiente  $S$  y con la variable de estado neto  $x$  como variable independiente.

Dado que la varianza  $V(S)$  es proporcional a  $\sigma^2$ , se debe realizar un análisis de regresión ponderada con los aportes:

$$w_i = \frac{1}{\sigma^2(x_i)} = \frac{1}{(c + dx_i)^2}$$

Sin embargo, las variaciones  $\sigma^2(x_i)$  dependen de los parámetros desconocidos  $c$  y  $d$  que aún no se han estimado.

Por lo tanto, el siguiente procedimiento de iteración con ponderación:

$$\hat{w}_{qi} = \frac{1}{(\hat{\sigma}_{qi})^2}$$

Esta propuesto. En la primera iteración, ( $q = 0$ ),  $\hat{\sigma}_{0i} = s_i$ , donde los valores  $s_i$  son las desviaciones estándar empíricas. Para iteraciones sucesivas  $q = 1, 2, \dots$

$$\hat{\sigma}_{qi} = \hat{c}_q + \hat{d}_q x_i$$

Calcular con los valores auxiliares:

$$T_{q+1,1} = \sum_{i=1}^I \hat{w}_{qi};$$

$$T_{q+1,2} = \sum_{i=1}^I \hat{w}_{qi} x_i;$$

$$T_{q+1,3} = \sum_{i=1}^I \hat{w}_{qi} x_i^2;$$

$$T_{q+1,4} = \sum_{i=1}^I \hat{w}_{qi} s_i;$$

$$T_{q+1,5} = \sum_{i=1}^I \hat{w}_{qi} x_i s_i;$$

$$Y \quad \hat{c}_{q+1} = \frac{(T_{q+1,3})(T_{q+1,4}) - (T_{q+1,2})(T_{q+1,5})}{(T_{q+1,1})(T_{q+1,3}) - T_{q+1,2}^2}$$

$$Y \quad \hat{d}_{q+1} = \frac{(T_{q+1,1})(T_{q+1,5}) - (T_{q+1,2})(T_{q+1,4})}{(T_{q+1,1})(T_{q+1,3}) - T_{q+1,2}^2}$$

Este procedimiento converge rápidamente de modo que el resultado para  $q = 3$ ;

$$\hat{\sigma}_3 = \hat{c}_3 + \hat{d}_3 x;$$

Se puede considerar, con  $\hat{\sigma}_3 = \hat{\sigma}(x)$ ,  $\hat{c}_3 = \hat{\sigma}_0$  y  $\hat{d}_3 = \hat{d}$ , como resultado final:

$$\hat{\sigma}(x) = \hat{\sigma}_0 + \hat{d}x$$

### C. Estimación de la función de calibración (28, 29)

Los parámetros  $a$  y  $b$  se estiman mediante un análisis de regresión lineal ponderada con los valores  $y_{ij}$  como valores de la variable dependiente,  $x_i$  como valores de la variable independiente y su aporte:

$$w_i = \frac{1}{\hat{\sigma}^2(x_i)};$$

Dónde:  $\hat{\sigma}^2(x_i)$  es el valor predicho de la varianza en  $x_i$  con:

$$T_1 = J \sum_{i=1}^I w_i;$$

$$T_2 = J \sum_{i=1}^I w_i x_i;$$

$$T_3 = J \sum_{i=1}^I w_i x_i^2;$$

$$T_4 = J \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J w_i \bar{y}_{ij};$$

$$T_5 = J \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J w_i x_i \bar{y}_{ij};$$

Las estimaciones para  $a$  y  $b$  son:

$$\hat{a} = \frac{T_3 T_4 - T_2 T_5}{T_1 T_3 - T_2^2}$$

$$\hat{b} = \frac{T_1 T_5 - T_2 T_4}{T_1 T_3 - T_2^2}$$

### D. Cálculo de valores críticos (28, 29)

El valor crítico de la variable de respuesta viene dado por:

$$y_c = \hat{a} + t_{0.95}(\mathcal{V}) \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_0^2}{K} + \left( \frac{1}{T_1} + \frac{\bar{x}_w^2}{S_{xxw}} \right) \hat{\sigma}^2}$$

y el valor crítico de la variable de estado neto está dado por:

$$x_c = \frac{t_{0.95}(\mathcal{V})}{\hat{b}} \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_0^2}{K} + \left(\frac{1}{T_1} + \frac{\bar{x}_w^2}{s_{xxw}}\right) \hat{\sigma}^2}$$

Dónde:

$$\bar{x}_w = T_2 / T_1$$

$$s_{xxw} = T_3 - T_2^2 / T_1$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{I * J - 2} \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J w_i (\bar{y}_{ij} - \hat{a} - \hat{b}x_i)^2$$

y  $t_{0.95}(\mathcal{V})$  es el cuantil 95% de la distribución t con  $\mathcal{V} = I * J - 2$  grados de libertad;

### 3.6.4 Valores críticos (28, 29)

Para las decisiones relacionadas con la investigación de estados reales, solo se aplicará el valor crítico de la variable de estado neto o de la variable de respuesta. Estos valores derivados de una calibración del proceso de medición son límites de decisión que deben utilizarse para evaluar los estados desconocidos de los sistemas incluidos en esta serie. Al observar calibraciones consecutivas del mismo proceso de medición, los valores críticos pueden variar de una calibración a otra.

Sin embargo, dado que cada uno de los valores críticos es un límite de decisión que pertenece a una serie de medición en particular, no tiene sentido calcular los valores críticos generales en todas las calibraciones y es lógicamente inadecuado utilizarlos como valores críticos.

Si un valor de la variable de estado neto o de la variable de respuesta no es mayor que el valor crítico, se puede afirmar que no se puede mostrar ninguna diferencia entre el estado real observado y el estado básico. Sin embargo, debido

a la posibilidad de cometer un error del tipo II, este valor no debe interpretarse como una demostración de que el sistema observado definitivamente se encuentra en su estado básico.

Por lo tanto, no se permite reportar un resultado como "cero" o como "más pequeño que el valor mínimo detectable". El valor (y su incertidumbre) siempre debe ser informado; si no supera el valor crítico, por lo que se debe agregar el comentario "no detectado".

### **3.7 GENERALIDADES DE LA ESPECTROFOTOMETRIA** <sup>(27)</sup>

Los espectrofotómetros UV-VIS son instrumentos de laboratorio utilizados para análisis cualitativos y cuantitativos de compuestos químicos, estas técnicas de análisis tienen gran importancia para los diferentes sectores de la industria, estas industrias son: química, farmacéutica, entre muchas otras.

Una de las principales utilidades del espectrofotómetro es que tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática (de una longitud de onda particular) a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra. Como también la relación de la intensidad del color en una muestra y su relación a la cantidad de soluto dentro de la misma.

#### **3.7.1 Espectrofotometría UV-Visible** <sup>(31)</sup>

La espectrofotometría UV-Visible se basa en la medición de propiedades ópticas que derivan de la interacción de la radiación electromagnética con la materia como la absorción y emisión de luz (así como la luminiscencia), entendiéndose como luz aquella porción del espectro electromagnético que se maneja con espejos y lentes, es decir las regiones ultravioleta y visible.

Estos métodos se desarrollaron rápidamente a partir de la segunda mitad del siglo 20 debido a la imperiosa necesidad de incrementar características como sensibilidad, selectividad, límite de detección, así como la rapidez y a capacidad de automatización para el análisis de gran cantidad de muestras en tiempo razonable.

Un ejemplo lo da el control del ambiente que ha forzado a niveles extremos el desarrollo de nuevas técnicas y métodos capaces de analizar nuevos analitos que están presentes en diversas matrices en muy pequeñas cantidades con pocos o ningún problema de interferencia en el análisis.

Estos métodos son de una relativa facilidad de aplicación y ejecución sin embargo requieren de cuidados especiales en la forma de operar para garantizar la precisión y exactitud deseada.

### **3.7.2 Absorción de luz por las moléculas <sup>(27)</sup>**

Toda molécula, tanto en fase gaseosa como en solución, posee una energía cuántica interna compuesta por las energías electrónica, vibracional y rotacional y la misma se puede representar como:

$$E_{int} = E_{e^-} + E_{vib} + E_{rot}$$

Según la teoría cuántica, en una molécula estas energías son independientes entre sí y están cuantizadas, es decir que pueden tomar sólo ciertos y determinados valores “permitidos” por los perfiles energéticos de las mismas.

Por otro lado, la misma teoría cuántica considera a la “luz” como un fenómeno de naturaleza dual (materia-onda), es decir que esta luz está compuesta por unas partículas llamadas fotones que poseen energía definida por la frecuencia  $\nu$  (o longitud de onda  $\lambda$ ) de la onda asociada al fotón según la ley de Planck.



$$E = h\nu = h \times c/\lambda$$

De la expresión anterior se deduce que la energía del fotón varía inversamente proporcional con la longitud de onda. Esta cantidad de energía que posee el fotón es la que determinará si una especie química adsorberá la radiación de esa longitud de onda.

La región Visible del espectro (400 a 800nm) interactúa con los electrones de valencia de las moléculas modificando la energía electrónica y el contenido definido de energía de los fotones sienta las bases para la selectividad en el proceso de absorción.

### **3.7.3 Espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta-visible <sup>(27)</sup>**

La espectrofotometría visible se basa en la absorción selectiva de radiación electromagnética en la región visible del espectro electromagnético por algunos medios químicos, de esta manera, a través de la medición de una propiedad llamada Absorbancia, a determinada longitud de onda, es posible determinar la concentración de un analito dado si se compara con las absorbancias de soluciones patrón conocidas.

Con una apropiada preparación química se pueden analizar una gran variedad de analitos en diversas matrices. De esta manera, la absorbancia de las especies que poseen grupos “absorbentes” en sus moléculas, se pueden medir directamente y las que no son absorbentes, pueden hacerse reaccionar con un reactivo apropiado para formar una especie absorbente como por ejemplo un complejo coloreado.

### **3.7.4 Ley de Lambert y Beer <sup>(27)</sup>**

La ley que rige los espectros cuantitativos de la absorción de luz es la ley de Lambert y Beer, la cual establece que, bajo ciertas condiciones experimentales

fijas como longitud de onda de la radiación, camino óptico, temperatura entre otras, la Absorbancia de la especie química varía directamente con la concentración según la relación:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \varepsilon_{\lambda} * b * C$$

Donde  $P_0$  y  $P$  son las potencias lumínicas incidente y emergente del medio químico,  $\varepsilon_{(\lambda)}$  es el coeficiente de extinción molar, o absortividad molar,  $b$  es el trayecto óptico (cm) y  $C$  la concentración molar (M).

El coeficiente de extinción molar es una característica de la sustancia que depende en mayor grado de las posibilidades cuánticas de transición electrónica de la especie, de la sección transversal de la molécula, así como de la longitud de la onda y en menor grado de la concentración, solvente utilizado y de la temperatura.

Para una sección transversal molecular promedio de  $10^{-15}$  cm<sup>2</sup> y una transición electrónica de alta probabilidad, el valor de  $\varepsilon_{(\lambda)}$  puede alcanzar un valor máximo del orden de  $10^5$ .

Siendo  $\varepsilon_{(\lambda)}$  una característica propia de la especie química que bajo ciertas condiciones experimentales permanece constante, al igual que el trayecto óptico, que por lo general es 1 cm, entonces la expresión de la ley se transforma en:

$$A = K * C$$

Esta ecuación indica que, bajo condiciones experimentales controladas y determinadas por  $K$ ; la cual representa la pendiente de la recta, la absorbancia se incrementa de manera proporcional con la concentración. Sin embargo, en las mediciones espectrofotométricas se requiere el uso de blancos (absorbancias de reactivos y solventes, otras interacciones) que se reflejan en un corte "a" del eje de la absorbancia, y, con lo que la ecuación se transforma en:

$$A = a + (K * C)$$

Esta ecuación representa la recta de calibración realizada a partir de patrones de concentración conocida y la misma debe ser calculada a partir del método de los mínimos cuadrados con el que se obtiene la ecuación de la recta más probable que pasa por los puntos determinados. De la misma se obtiene la concentración del analito por la expresión:

$$C = (A - a)/K$$

### 3.7.5 Limitaciones de la ley de Lambert y Beer <sup>(9, 27)</sup>

La ley de Lambert y Beer es una ley límite la cual exige condiciones casi ideales, particularmente en lo que concierne a la monocromaticidad de la radiación utilizada, los niveles de concentración inferiores a 0.01M y donde no debe haber ningún fenómeno distinto al fenómeno de absorción de luz con la sustancia a medir, en la figura N° 1 se ejemplifican estas desviaciones.

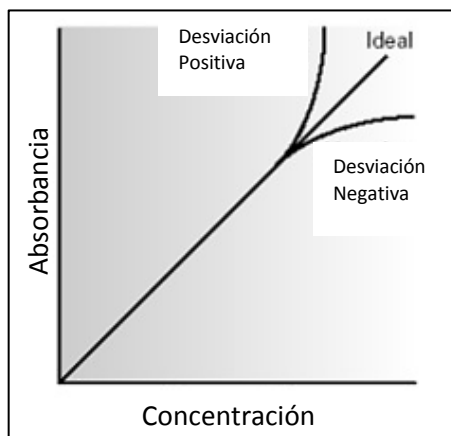


Figura N° 1: Desviaciones a la ley de Beer<sup>(9)</sup>

Esta ley se ve alterada cuando ocurren algunos errores en el análisis al utilizar esta técnica, esto se conoce como desviaciones de la ley de Lambert – Beer y estas desviaciones pueden ocurrir debido a:

- **Limitaciones fundamentales:**

Es una ley limitante solo para concentraciones bajas de analitos menores de 0.01M. A concentraciones muy altas las especies absorbentes pierden su independencia, esto es al aproximarse demasiado las moléculas interaccionan entre sí provocando que cambien sus propiedades eléctricas.

- **Interferencias químicas:**

La cuales se producen como consecuencia de la asociación, disociación o reacción de las especies de interés, estas presentan una dependencia fundamentalmente del pH de la solución, de la cantidad de concentración del complejante y del Buffer, en fin, todos los factores que pudieran afectar el equilibrio de la reacción.

- **Interferencias espectrales:**

La cual es debido a la radiación no monocromática, es decir no se emite una sola longitud de onda, para que se cumpla debe existir un solo coeficiente de absorptividad en el intervalo de  $\lambda \pm \Delta\lambda$ .

- **Interferencias instrumentales:**

Provocado por errores de lectura que siempre se producen, pero se hacen más graves a valores pequeños o muy grandes de absorbancias. También es provocada por la radiación parásita la cual es aquella que llega al detector y no procede de la muestra, esta se agrava más a valores altos de absorbancias y es provocada por polvos, por reflexiones o por defectos del sistema óptico.

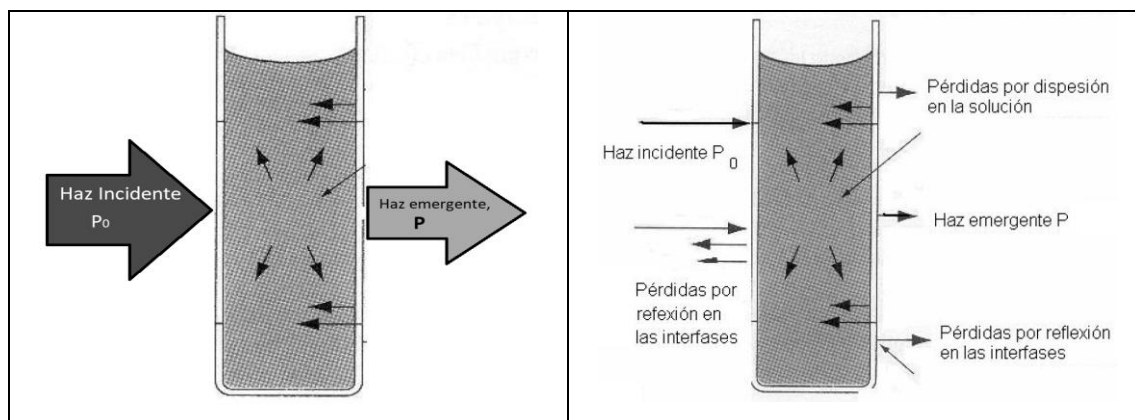


Figura N° 2: Ejemplos de interferencias instrumentales en la ley de Beer debido a los efectos de la muestra y las celdas. <sup>(9)</sup>

La presencia de cualquiera de estas interferencias provocaría automáticamente un error en el análisis que se realice, de ahí la importancia de minimizar cualquier tipo de interferencia.

La condición de monocromaticidad es difícil de realizar experimentalmente y lo que se logra es aislar un rango de longitudes de onda, el cual debe ser entonces lo más estrecho posible y las mejores condiciones de medición se obtienen cuando esta se realiza en el máximo de la curva  $A = f(\lambda)$ .

Fuera de estas condiciones exigidas por la ley de Beer se producen desviaciones de la linealidad las cuales pueden ser positivas o negativas.

### 3.7.6 Instrumentación utilizada en la espectrofotometría UV-visible <sup>(27)</sup>

Los instrumentos utilizados en la espectrofotometría uv-visible son los fotómetros y espectrofotómetros, los cuales están formados por distintos componentes: una fuente de radiación (fuente fotónica), un sistema óptico de lentes y espejos para la colimación y dirección del haz luminoso, un dispositivo seleccionador de la

longitud de onda (monocromador), un porta muestra (celda), el detector de la radiación (detector fotónico) y procesador de la señal.

Finalmente, la señal procesada se puede presentar de manera digital en una pantalla o display. En la figura N° 3 se muestra un esquema general de un sistema espectrofotométrico.

#### **A. La fuente fotónica continua** <sup>(27)</sup>

La fuente de radiación debe proporcionar una salida luminosa potente, constante y uniforme sobre una amplia región espectral. Las lámparas incandescentes como el filamento de wolframio-halógeno se usan para el caso del rango visible ( $\lambda > 350$  nm) mientras que para el rango ultravioleta ( $190 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$ ) se utiliza una lámpara de deuterio o de hidrogeno. Muchos espectrofotómetros están dotados de ambos tipos de lámparas a fin de cubrir todo el rango útil de la porción ultravioleta y visible del espectro.

#### **B. El monocromador** <sup>(27)</sup>

El monocromador es parte fundamental de un espectrofotómetro, su tarea es la de seleccionar un haz de radiación con un ancho de banda y potencia definidos. Este contiene diversos componentes como rendijas de entrada y salida (regulables o fijas), espejos colimadores y focalizadores, además de un elemento dispersor, que puede ser un prisma o una red de difracción plana. El prisma como elemento dispersor fue sustituido ya hace mucho tiempo por las redes de difracción planas ya que para obtener buen poder de resolución se requiere de prismas grandes, además de otros inconvenientes.

#### **C. Celdas y porta muestras** <sup>(27)</sup>

Las celdas en el porta muestras son en general de base cuadrada de 1 cm de lado y paredes perfectamente paralelas y perpendiculares entre sí. Dos paredes funcionan como “las ventanas” y las mismas deben ser transparentes en el rango

espectral de trabajo, para el rango visible son confeccionadas de vidrio o plástico y de cuarzo para el rango ultravioleta, pero existen celdas cilíndricas de 1 a varios centímetros de espesor.

Las celdas de medición pueden ser la causa de algunas interferencias físicas como dispersión de luz por ralladuras o absorción parcial del haz de luz por grasa o sucio en las paredes. Igualmente, el mal posicionamiento de las mismas impide que el haz de luz incida realmente perpendicular a la ventana de la celda, lo que hace  $b \neq 1$  cm. Algunos fotómetros están equipados con celdas redondas las cuales tienen la desventaja de que pueden quedar mal posicionadas con respecto al haz de luz y el camino óptico disminuye, con lo que la absorbancia medida también será menor.

Se pueden encontrar en el mercado gran diversidad de celdas para distintas aplicaciones como técnicas de flujo continuo, termostatizadas, celdas desmontables, celdas para gases, entre otras.

#### **D. El detector fotónico y procesamiento de la señal <sup>(27)</sup>**

El detector fotónica es un traductor óptico electrónico que convierte el impulso lumínico en un impulso eléctrico, cuya intensidad debe ser proporcional a la intensidad luminosa que incide sobre él, el mismo debe poseer alta sensibilidad, debe tener una respuesta lineal en un amplio rango espectral, producir una señal que se pueda amplificar y tener bajo nivel de ruido.

El detector fotónico más utilizado en los espectrofotómetros modernos es el tubo fotomultiplicador, aunque algunos están provistos con arreglo de diodos, sin embargo, el primero presenta mejores características de sensibilidad y rango lineal.

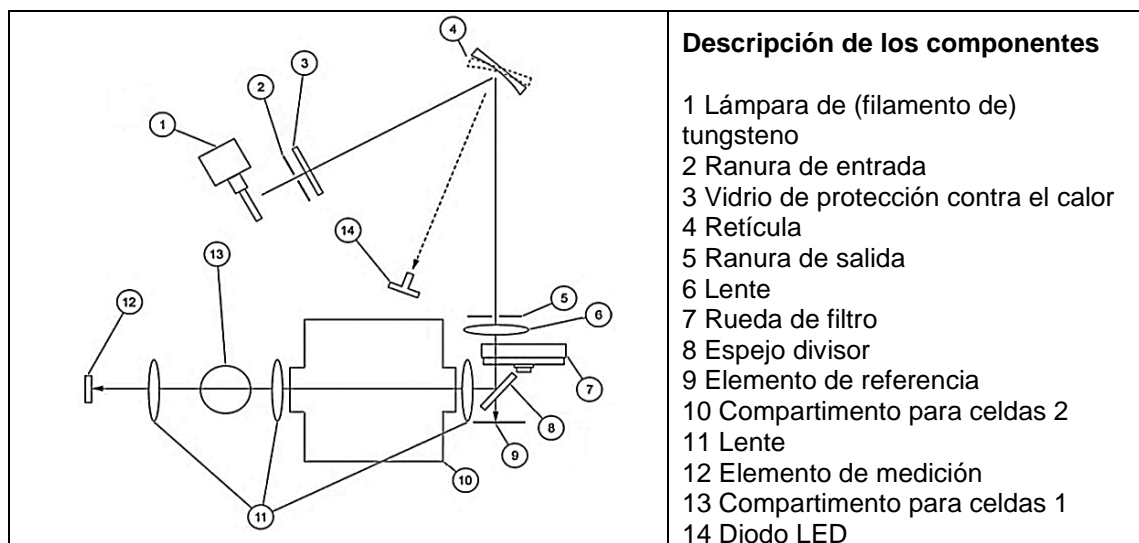


Figura N° 3: Esquema de un fotómetro de haz simple Hach DR2700. <sup>(9)</sup>

La ventaja del espectrofotómetro multicanal, radica en la velocidad con que se pueden obtener los espectros en todo dominio espectral con respecto a los instrumentos secuenciales clásicos.

Por último, la señal saliente del detector debe ser trabajada. El sistema de medida y procesamiento de los datos depende del tipo de instrumento, modo de operación, detector y la forma final que debería tomar la señal procesada.

El procesamiento puede comprender diferentes transformaciones como amplificación, división de tensión, conversiones corriente-tensión o analógico-digital, operaciones matemáticas como integración, logaritmicación, diferenciación.

### 3.7.7 Aplicaciones de la espectrofotetría UV-visible <sup>(27)</sup>

La espectrofotetría UV-visible es una de las metodologías analíticas cuantitativas más utilizadas para la determinación de especies químicas, a nivel de trazas. Esto se debe a que muchas de estas especies, tanto orgánicas como



inorgánicas, poseen características espectrales de absorción en esta región del espectro electromagnético.

Las aplicaciones de esta metodología se encuentran en muchos campos y dominios de la actividad social y económica, procesos industriales, agricultura, medicina y ciencias de la salud, ingeniería ambiental, ciencia de los alimentos, ciencia de suelos, investigación básica y aplicada, entre otros.

Su uso permite la determinación cuantitativa de muchas sustancias químicas que pueden ir desde metales hasta fármacos y sustancias orgánicas de interés biológico, la realización de estudios cinéticos de reacciones lentas en solución, la determinación de curvas de titulación, por otro lado, la recopilación de espectros de absorción en bases de datos permite la identificación de sustancias y la determinación de su grado de pureza.

El análisis espectrofotométrico uv-visible es aplicable al análisis de trazas que se encuentran a niveles de concentración entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  M, pudiéndose determinar inclusive trazas a niveles de hasta  $10^{-7}$  M. Para determinaciones cuantitativas de calidad se requiere de instrumentos de calidad y mucha rigurosidad en el tratamiento de la muestra y los patrones.

### **3.7.8 El espectrofotómetro Visible Hach DR 2700 <sup>(9)</sup>**

Es un espectrofotómetro del rango visible, abarcando la longitud de onda de 400 a 900 nm, para análisis de laboratorio y de campo.

El instrumento incluye un completo juego de programas de aplicaciones e interfaz en varios idiomas, se puede utilizar para más de 130 métodos analíticos preprogramados y puede almacenar hasta 10 programas de usuario y 200 datos, junto con la capacidad de definir la identificación de la muestra y del operador.



Figura N° 4: Espectrofotómetro Hach DR 2700<sup>(9)</sup>

El espectrofotómetro DR 2700 contiene los siguientes modos de aplicación: programas almacenados (ensayos previamente instalados), programas del usuario, programas favoritos, modo Longitud de onda única, modo Longitud de onda múltiple y modo Intervalo de tiempo, ofreciendo lecturas de salida digitales en unidades de concentración directas, absorbancia o transmitancia (%).

Al seleccionar un método programado o creado por el usuario, los menús y mensajes dirigen al usuario a través del ensayo.

Este sistema de menús también puede crear informes, evaluaciones estadísticas de curvas de calibración generadas y documentar comprobaciones de diagnóstico de instrumento. Las especificaciones técnicas pueden verificarse en el anexo N° 2.

### **3.8 RIESGOS ASEGURANDO ANÁLISIS CONFIABLES<sup>(30)</sup>**

Los valores de medición precisos y precisos son absolutamente esenciales en el análisis. Sin embargo, hay una gran cantidad de factores que pueden afectar

tanto la precisión como la exactitud. Los errores son un verdadero inconveniente cuando se observan demasiado tarde.

La garantía de calidad analítica se asegura de que los resultados de análisis sean confiables y reproducibles.

Son muchas las causas de errores en un laboratorio analítico. Podría ser un instrumento defectuoso, un reactivo contaminado o un acondicionamiento incorrecto de la muestra.

El problema radica en que a menudo no son tan fáciles de detectar y, ocasionalmente, pueden inutilizar una serie de mediciones tomadas durante muchos meses.

Se debe de asegurar de que esto no suceda: implementando un sistema que establezca una forma rápida de verificar el equipo y sus métodos. Abarcando los factores que incrementan la duda en los resultados como:<sup>(19)</sup>

#### **A. Exactitud de longitud de onda (espectral).<sup>(1)</sup>**

Es definida como la desviación de la longitud de onda leída a una banda de absorción o emisión de una banda de longitud de onda conocida. Esta desviación puede ser causas de errores significantes en las medidas de los análisis cualitativos y cuantitativos.

#### **B. Exactitud y precisión<sup>(1)</sup>**

El error de exactitud debe verificarse continuamente y depende básicamente de la calidad del blanco y los patrones de calibración, igualmente partículas sólidas en suspensión, causan dispersión en la radiación.

La presencia de interferentes que pueden reaccionar con el analito y/o los reactivos pueden causar un error sistemático que puede ser positivo o negativo, en caso de que las especies formadas sean absorbentes.

Igualmente, el interferente puede impedir que el analito reaccione, por lo que el error sistemático producido será negativo.

La precisión está determinada por los errores aleatorios, los cuales pueden provenir de la resolución de la lectura de la Transmitancia, el ruido del detector, las fluctuaciones de la intensidad de la fuente luminosa, la preparación de los patrones y de la colocación de la celda en el portamuestra del instrumento.

Existen varias pruebas para verificar la calibración en un espectrofotómetro UV-visible, estas incluyen la exactitud, reproducibilidad de la longitud de onda, y la exactitud y la reproducibilidad fotométrica.

En esta investigación se logrará comprobar la exactitud y presión del equipo, se comprobará de dos formas: <sup>(32)</sup>

- El uso de un material certificado para la verificación a distintas longitudes de onda y
- Con la preparación de una solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico.

El kit Spectroquant PhotoCheck será utilizado para probar la precisión de la longitud de onda de espectrofotómetros. Puede utilizarse como patrón secundario para probar instrumentos de acuerdo con DIN/ISO 9000 e ISO 14000. Las soluciones de color estable pueden utilizarse para probar los espectrofotómetros y su configuración a las longitudes de onda: 445 nm, 525 nm, y 690 nm. <sup>(16)</sup>

La precisión de la configuración de la longitud de onda y la linealidad de la medición de extinción se comprueba con 4 soluciones por longitud de onda.

La trazabilidad de estas soluciones de prueba según los estándares internacionales se garantiza examinándolas en un espectrofotómetro de referencia comprobado según el patrón principal (NIST). (32)

Estos valores están correctamente documentados y se suministran como parte del kit para verificación de espectrofotómetros (ver anexo N° 3).



Figura N° 5: Set de soluciones de verificación Spectroquant PhotoCheck<sup>(16)</sup>

Y con la preparación de la solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico con reactivos de alta pureza para obtener resultados confiables.

### C. Sensibilidad<sup>(1)</sup>

La sensibilidad del análisis por la absorción de la radiación visible se puede verificar por la pendiente de la recta de calibración, como factor influyente en el análisis de regresión de la calibración del equipo a diferentes longitudes de onda en el rango de trabajo.

### 3.9 CONTROLES EN EL ASEGURAMIENTO DE LOS RESULTADOS <sup>(1)</sup>

Con el fin de asegurar la validez de los resultados en los ensayos realizados en el equipo Hach DR 2700 se realizarán los siguientes:

- A. Control de la exactitud de la longitud de onda:** para verificar el grado de concordancia entre la longitud de onda seleccionada para la máxima absorbancia y la longitud de onda, se utiliza como referencia un filtro de óxido de holmio, esto es una delgada película de óxido de holmio distribuida sobre un soporte rígido de cuarzo, este debe exhibir sus máximos de absorbancia en un barrido en el rango visible a: 418, 453, 460, 484, 536 y 648 nm.
  
- B. Control de la exactitud fotométrica:** se realiza comparando los resultados de absorbancia de una solución de referencia de sulfato de cobre 20g/L en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 Molar, obtenida en el espectrofotómetro, cubriendo las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm, esta solución debe registrar en cada longitud de onda los siguientes resultados de absorbancia: 0.068, 0.224, 0.537, 0.817 respectivamente, realizando 6 lecturas consecutivas de la solución, utilizando una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 M como blanco.
  
- C. Control de la precisión fotométrica:** se obtiene la medida de la dispersión de una serie de mediciones de absorbancia, medidas en las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm durante 6 días continuos. El resultado se expresa como coeficiente de variación porcentual con la solución de sulfato de cobre 20g/L en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 Molar usado en la verificación de la exactitud fotométrica utilizando una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 M como blanco.
  
- D. Control de la linealidad fotométrica:** el rango de absorbancia en el que el instrumento tiene respuesta proporcional a los cambios de concentración se

puede realizar determinando la respuesta del espectrofotómetro a diferentes concentraciones de un material de referencia certificado, el set Spectroquant FotoCheck, utilizando la solución proporcionada por el fabricante para realizar el ajuste a 0 de absorbancia del equipo. Las longitudes de onda a que se realizarán las lecturas son: 445, 525 y 690 nm.

- E. Control de Luz difusa o parásita:**<sup>(8)</sup> es la medida del porcentaje de transmitancia de la luz a través de un filtro óptico, el ajuste del equipo a 0 de transmitancia se realiza con aire, luego se mide la transmitancia de la luz a través del filtro a una longitud de onda de 500 nm, realizando las lecturas por triplicado durante 5 días.

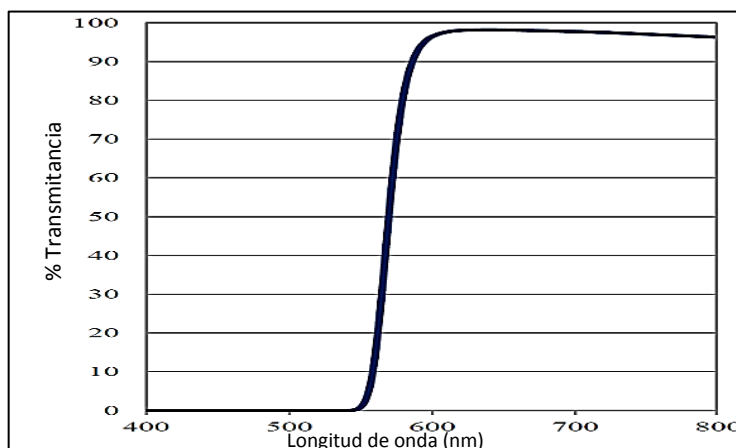


Figura N° 6: Filtro de paso largo de transmitancia interna, 3 mm de espesor. <sup>(7)</sup>

La transmitancia resultante a 500 nm debe ser igual a cero, y toda transmitancia detectada corresponde a luz parásita.

- F. Ruido:** los equipos modernos están usualmente equipados con una función que estima el ruido. Se calcula la raíz cuadrada del promedio del ruido la cual es una medida de la desviación estándar de la señal de ruido de fondo. En los espectrofotómetros antiguos la raíz cuadrada del promedio puede ser estimada multiplicando el ruido más alto por un factor de 0.7.

Para la evaluación del ruido se realiza un barrido a modo de absorbancia durante 10 minutos tomando como muestra el aire y se registra el valor de absorbancia cada treinta segundos (como el ruido de pico a pico) a una longitud de onda de 500 nm, en la figura N° 7 se representa el ruido fotométrico de un espectrofotómetro.

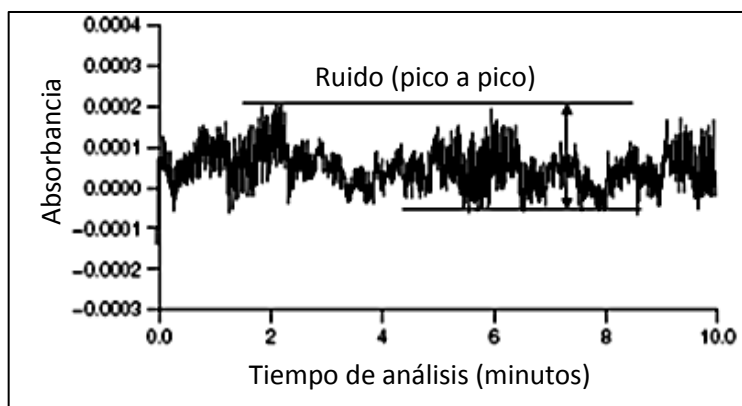


Figura N° 7: Representación del ruido fotométrico <sup>(2)</sup>

### 3.10 DOCUMENTACIÓN EN EL LABORATORIO <sup>(26)</sup>

El producto de un laboratorio de análisis es el informe de los resultados, principalmente en forma de informe de análisis. Por lo que la gestión de la información (los datos) se debe vigilar para garantizar su exactitud y confidencialidad, así como su accesibilidad para el personal del laboratorio.

Es necesario contar con documentación en el laboratorio para tener información sobre cómo se deben hacer las cosas, y los laboratorios siempre tienen mucha documentación. Los registros se deben mantener de forma meticulosa para que puedan ser exactos y accesibles.



La finalidad de la documentación en el laboratorio es asegurar el adecuado manejo y disponibilidad de los documentos requeridos por el sistema de calidad, para la generación, actualización, revisión, aprobación, distribución y control de los documentos de acuerdo a lo especificado. Así mismo, asegura la identificación, almacenamiento, protección, recuperación, retención y disposición de los registros generados según los sistemas de gestión.

El protocolo para la verificación de los parámetros de calibración de un espectrofotómetro visible tiene como estructura el esquema para la elaboración de protocolos (ver anexo N° 4) del Laboratorio Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, el cual es de aplicación a todos los documentos requeridos por el sistema de calidad, además de a todos los registros generados por los sistemas de gestión como ISO 9001 y ISO/IEC 17025. <sup>(30)</sup>

### **3.11 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD POR MEDIO DE CARTAS DE CONTROL** <sup>(28)</sup>

La metodología de la carta de control, aplica al laboratorio de química analítica. Los gráficos de control son utilizados por el analista para lograr y mantener el control estadístico de los sistemas de medición.

Cuando se detecta una condición fuera de control, el analista debe buscar la causa y rectificar la situación antes de volver a realizar algunas de las mediciones anteriores y continuar con otros análisis. El analista decide cuándo el sistema de medición está fuera de control por referencia a los límites de control en la carta de control que se colocan de acuerdo con la variabilidad de medición normal y con una probabilidad de error Tipo I preestablecida (o riesgo de juzgar el sistema está fuera de control cuando está realmente en control). Sin embargo, cuando los

datos están correlacionados, como suele ser el caso para los análisis instrumentales, estimar la varianza de la manera habitual es deficiente y puede hacer que el gráfico de control sea un pasivo en lugar de un activo. <sup>(23)</sup>

Los métodos de análisis instrumental suelen ser de naturaleza comparativa y los instrumentos analíticos utilizados para la medición requieren una recalibración periódica para compensar los efectos de factores ambientales incontrolables y cambios graduales en el rendimiento del instrumento.

Estos efectos son una realidad para todos los métodos de análisis en los que la cuantificación se basa en la comparación de una propiedad física con un estándar con la misma propiedad en un analíto. <sup>(10)</sup>

Con respecto a la calibración, deben hacerse dos preguntas: ¿cómo sabe el analista que el proceso de calibración estuvo libre de errores sistemáticos y cómo sabe que la calibración será válida para todas las determinaciones realizadas dentro de un conjunto analítico particular (es decir, antes de recalibrar) para estar seguro de los resultados de la prueba, el analista debe tener sistemas para monitorear y controlar la exactitud y precisión del método de prueba. Si el sistema de medición no se encuentra en un estado de control estadístico, la capacidad para controlar un método analítico se verá afectado.

El control del proceso de medición es una herramienta estadística que se utiliza para el control y la mejora de una determinación analítica. El gráfico de control, como la pieza clave, es una herramienta gráfica que rastrea el rendimiento del proceso a lo largo del tiempo.

La variabilidad natural en un proceso de medición surge de un sistema de causa común, que podría incluir errores de muestreo y fluctuaciones en la fuente de

alimentación o la temperatura. Si una observación cae fuera de los límites de control, es probable que exista una causa de variación asignable.

Una causa asignable de variación podría originarse de un error del analista, un error en el dispositivo de medición o un error en el método de análisis.

El objetivo es identificar y eliminar las causas asignables de variación, manteniendo así el proceso de medición en el objetivo y conteniendo la variabilidad de la medición.

Los principios del control de la medición son los mismos que los del control estadístico del proceso, excepto que lo que se está controlando es la calidad de las mediciones, no el producto. Para establecer las guías de aplicación para la elaboración de cartas control se utilizará la serie de la norma ISO 11843 capacidad de detección, (ver anexo N° 5) para aplicar una guía para el análisis de varianza y elaboración de cartas de control.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio realizado fue de tipo Experimental y Exploratorio

- **Experimental:**

El estudio se realizará en el Laboratorio de Análisis Físicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador; donde se realizaron las pruebas de verificación de la calibración del espectrofotómetro Hach DR2700

- **Exploratorio:**

Porque se indagó y se recopiló información sobre un tema poco estudiado, y así definirlo concretamente para su estudio.

### 4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

La investigación bibliográfica se realizó en las siguientes bibliotecas:


- “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- “P. Florentino Idoate, S.J.” de la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas.
- Internet

### 4.3 PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se propuso el desarrollo de un protocolo elaborado previamente, que describe los procedimientos para llevar a cabo las verificaciones para un equipo de espectrofotometría visible HACH DR-2700. Estableciendo los parámetros específicos, que actuarán como controles que permitirán asegurar la validez de los resultados obtenidos por él, en las actividades en las cuales se utilice.

### 4.3.1 Protocolo para la verificación de la calibración del espectrofotómetro Hach DR-2700.

Cuadro N° 1 Procedimiento de verificación instrumental

	<b>PROCEDIMIENTO DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR-2700</b>	Código: PROCAL-01
		Fecha: 11-03-2019
		Edición 1a
		Cambio # 0
		Página N° 1 de 11
<b>Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador</b>		
	<b>Fecha/Nombre</b>	<b>FIRMA</b>
<b>ELABORADO POR:</b>	11 de marzo de 2019 Br. Alejandra Astrid Guzmán Valle	
<b>REVISADO POR:</b>	12 de marzo de 2019 Br. Roberto Luis Rivera Aguirre	
<b>AUTORIZADO POR:</b>	13 de marzo de 2019 Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras	
<p><b>1. PROPOSITO</b> Implementar un procedimiento en el que se establezcan los pasos a seguir para la calibración del espectrofotómetro visible Hach DR-2700</p> <p><b>2. ALCANCE</b> Este procedimiento tiene aplicación para las áreas de Química Agrícola Aplicada, para garantizar el buen funcionamiento del instrumento de medición.</p> <p><b>3. RESPONSABLES</b> Analista titular: Br. Alejandra Astrid Guzmán Valle Analista suplente: Br. Roberto Luis Rivera Aguirre Gerente de calidad: Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras</p> <p><b>4. PARAMETROS A ESTUDIAR</b> Con el fin de realizar la verificación del desempeño del espectrofotómetro visible Hach DR 2700, se proponen los siguientes controles:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Control de la exactitud de la longitud de onda</li> <li>- Control de la exactitud fotométrica</li> <li>- Control de la precisión fotométrica</li> <li>- Control de la linealidad fotométrica</li> <li>- Control de Luz difusa o parásita</li> <li>- Determinación del ruido de fondo</li> </ul> <p><b>5. MUESTRAS</b> Las matrices de muestras aplicables para análisis utilizando el espectrofotómetro visible Hach son diversos y no limitándose a muestras solidas (en solución) y liquidas: agua (varias matrices), suelos, etc.</p> <p><b>6. EQUIPOS INVOLUCRADOS</b> El espectrofotómetro DR 2700 es un espectrofotómetro del espectro visible, con un rango de longitud de onda de 400 a 900 nm, para análisis de laboratorio y de campo. Se suministra con un juego completo de programas de aplicación y un soporte en múltiples idiomas.</p>		

El espectrofotómetro DR 2700 contiene los modos de aplicación siguientes: Programas almacenados (tests preinstalados), Programas del usuario, Programas favoritos, Modo Longitud de onda única y Modo Longitud de onda múltiple.

El espectrofotómetro DR 2700 suministra lecturas digitales en unidades directas de concentración, absorbancia o porcentaje de transmitancia.

## 7. DESCRIPCIÓN DEL METODO ANALITICO

Los instrumentos de medición son calibrados por el Laboratorio de Análisis instrumental quien anualmente entrega un certificado de calibración y es anexado en la carpeta de formatos de controles del equipo.

### 7.1. REACTIVOS

- Agua ultra pura

### 7.2. ESTANDARES

- **Solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico:**
- **Solución de ácido sulfúrico 0.005 mol L<sup>-1</sup>:**
- **Patrones para fotómetro Spectroquant PhotoCheck**

El kit de ensayos PhotoCheck está diseñado para evaluar la exactitud de longitud de onda de sistemas fotométricos. Puede emplearse como patrón secundario para la evaluación de instrumentos según las normas DIN/ISO 9000 e ISO 14000. Son soluciones de color estables y se utilizan para analizar los siguientes filtros y ajustes de longitud de onda de espectrofotómetros: 445 y 446 nm, 520 y 525 nm y 690 nm. La exactitud del ajuste de longitud de onda y la linealidad de la medición de la extinción se verifica con 4 soluciones por cada longitud de onda.

La trazabilidad de estas soluciones de ensayo con respecto a los patrones internacionales queda garantizada dado que son analizados en un fotómetro de referencia que ha sido verificado frente al patrón primario (patrón del NIST). Estos valores se encuentran documentados en el certificado del producto.

#### 7.2.1 Especificaciones de calidad de reactivos

Tabla N° 1: Especificaciones de los reactivos a utilizar en las verificaciones del equipo Hach DR 2700

Reactivo	Peso molecular (g/mol)	Pureza (%)
Ácido Sulfúrico	98.0	95 – 99
Sulfato de cobre Pentahidratado	249.68	98.21
Nitrito de sodio	69	99

### 7.3. MATERIALES

El listado de materiales a utilizar y las especificaciones del equipo y la cristalería a utilizar se describe a continuación:

Tabla N° 2: Descripción de la cristalería a utilizar

Descripción del material	Clase	Tolerancia	Descripción del material
Pipetas Volumétricas de: 5.0 mL 10.0 mL	Clase A	+/- 0.02 +/- 0.03	Beakers: 50 mL 100 mL 500 mL
Balones Volumétricos de: 50.0 mL 100.0 mL 1000.0 mL	Clase A	+/- 0.5 +/- 0.5 +/- 0.5	Probetas: 25 mL 100 mL

#### 7.4. INSTRUMENTACION

Espectrofotómetro Visible Hach DR 2700

Tabla N° 3: Especificaciones de los equipos a utilizar en la investigación

Equipo	Marca	Modelo	Especificaciones
Espectrofotómetro	Hach	DR 2700	Rango visible: 400 – 800 nm Precisión de longitud de onda: $\pm 1.5$ nm Reproducibilidad de longitud de onda: $< 0.1$ nm Resolución de longitud de onda: 1 nm Ancho de banda espectral: $< 8$ nm Rango de medida fotométrico: $\pm 3.0$ Abs en el rango de longitud de onda 400–900 nm Precisión fotométrica: 5 mAbs a 0.0–0.5 Abs, 1% a 0.50–2.0 Abs
Balanza analítica	Ohaus	Adventurer	Máxima capacidad: 210g Resolución de la lectura: 0.0001g
Estufa	Lab Line	3512	de $+30$ °C a $+300$ °C

#### 7.5. CONDICIONES AMBIENTALES

No requiere condiciones especiales, se realiza a temperatura normal controlada en el laboratorio  $21 \pm 3$  °C.

#### 7.6. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS

- Se debe conocer la reactividad de los productos o la reacción.
- Siempre se debe utilizar una cantidad mínima de reactivos.
- La apertura de los frascos que contienen sustancias químicas debe realizarse lenta y cuidadosamente.
- Cuando un líquido se vierte desde el frasco al vaso ha de hacerse de manera cuidadosa, evitando las salpicaduras.
- En la manipulación de sustancias tóxicas o nocivas, se deberá evitar el contacto con la piel, la inhalación de los posibles vapores y la ingestión. (para tomar las sustancias sólidas se emplearán cucharas o espátulas y con líquidos se utilizarán pipetas de seguridad).
- Los trasvases han de realizarse de la siguiente forma:
  - En pequeñas cantidades o en zonas específicas.
  - Las sustancias inflamables se trasvasarán lejos de un foco de calor.
  - Utilizar equipo de protección individual adecuado a la sustancia que se manipula, especialmente con sustancias tóxicas, irritantes y corrosivas.
  - Emplear la ayuda de embudos, dosificadores o sifones.

#### 7.7. PREPARACION DEL ESTANDAR

- **Solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico:** disolver en un vaso de precipitados 20,0 g de sulfato de cobre pentahidratado, en suficiente agua destilada. Adicionar, con cuidado, 10 ml de ácido sulfúrico ( $d = 1,84$  g  $\text{cm}^{-3}$ ), y trasvasar cuantitativamente la solución a un matraz aforado de 1 litro. Llevar a volumen con agua destilada y homogeneizar.
- **Solución de ácido sulfúrico 0.005 mol L<sup>-1</sup>:** pesar en un beacker 0.49 g de ácido sulfúrico ( $d = 1,84$  g  $\text{cm}^{-3}$ ), diluir con agua destilada y trasvasar cuantitativamente a un matraz de 1 litro. Llevar a volumen con agua destilada y homogeneizar.



## 7.8. PREPARACION DE LA MUESTRA

No aplica

## 7.9. PROCEDIMIENTO DE LECTURA EN EL EQUIPO

- a. Conectar el espectrofotómetro Visible HACH DR2700 a la fuente de alimentación de energía eléctrica.
- b. Pulsar el interruptor trasero del equipo durante dos segundos aproximadamente para encender el equipo.
- c. Permitir estabilizar el equipo durante 15 minutos.
- d. Seleccionar en la parte superior derecha de la pantalla del equipo el símbolo  $\lambda$ , se despliega una pantalla para digitar la longitud de onda deseada (XXX nm), presionar la palabra OK para establecer la longitud de onda a la cual se realizarán las mediciones.
- e. Abrir el compartimiento de celdas.
- f. Seleccionar el compartimiento para celda adecuado:
  - cilíndrico para tubos de vidrio ensayos de 1 cm de espesor,
  - cilíndrico para celdas de vidrio de 5 cm de espesor o
  - rectangular para celdas de vidrio o plástico de 1 cm de espesor.
- g. Limpiar la celda seleccionada con solución para calibrar el cero de absorbancia o 100 de transmisión, con un paño limpio y suave.
- h. Introducir en el compartimiento para celda.
- i. Presionar en la parte inferior de la pantalla la palabra ZERO y esperar unos segundos a que el equipo mantenga estable la calibración a 0.000 Abs.
- j. Retirar la celda del compartimiento la celda cilíndrica o rectangular con la solución para calibrar cero de absorbancia o 100 de transmisión.
- k. Limpiar la celda con la solución patrón o muestra a medir con un paño limpio y suave (puede utilizarse pañuelo Kleenex)  
Nota: cada tubo con solución control se debe limpiar antes de introducir al compartimiento cilíndrico.
- l. Presionar el comando MEDICION en la parte inferior de la pantalla y esperar unos segundos a que aparezca el valor de absorbancia o transmitancia medida.
- m. Anotar en valor obtenido.
- n. Este procedimiento se puede realizar por duplicado.
- o. Si se desea cambiar de longitud de onda, se repite el procedimiento según 7.9 literal d.
- p. Si ya no se van a realizar más mediciones se presiona por 3 seg. el control trasero para apagar el equipo.

## 7.10. CALCULOS

Cada proceso matemático es expuesto en los parámetros de calibración a evaluar

## 8. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LOS PARAMETROS A EVALUAR

### A. Control de la exactitud de la longitud de onda:

- a. Verificar el grado de concordancia entre la longitud de onda seleccionada y la máxima absorbancia, se utilizara como referencia un filtro de óxido de holmio.
- b. Realizar lecturas para un barrido espectral de  $\pm 1$  nm para cada longitud de onda, utilizando el aire como blanco. Es decir lecturas individuales para un barrido espectral de cada longitud de onda, en rangos de 1 nm haciendo lecturas puntuales para cada una.
- c. Seleccionar la longitud de onda a evaluar calibrando a cero de absorbancia con aire.
- d. Colocar el filtro de Holmio en el compartimiento de celda rectangular de 1 cm en el paso óptico.

- e. Realizar la verificación espectral 6 veces cada día, durante 6 días consecutivos.  
 f. Los resultados se registran en la tabla N° 4, para cada longitud de onda esperada.

Tabla N° 4: Formato de registro de resultados para el control de exactitud de la longitud de onda a 640 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio						
Desviación estándar						

- g. Realiza la prueba de Bartlett  
 h. criterio: un valor del parámetro de Bartlett menor que el valor tabulado de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) ( $M = \text{valor de tabla} < \chi^2_{0.05} = \text{valor obtenido}$ )  
 i. Para evaluar si existen o no diferencias significativas entre los promedios de los 6 días se realiza un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, los resultados obtenidos se registran como sigue en la tabla N° 5.

Tabla N° 5: Formato del análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 640 nm.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Razón (F)
Entre días				
Dentro de los días				
Total				

- j. Verificar el valor de "F" calculado es menor que el valor tabulado de  $F_{0.05}$ , entonces se puede concluir con un nivel de confianza del 95% que no existen diferencias significativas entre los promedios de los 6 días (ver anexo N° 7).  
 k. Evaluar el sesgo espectral a cada longitud de onda, utilizando los promedios de las lecturas de longitud de onda de cada día, los cuales se registran en la tabla N° 7.

Tabla N° 6: Formato para sesgo en cada promedio de longitudes de onda

Valor de referencia(nm)	Promedio de valores experimentales obtenidos (nm)	Sesgo (nm)
418		
453		
460		
484		
535		
648		

- I. Para el promedio de cada día se evalúa el sesgo y luego se grafica, en una carta de control para cada longitud de onda.

**B. Control de la exactitud fotométrica:**

- a. Se realizará comparando los resultados de absorbancia de una solución de referencia de sulfato de cobre 20 g/L en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.005 Molar, obtenida en el espectrofotómetro, cubriendo las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm, esta solución debe registrar en cada longitud de onda los siguientes resultados de absorbancia: 0.068, 0.224, 0.537, 0.817 respectivamente, realizando 6 lecturas consecutivas de la solución, utilizando una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.005 M como blanco. El ensayo se realiza durante 6 días consecutivos.  
Los resultados se registran en la tabla N° 7, para cada longitud de onda esperada.

Tabla N° 7: Formato para el registro de resultados para el control de exactitud fotométrica a 750 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio						
Desviación estándar						

- b. Realizar el test de Bartlett,  
Criterio: un valor del parámetro de Bartlett menor que el valor tabulado de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) ( $M = \text{valor de tabla} < \chi^2_{0.05} = \text{valor obtenido}$ )
- c. Con el propósito de evaluar si existen o no diferencias significativas entre los promedios de los 6 días se realiza un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, los resultados obtenidos se registran como sigue en la tabla N° 8.

Tabla N° 8: Formato para el análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 750 nm.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Razón (F)
Entre días				
Dentro de los días				
Total				

- d. Verificar el valor de "F" calculado es menor que el valor tabulado de  $F_{0.05}$
- e. Evaluar el sesgo fotométrico a cada longitud de onda, utilizando los promedios de las lecturas de longitud de onda de cada día, los cuales se registran en la tabla N° 9.

Tabla N° 9: Formato para sesgo de cada promedio de absorbancia

Longitud de onda (nm)	Absorbancia de referencia	Promedio de Absorbancia experimentales obtenidos	Sesgo
600	0.068		
650	0.224		
700	0.527		
750	0.817		

- f. Estos valores de referencia se les encontrarán: su límite superior e inferior, según el procedimiento de la ISO 11095 para la elaboración de cartas de control ver anexo N° 6.

El sesgo fotométrico se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Sesgo} = (\bar{X} - A_{\text{ref}})$$

Dónde:

$A_{\text{ref}}$  = Es el valor de referencia reportado por el NIST a cada  $\lambda$  en nm.

$\bar{X}$  = Es el promedio de Absorbancia para cada día.

Los resultados se registran en la tabla N° 10.

Tabla N° 10: Formato de sesgo entre los promedios experimentales de absorbancia con el valor de referencia del NIST.

Absorbancia	Promedio diario					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Promedio experimental						
Valor de referencia esperado						
Sesgo						

Se registran estos límites de referencia y el promedio para cada promedio de cada día y luego se grafica, en una carta de control para cada longitud de onda. Para verificar que todos los puntos se encuentren dentro del rango de valores permitidos. Por lo que se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los valores experimentales y de referencia.

- g. Como criterio para la exactitud fotométrica el sesgo no debe ser mayor de  $\pm 0.005$  para cada longitud de onda

- C. Control de la precisión fotométrica:** Se obtendrá la medida de la dispersión de una serie de mediciones de absorbancia de una solución de sulfato de cobre 20 g/L en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 Molar, medidas en las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm durante 6 días continuos, en cada día se llevaran a cabo 6 lecturas para cada longitud de onda.

El resultado se expresa como coeficiente de variación porcentual con la solución de sulfato de cobre 20 g/L en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 Molar usado en la verificación de la exactitud fotométrica utilizando una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 M como blanco y se anotan los resultados en la tabla N° 11.

Tabla N° 11: Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a 750 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio( $\bar{x}$ )						
DS						
CV%						

Como criterio de aceptación se valorara el resultado según el resultado del coeficiente de variación porcentual como sigue:

- CV% < 0.5%            Precisión fotométrica optima
- CV% < 1.0%        Precisión fotométrica aceptable

**D. Control de la linealidad fotométrica:** el rango de absorbancia en el que el instrumento tiene respuesta proporcional a los cambios de concentración se realizará determinando la respuesta del espectrofotómetro a diferentes concentraciones de un material de referencia certificado, el set Spectroquant FotoCheck, utilizando la solución proporcionada por el fabricante para realizar el ajuste a cero de absorbancia del equipo. Las longitudes de onda a que se realizarán las lecturas son: 445, 525 y 690 nm. Los resultados se registran en un formato recomendado por el fabricante según el anexo N° 8, luego se registrará en la tabla N° 12 y calculará el promedio de los 6 días. Obteniendo así los valores resultantes de regresión lineal para la pendiente y el intercepto ( $b_0$ ,  $b_1$ ), el error asociado para cada uno ( $S_a$ ,  $S_b$ ), Y el coeficiente de determinación ( $r$ ) para cada día.

Tabla N° 12: Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.

Solución de control	Absorbancia experimental obtenida						Promedio ( $\bar{x}$ )
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	
445-1							
445-2							
445-3							
445-4							
525-1							
525-2							
525-3							
525-4							
690-1							
690-2							
690-3							
690-4							

Tabla N° 13: Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.

Parámetros /Días	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
$b_0$						
$b_1$						
$S_a$						
$S_b$						
R						

- Estos datos se grafican verificando que exista una relación lineal entre los valores obtenidos experimentalmente y los valores de referencia ( $r \geq 0.98$ ), y que los valores del intercepto y la pendiente son próximos a cero y a uno respectivamente, evidenciando que no existen errores sistemáticos en las mediciones.
- Para confirmar la existencia o no de errores sistemáticos se realizará la prueba de t-student para el intercepto y para la pendiente y se comparará con el valor de tabla a un nivel de confianza del 95%, el criterio de esta prueba es un valor  $t_{\text{experimental}}$  menor que el tabla, confirmando que el intercepto es cero y la pendiente es uno y no existan errores sistemáticos, así a cada longitud de onda evaluada (ver anexo N° 7).

**E. Control de Luz difusa o parásita:** la medida del porcentaje de transmitancia de un filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor, el ajuste del equipo a 0 de transmitancia se realiza con aire. La transmitancia (T) de esta solución a 500 nm debe estar cercano a cero, y toda transmitancia detectada corresponde a luz parásita.

- Se mide la transmitancia del filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor a una longitud de onda de 500 nm.
- Realizar las lecturas por triplicado durante 6 días, los resultados se registran en la tabla N° 14.

Tabla N° 14: Formato para el registro de absorbancia en la prueba de luz difusa

Replica	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						

- Se calcula el promedio de las transmitancias ( $\bar{T}$ ) del filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor a 500 nm.
- Criterio de aceptación:  $\bar{T} < 0.01$  ó  $A > 2$

**F. Determinación del ruido de fondo:** se realiza un barrido en modo de absorbancia utilizando el aire como blanco con el compartimiento de celdas vacío por 10 minutos.

- Se registra la absorbancia (como el ruido) cada 30 segundos durante 10 minutos a 500 nm.
- Los resultados de las absorbancia en función del tiempo se presentan en la siguiente tabla N° 15.

Tabla N° 15: Formato de la absorbancia en función del tiempo a 500 nm

Tiempo (min)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Absorbancia										
Tiempo (min)	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
Absorbancia										

- Se calcula el promedio y la raíz cuadrada del promedio de los resultados.
- Criterio de aceptación: La raíz cuadrada del promedio de los resultados debe ser típicamente menor que 0.001 UA.

### 9. CRITERIOS DE ACEPTACION

Resumen de los criterios del estudio y una declaración de aplicabilidad

Los criterios de aceptación de la parte experimental se establecen en la siguiente tabla.

Tabla N° 16: Cálculos, evaluación de resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro

Parámetro de control	Proceso/medir	Calcular	Criterios de aceptación
Exactitud de la longitud de onda	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$E = \lambda_m - \lambda_{ref}$	± 3 nm rango visible 3 lecturas de pico deben estar entre ± 0.5 nm.
Exactitud fotométrica	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$\%Error = \frac{A_m - A_{ref}}{A_{ref}} * 100$	Error entre ± 2% Optima Error entre ± 3% Aceptable
Precisión fotométrica	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$CV\% = \frac{SD}{\bar{x}} 100$	CV% < 0,5% optima CV% < 1% aceptable
Linealidad fotométrica	Graficar $A_m$ vs $A_{ref}$ .	Regresión lineal $y = ax + b$ Y el coeficiente de regresión (r). $r = \sqrt{R^2}$	Reportar a y b con sus errores típicos y $r \geq 0,98$
Luz difusa o parásita	Mediciones puntuales, 3 réplicas por 6 días	Promedio de lecturas $\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$	$\tilde{T} < 0.01$ ó $A > 2$
Ruido de fondo	Medición puntual.	$Ruido = \sqrt{\bar{x}_{mediciones}}$	< 0.001 UA

### 10. REFERENCIAS

- Azcarate M., Kloster N., Ostinelli M., Carreira D., (2011), Guía para la verificación de espectrofotómetros UV-Visibles utilizados en el análisis de suelo y agua. Iberolab, España. [En línea] Disponibilidad en el sitio: [http://www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/IberolabVI2011/Comunicaciones/documentos\\_comunicaciones/Requisitos\\_Tecnicos\\_0079.pdf](http://www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/IberolabVI2011/Comunicaciones/documentos_comunicaciones/Requisitos_Tecnicos_0079.pdf)
- Ellison S., Barwick V., Duguid T., (2009) Practical Statistics for the Analytical Scientist: A Bench Guide (Valid Analytical Measurement), 2nd edition. Royal Society of Chemistry.

- Hach Company, (2013). Manual de usuario Espectrofotómetro Visible HACH DR 2700, Alemania. Disponibilidad en el sitio <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639982330>
- Merck Millipore, (2015). Spectroquant PhotoCheck 1.14693.0001, USA. [En línea] Disponible en: [http://www.merckmillipore.com/GT/es/product/PhotoCheck,MDA\\_CHEM-114693](http://www.merckmillipore.com/GT/es/product/PhotoCheck,MDA_CHEM-114693)
- Montgomery D., Peck E., Vining G., (2012), Introduction to Linear Regression Analysis, 5th edition, Wiley, USA.
- The International Organization for Standardization (ISO), (1996). ISO 11095 - Linear calibration using reference materials.
- The International Organization for Standardization (ISO), (2000). ISO 11843-2 - Capability of detection. Methodology in the linear calibration case.

#### **4.3.2 Parámetros de verificación de la calibración del equipo**<sup>(1)</sup>

Con el fin de realizar la verificación del desempeño del espectrofotómetro visible Hach DR 2700, se desarrollaron los siguientes controles:

- Control de la exactitud de la longitud de onda
- Control de la exactitud fotométrica
- Control de la precisión fotométrica
- Control de la linealidad fotométrica
- Control de Luz difusa o parásita
- Determinación del ruido de fondo

#### **4.3.3 EQUIPO, MATERIALES Y REACTIVOS**<sup>(1, 9)</sup>

La preparación de reactivos y las especificaciones para la calidad de los reactivos equipos y cristalería a utilizar en la verificación del espectrofotómetro visible Hach DR 2700 se establecen en el Anexo N° 6.

#### **4.3.4 Procedimiento para la lectura en el espectrofotómetro Visible HACH DR2700 (el anexo N° 9 muestra los controles del equipo).**<sup>(9)</sup>

- a) Conectar el espectrofotómetro Visible HACH DR2700 a la fuente de alimentación de energía eléctrica.



- b) Pulsar el interruptor trasero del equipo durante dos segundos aproximadamente para encender el equipo.
- c) Permitir estabilizar el equipo durante 15 minutos.
- d) Seleccionar en la parte superior derecha de la pantalla del equipo el símbolo  $\lambda$ , se despliega una pantalla para digitar la longitud de onda deseada (XXX nm), presionar la palabra OK para establecer la longitud de onda a la cual se realizarán las mediciones.
- e) Abrir el compartimiento de celdas.
- f) Seleccionar el compartimiento para celda adecuado:
  - cilíndrico para tubos de vidrio ensayos de 1 cm de espesor,
  - cilíndrico para celdas de vidrio de 5 cm de espesor o
  - rectangular para celdas de vidrio o plástico de 1 cm de espesor.
- g) Limpiar la celda seleccionada con solución para calibrar el cero de absorbancia o 100 de transmisión, con un paño limpio y suave.
- h) Introducir en el compartimiento para celda.
- i) Presionar en la parte inferior de la pantalla la palabra ZERO y esperar unos segundos a que el equipo mantenga estable la calibración a 0.000 Abs.
- j) Retirar la celda del compartimiento la celda cilíndrica o rectangular con la solución para calibrar cero de absorbancia o 100 de transmisión.
- k) Limpiar la celda con la solución patrón o muestra a medir con un paño limpio y suave (puede utilizarse pañuelo Kleenex)  
Nota: cada tubo con solución control se debe limpiar antes de introducir al compartimiento cilíndrico.
- l) Presionar el comando MEDICION en la parte inferior de la pantalla y esperar unos segundos a que aparezca el valor de absorbancia o transmitancia medida.
- m) Anotar en valor obtenido.
- n) Este procedimiento se puede realizar por duplicado.

- o) Si se desea cambiar de longitud de onda, se repite el procedimiento según 2.3.4 literal d).
- p) Si ya no se van a realizar más mediciones se presiona por 3 seg. el control trasero para apagar el equipo.

#### 4.3.5 Controles para el aseguramiento analítico de los resultados <sup>(1)</sup>

**A. Control de la exactitud de la longitud de onda:** para verificar el grado de concordancia entre la longitud de onda seleccionada de máxima absorbancia y la longitud de onda se utilizará como referencia un filtro de óxido de holmio, el cual es una delgada película de óxido de holmio distribuida sobre un soporte rígido de cuarzo, este debe exhibir máximos de absorbancia en un barrido en el rango visible según se establece en la tabla N° 17.

Tabla N° 17: Longitudes de onda de máxima absorción esperadas en una película de óxido de holmio en el rango visible. <sup>(1)</sup>

Ancho de banda	Longitud de onda esperada (nm)					
1 nm	418	453	460	484	536	648
Rango	± 1 nm en cada longitud de onda seleccionada					

Se realizan lecturas para un barrido espectral de  $\pm 1$  nm para cada longitud de onda, utilizando el aire como blanco. Es decir, lecturas individuales para un barrido espectral de cada longitud de onda, en rangos de 1 nm haciendo lecturas puntuales para cada una.

- Se selecciona la longitud de onda a evaluar y se calibra a cero de absorbancia.
- Se coloca el filtro de Holmio en el compartimiento de celda rectangular de 1 cm en el paso óptico, la figura N° 8 representa el espectro de la película de óxido de holmio con los picos obtenidos y los resultados esperados de

absorbancia en un espectrofotómetro de referencia de trabajo (para fines comparativos).

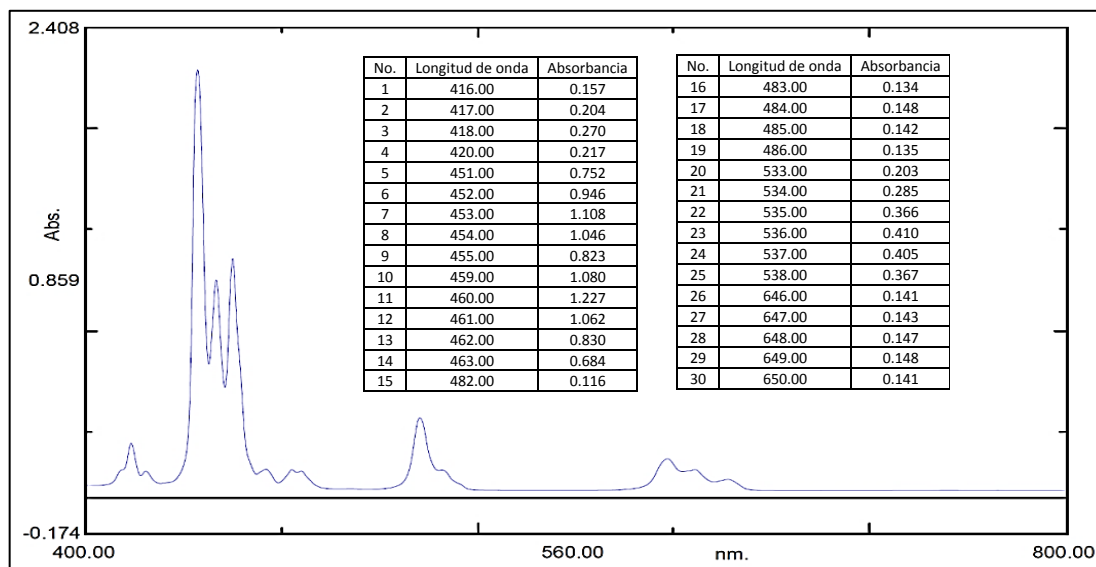


Figura N° 8: Espectro visible del barrido de una película de óxido de holmio obtenido con un espectrofotómetro de referencia de trabajo (Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Físicoquímico de Aguas).

- Se realiza la verificación espectral 6 veces cada día, durante 6 días consecutivos.
- Los resultados se registran en la tabla N° 18, para cada longitud de onda esperada.

Tabla N° 18: Formato de registro de resultados para el control de exactitud de la longitud de onda a 640 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio						
Desviación estándar						

- A los resultados obtenidos se les realiza la prueba de Bartlett con el objetivo de evaluar homocedasticidad de las varianzas, criterio: un valor del parámetro de Bartlett menor que el valor tabulado de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) ( $M = \text{valor de tabla} < \chi^2_{0.05} = \text{valor obtenido}$ ), permite concluir con un nivel de confianza al 95%, que no existen diferencias significativas entre las varianzas obtenidas durante los 6 días (ver anexo N° 7).

La prueba de Bartlett se utiliza para probar la hipótesis nula,  $H_0$  que todas las varianzas de una población  $k$  son iguales, frente a la hipótesis alternativa de que al menos dos son diferentes.

Si hay  $k$  muestras con tamaño  $n$  y varianzas de las muestras  $S_i^2$  entonces estadístico de prueba de Bartlett es:<sup>(24)</sup>

$$X_{Bartlett}^2 = \frac{\left[ \ln \frac{\sum S^2 (n-1)}{\sum (n-1)} \right] - \sum \ln S^2 (n-1)}{1 + \frac{K+1}{3(K-1)(N-K)}}$$

Donde:

$X_{Bartlett}^2$  = Valor estadístico de esta prueba.

$\ln$  = Logaritmo natural.

$S^2$  = Varianza.

$n$  = Tamaño de la muestra del grupo.

$K$  = Número de grupos participantes.

$N$  = Tamaño total (sumatoria de las muestras).

La estadística de prueba tiene aproximadamente una distribución  $\chi^2_{k-1}$ . Así, la hipótesis nula se rechaza si  $X^2 > X^2_{k-1, \alpha}$  (donde  $X^2_{k-1, \alpha}$  es el valor crítico de la cola superior para la distribución  $\chi^2_{k-1}$ ).

- Para de evaluar si existen o no diferencias significativas entre los promedios de los 6 días se realiza un análisis de varianza (ANOVA) de un factor (ver anexo N° 7), los resultados obtenidos se registran en la tabla N° 19.

Tabla N° 19: Formato del análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 640 nm.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Razón (F)
Entre días				
Dentro de los días				
Total				

- Verificar el valor de “F” calculado es menor que el valor tabulado de  $F_{0.05}$ , entonces se puede concluir con un nivel de confianza del 95% que no existen diferencias significativas entre los promedios de los 6 días (ver anexo N° 8).
- Evaluar el sesgo espectral a cada longitud de onda, utilizando los promedios de las lecturas de longitud de onda de cada día, los cuales se registran en la tabla N° 20.

Tabla N° 20: Formato para sesgo en cada promedio de longitudes de onda

Valor de referencia(nm)	Promedio de valores experimentales obtenidos (nm)	Sesgo (nm)
418		
453		
460		
484		
535		
648		

- El sesgo espectral se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Sesgo} = (\bar{X} - \mu),$$

Dónde:

$\mu$  = Es el valor de referencia reportado por el NIST a cada  $\lambda$  en nm.

$\bar{X}$  = Es el promedio de longitud de onda para cada día.

- Para cada promedio de cada día se evalúa el sesgo y luego se grafica, en una carta de control para cada longitud de onda preparada según el

procedimiento de la ISO 11095 para la elaboración de cartas de control ver anexo N° 5.

- B. Control de la exactitud fotométrica:** se realiza comparando los resultados de absorbancia de una solución de referencia de sulfato de cobre 20 g/L en ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 0.005 Molar, obtenida en el espectrofotómetro, cubriendo las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm, esta solución debe registrar en cada longitud de onda los siguientes resultados de absorbancia: 0.068, 0.224, 0.537, 0.817 respectivamente, realizando 6 lecturas consecutivas de la solución, utilizando una solución de  $H_2SO_4$  0.005 M como blanco. El ensayo se realiza durante 6 días consecutivos. Los resultados se registran en la tabla N° 21, para cada longitud de onda esperada.

Tabla N° 21: Formato para el registro de resultados para el control de exactitud fotométrica a 750 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio						
Desviación estándar						

- A los resultados obtenidos se les realiza el test de Bartlett con el objetivo de evaluar homocedasticidad de las varianzas, criterio: un valor del parámetro de Bartlett menor que el valor tabulado de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) ( $M = \text{valor de tabla} < \chi^2_{0.05} = \text{valor obtenido}$ ), lo cual permite concluir con un nivel de confianza al 95%, que no existen diferencias significativas entre las varianzas obtenidas durante los 6 días.

- Con el propósito de evaluar si existen o no diferencias significativas entre los promedios de los 6 días se realiza un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, los resultados obtenidos se registran en la tabla N° 22.

Tabla N° 22: Formato para el análisis de varianza para los promedios de 6 días consecutivos a una longitud de onda de 750 nm.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	Razón (F)
Entre días				
Dentro de los días				
Total				

- Se verifica el valor de “F” calculado es menor que el valor tabulado de  $F_{0.05}$ , entonces se puede concluir con un nivel de confianza del 95% que no existen diferencias significativas entre los promedios de los 6 días, las tablas estadísticas se observan en el anexo N° 8.
- También se evalúa el sesgo fotométrico a cada longitud de onda, utilizando los promedios de las lecturas de longitud de onda de cada día, los cuales se registran en la tabla N° 23.

Tabla N° 23: Formato para sesgo de cada promedio de absorbancia

Longitud de onda (nm)	Absorbancia de referencia	Promedio de Absorbancia experimentales obtenidos	Sesgo
600	0.068		
650	0.224		
700	0.527		
750	0.817		

- Estos valores de referencia se les encuentra: su límite superior e inferior, según el procedimiento de la ISO 11095 para la elaboración de cartas de control.
- El sesgo fotométrico se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Sesgo} = (\bar{X} - A_{\text{ref}})$$

Dónde:

$A_{ref}$  = Es el valor de referencia reportado por el NIST a cada  $\lambda$  en nm.

$\bar{X}$  = Es el promedio de Absorbancia para cada día.

Los resultados se registran en la tabla N° 24.

Tabla N° 24: Formato de sesgo entre los promedios experimentales de absorbancia con el valor de referencia del NIST.

Absorbancia	Promedio diario					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Promedio experimental						
Valor de referencia esperado						
Sesgo						

- Se registran estos límites de referencia y el promedio para cada promedio de cada día y luego se gráfica, en una carta de control para cada longitud de onda. Para verificar que todos los puntos se encuentren dentro del rango de valores permitidos.

Por lo que se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los valores experimentales y de referencia.

- Como criterio para la exactitud fotométrica el sesgo no debe ser mayor de  $\pm 0.005$  para cada longitud de onda

**C. Control de la precisión fotométrica:** Se obtiene la medida de la dispersión de una serie de mediciones de absorbancia de una solución de sulfato de cobre 20 g/L en  $H_2SO_4$  0.005 Molar, medidas en las longitudes de onda de: 600, 650, 700 y 750 nm durante 6 días continuos, en cada día se llevarán a cabo 6 lecturas para cada longitud de onda.

El resultado se expresa como coeficiente de variación porcentual con la solución de sulfato de cobre 20 g/L en  $H_2SO_4$  0.005 Molar usado en la



verificación de la exactitud fotométrica utilizando una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 M como blanco.

La Precisión fotométrica con CV% se calcula con la formula

$$CV\% = \frac{SD}{\bar{x}} * 100$$

Dónde:

SD = Desviación estándar

$\bar{x}$  = Promedio de las replicas

Los resultados se registran en la tabla N° 25, para cada longitud de onda esperada.

Tabla N° 25: Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a 750 nm por 6 días.

Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Promedio( $\bar{x}$ )						
DS						
CV%						

Como criterio de aceptación se valora el resultado según el resultado del coeficiente de variación porcentual como sigue:

- CV% < 0.5%      Precisión fotométrica optima
- CV% < 1.0%      Precisión fotométrica aceptable

#### D. Control de la linealidad fotométrica:

El rango de absorbancia en el que el instrumento tiene respuesta proporcional a los cambios de concentración se realiza determinando la respuesta del espectrofotómetro a diferentes concentraciones de un material de referencia certificado, el set Spectroquant FotoCheck, utilizando la solución proporcionada por el fabricante para realizar el ajuste a cero de absorbancia del equipo.

Las longitudes de onda a que se realizan las lecturas son: 445, 525 y 690 nm. Los resultados se registran en un formato recomendado por el fabricante según el anexo N° 5, luego se registra y calcula el promedio de los 6 días en la tabla N° 26, para cada longitud de onda.

Tabla N° 26: Formato de registro de resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.

Solución de control	Absorbancia experimental obtenida						Promedio ( $\bar{x}$ )
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	
445-1							
445-2							
445-3							
445-4							
525-1							
525-2							
525-3							
525-4							
690-1							
690-2							
690-3							
690-4							

Obteniendo así los valores resultantes de regresión lineal para la pendiente y el intercepto ( $b_0$ ,  $b_1$ ), el error asociado para cada uno ( $S_a$ ,  $S_b$ ), y el coeficiente de determinación ( $r$ ) para cada día, registrando los resultados en la tabla N° 27.

Tabla N° 27: Formato de registro de resultados de regresión lineal para el control de linealidad fotométrica a por 6 días.

Parámetros /Días	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
$b_0$						
$b_1$						
$S_a$						
$S_b$						
$r$						

- Estos datos se grafican verificando que exista una relación lineal entre los valores obtenidos experimentalmente y los valores de referencia ( $r \geq 0.98$ ), y que los valores del intercepto y la pendiente son próximos a cero y a uno respectivamente, evidenciando que no existen errores sistemáticos en las mediciones.
- Para confirmar la existencia o no de errores sistemáticos se realiza la prueba de t-student para el intercepto y para la pendiente y se compara con el valor de tabla a un nivel de confianza del 95%, el criterio de esta prueba es un valor  $t_{\text{experimental}}$  menor que el tabla, confirmando que el intercepto es cero y la pendiente es uno y no existan errores sistemáticos, así a cada longitud de onda evaluada (ver anexo N° 8).

#### E. Control de Luz difusa o parásita:

la medida del porcentaje de transmitancia de un filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor, el ajuste del equipo a 0 de transmitancia se realiza con aire.

La transmitancia (T) de esta solución a 500 nm debe estar cercano a cero, y toda transmitancia detectada corresponde a luz parásita.

- Se mide la transmitancia del filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor a una longitud de onda de 500 nm.
- Se realizan las lecturas por triplicado durante 6 días, los resultados se registran en la tabla N° 28.

Tabla N° 28: Formato para el registro de absorbancia en la prueba de luz difusa

Replica	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1						
2						
3						

- Se calcula el promedio de las transmitancias ( $\bar{T}$ ) obtenidas en las mediciones del filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor a 500 nm.
- Criterio de aceptación:  $\bar{T} < 0.01$  ó  $A > 2$

**F. Determinación del ruido de fondo:** Se realiza un barrido en modo de absorbancia utilizando el aire como blanco con el compartimiento de celdas vacío por 10 minutos.

- Se registra la absorbancia (como el ruido) cada 30 segundos durante 10 minutos a 500 nm.
- Los resultados de las absorbancias en función del tiempo se presentan en la tabla N° 29.

Tabla N° 29: Formato de la absorbancia en función del tiempo a 500 nm

Tiempo (min)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Absorbancia										
Tiempo (min)	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
Absorbancia										

- Se calcula el promedio y la raíz cuadrada del promedio de los resultados.
- Criterio de aceptación: La raíz cuadrada del promedio de los resultados debe ser típicamente menor que 0.001 UA

#### 4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN <sup>(1)</sup>

Los criterios de aceptación de la parte experimental se establecen en la tabla N° 30.

Tabla N° 30: Cálculos, evaluación de resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro


Parámetro de control	Proceso/medir	Calcular	Criterios de aceptación
Exactitud de la longitud de onda	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$E = \lambda_m - \lambda_{ref}$	$\pm 3$ nm rango visible 3 lecturas de pico deben estar entre $\pm 0.5$ nm.
Exactitud fotométrica	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$\%Error = \frac{A_m - A_{ref}}{A_{ref}} * 100$	Error entre $\pm 2\%$ Optima Error entre $\pm 3\%$ Aceptable
Precisión fotométrica	Mediciones puntuales, 6 réplicas por 6 días	$CV\% = \frac{SD}{\bar{x}} 100$	CV% < 0,5% optima CV% < 1% aceptable
Linealidad fotométrica	Graficar $A_m$ vs $A_{ref}$ .	Regresión lineal $y = ax + b$ Y el coeficiente de regresión (r). $r = \sqrt{R^2}$	Reportar a y b con sus errores típicos y r $\geq 0,98$
Luz difusa o parásita	Mediciones puntuales, 3 réplicas por 6 días	Promedio de lecturas $\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$	$\bar{T} < 0.01$ ó $A > 2$
Ruido de fondo	Medición puntual.	$Ruido = \sqrt{\bar{x}_{mediciones}}$	< 0.001 UA

#### 4.5 INFORME DE CALIBRACIÓN

Este documento contiene los resultados obtenidos a través de la verificación de la calibración de un instrumento. Los informes de calibración son utilizados para ser presentados como evidencia del cumplimiento en la implementación de un sistema de la gestión de la calidad, pero además contienen datos que pueden ser útiles para el control de la gestión metrológica.

Como producto de las verificaciones realizadas el informe de verificación del espectrofotómetro Hach DR 2700 tiene la siguiente estructura ver cuadro N° 2:

Cuadro N° 2: Formato de informe de verificación instrumental

	<b>INFORME DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR-2700</b>			
<b>Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador</b>				
<b>Código: INFCAL-01</b>			<b>Página N° ___ de ___</b>	
<p><b>Fecha de Calibración:</b>  <b>Objeto de calibración:</b>  <b>Fabricante:</b>  <b>Serie:</b>  <b>Modelo:</b>  <b>Alcance:</b> de 200 nm a 900 nm (en la escala de longitud de onda de -3 a +3 en la escala fotométrica).  <b>Resolución:</b> 1 nm (escala longitud de onda), 0.001 (escala de absorbancia).  <b>Solicitante:</b>  <b>Solicitud N°:</b>  <b>Dirección solicitante:</b></p> <p><b>Número de páginas:</b></p> <p><b>Lugar de la calibración:</b></p>			<p>El usuario está en la obligación de recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado y el tiempo de uso del instrumento.</p> <p>Los resultados del certificado se refieren al momento y condiciones en que se realizaron las mediciones.</p> <p>El laboratorio no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.</p> <p>Este informe de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)</p> <p>Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito del Laboratorio.</p> <p>El certificado de calibración no es válido sin firmas o sin el sello del Laboratorio</p>	
<p><b>Condiciones ambientales:</b> Reportar</p> <p><b>Método utilizado:</b> Se utilizó como base para la verificación de la calibración del espectrofotómetro el documento: PROCAL-01 - Procedimiento de verificación de la calibración del espectrofotómetro HACH DR-2700.</p>				
<p><b>Declaración de los patrones y de la trazabilidad:</b></p>				
<b>Material de Referencia</b>	<b>Tipo</b>	<b>Material</b>	<b>Serie</b>	<b>Trazabilidad</b>
Para la verificación de la escala de longitud de onda	Patrón de trabajo	Filtro de Oxido de Holmio	-----	Espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Físicoquímico de Aguas
Para la verificación de la escala de Exactitud fotométrica	Patrón de trabajo	Dicromato de potasio y 114693 Spectroquant PhotoCheck	1146930001	
Para la verificación de la Precisión fotométrica	Patrón de trabajo	Sulfato de cobre	-----	-----

Para la verificación de la Linealidad fotométrica	Material de referencia	114693 Spectroquant PhotoCheck	1146930001	Espectrofotómetro Varian Cary 500 Lote EL96073498
Para la verificación de la Luz difusa o parásita	Patrón de trabajo	Filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor	46061	-----
Para la verificación del Ruido de fondo	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

### RESULTADOS DE PARAMETROS DE VERIFICACIÓN

Resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro

Parámetro /Verificación	Resultado	Criterios de aceptación	Declaración de conformidad
Exactitud de la longitud de onda		$\pm 3$ nm rango visible 3 lecturas de pico deben estar entre $\pm 0.5$ nm.	
Exactitud fotométrica		Error entre $\pm 2\%$ Optima Error entre $\pm 3\%$ Aceptable	
Precisión fotométrica		CV%<0,5% optima CV%< 1% aceptable	
Linealidad fotométrica		Reportar a y b con sus errores típicos y $r \geq 0,98$	
Luz difusa o parásita		$\tilde{T} < 0.01$ ó $A > 2$	
Ruido de fondo		< 0.001 UA	

#### Notas y aclaraciones:

- El período de validez de este informe de verificación de la calibración dependerá del uso y cuidado que se dé al instrumento.
- Los resultados declarados son únicamente válidos para el objeto calibrado.
- Las condiciones ambientales al momento de la calibración fueron: Temperatura ambiente: ( $\_\_ \pm \_\_$ ) °C, Humedad: ( $\_\_ \pm \_\_$ ) %.

Br. Alejandra Astrid Guzmán Valle

Br. Roberto Luis Rivera Aguirre

Realizó la calibración

## 4.6 CARTAS CONTROL

Las lecturas realizadas fueron útiles para la elaboración de las cartas control para:

- Control de la exactitud de la longitud de onda
- Control de la exactitud fotométrica
- La verificación de la linealidad fotométrica

Las mismas sirven como histórico inicial en el levantamiento del registro de cartas control.

Con el uso de las cartas de control se pueden identificar las principales fuentes de variación del proceso, que aparece de manera natural y las que son originadas por circunstancias o situaciones especiales ajenas al proceso.

La idea básica de una carta de control es que, mediante el cálculo de límites de control, se verifique la variación del proceso a través del tiempo, graficando un estadístico, el cual mide la característica de interés en la medición.

### 4.6.1 Interpretación del control del proceso.<sup>(14)</sup>

El objeto de analizar una gráfica de control es identificar cuál es la variación del proceso, las causas comunes y causas especiales de dicha variación y en función de esto tomar alguna acción apropiada cuando se requiera.

Se sugiere un conjunto de reglas de decisión para detectar patrones no aleatorios en las cartas de control.

Al detectar alguno de los patrones mostrados en la figura N° 9, se puede decidir sobre tomar alguna acción para corregir el problema ya que el proceso puede estar fuera de control.



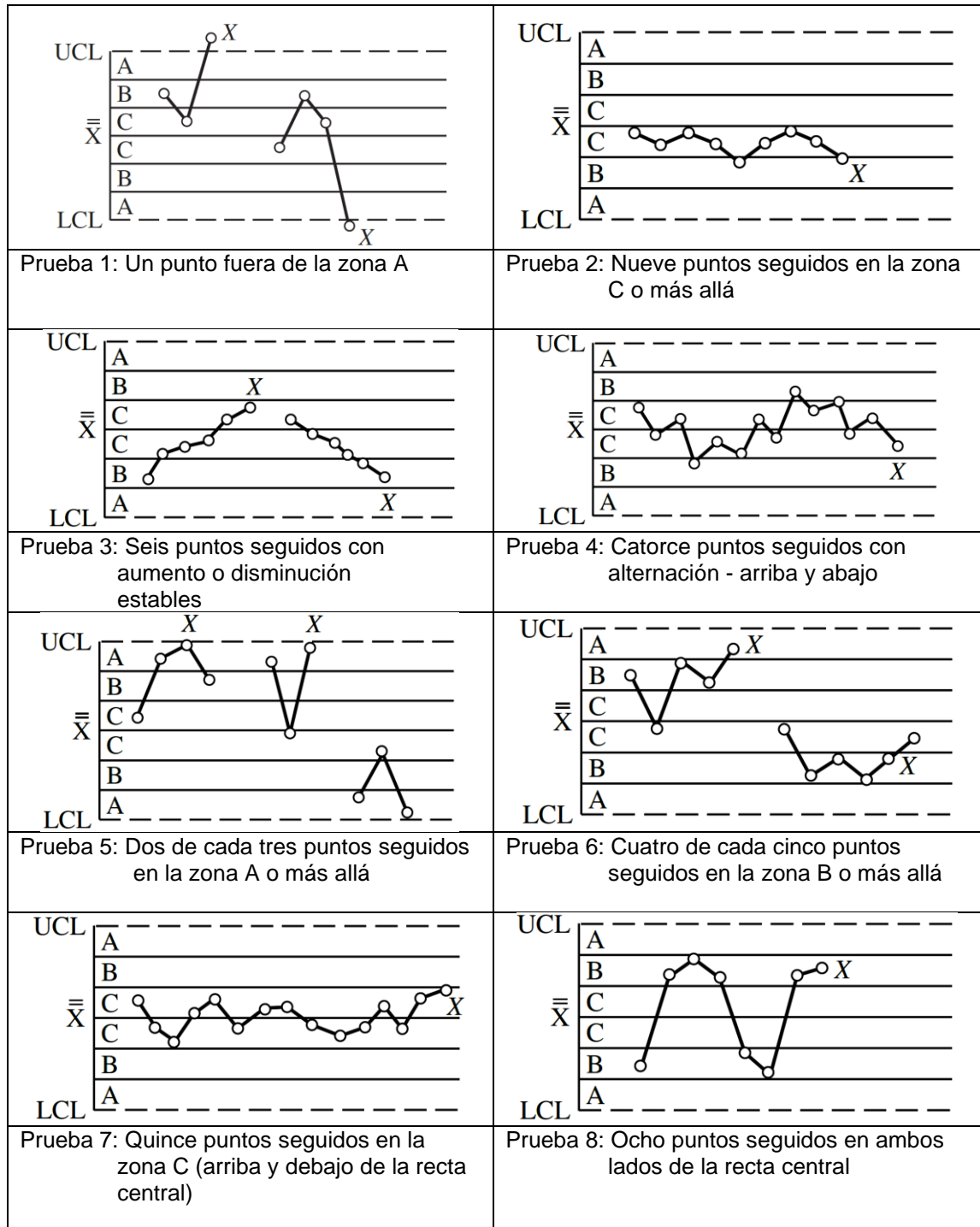


Figura N° 9: Reglas de decisión para la detección de patrones no aleatorios en las cartas de control.<sup>(12)</sup>

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## **5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

La propuesta de verificación de los parámetros de calibración para un espectrofotómetro visible se aplicó como sigue, realizando los controles respectivos con base a un protocolo establecido, obteniendo como resultado el informe respectivo y el establecimiento de un formato de control frecuente del mismo.

### **5.1 PROTOCOLO PARA LA VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR 2700.**

Se llevó a cabo la implementación del protocolo (ver Cuadro N° 1 en el numeral 4.3.1 de la parte experimental), para verificar la calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700 en las instalaciones del Laboratorio Fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador a condiciones normales de temperatura ambiente y humedad relativa, los cual ha permitido determinar su estado de calibración actual.

### **5.2 RESULTADOS DEL PROCEDIMIENTO DE VERIFICACION DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO HACH DR 2700.**

Se evaluaron los parámetros de: Verificación de la escala de longitud de onda y control de exactitud de la longitud de onda, Exactitud fotométrica, Precisión fotométrica, precisión de la linealidad fotométrica, Luz difusa o parásita y El ruido de fondo.

Los resultados obtenidos en el equipo de espectrofotometría visible marca Hach, modelo DR 2700, para asegurar la validez de los resultados al utilizarlo. A continuación se presentan los resultados para cada parámetro de evaluado.

### 5.2.1 Verificación de la escala de longitud de onda

En la verificación de la escala de longitud de onda se obtuvieron máximos de absorbancia en la región visible con el espectrofotómetro Hach DR 2700, en las longitudes de onda según especificadas en la tabla N° 31.

Tabla N° 31: Longitudes de onda de máxima absorción esperadas en una película de óxido de holmio en el rango visible. (1)

Ancho de banda	Longitud de onda esperada (nm)					
1 nm	418	453	460	484	536	648
Rango	± 1 nm en cada longitud de onda seleccionada					

Esta referencia produce un espectro con picos afilados estables en el intervalo de 219 nm a 650 nm.

Las longitudes especificadas obedecen a que la resolución del espectrofotómetro visible no permite la selección en decimales de longitud de onda.

Una representación gráfica de los máximos obtenidos a las longitudes de onda esperadas se puede observar en la figura N° 10.

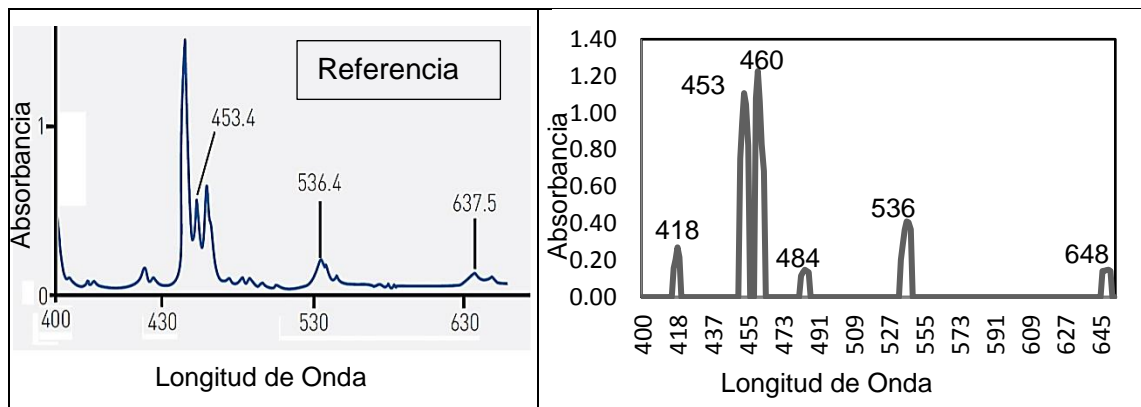


Figura N° 10: Comparación del espectro visible del filtro de óxido de holmio con un gráfico en Excel obtenido de los datos utilizando el espectrofotómetro Hach DR 2700.

La comparación de los resultados obtenidos con un espectrofotómetro de trabajo Shimadzu UV-1800 ubicado en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas se registran en la tabla N° 32.

Tabla N° 32: Resultados de la medición de absorbancia utilizando el espectrofotómetro de trabajo Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Físicoquímico de Aguas vrs. HACH DR 2700

No.	Longitud de onda	Tolerancia	Absorbancia Shimadzu UV-1800	Absorbancia HACH DR 2700
1	418	± 1 nm	0.270	0.205
2	453	± 1 nm	1.108	0.818
3	460	± 1 nm	1.227	0.804
4	484	± 1 nm	0.148	0.132
5	536	± 1 nm	0.410	0.320
6	648	± 1 nm	0.147	0.141

El Control de la exactitud de longitud de onda produjo los siguientes resultados (ver tabla N° 33).

Tabla N° 33: Resultados de absorbancia para el control de exactitud de la longitud de onda durante seis días.

Longitud de onda a 418 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
2	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
3	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
4	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
5	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
6	0,202	0,201	0,201	0,202	0,202	0,202
Longitud de onda a 453 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,823	0,821	0,821	0,820	0,821	0,819
2	0,823	0,822	0,821	0,821	0,820	0,820
3	0,824	0,822	0,821	0,821	0,820	0,818
4	0,824	0,822	0,820	0,821	0,820	0,818
5	0,824	0,822	0,820	0,821	0,820	0,818
6	0,824	0,822	0,820	0,821	0,820	0,818

Tabla N° 33: Continuación.

Longitud de onda a 460 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,819	0,819	0,815	0,811	0,820	0,811
2	0,818	0,820	0,814	0,810	0,819	0,812
3	0,818	0,820	0,814	0,810	0,819	0,812
4	0,819	0,820	0,814	0,810	0,818	0,811
5	0,819	0,820	0,814	0,810	0,818	0,810
6	0,819	0,820	0,814	0,810	0,818	0,810
Longitud de onda a 484 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,126	0,126	0,127	0,127	0,127	0,127
2	0,126	0,126	0,127	0,128	0,128	0,128
3	0,126	0,126	0,127	0,128	0,128	0,128
4	0,126	0,126	0,127	0,128	0,128	0,128
5	0,126	0,126	0,127	0,128	0,128	0,128
6	0,127	0,127	0,128	0,128	0,128	0,128
Longitud de onda a 536 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,313	0,313	0,315	0,316	0,315	0,316
2	0,314	0,312	0,314	0,317	0,314	0,315
3	0,314	0,312	0,314	0,317	0,314	0,315
4	0,314	0,312	0,314	0,317	0,314	0,315
5	0,314	0,312	0,314	0,317	0,314	0,315
6	0,314	0,312	0,314	0,317	0,314	0,315
Longitud de onda a 648 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,137	0,137	0,137	0,136	0,136	0,136
2	0,136	0,136	0,136	0,137	0,137	0,137
3	0,136	0,136	0,136	0,137	0,137	0,137
4	0,136	0,136	0,136	0,137	0,137	0,137
5	0,136	0,136	0,136	0,137	0,137	0,137
6	0,136	0,136	0,136	0,137	0,137	0,137

### 5.2.2 Control de la exactitud fotométrica

Los resultados obtenidos de las absorbancias a cuatro distintas longitudes de onda para el control de exactitud fotométrica son los siguientes (ver tabla N° 34).

Tabla N° 34: Resultados para el control de exactitud fotométrica en 6 días.

Longitud de onda a 600 nm							
Replicas	Absorbancia esperada	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,068	0,104	0,102	0,101	0,100	0,099	0,099
2		0,104	0,102	0,102	0,099	0,100	0,100
3		0,102	0,102	0,102	0,099	0,100	0,100
4		0,100	0,099	0,102	0,100	0,099	0,098
5		0,099	0,098	0,102	0,100	0,099	0,099
6		0,099	0,099	0,102	0,100	0,100	0,099
Longitud de onda a 650 nm							
Replicas	Absorbancia esperada	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,224	0,322	0,320	0,320	0,310	0,311	0,312
2		0,319	0,320	0,321	0,311	0,314	0,313
3		0,314	0,320	0,322	0,312	0,312	0,313
4		0,316	0,320	0,322	0,311	0,313	0,313
5		0,315	0,319	0,321	0,311	0,313	0,313
6		0,317	0,319	0,321	0,311	0,316	0,313
Longitud de onda a 700 nm							
Replicas	Absorbancia esperada	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,537	0,724	0,722	0,727	0,719	0,721	0,715
2		0,718	0,722	0,727	0,718	0,722	0,715
3		0,715	0,723	0,727	0,719	0,722	0,715
4		0,717	0,717	0,728	0,719	0,722	0,715
5		0,716	0,717	0,729	0,719	0,722	0,717
6		0,714	0,716	0,730	0,719	0,723	0,717
Longitud de onda a 750 nm							
Replicas	Absorbancia esperada	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,817	1,120	1,117	1,132	1,132	1,131	1,132
2		1,117	1,116	1,132	1,133	1,133	1,133
3		1,115	1,116	1,133	1,133	1,133	1,133
4		1,115	1,116	1,133	1,133	1,133	1,133
5		1,114	1,117	1,134	1,133	1,133	1,134
6		1,115	1,117	1,134	1,134	1,133	1,133

### 5.2.3 Control de la precisión fotométrica

Los resultados obtenidos de las absorbancias a cuatro distintas longitudes de onda para el control de la precisión fotométrica son los siguientes (ver tabla N° 35).

Tabla N° 35: Resultados de absorbancia para el control de precisión fotométrica a cada longitud de onda en nm por 6 días.

Longitud de onda a 600 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,104	0,102	0,101	0,100	0,099	0,099
2	0,104	0,102	0,102	0,099	0,100	0,100
3	0,102	0,102	0,102	0,099	0,100	0,100
4	0,100	0,099	0,102	0,100	0,099	0,098
5	0,099	0,098	0,102	0,100	0,099	0,099
6	0,099	0,099	0,102	0,100	0,100	0,099
Longitud de onda a 650 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,322	0,320	0,320	0,310	0,311	0,312
2	0,319	0,320	0,321	0,311	0,314	0,313
3	0,314	0,320	0,322	0,312	0,312	0,313
4	0,316	0,320	0,322	0,311	0,313	0,313
5	0,315	0,319	0,321	0,311	0,313	0,313
6	0,317	0,319	0,321	0,311	0,316	0,313
Longitud de onda a 700 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	0,724	0,722	0,727	0,719	0,721	0,715
2	0,718	0,722	0,727	0,718	0,722	0,715
3	0,715	0,723	0,727	0,719	0,722	0,715
4	0,717	0,717	0,728	0,719	0,722	0,715
5	0,716	0,717	0,729	0,719	0,722	0,717
6	0,714	0,716	0,730	0,719	0,723	0,717
Longitud de onda a 750 nm						
Replicas	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	1,120	1,117	1,132	1,132	1,131	1,132
2	1,117	1,116	1,132	1,133	1,133	1,133
3	1,115	1,116	1,133	1,133	1,133	1,133
4	1,115	1,116	1,133	1,133	1,133	1,133
5	1,114	1,117	1,134	1,133	1,133	1,134
6	1,115	1,117	1,134	1,134	1,133	1,133



### 5.2.4 Control de la linealidad fotométrica

Los resultados obtenidos de las absorbancias a tres distintas longitudes de onda para el control de la linealidad fotométrica son los siguientes (ver tabla N° 36).

Tabla N° 36: Resultados de absorbancia para el control de linealidad fotométrica por 6 días.

Solución de control	Absorbancia experimental obtenida					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
445-1	0,199	0,201	0,205	0,201	0,201	0,203
445-2	0,503	0,505	0,510	0,507	0,507	0,508
445-3	0,996	1,001	1,004	1,001	1,002	1,001
445-4	1,500	1,504	1,507	1,503	1,502	1,504
525-1	0,193	0,198	0,205	0,202	0,199	0,201
525-2	0,488	0,492	0,499	0,493	0,492	0,495
525-3	0,982	0,985	0,992	0,986	0,987	0,989
525-4	1,461	1,465	1,469	1,465	1,465	1,468
690-1	0,196	0,199	0,204	0,200	0,200	0,199
690-2	0,501	0,505	0,512	0,504	0,508	0,505
690-3	0,986	0,990	0,996	0,990	0,992	0,990
690-4	1,493	1,496	1,503	1,497	1,498	1,496

### 5.2.5 Control de Luz difusa o parásita

Los resultados obtenidos de las absorbancias para el control de la luz difusa son los siguientes (ver tabla N° 37).

Tabla N° 37: Resultados de absorbancia a 500 nm para la prueba de luz difusa

Replica	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
1	3.230	3.276	3.263	3.261	3.266	3.270
2	3.259	3.258	3.262	3.256	3.265	3.267
3	3.320	3.265	3.259	3.259	3.263	3.266

### 5.2.6 Control de ruido

Los resultados obtenidos de las absorbancias para el control del ruido de fondo son los siguientes (ver tabla N° 38).

Tabla N° 38: Resultados de absorbancia en función del tiempo a 500 nm

Tiempo (min)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Absorbancia	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Tiempo (min)	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
Absorbancia	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

### 5.3 ANALISIS DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

Para un adecuado análisis de los resultados la discusión de los mismos se dirigirá con base a los resultados obtenidos, pruebas estadísticas realizadas, aplicando una interpretación de resultados y proponiendo un programa de calidad en cada verificación. El programa recomendado para el control de las distintas propiedades fotométricas se establece en la tabla N° 39.

Tabla N° 39: Programa recomendado para el control de las propiedades fotométricas <sup>(3)</sup>

Parámetro / Frecuencia	Mensual	Trimestral	Semestral
Precisión	X		
Linealidad		X	
Exactitud	X		
Longitud de onda			X
Luz parásita		X	

Debido a que es la primera vez que se realiza la verificación de la calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700, desde que fue instalado, se tomó en cuenta como el tiempo inicial para cada verificación para recomendar la planificación del mismo.

#### 5.3.1 Escala de longitud de onda

##### A. Verificación de la escala de longitud de onda

El filtro de Oxido de Holmio se ha utilizado como una referencia de longitud de onda desde hace muchos años; lo que le permite verificar la escala de longitud

de onda en el rango electromagnético del espectrofotómetro utilizado, abarcando el ultravioleta y el visible.

El filtro de Oxido de Holmio presenta una amplia gama de picos nítidos resolubles que se utilizan para correlacionar el indicador de longitud de onda en el espectrofotómetro. En el procedimiento general se escanea la referencia en el rango utilizable para asegurar que todos los picos se puedan resolver y comprobar cada pico, para asegurar que la lectura en el espectrofotómetro está dentro de las tolerancias del fabricante para la longitud de onda.

Si el resultado no es conforme a lo esperado, se debe proceder a consultar a un técnico de servicio para revisar el equipo, y si es necesario, ajustar el instrumento.

La comprobación periódica del espectro de la referencia de óxido de Holmio permite generar un registro de exactitud de longitud de onda del instrumento que se puede utilizar con la certificación del mismo, en caso de que la correlación cambie con el tiempo.

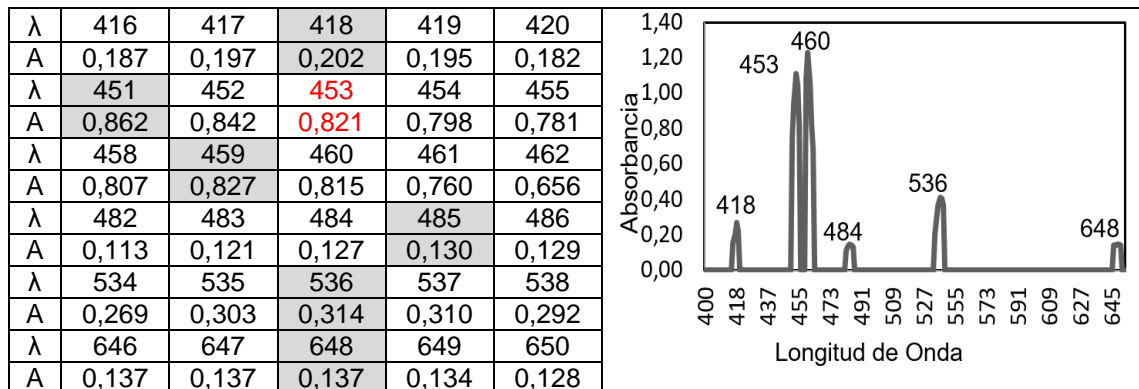


Figura N° 11: Longitudes de onda de máxima absorbancia esperadas para un patrón de óxido de holmio en el rango visible.

- **Diagnóstico de Resultados.**

Al comparar la aparición de los picos del óxido de holmio a longitudes de onda específicas del instrumento con el criterio establecido para el estándar de referencia de trabajo. Se encontró que las lecturas están dentro del rango establecido para el instrumento, esto indica que la escala de longitud de onda es correcta.

- **Programa de Calidad.**

Cada vez que se repita el análisis se pueden comparar los nuevos resultados con los resultados anteriores para comprobar si hay cambios que excedan el rango esperado para un pico determinado. Así, si el instrumento necesita servicio debido a un cambio en la resolución, los datos históricos serán de gran ayuda al servicio técnico.

## **B. Control de la exactitud de la longitud de onda**

Con este control es posible determinar el grado de concordancia entre la longitud de onda que indica el seleccionador y la longitud de onda de referencia requerida expresada en nm.

Los cálculos estadísticos resultantes del control de exactitud de la longitud de onda se registrar en el anexo N° 10, incluyendo: cálculo de Sesgo espectral para promedios diarios de los resultados, resultado del análisis de varianza (ANOVA) en la medición, resumen estadístico del sesgo y curtosis estandarizada de la medición, resultados de la prueba de rangos múltiples para las mediciones de Absorbancia, prueba de contraste de los resultados de promedios de absorbancia, prueba de verificación de Varianza - prueba de Levene's y prueba de Kruskal-Wallis para los resultados de absorbancia en cada longitud de onda en nm para cada uno de los seis días de las pruebas.

### I. Resultados de la prueba de Bartlett

Los resultados de la prueba de Bartlett se utilizan para probar si los resultados observados provienen de poblaciones con la misma varianza, indicando homocedasticidad u homogeneidad de varianzas. Es de hacer notar que esta prueba es sensible a la falta de tendencias a la normalidad en los resultados.

Los resultados obtenidos se han registrado en la tabla N° 40.

Tabla N° 40: Resultados de la prueba de Bartlett para el control de longitud de onda

Longitud de onda	Estadístico		X <sup>2</sup> Tabla 11,07
418 nm	X <sup>2</sup> <sub>418nm</sub> =	6,28	
453 nm	X <sup>2</sup> <sub>453nm</sub> =	1,26	
460 nm	X <sup>2</sup> <sub>460nm</sub> =	1,24	
484 nm	X <sup>2</sup> <sub>484nm</sub> =	1,29	
536 nm	X <sup>2</sup> <sub>536nm</sub> =	1,29	
648 nm	X <sup>2</sup> <sub>648nm</sub> =	1,29	

El supuesto de homogeneidad de varianzas, también conocido como supuesto de homocedasticidad, considera que la varianza es constante (no varía) en los diferentes niveles de un factor estudiado, en este caso los resultados de absorbancia a una determinada longitud de onda, es decir, entre los seis días de estudio realizado.

Por lo tanto, según el criterio, todos los valores obtenidos son menores que el tabulado, lo cual permite concluir con un nivel de confianza al 95%, que existen diferencias significativas entre las varianzas obtenidas durante los 6 días, rechazando la hipótesis nula. Para esto se realiza el análisis de varianza simple de un solo factor.

### II. Sesgo espectral:

Se realizó el cálculo del sesgo espectral (ver Tabla N° 63), los resultados generales obtenidos se registran en la tabla N° 41.

Tabla N° 41: Sesgo espectral para promedios totales de los resultados de absorbancia a cada longitud de onda.

Valor de referencia(nm)	Promedio de valores experimentales obtenidos (nm)	Sesgo (nm)
418	0,2017	0,0680
453	0,8209	0,2871
460	0,8154	0,4116
484	0,1272	0,0208
535	0,3144	0,0960
648	0,1365	0,0105

Por tanto el sesgo de cada longitud de onda es inferior a 0,5 lo cual confirma que los valores de exactitud se encuentran por debajo del valor máximo permitido que es: +/- 0.5 nm.

### III. ANOVA Simple - Absorbancia de cada longitud de onda en nm durante seis Días (ver Tabla N° 64)

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para las Absorbancias registradas a cada longitud de onda en nm (418, 453, 460, 484, 535 y 648 nm), para comparar los valores promedios de Absorbancia para los 6 diferentes días.

- Variable dependiente: Absorbancia a cada longitud de onda en nm
- Factor: Días
- Número de observaciones: 36
- Número de niveles: 6

La prueba-F en la tabla ANOVA determina si hay diferencias significativas entre los promedios. Si las hay, las pruebas de rangos múltiples predicen cuáles son significativamente diferentes de otros.

En este tipo de estudios importa mucho la tendencia normal de los resultados, por ello, si están presentes valores atípicos, la Prueba de Kruskal-Wallis compara las medianas en lugar de los promedios.

El análisis del sesgo estandarizado y/o la curtosis estandarizada: La cual es una medida estadística que determina el grado de concentración que presentan los valores de una variable alrededor de la zona central de la distribución de frecuencias.

Así, para cada longitud de onda:

- A. A 418 nm se encuentra fuera del rango de -2 a +2 para 3 de los Días,
- B. A 453 nm no se encuentra fuera del rango de -2 a +2 para 3 de los Días,
- C. A 460 nm se encuentra fuera del rango de -2 a +2 para 3 de los Días,
- D. A 484 nm, 536nm y 648 nm; todos se encuentra fuera del rango de -2 a +2 para los Días.

Lo cual indica tendencia a la “no normalidad” significativa en los datos, lo cual no está de acuerdo al supuesto de que los datos provienen de distribuciones normales o que existen datos anómalos que afectan la distribución.

En este caso se puede proceder a transformar los datos, o a utilizar la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas en lugar de las medias.

- IV. Pruebas de Múltiple Rangos, Método: diferencia mínima significativa 95,0% (LSD) ver Tabla N° 66.

En las pruebas de rangos múltiples, estos intervalos se usan para determinar cuáles promedios son significativamente diferentes de otras.

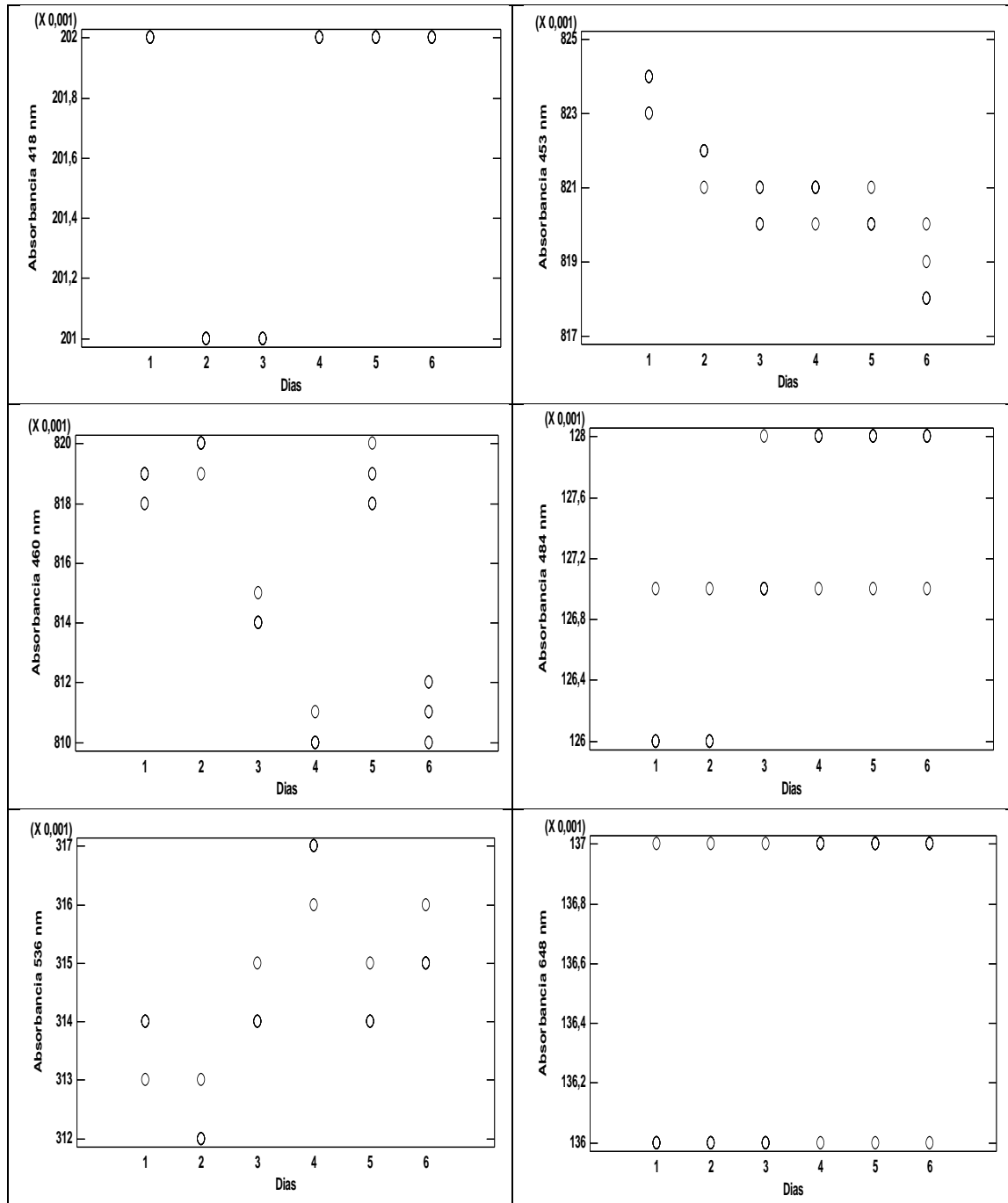


Figura N° 12: Diagramas de dispersión de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.



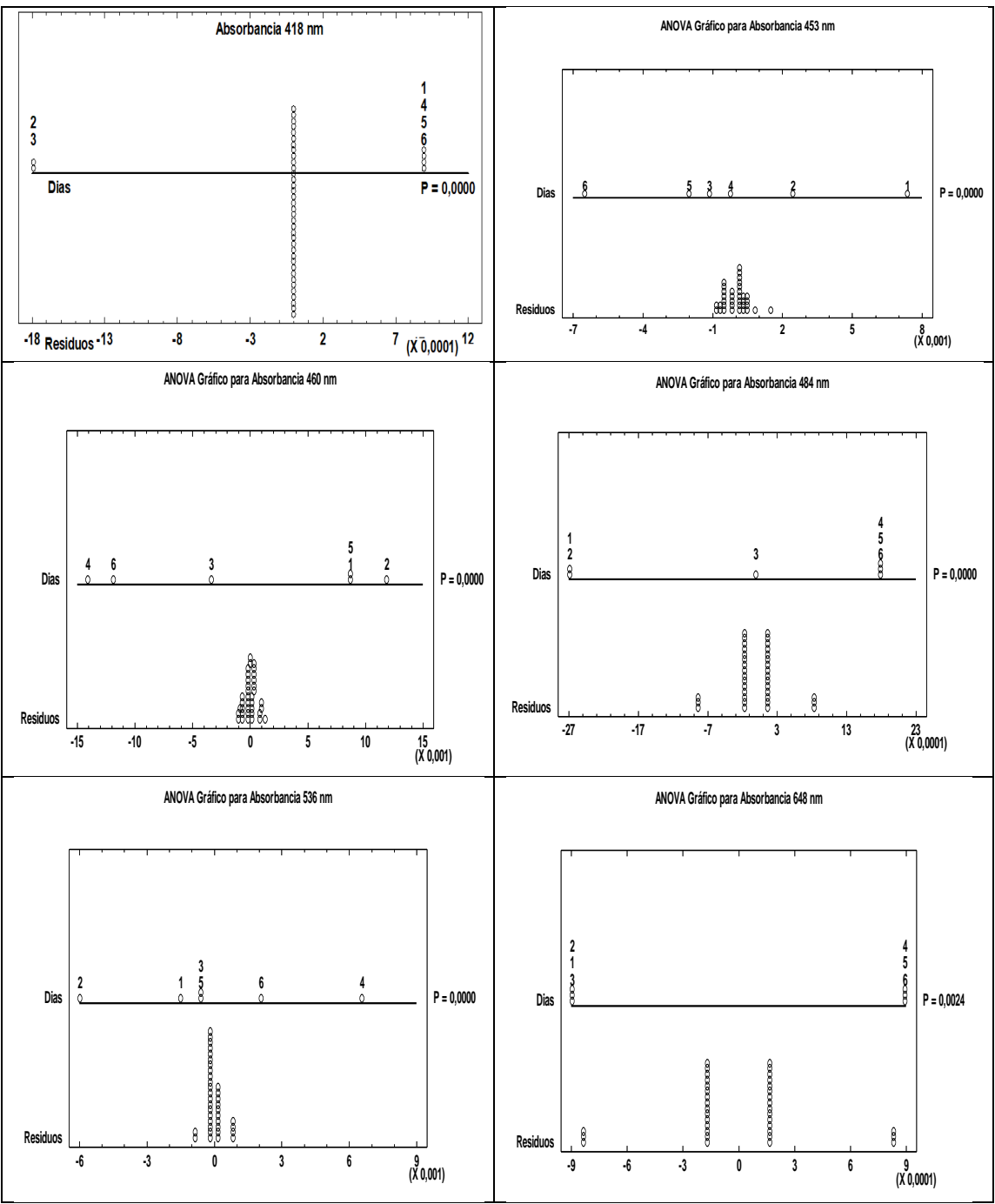


Figura N° 13: Diagramas de análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.

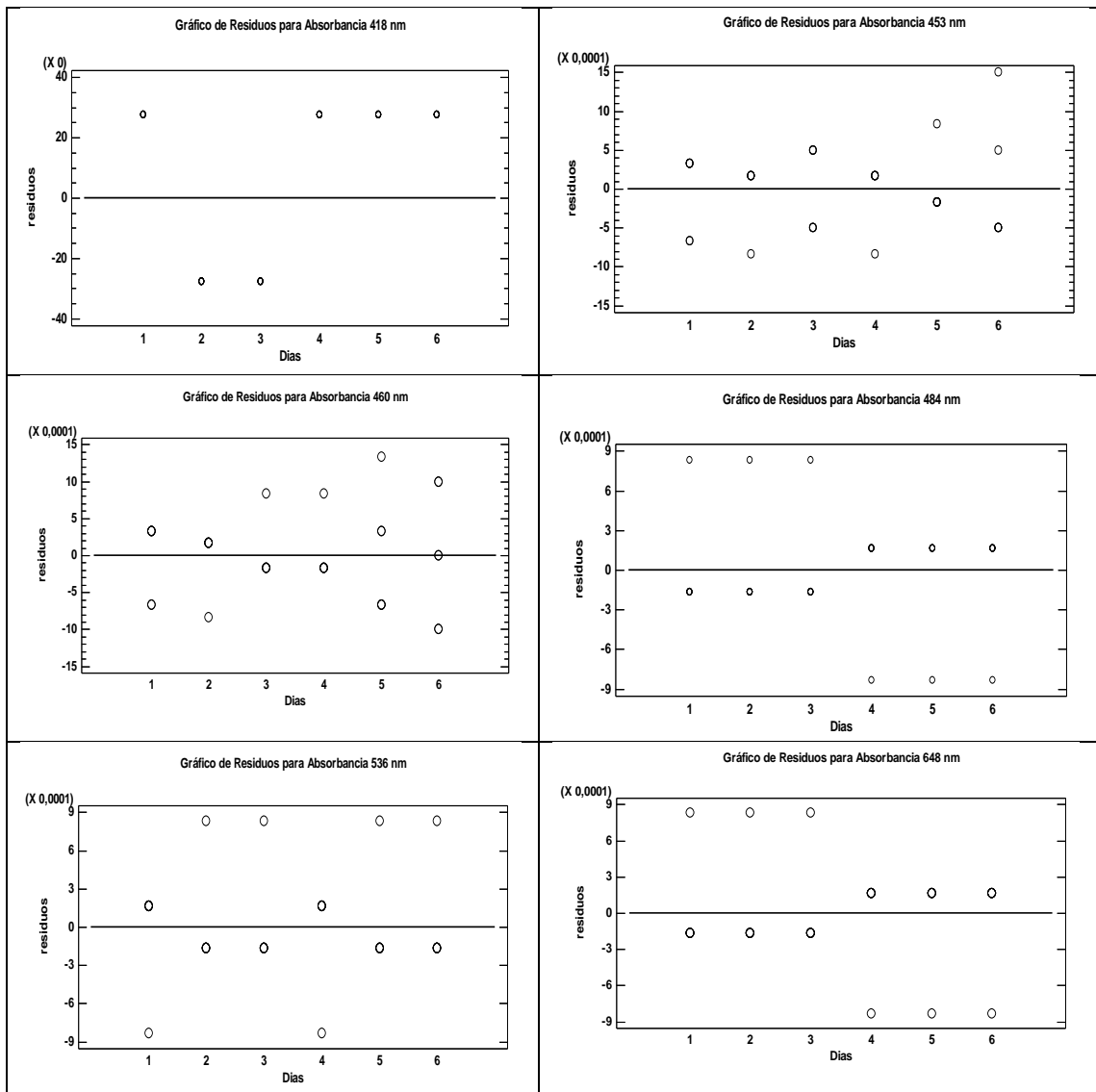


Figura N° 14: Diagramas de los residuos de los resultados de absorbancia en cada longitud de onda para los seis días.

El contraste de los resultados en pares permite determinar si existe diferencia significativa entre los promedios obtenidos entre los días de la prueba. Los resultados del tratamiento estadístico en cada longitud de onda en nm se observan en el anexo N° 10, en las mismas cualquier diferencia de promedios que sea significativa se representa con un asterisco “\*”, ver Tabla N° 67.

Las figuras N° 12, 13 y 14, permiten juzgar la significancia práctica de los resultados, así como buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza, es decir: los supuestos de que parte que han de cumplirse:

- a. La variable dependiente debe medirse al menos a nivel de intervalo.
- b. Independencia de las observaciones.
- c. La distribución de los residuales debe ser normal.
- d. Homocedasticidad: homogeneidad de las varianzas

- **Diagnóstico de Resultados.**

Con los resultados al realizar un análisis de varianza de un factor, (ver en la Tabla N° 64). La tabla ANOVA descompone la varianza de cada Absorbancia en nm en dos componentes, un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos en la determinación de la exactitud de la longitud de onda.

La razón-F es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos, así, si el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de cada Absorbancia en nm, entre un día y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

Tabla N° 42: Interpretación de resultados del análisis de varianza (ANOVA) para cada longitud de onda en nm.

<b>Prueba de análisis de varianza (ANOVA)</b>		
<b>Criterio:</b> Si el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05 existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de cada Absorbancia en nm, entre un día y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.		
Absorbancia	Resultado (los pares de días)	Interpretación de Resultados
418 nm	Razón-F = **** , Valor-P = $1,731 \times 10^{-27}$	Ya que todos los valores – P son menores a 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa
453 nm	Razón-F = 61,08 , Valor-P = 0,0000	
460 nm	Razón-F = 287,78 , Valor-P = 0,0000	
484 nm	Razón-F = 24,00 , Valor-P = 0,0000	
536 nm	Razón-F = 85,87 , Valor-P = 0,0000	
648 nm	Razón-F = 4,80 , Valor-P = 0,0024	
Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se utiliza la información de la Prueba de Múltiples Rangos en cada absorbancia evaluada.		

Tabla N° 43: Interpretación de resultados de rangos múltiples en cada absorbancia en nm para cada día.

<b>Prueba de rangos múltiples</b>		
Es la comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras con un nivel del 95,0% de confianza.		
<b>Criterio:</b> El método empleado permite discriminar entre las medias, es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.		
Absorbancia	Resultado (los pares de días)	Interpretación de Resultados
418 nm	1 - 2, 1 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 4, 3 - 5 y 3 - 6	8 pares
453 nm	1 - 2, 1 - 3, 1 - 4, 1 - 5, 1 - 6, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 6, 4 - 5, 4 - 6 y 5 - 6	13 pares
460 nm	1 - 2, 1 - 3, 1 - 4, 1 - 6, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 4, 3 - 5, 3 - 6, 4 - 5, 4 - 6 y 5 - 6	14 pares
484 nm	1 - 3, 1 - 4, 1 - 5, 1 - 6, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 4, 3 - 5 y 3 - 6	11 pares
536 nm	1 - 2, 1 - 4, 1 - 6, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 4, 3 - 6, 4 - 5, 4 - 6 y 5 - 6	12 pares
648 nm	1 - 4, 1 - 5, 1 - 6, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 6, 3 - 4, 3 - 5 y 3 - 6	9 pares
Los pares encontrados muestran diferencias estadísticamente significativas.		

Tabla N° 44: Interpretación de resultados de la prueba de varianza

<b>Prueba de varianza (prueba de Levene's)</b>		
El estadístico resultante en cada longitud de onda evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Absorbancia dentro de cada uno de los 6 días es la misma. También muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras.		
<b>Criterio:</b> Si el valor-P es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza.		
Absorbancia	Resultado	Interpretación de Resultados
418 nm	Prueba = 0 , Valor-P = 1	En esta prueba los valores-P indican que existe una diferencia estadísticamente significativa
453 nm	Prueba = 0,66 , Valor-P = 0,657	
460 nm	Prueba = 1,81 , Valor-P = 0,142	
484 nm	Prueba = 0 , Valor-P = 1	
536 nm	Prueba = 0 , Valor-P = 1	
648 nm	Prueba = 0 , Valor-P = 1	

P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 0, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significancia.

Tabla N° 45: Interpretación de resultados de la prueba de Kruskal-Wallis

<b>Prueba de Kruskal-Wallis</b>		
Evalúa la hipótesis de que las medianas de Absorbancia en cada longitud de onda dentro de cada uno de los 6 Días son iguales. Primero se combinan los datos de todos los niveles y se ordenan de menor a mayor. Luego se calcula el rango promedio para los datos de cada día.		
<b>Criterio:</b> Si el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.		
Absorbancia	Resultado	Interpretación de Resultados
418 nm	Estadístico = 35,0 , Valor-P = 0,0000015	Los resultados de valores-P, menores a 0,05, indican que existe una diferencia estadísticamente significativa
453 nm	Estadístico = 30,956, Valor-P = 0,0000095	
460 nm	Estadístico = 32,246, Valor-P = 0,0000053	
484 nm	Estadístico = 27,441, Valor-P = 0,000047	
536 nm	Estadístico = 32,055, Valor-P = 0,0000058	
648 nm	Estadístico = 15,556, Valor-P = 0,0082	

Por lo que se puede concluir la falta de homocedasticidad en los resultados, la mayoría de resultados muestran diferencias estadísticamente significativas a las pruebas estadísticas realizadas entre los promedios y medianas de los resultados, posiblemente por la carencia de normalidad o la aparición de resultados atípicos que inciden en el comportamiento. Es de acotar que en la prueba de sesgos en la longitud de onda solo una de los datos estudiados sale del criterio de  $\pm 1$  nm a la de  $\pm 3$  nm.

Esto podría implicar que la longitud de onda seleccionada en cada medición no es la que corresponde (no es exacta), solo si se asegura la trazabilidad metrológica del patrón utilizado y que la tolerancia del mismo implicara un rango específico de un material de referencia certificado.

Por otro lado el equipo Hach DR 2700 ha carecido desde su puesta en marcha de algún tipo de mantenimiento o calibración.

- **Programa de Calidad.**

- a. Programar el mantenimiento y calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700

- b. Adquirir un set de patrones trazables de óxido de holmio y efectuar de nuevo la verificación.
- c. Cartas de control de los sesgos: se llevó a cabo la elaboración de cada carta control de sesgos para verificar la diferencia, de los resultados promedio diarios contra el promedio general a cada longitud de onda en la evaluación de la exactitud de longitud de onda.

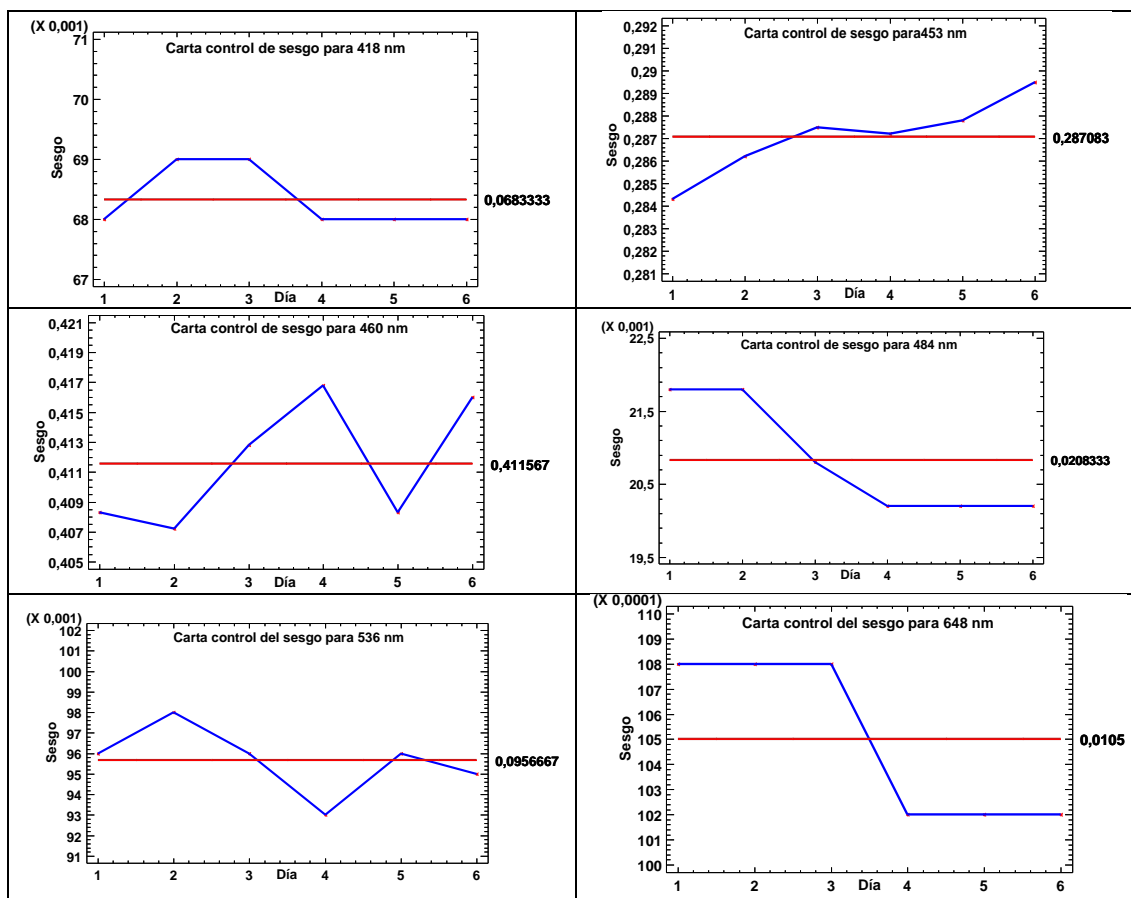


Figura N°15: Cartas control del sesgo de absorbancias a cada longitud de onda para la prueba de exactitud de longitud de onda.

Se puede definir un valor de tolerancia para valores esperados de absorbancia a cada longitud de onda, recomendando el criterio del certificado de calidad de cada patrón empleado.

### **5.3.2 Control de la exactitud fotométrica**

La exactitud fotométrica es el grado de concordancia entre la absorbancia real y la absorbancia medida.

El resumen estadístico del control de la exactitud fotométrica se puede observar en el anexo N° 11.

Esta prueba permite determinar el grado de concordancia entre la absorbancia real y la absorbancia medida de una sustancia de referencia de trazabilidad comprobable. El error cometido al leer una absorbancia respecto de una de referencia se denomina entonces “inexactitud fotométrica”.

Primero se realizó el análisis de varianza de un solo factor (ver Tabla N° 72): al ejecutar un análisis de varianza de un factor en los resultados de Absorbancia a 600, 650, 700 y 750 nm, para comparar los valores promedios en los 6 diferentes niveles (de Días consecutivos de análisis). La prueba-F en la tabla ANOVA determina si hay diferencias significativas entre los promedios.

Al existir diferencias, las pruebas de rangos múltiples (Tabla N° 73), descubren cuáles promedios son significativamente diferentes para los seis días de análisis, esta prueba es susceptible a la presencia de valores atípicos, para esto, la Prueba de Kruskal-Wallis (ver Tabla N° 76) permite comparar las medianas en lugar de los promedios.

Lo cual es útil para juzgar la significancia práctica de los resultados, así como permitir buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Luego se calculó la exactitud fotométrica relacionando los valores promedio obtenidos de las absorbancias en cada día de análisis para cada longitud de onda.

### - **Diagnóstico de Resultados.**

En el anexo No. 11 resumen estadístico del control de la exactitud fotométrica, se registran los resultados de los cálculos realizados a los valores de absorbancia obtenidos a cada longitud de onda (600, 650, 700 y 750 nm) para los seis días de análisis establecidos.

Según los resultados obtenidos, se debe tomar en cuenta que existen diferencias entre la desviación estándar más pequeña y la más grande a 600, 650, 700 y 750 nm, la cual puede llegar a ser hasta tres veces mayor. Esto puede causar inconsistencia en los resultados, puesto que el análisis de varianza asume que las desviaciones estándar de todos los niveles son iguales. Para lo cual se hace la verificación de varianza para ejecutar una prueba estadística formal para la diferencia entre las desviaciones. Se podría considerar, transformar los valores de los resultados de Absorbancia para eliminar cualquier dependencia de la desviación estándar de la media.

Además, el sesgo estandarizado y/o la curtosis estandarizada a 600, 650, 700 y 750 nm se encuentran fuera del rango de -2 a +2 para los resultados de absorbancia en todas las longitudes de onda para uno de los días de análisis establecidos. Lo cual indica o describe un comportamiento de “no normalidad” significativa en los datos, violando el supuesto de que los datos provienen de distribuciones normales.

### **I. Análisis de varianza (ANOVA) de un factor**

Variable dependiente: Absorbancia a cada longitud de onda

Factor: Días (6)

Número de observaciones: 36

Número de niveles: 6



La tabla ANOVA descompone la varianza de los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos.

La razón-F, es el cociente entre el estimado “entre grupos” y el estimado “dentro de grupos”.

En la prueba se determina que a 600, 650, 700 y 750 nm la razón-F, valor-P de la prueba-F es menor que 0,05 en todas las longitudes de onda

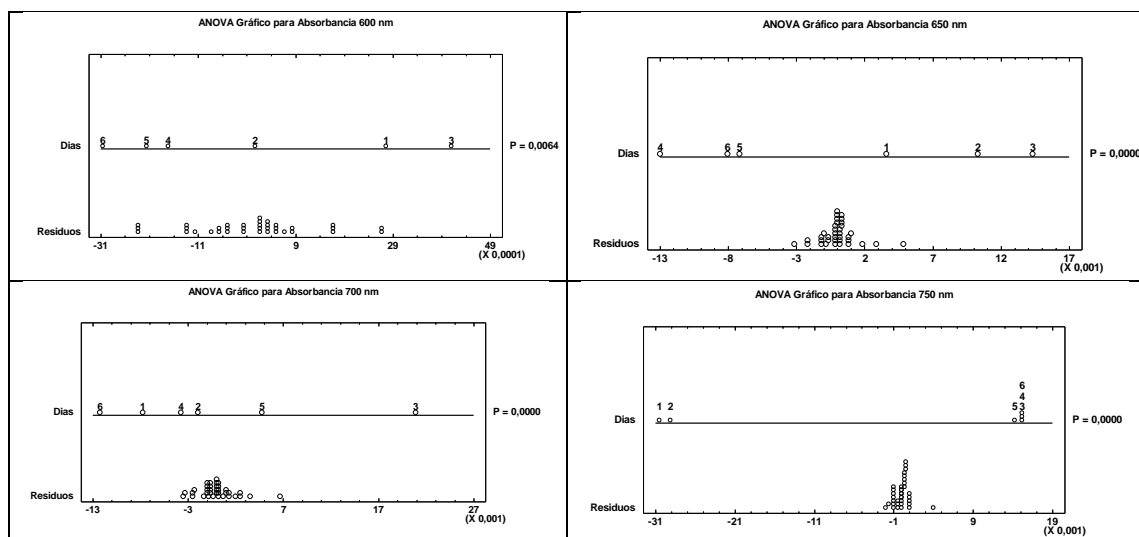


Figura N° 16: Gráficos del análisis de varianza ANOVA para cada longitud de onda en la prueba de exactitud fotométrica.

## II. Pruebas de Múltiple Rangos

Esta aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de los resultados muestran las diferencias estimadas entre cada par de medias.

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al asumir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Los resultados indican que: para la Absorbancia 600 nm, el asterisco (ver tabla N° 74) que se encuentra al lado de los 6 pares y se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. Para la Absorbancia 650 nm son 13 pares y se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.

La Absorbancia 700 nm, presenta 11 pares y se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas y para la Absorbancia 750 nm son 8 pares con 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. Estos resultados indican que muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza.

### **III. Verificación de Varianza (ver tabla N° 75)**

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm, dentro de cada uno de los 6 niveles (de Días de análisis) es la misma.

De particular interés es el valor-P, si es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza. Si fuese así, viola uno de los supuestos importantes subyacentes en el análisis de varianza e invalidará la mayoría de las pruebas estadísticas comunes.

La tabla N° 75 muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras, los resultados a cada longitud de onda de las comparaciones realizadas es la siguiente: en las absorbancias a 600 nm: los p-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 7, en las absorbancias a 650 nm: los p-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 7, en las absorbancias a 700 nm: los p-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 9, en las absorbancias a 750 nm: los p-

valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 4, indicando una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significancia.

#### IV. **Prueba de Kruskal-Wallis (ver tabla N° 76)**

Es un método no paramétrico para probar si un grupo de datos proviene de la misma población. Intuitivamente, es idéntico al ANOVA con los datos reemplazados por categorías y no asume normalidad en los datos, en oposición al tradicional ANOVA.

Sí asume, bajo la hipótesis nula, que los datos provienen de la misma distribución. Una forma común en que se viola este supuesto es con datos heterocedásticos.

Esta prueba evalúa la hipótesis de que las medianas de Absorbancia a cada longitud de onda en nm dentro de cada uno de los Días son iguales, combinando los datos de todos los niveles y se ordenan de menor a mayor obteniendo el rango promedio para los datos de cada nivel.

Si el valor-P es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza: para las absorbancia a 600 nm, el valor-P es menor que 0.05, para las absorbancia a 650 nm, el valor-P es menor que 0,05, para las absorbancia a 700 nm, el valor-P es menor que 0,05, para las absorbancia a 750 nm, el valor-P es menor que 0,05. Así, en todas las longitudes de onda existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95,0% de confianza.

Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras el gráfico de Caja y Bigotes permite verificarlo

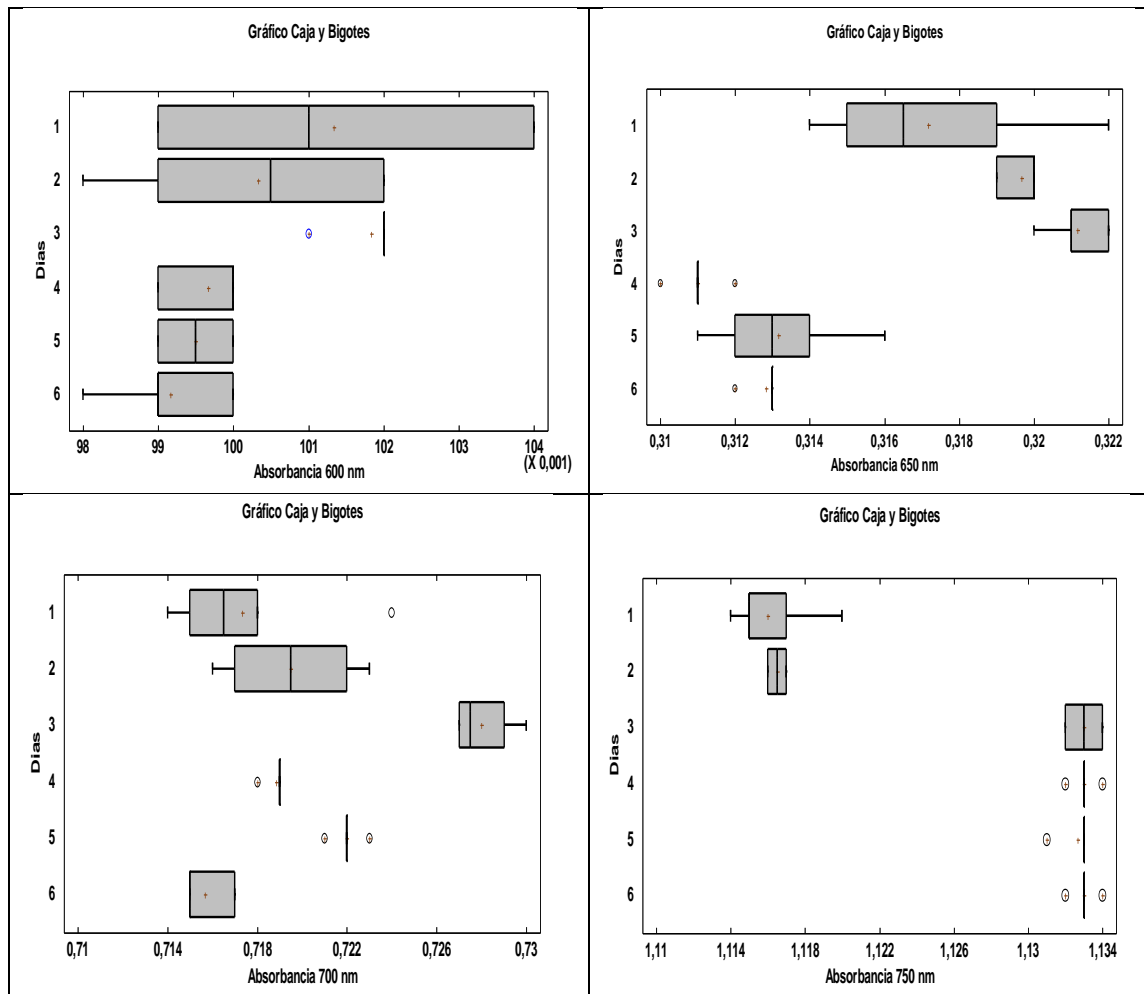


Figura N° 17: Gráficos de Caja y Bigotes para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días

Con los valores de referencia que se detalla en los certificados de calidad del patrón utilizado se establece el % de inexactitud fotométrica con la siguiente formula:

$$\% \text{ Inexactitud fotométrica} = \frac{(\text{Abs. promedio} - \text{Abs. referencia})}{\text{Abs. referencia}} \times 100$$

Límites de aceptabilidad:

Exactitud fotométrica óptima: error entre +/- 2%

Exactitud fotométrica aceptable: error entre +/- 3%

Los resultados cálculo de inexactitud se registran en la tabla N° 46.

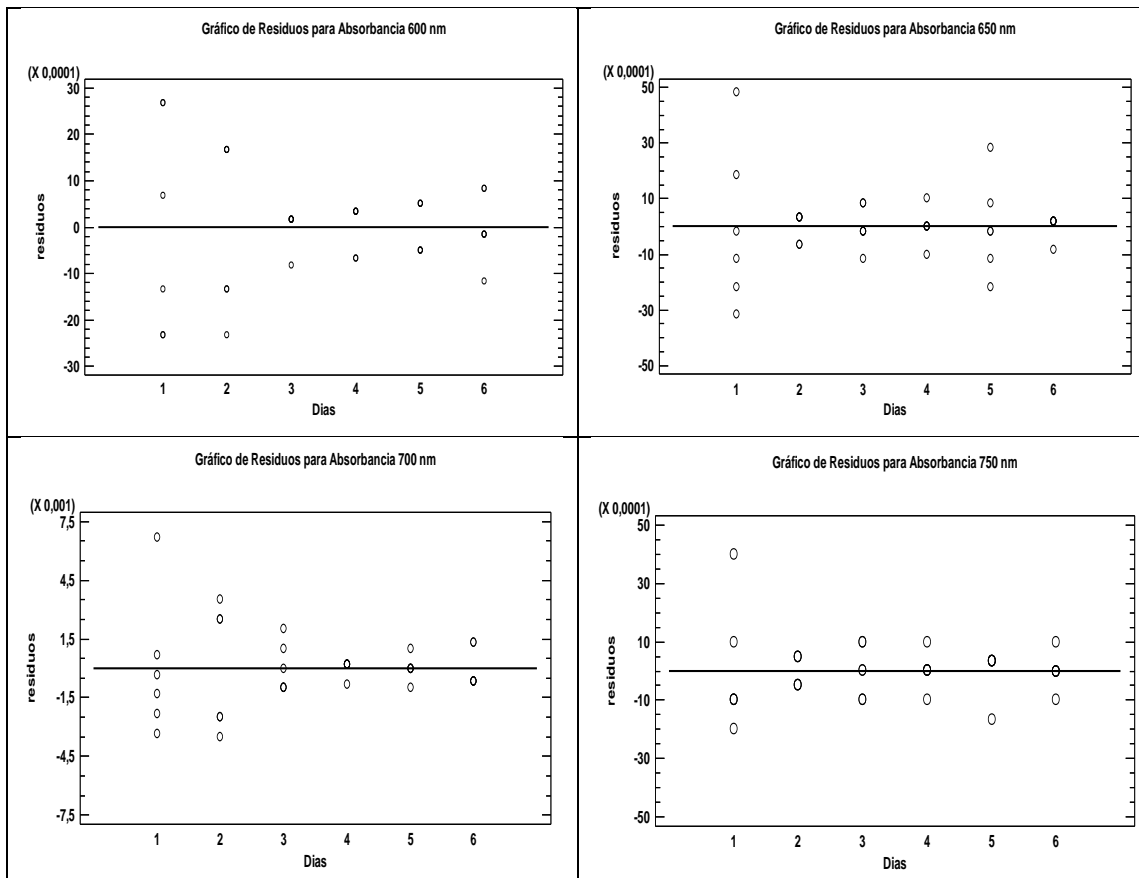


Figura N° 18: Gráficos de residuos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días

Tabla N° 46: Porcentaje de inexactitud de los promedios de absorbancia en la prueba de exactitud fotométrica

Absorbancia de referencia	0,068		0,224		0,537		0,817	
	Promedio diario							
Día	600 nm	%	650 nm	%	700 nm	%	750 nm	%
1	0,101	49,02	0,317	41,59	0,717	33,58	1,116	36,60
2	0,100	47,55	0,320	42,71	0,720	33,99	1,117	36,66
3	0,102	49,75	0,321	43,38	0,728	35,57	1,133	38,68
4	0,100	46,57	0,311	38,84	0,719	33,86	1,133	38,68
5	0,100	46,32	0,313	39,81	0,722	34,45	1,133	38,64
6	0,099	45,83	0,313	39,66	0,716	33,27	1,133	38,68

Tabla N° 47: Sesgo de los promedios de absorbancia en la prueba de exactitud fotométrica

Absorbancia de referencia	0,068		0,224		0,537		0,817	
	Promedio diario							
Día	600 nm	sesgo	650 nm	Sesgo	700 nm	Sesgo	750 nm	Sesgo
1	0,101	0,033	0,317	0,093	0,717	0,180	1,116	0,299
2	0,100	0,032	0,320	0,096	0,720	0,183	1,117	0,300
3	0,102	0,034	0,321	0,097	0,728	0,191	1,133	0,316
4	0,100	0,032	0,311	0,087	0,719	0,182	1,133	0,316
5	0,100	0,032	0,313	0,089	0,722	0,185	1,133	0,316
6	0,099	0,031	0,313	0,089	0,716	0,179	1,133	0,316

Los resultados obtenidos de la prueba de exactitud fotométrica reflejan que los resultados no son homocedásticos, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios al 5% de nivel de significancia, hay evidencia de una tendencia a valores no normales y la existencia de cifras atípicas que afectan el supuesto que la varianza de las desviaciones típicas son idénticas a cada longitud de onda.

En el cálculo de porcentaje de inexactitud fotométrica se evidencia que la inexactitud del instrumento se encuentra fuera de los límites aceptables.

Se debe hacer notar lo siguiente: el equipo no ha recibido ningún mantenimiento o calibración desde su puesta en marcha, además que las soluciones utilizadas como referencias no tienen trazabilidad comprobada al National Institute of Standards and Technology - NIST.

- **Programa de Calidad.**

- a. Programar el mantenimiento y calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700
- b. Adquirir patrones trazables al NIST y efectuar de nuevo la verificación.
- c. Cartas control de los sesgos, que sirve de testigo del comportamiento de la solución de referencia a cada longitud de onda evaluada.

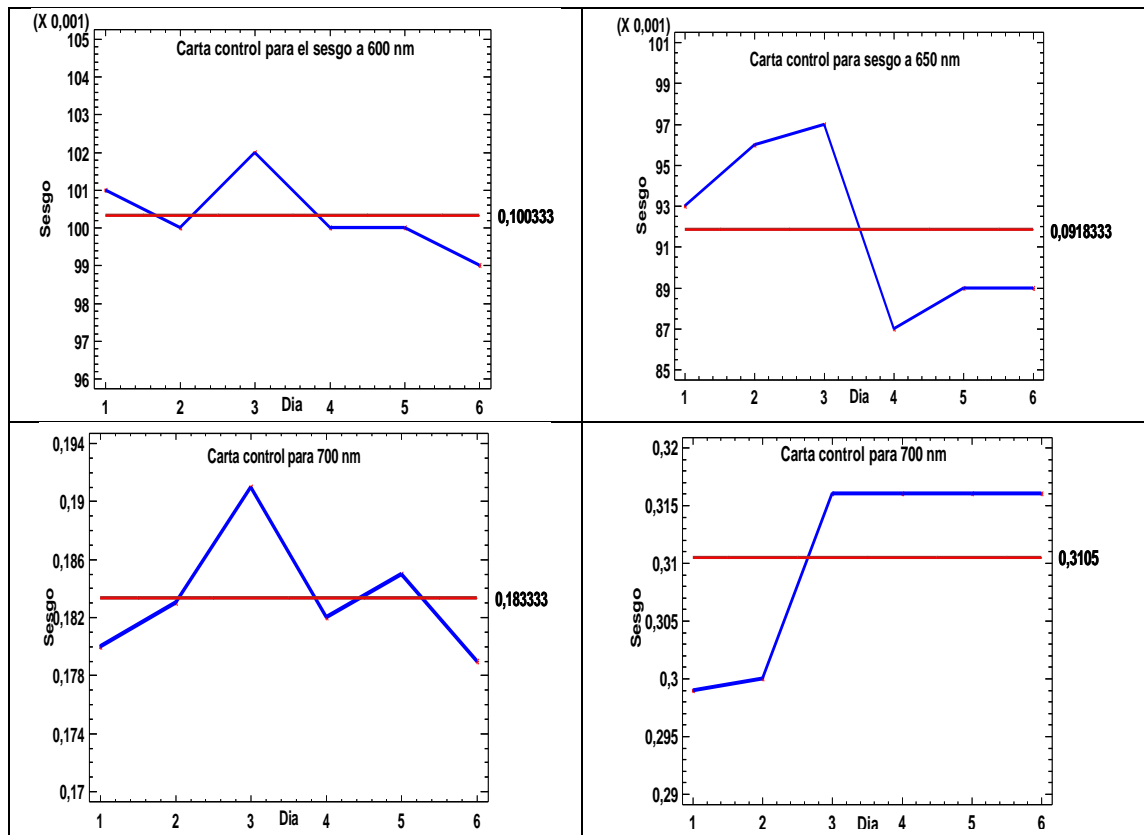


Figura N° 19: Cartas control del sesgo de absorbancias a cada longitud de onda para la prueba de exactitud fotométrica.

### 5.3.3 Control de la precisión fotométrica

Los resultados de la verificación para el control de la precisión fotométrica permiten la medida de la dispersión de una serie de mediciones de transmitancia o absorbancia alrededor del promedio y se expresa como coeficiente de variación porcentual, los resultados obtenidos se encuentran registrados en el anexo No. 12 en la Tabla N° 77.

Es de peculiar interés el cálculo del coeficiente de variación de las absorbancias obtenidas a cada longitud de onda evaluada para los seis días.

- **Diagnóstico de Resultados.**

Los valores obtenidos se han registrado en las gráficas de dispersión de los resultados en la figura N° 20, en los cuales se aprecia el grado de dispersión de los mismos.

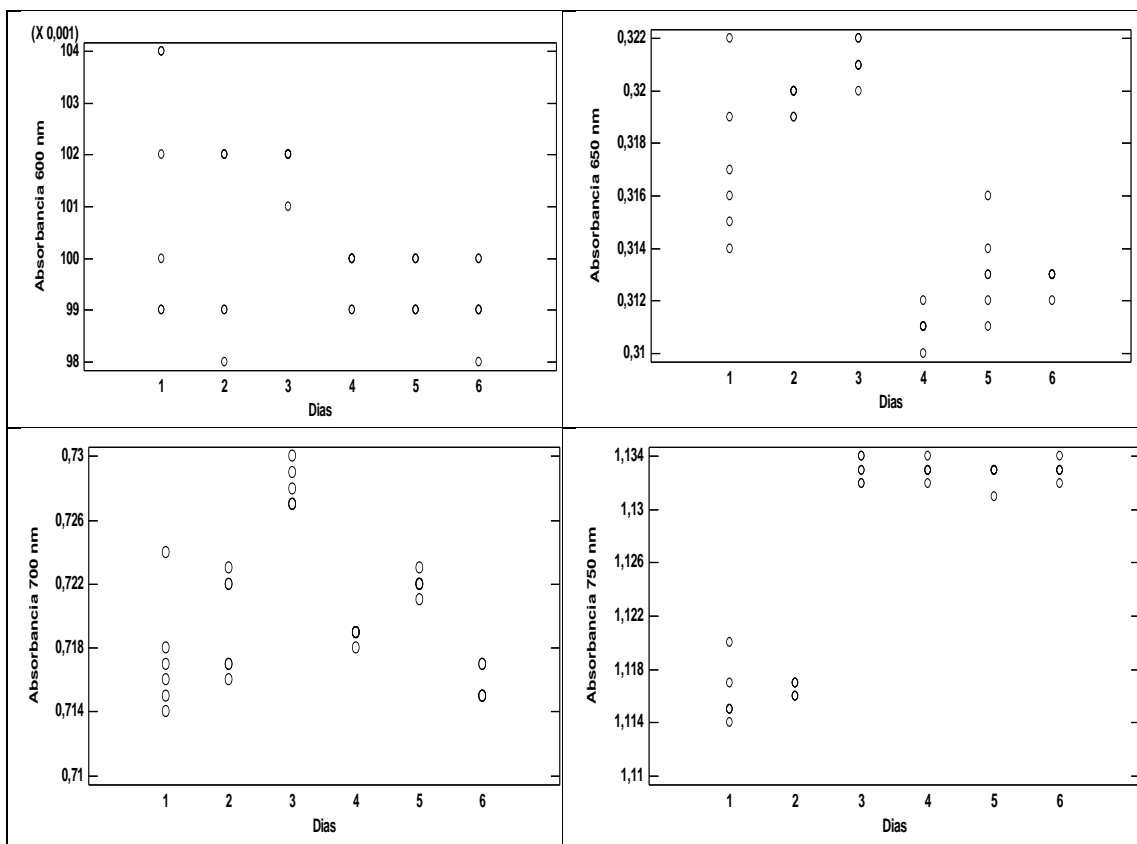


Figura N° 20: Gráficos de dispersión para las absorbancias obtenidas a las longitudes de onda de 600, 650, 700 y 750 nm durante seis días.

Para las absorbancias a 600 nm, en tres días el CV% obtenido supera el 0.5% y en dos días el CV% supera el 1%, para las absorbancias a 650 nm, en dos días el CV% obtenido supera el 0.5% y en ningún día el CV% supera el 1%, para las absorbancias a 700 nm y 750 nm, en ningún día el CV% obtenido supera el 0.5%. Así, en todas las longitudes de onda se puede obtener un coeficiente de



variación al menos aceptable pero la mayoría refleja valores óptimos como resultado.

Al relacionar los resultados de exactitud y precisión obtenidos utilizando la misma solución de referencia se observa que el sistema describe una baja exactitud y alta precisión, esto tiene una consecuencia en la incertidumbre de la medición, esto refleja una tendencia a errores sistemáticos.

- **Programa de Calidad.**
  - a. Programar el mantenimiento y calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700
  - b. Adquirir patrones trazables al NIST y efectuar de nuevo la verificación.

#### 5.3.4 Control de la linealidad fotométrica

Es la capacidad de respuesta lineal de un espectrofotómetro a diferentes concentraciones de una sustancia de modo que cumpla la ley de Beer.

Existen varias pruebas estadísticas formales para evaluar el supuesto de linealidad de la calibración. Las pruebas estadísticas intentan dirimir entre dos hipótesis:

- $H_0$  (Hipótesis Nula): El modelo lineal es adecuado para describir los datos de calibración
- $H_1$  (Hipótesis alternativa): El modelo lineal NO es adecuado para describir los datos de calibración

En las que se pueden incluir las más utilizadas en el análisis instrumental:

##### a. **Prueba de carencia de ajuste (Lack of fit)<sup>(26)</sup>**

Esta prueba está basada en comparar dos estimadores del error aleatorio: el error puro o experimental y el error de carencia de ajuste.

Es decir, se obtiene un estimador del error aleatorio totalmente independiente del error del modelo de calibración implementado. Para estimar este error, la prueba de carencia de ajuste exige replicados de cada uno de los materiales de calibración. Estos replicados deben ser “replicados verdaderos”. (No es válido hacer mediciones varias veces el mismo estándar en el equipo, se deben preparar independientemente).

Si los dos estimadores del error aleatorio son similares, entonces el modelo de calibración a de ajustar es adecuado para modelar los datos experimentales y se prueban con una prueba-F en un análisis de varianza.

#### **b. El coeficiente de correlación $r$**

El coeficiente de correlación está íntimamente ligado con la incertidumbre de calibración.  $A > r <$  es la incertidumbre de calibración, así que, se asume que un  $r$  cercano a 1 tiende a la linealidad, por lo que el criterio de que sea mayor a 0.98 es adecuado o se puede incrementar si los resultados lo respaldan.

Un resumen estadístico del control de la linealidad fotométrica se puede observar en el anexo N° 13.

#### **5.3.4.1 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 445 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck - Análisis de Regresión Simple**

En las tablas N° 78, N° 79 y N° 80 se encuentra el análisis estadístico de regresión a 445 nm. Los resultados muestran que su comportamiento se ajusta a un modelo lineal para describir la relación entre los resultados de absorbancia de una serie de estándares en cada día y la referencia establecida en el certificado de calidad.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado explica al menos un 99,999% de la variabilidad en cada día.

El coeficiente de correlación obtenido es igual a 0,99999 en todos los días, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables, con una muy alta tendencia.

El error estándar del estimado indica la desviación estándar de los residuos, lo cual se traduce en que este valor puede utilizarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones.

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA de todos los días (ver tabla N° 81), es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre los resultados de cada día y los valores de referencia esperados con un nivel de confianza del 95,0%.

Confirmando que el intercepto es cero y la pendiente es uno y no existen errores sistemáticos que afecten la linealidad del espectrofotómetro visible a la longitud de onda evaluada.

#### **5.3.4.2 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 525 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck - Análisis de Regresión Simple**

En las tablas N° 82, N° 83 y N° 84 se encuentra el análisis estadístico de regresión a 525 nm. Los resultados muestran que su comportamiento se ajusta a un modelo lineal para describir la relación entre los resultados de absorbancia de una serie de estándares en cada día y la referencia establecida en el certificado de calidad.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado explica al menos un 99,99% de la variabilidad en cada día, apoyando el sentido de respuesta lineal.

El coeficiente de correlación es igual a 0,9999 en todos los días, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables, con una muy alta tendencia.

El error estándar del estimado indica la desviación estándar de los residuos, lo cual indica que este valor puede utilizarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones.

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA de los seis días (ver tabla N° 85), es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre los resultados de cada día y los valores de referencia esperados con un nivel de confianza del 95,0%.

Confirmando que el intercepto es cero y la pendiente es uno y no existen errores sistemáticos que afecten la linealidad del espectrofotómetro visible a la longitud de onda evaluada.

#### **5.3.4.3 Cálculos realizados sobre los resultados de absorbancia a 690 nm utilizando el kit Spectroquant PhotoCheck- Análisis de Regresión Simple**

En las tablas N° 86, N° 87 y N° 88 se encuentra el análisis estadístico de regresión a 525 nm. Los resultados muestran que su comportamiento se ajusta a un modelo lineal para describir la relación entre los resultados de absorbancia de una serie de estándares en cada día y la referencia establecida en el certificado de calidad.

El estadístico R-Cuadrado indica que el modelo ajustado explica al menos un 99,99% de la variabilidad en cada día.

El coeficiente de correlación es igual a 0,9999 en los seis días, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables, con una muy alta tendencia.

El error estándar del estimado indica la desviación estándar de los residuos, lo cual indica que este valor puede utilizarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones.

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA de los seis días de los seis días (ver tabla N° 89), es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre los resultados de cada día y los valores de referencia esperados con un nivel de confianza del 95,0%.

Confirmando que el intercepto es cero y la pendiente es uno y no existen errores sistemáticos que afecten la linealidad del espectrofotómetro visible a la longitud de onda evaluada.

#### - Diagnóstico de Resultados

Utilizando todos los resultados obtenidos para realizar un estudio de calibración con seis réplicas de cada punto (distinta concentración) a cada longitud de onda, se utilizó el programa Statgraphic para realizar el análisis estadístico de la exactitud de la calibración lineal.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla N° 48, para esto son necesarios los valores de referencia del certificado de análisis del kit utilizado en el proceso de verificación.

Tabla N° 48: Resumen de prueba de exactitud para los resultados de linealidad a 445, 525 y 690 nm para seis días de análisis.

Partes: Resultado de las mediciones de absorbancia a 445, 525 y 690 nm
Mediciones: 4 mediciones por Día para cada longitud de onda
Valores de referencia:
Certificado de análisis del kit de Referencia (ver anexo N° 3)
Variación de proceso: 6 días
Número total de mediciones: 24
Número de mediciones excluidas: 0

Continuación Tabla N° 48

Estimados a 445 nm				Modelo de sesgo: $Y=0,0024 - 0,0066x$			
Rango de valores de referencia:				0.201 - 1.510			
	Estimado	Porcentaje %	Parámetro	Estimado	Error Estándar	Estadístico t	Valor-P
Bias (Sesgo)	-0,0029	0,048	Intercepto	0,0024	0,0010	2,3533	0,0280
Linealidad	0,0395	0,659	Pendiente	-0,0066	0,0011	-6,0318	0,0000
Estimados a 525 nm				Modelo de sesgo: $Y=0,00576 - 0,0191x$			
Rango de valores de referencia:				0.200 - 1.490			
	Estimado	Porcentaje %	Parámetro	Estimado	Error Estándar	Estadístico t	Valor-P
Bias (sesgo)	-0,00946	0,158	Intercepto	0,0058	0,00154	3,7361	0,0011
Linealidad	0,115	1,912	Pendiente	-0,0191	0,00165	-11,605	0,0000
Estimados a 690 nm				Modelo de sesgo: $Y=0,00491 - 0,000095x$			
Rango de valores de referencia:				0.197 - 1.493			
	Estimado	Porcentaje %	Parámetro	Estimado	Error Estándar	Estadístico t	Valor-P
Bias (sesgo)	0,0048	0,081	Intercepto	0,0049	0,0014	3,449	0,0023
Linealidad	0,00057	0,010	Pendiente	-0,0001	0,0015	-0,063	0,9507

Los gráficos obtenidos muestran la distribución en:

La tendencia lineal, la distribución por día de los residuos y la distribución por cada evaluación de los residuos.

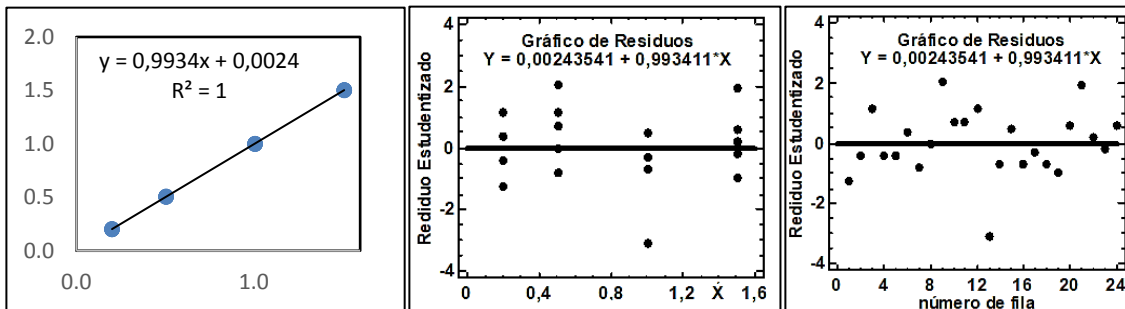


Figura N° 21: Gráficos para verificación de linealidad a 445 nm: a) Modelo de regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.

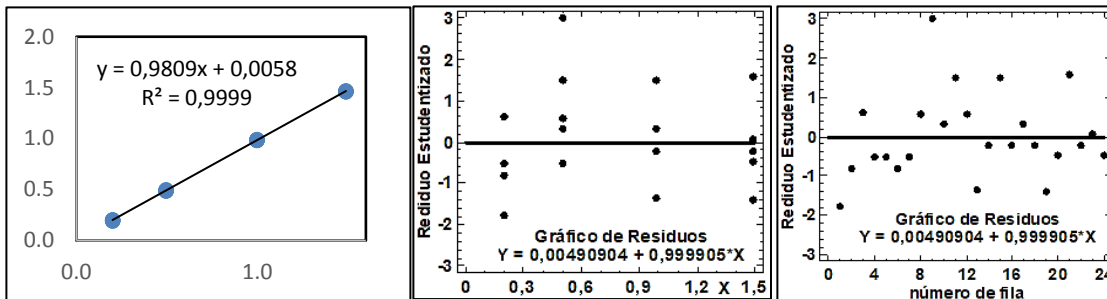


Figura N° 22: Gráficos para verificación de linealidad a 525 nm: a) Modelo de regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.

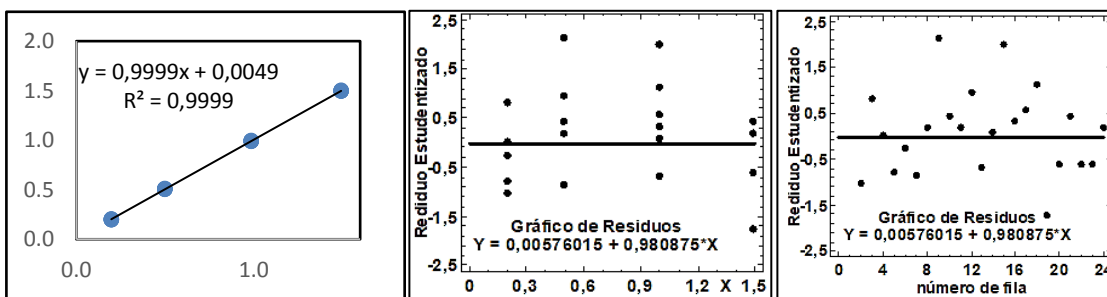


Figura N° 23: Gráficos para verificación de linealidad a 690 nm: a) Modelo de regresión lineal, b) Distribución de residuos por valor de A, c) Distribución de residuos por orden de análisis.

#### a. Estimados de la prueba de linealidad

Basado en un total de 24 mediciones en 4 partes por día, el sesgo promedio estimado del dispositivo es:

A 445 nm es -0,0029 unidades, que representa 0,048% de la variación del proceso en los seis días. La linealidad, o cambio (sesgo) a lo largo del rango de variación, representa 0,66%. El valor-P de la pendiente, es menor que 0,05.

Por lo que a esta longitud de onda no hay un cambio estadísticamente significativo en el sesgo a lo largo del rango de valores de referencia con un nivel de significancia del 5,0%.

A 525 nm es -0,00946 unidades, que representa 0,158% de la variación del proceso en los seis días. La linealidad, o cambio a lo largo del rango de variación, representa 1,912%. El valor-P de la pendiente, es menor que 0,05.

Por lo que a esta longitud de onda no hay un cambio estadísticamente significativo en el sesgo a lo largo del rango de valores de referencia con un nivel de significancia del 5,0%.

A 690 nm es 0,0048 unidades, que representa 0,081% de la variación del proceso en los seis días. La linealidad, o cambio a lo largo del rango de variación, representa 0,010%. El valor-P de la pendiente, aunque es mayor o igual que 0,05, no implica un cambio estadísticamente significativo en el sesgo a lo largo del rango de los valores de referencia a un nivel de significancia del 5,0%.

La prueba de Falta de Ajuste está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados, ó si se debería utilizar otro modelo.

La prueba se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones hechas en valores repetidos de la variable independiente X.

Tabla N° 49: Análisis de variancia - prueba de Falta de Ajuste para los resultados de absorbancia para las longitudes de onda en nm.

Longitud de onda de 445 nm					
Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0,00026	1	0,000258	36,38	0,0000
Residual	0,00016	22	0,000007		
Falta de Ajuste	0,00004	2	0,000022	3,85	0,0386
Error Puro	0,00011	20	0,000006		
Total (Corr.)	0,00041	23			



Continuación Tabla N° 49

Longitud de onda de 525 nm					
Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0,00212	1	0,002125	134,68	0,0000
Residual	0,00035	22	0,000016		
Falta de Ajuste	0,00010	2	0,000049	3,97	0,0354
Error Puro	0,00025	20	0,000012		
Total (Corr.)	0,00247	23			
Longitud de onda de 690 nm					
Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	$5,295 \times 10^{-8}$	1	$5,295 \times 10^{-8}$	0,00	0,9507
Residual	0,00030	22	0,0000135		
Falta de Ajuste	0,00008	2	0,0000425	4,00	0,0346
Error Puro	0,00021	20	0,0000106		
Total (Corr.)	0,00030	23			

Por lo tanto en las comparaciones realizadas:

Para 445 nm, puesto que el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es menor que 0,05, y solo existe una carencia de ajuste estadísticamente significativa con un  $3.61 \times 10^{-308}\%$  de nivel de significancia.

A 525 nm el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una carencia de ajuste estadísticamente significativa con un  $3.61 \times 10^{-308}\%$  de nivel de significancia.

A 690 nm, el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una carencia de ajuste estadísticamente significativa con un  $3.604 \times 10^{-308}\%$  de nivel de significancia.

Por lo que, el modelo lineal implementado en la verificación y después de las pruebas estadísticas realizadas: es adecuado y razonable para modelar los datos de calibración. Se confirmó que el intercepto es cero y la pendiente es uno en cada punto evaluado de cada longitud de onda y no existen errores sistemáticos.

Ninguno de los valores obtenidos supero los limites de tolerancia establecidos en el certificado de análisis del kit Spectroquant PhotoCheck utilizado.

- **Programa de Calidad.**

- a. Se debe programar el mantenimiento y calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700.
- b. Se establecen las cartas control de cada longitud de onda y se programa una verificación trimestral del equipo para evaluar su desempeño tomando como base del histórico de la carta control las seis determinaciones realizadas para cada punto a cada longitud de onda

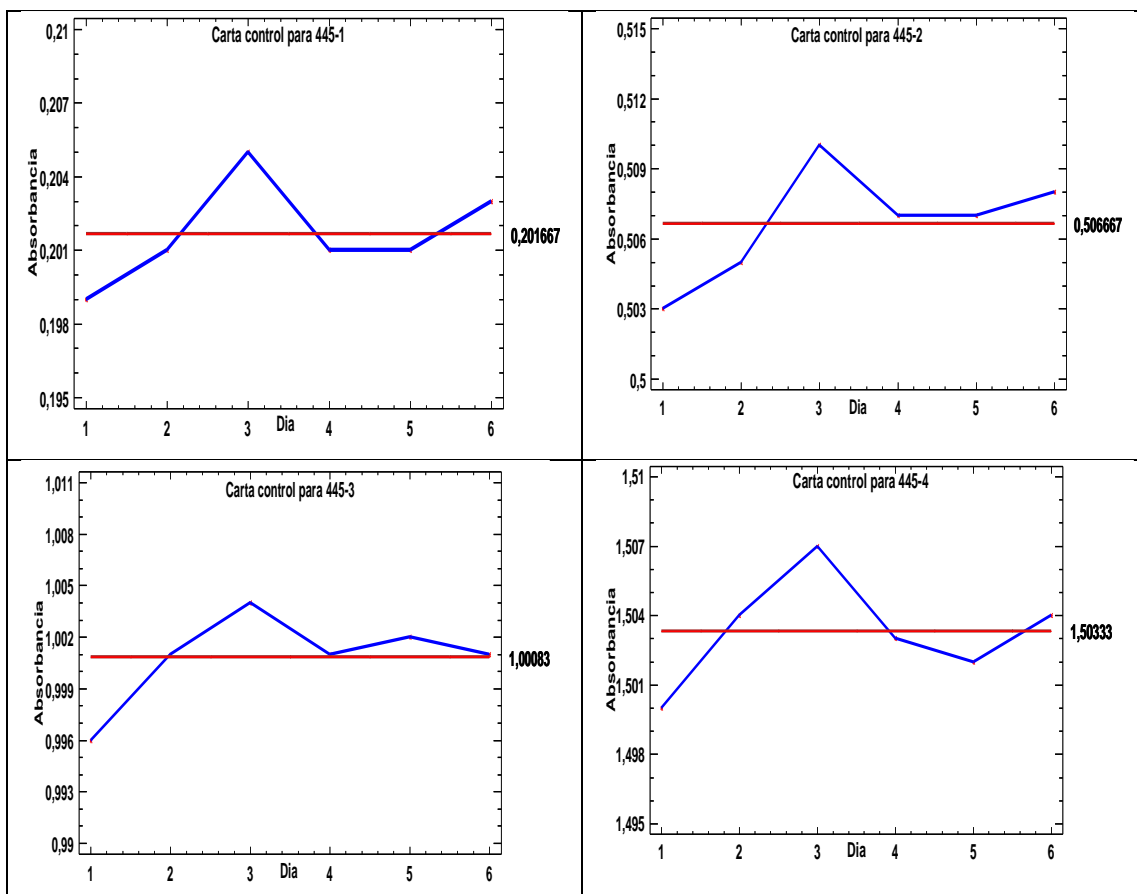


Figura N° 24: Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 445 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck

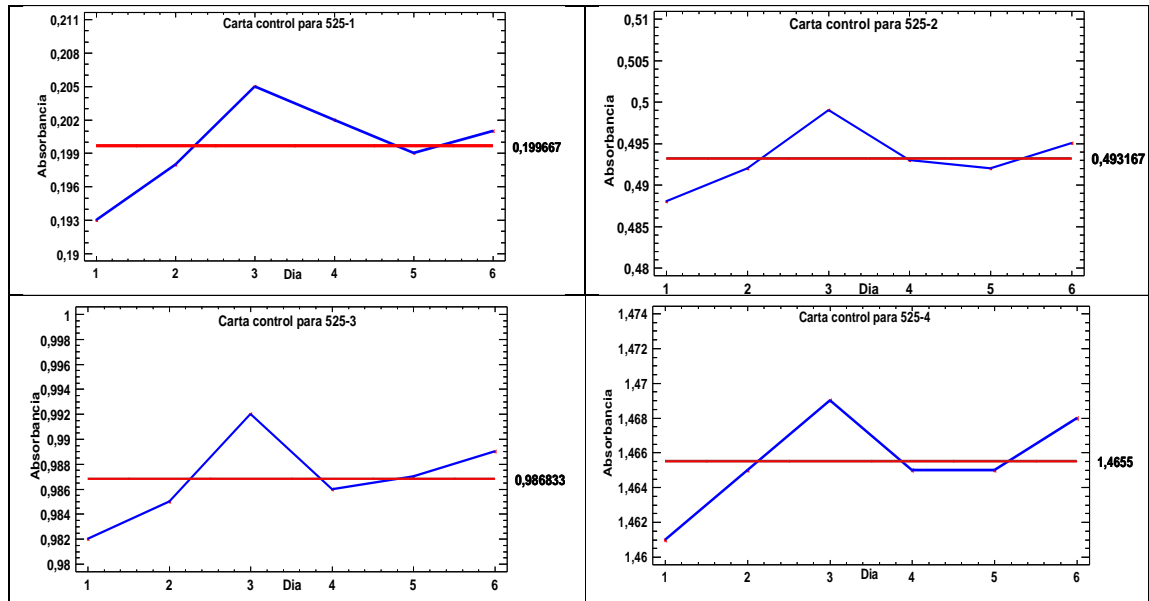


Figura N° 25: Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 525 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck

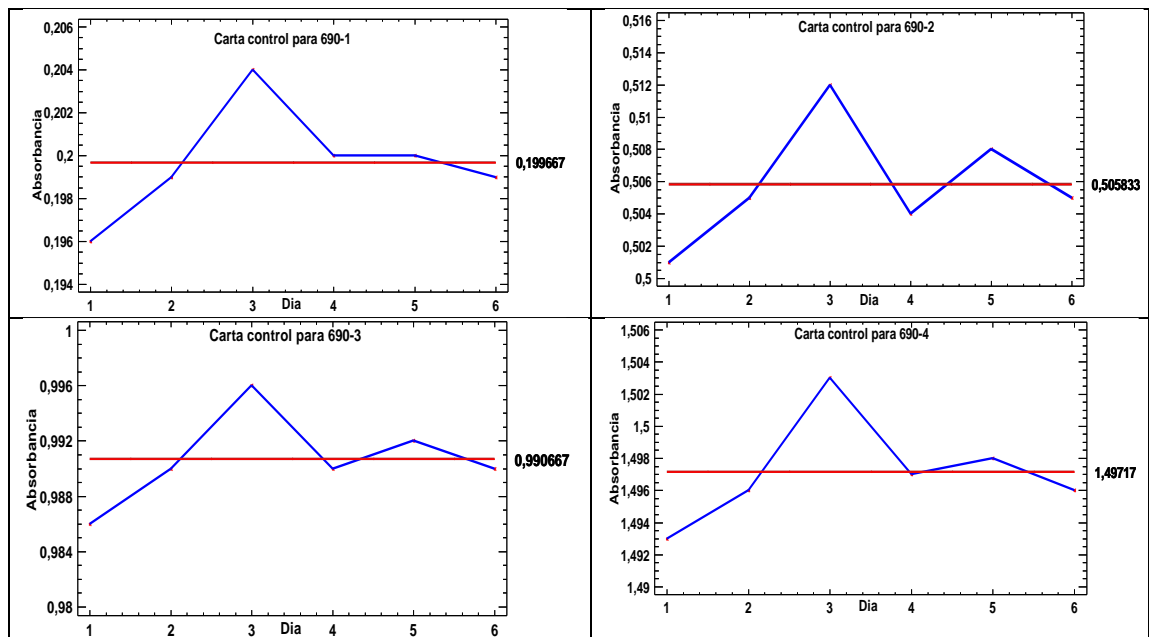


Figura N° 26: Gráficos de control para los cuatro puntos de verificación a 690 nm utilizando el Kit Spectroquant PhotoCheck

### 5.3.5 Control de luz difusa o parásita

El propósito de esta prueba fue determinar toda radiación electromagnética de longitud de onda distinta a la seleccionada por el monocromador, que alcanza el detector y por lo tanto queda registrada por el instrumento.

#### - Diagnóstico de Resultados.

Este control se basó en la medida del porcentaje de transmitancia al analizar la absorbancia de un filtro óptico recomendado por el fabricante del equipo para esta evaluación (ver anexo N° 2).

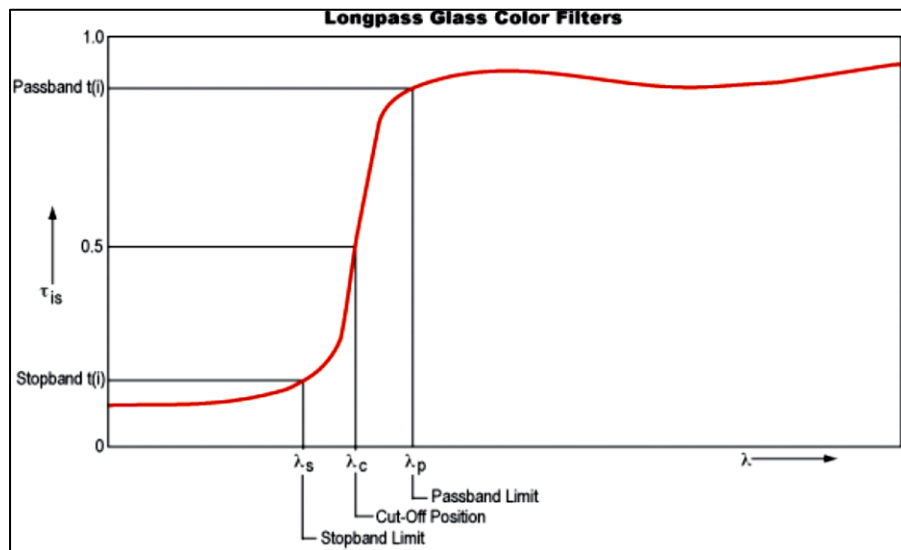


Figura N° 27: Desempeño esperado de un filtro de paso largo (7)

En donde:

$\lambda_s$  Límite de detención de la banda: especificado en 0.001% de transmitancia interna

$\lambda_c$  Posición de corte: especificada al 50% de transmitancia interna

$\lambda_p$  Límite de la banda de paso

$t_{ip}$  Transmitancia espectral interna en  $\lambda_p$

Con los resultados obtenidos es posible calcular la transmitancia de la radiación visible a 500 nm, en la prueba de luz difusa se busca conocer si existe filtración

de radiación del entorno al sistema de detección en un equipo de espectrofotometría.

Para esto el fabricante define en las especificaciones del equipo el tipo de prueba a realizar utilizando un filtro óptico OG570/3, el cual es un filtro de paso largo que tiene baja transmisión en la región de onda corta (banda de detención) y alta transmisión en la región de onda larga (banda de paso) su desempeño se aprecia en la figura N° 27.

Tabla N° 50: Resultados del cálculo de porcentaje de transmitancia a 500 nm a partir de la absorbancia obtenida para la prueba de luz difusa.

Replica	Día 1 (%)	Día 2 (%)	Día 3 (%)	Día 4 (%)	Día 5 (%)	Día 6 (%)
1	0,0589	0,0530	0,0546	0,0548	0,0542	0,0537
2	0,0551	0,0552	0,0547	0,0555	0,0543	0,0541
3	0,0479	0,0543	0,0551	0,0551	0,0546	0,0542
Promedio	0,0539	0,0542	0,0548	0,0551	0,0544	0,0540
Promedio Total en seis días		<b>0,0544 %</b>				

Los resultados obtenidos como % de transmitancia se grafican para observar la dispersión de los mismos en la figura N° 28.

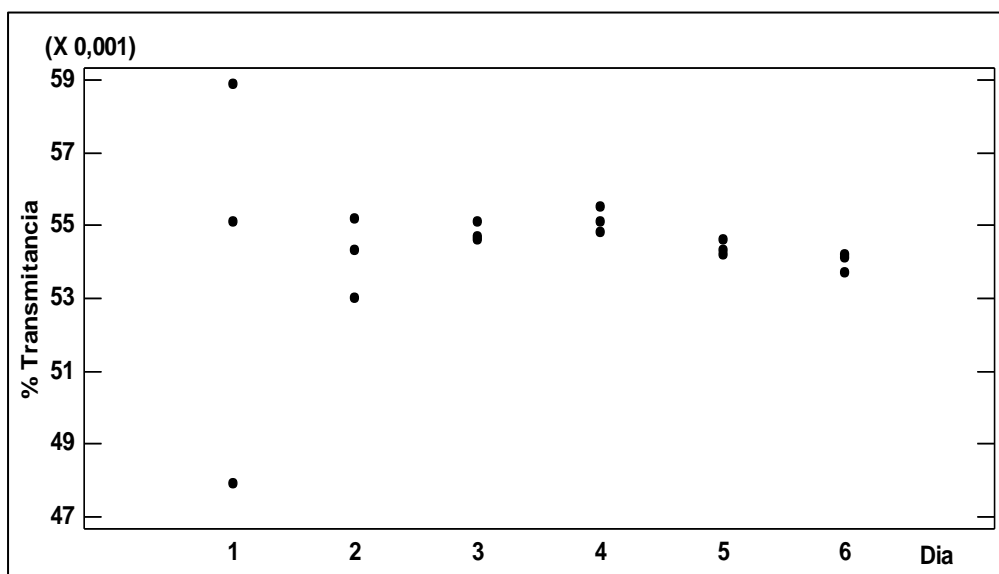


Figura N° 28: Gráfico de dispersión de los resultados de % de transmitancia de la prueba de luz difusa a 500 nm.

El criterio establecido por el fabricante del instrumento es:<sup>(8)</sup> el resultado obtenido: 0,0544 %T instrumental < 0,1% T.

Al aplicar un análisis de varianza a los resultados obtenidos se obtiene los estimados estadísticos, los cuales se registran en la tabla N° 51.

Tabla N° 51: Resultados del análisis de varianza (ANOVA) para los resultados de % Transmitancia a 500 nm durante seis Días.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00000330278	5	6,60556E-7	0,12	0,9851
Intra grupos	0,0000654867	12	0,00000545722		
Total (Corr.)	0,0000687894	17			

La razón-F, que en este caso es igual a 0,121042 y puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de % Transmitancia entre un Día y otro, con un 95,0% de confianza.

Por lo tanto los resultados de la prueba de luz difusa para el espectrofotómetro visible Hach DR 2700, presenta un resultado conforme.

- **Programa de Calidad.**

- a. Programar el mantenimiento y calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700.
- b. Se programa una verificación trimestral de este parámetro en el equipo.

### 5.3.6 Determinación del ruido de fondo

Los resultados de ruido de fondo no superaron la resolución instrumental

- **Diagnóstico de Resultados.**

Ninguno de los resultados de la prueba de ruido de fondo para el espectrofotómetro visible Hach DR 2700, fue superior a la resolución del equipo, por lo que este presenta un resultado conforme.

- **Programa de Calidad.**

Realizar la verificación de la prueba de ruido de fondo al menos una vez cada seis meses, para constatar que no existen resultados de absorbancia provenientes del entorno que afecten los resultados del equipo.

**5.4 Informe de los resultados de las verificaciones de la calibración realizadas al espectrofotómetro Hach DR 2700.**

El informe de los resultados obtenidos está registrado en el cuadro N° 4.

- **Valores de referencia<sup>(18)</sup>**

Los valores de referencia, es el valor obtenido por observación o medición de un analito o parámetro en individuos de referencia, estos son una parte del programa de garantía de calidad de un laboratorio.

Un laboratorio debiera determinar y disponer de los valores de referencia de todas las determinaciones que realiza.

Cuadro N° 3: Informe de resultados de la verificación de calibración

	<b>INFORME DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO</b>			
Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador				
Código: INFCAL-01				
<p> <b>Fecha de Calibración:</b>  <b>Objeto de calibración:</b> Espectrofotómetro Hach  <b>Fabricante:</b> Hach Company  <b>Serie:</b> 1520390  <b>Modelo:</b> DR-2700  <b>Alcance:</b> de 200 nm a 900 nm (en la escala de longitud de onda de -3 a +3 en la escala fotométrica).  <b>Resolución:</b> 1 nm (escala longitud de onda), 0.001 (escala de absorbancia).  <b>Solicitante:</b> Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador  <b>Solicitud N°:</b> 01-2019  <b>Dirección solicitante:</b> Ciudad Universitaria "Dr. Fabio Castillo Figueroa", Final de Av. Mártires y Héroes del 30 julio, San Salvador, El Salvador, América Central.  <b>Número de páginas:</b>  <b>Lugar de la calibración:</b> Laboratorio de Análisis Instrumental         </p>			<p>           El usuario está en la obligación de recalibrar el instrumento a intervalos adecuados, los cuales deben ser elegidos con base en las características del trabajo realizado y el tiempo de uso del instrumento.            Los resultados del certificado se refieren a momento y condiciones en que se realizaron las mediciones.            El laboratorio no se responsabiliza de los perjuicios que pueda ocasionar el uso inadecuado de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración aquí declarados.            Este informe de calibración es trazable a patrones nacionales o internacionales, los cuales realizan las unidades de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)            Este certificado de calibración no podrá ser reproducido parcialmente, excepto con autorización previa por escrito del Laboratorio.            El certificado de calibración no es válido sin firmas o sin el sello del Laboratorio         </p>	
<b>Condiciones ambientales:</b> 20 °C/ 57% Humedad relativa				
<b>Método utilizado:</b> Se utilizó como base para la verificación de la calibración del espectrofotómetro el documento: PROCAL-01 - Procedimiento de verificación de la calibración del espectrofotómetro HACH DR-2700.				
<b>Declaración de los patrones y de la trazabilidad:</b>				
<b>Material de Referencia</b>	<b>Tipo</b>	<b>Material</b>	<b>Serie</b>	<b>Trazabilidad</b>
Para la verificación de la escala de longitud de onda	Patrón de trabajo	Filtro de Oxido de Holmio	-----	Espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 del Laboratorio Fisicoquímico de Aguas
Para la verificación de la escala de Exactitud fotométrica	Patrón de trabajo	Dicromato de potasio	-----	-----
Para la verificación de la Precisión fotométrica	Patrón de trabajo	Sulfato de cobre	-----	-----
Página N° 1 de 2				



Para la verificación de la Linealidad fotométrica	Material de referencia	114693 Spectroquant PhotoCheck	1146930001	Espectrofotómetro Varian Cary 500 Lote EL96073498
Para la verificación de la Luz difusa o parásita	Patrón de trabajo	Filtro óptico OG570 de 3 mm de espesor	46061	-----
Para la verificación del Ruido de fondo	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

**RESULTADOS DE PARAMETROS DE VERIFICACIÓN**

Resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro

Parámetro /Verificación	Longitud de onda	Resultado	Criterios de aceptación	Declaración de conformidad
Escala y exactitud de la longitud de onda	418 nm	< ± 1 nm/ >± 0.5 nm	± 3 nm rango visible / 3 lecturas de pico deben estar entre ± 0.5 nm.	Conforme
	453 nm	< ± 3 nm/ >± 0.5 nm		
	460 nm	< ± 2 nm/ >± 0.5 nm		
	484 nm	< ± 1 nm/ >± 0.5 nm		
	536 nm	< ± 1 nm/ >± 0.5 nm		
	648 nm	< ± 2 nm/ >± 0.5 nm		
Exactitud fotométrica	600 nm	45,83 a 49,75 %	Error Optima ± 2% Aceptable ± 3%	No conforme
	650 nm	38,84 a 43,38 %		
	700 nm	33,27 a 35,57 %		
	750 nm	36,60 a 38,68 %		
Precisión fotométrica	600 nm	1,07%	CV% Optimo <0,5% Aceptable < 1%	No conforme
	650 nm	0.004%		
	700 nm	0.002 %		
	750 nm	0.001 %		
Linealidad fotométrica	445 nm	r=1	Reportar a y b con sus errores típicos y r ≥0,98	Conforme
	525 nm	r=0,99997		
	690 nm	r=0,99995		
Luz difusa o parásita	500 nm	0.0544%=0.00054 T	$\bar{T} < 0.01$ ó $A > 2$	Conforme
Ruido de fondo	500 nm	< 0,001	< 0.001 UA	Conforme

**Notas y aclaraciones:**

- 1) El período de validez de este informe de verificación de la calibración dependerá del uso y cuidado que se dé al instrumento.
- 2) Los resultados declarados son únicamente válidos para el objeto calibrado.
- 3) Las condiciones ambientales al momento de la calibración fueron: Temperatura ambiente: (20 ± 3) °C, Humedad: (57 ± 5) %.

Br. Alejandra Astrid Guzmán Valle

Br. Roberto Luis Rivera Aguirre

Realizó la calibración

Para lo cual es necesario contar con aspectos necesarios como:

- La distribución estadística de los valores de referencia.
- Límite de referencia, que es derivado de la distribución de referencia y es usado para propósitos descriptivos. En forma simple, se define como la fracción establecida de los valores de referencia que debieran ser menor o igual a un límite con una probabilidad establecida.
- Intervalo de referencia, que es el intervalo entre dos límites de referencia e incluye esos límites y
- El Valor observado, que es un valor de un análisis o parámetro en particular, obtenido por observación o medición.


Existen dos métodos para la estimación de un intervalo de referencia: paramétricos y no paramétricos, ambos tienen igual grado de precisión.

Se han propuesto varios tipos de intervalos de referencia: fractil, también llamado percentil, de tolerancia y de predicción.

Para fines de optimizar el proceso de control de los resultados de las verificaciones se adoptaron los rangos de tolerancia establecidos por el fabricante en el certificado de calidad del material de referencia utilizado en la verificación de la linealidad.

**5.5 Propuesta de formato para el registro de las evaluaciones periódicas del equipo.**

Cuadro N° 4: Propuesta de formato para verificación periódica

	<p><b>FORMATO DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO</b></p>		
<p>Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador</p>			
<p>Código: FVCAL-01</p>			
<p><b>Método utilizado:</b> Se utilizó como base para la verificación de la calibración del espectrofotómetro el documento: PROCAL-01 - Procedimiento de verificación de la calibración del espectrofotómetro HACH DR-2700.</p>			
<p><b>RESULTADOS DE PARAMETROS DE VERIFICACIÓN</b> Resultados de verificación y criterios de aceptación para la calibración de un espectrofotómetro</p>			
<p><b>Condiciones ambientales:</b> ____ °C/ ____% Humedad relativa</p>			
<b>Parámetro /Verificación</b>	<b>Longitud de onda</b>	<b>Resultado</b>	<b>Sesgo</b>
Escala y exactitud de la longitud de onda	418 nm		
	453 nm		
	460 nm		
	484 nm		
	536 nm		
	648 nm		
			Fecha _____
<p><b>Condiciones ambientales:</b> ____ °C/ ____% Humedad relativa</p>			
<b>Parámetro /Verificación</b>	<b>Longitud de onda</b>	<b>Resultado</b>	<b>Sesgo</b>
Exactitud fotométrica	600 nm		
	650 nm		
	700 nm		
	750 nm		
			Fecha _____
<p><b>Condiciones ambientales:</b> ____ °C/ ____% Humedad relativa</p>			
<b>Parámetro /Verificación</b>	<b>Longitud de onda</b>	<b>Resultado</b>	
Precisión fotométrica	600 nm		
	650 nm		
	700 nm		
	750 nm		
			Fecha _____

**Condiciones ambientales:** \_\_\_\_ °C/ \_\_\_\_% Humedad relativa

Parámetro /Verificación	Longitud de onda	R1	R2	R3	R4
Linealidad fotométrica	445 nm				
	525 nm				
	690 nm				

Fecha \_\_\_\_\_

**Condiciones ambientales:** \_\_\_\_ °C/ \_\_\_\_% Humedad relativa

Parámetro /Verificación	Longitud de onda	Resultado
Luz difusa o parásita	500 nm	
Ruido de fondo	500 nm	

Fecha \_\_\_\_\_

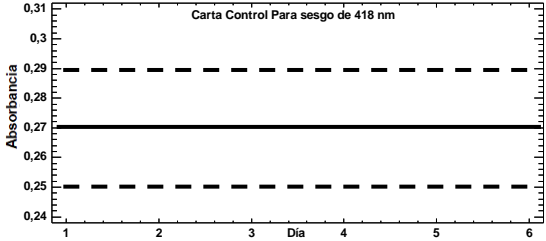
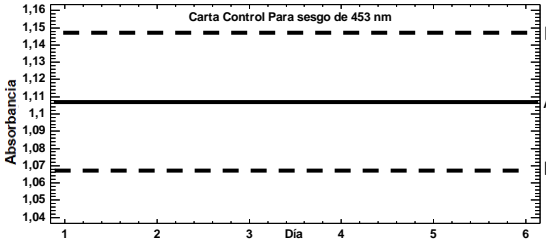
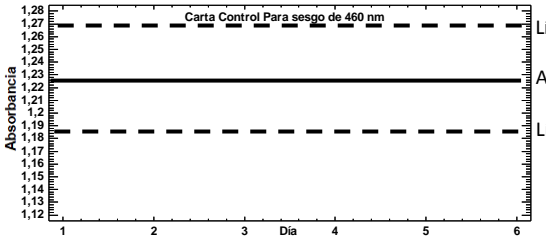
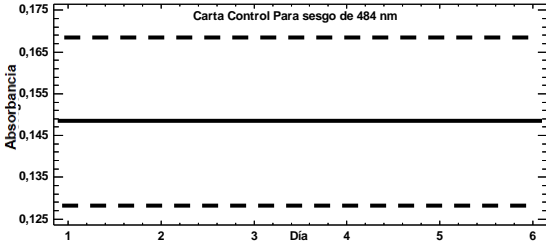
**DICTAMEN TECNICO**

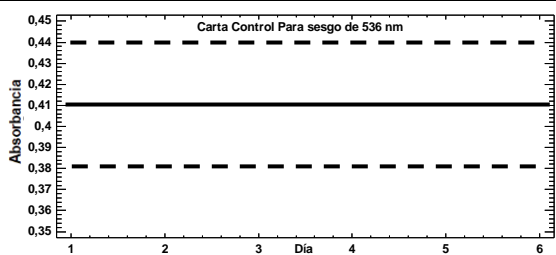
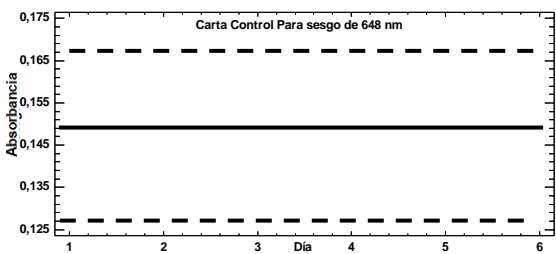

Verificado por

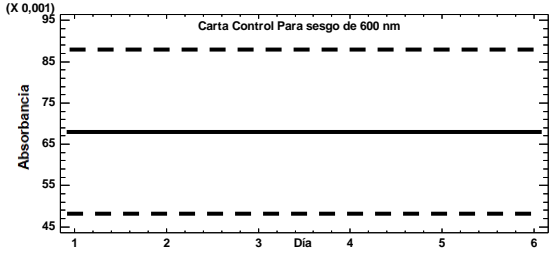
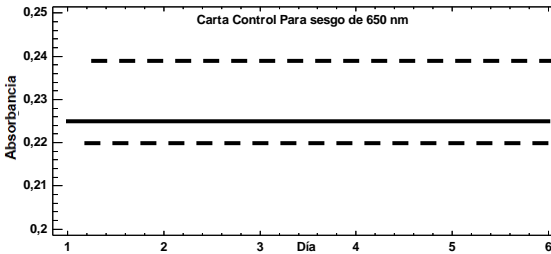
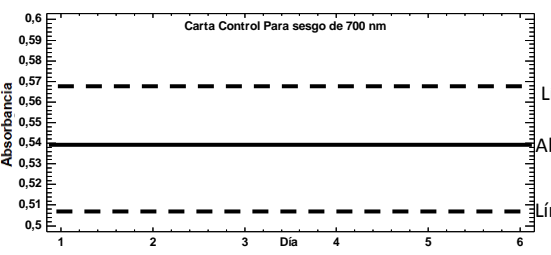
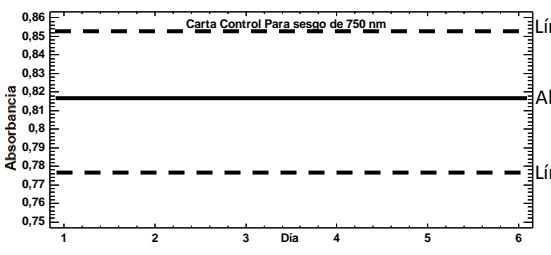
\_\_\_\_\_  
Br. Alejandra Astrid Guzmán Valle

\_\_\_\_\_  
Br. Roberto Luis Rivera Aguirre

Realizó la verificación

Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 418 nm	Punto	Fecha
 <p>Carta Control Para sesgo de 418 nm</p> <p>Absorbancia Esperada: 0,270</p> <p>Límite Máximo</p> <p>Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 453 nm	Punto	Fecha
 <p>Carta Control Para sesgo de 453 nm</p> <p>Absorbancia Esperada: 1,108</p> <p>Límite Máximo</p> <p>Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 460 nm	Punto	Fecha
 <p>Carta Control Para sesgo de 460 nm</p> <p>Absorbancia Esperada: 1,227</p> <p>Límite Máximo</p> <p>Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 484 nm	Punto	Fecha
 <p>Carta Control Para sesgo de 484 nm</p> <p>Absorbancia Esperada: 0,148</p> <p>Límite Máximo</p> <p>Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	

Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 536 nm		Punto	Fecha
 <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: 0,410</p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 648 nm		Punto	Fecha
 <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: 0,147</p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

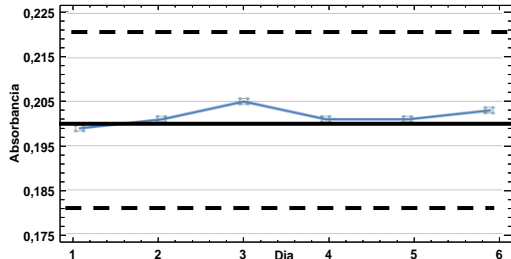
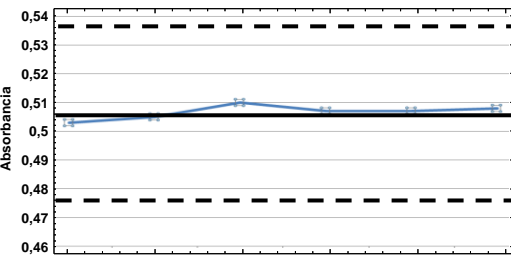
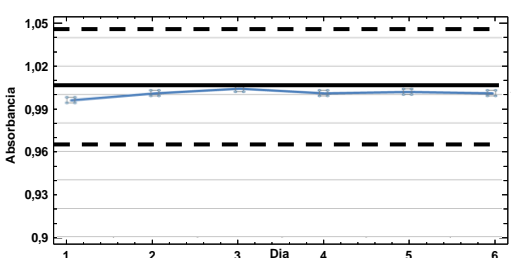
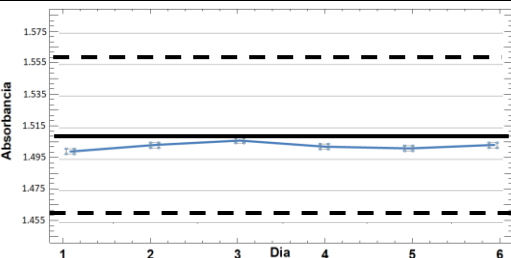
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 600 nm	Punto	Fecha
 <p data-bbox="878 457 1008 485">Límite Máximo</p> <p data-bbox="878 541 1133 569">Absorbancia Esperada: 0,068</p> <p data-bbox="878 625 1008 653">Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 650 nm	Punto	Fecha
 <p data-bbox="878 842 1024 869">Límite Máximo</p> <p data-bbox="878 905 1089 932">Absorbancia Esperada</p> <p data-bbox="878 961 1024 989">Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 700 nm	Punto	Fecha
 <p data-bbox="878 1255 992 1283">Límite Máximo</p> <p data-bbox="878 1318 1105 1346">Absorbancia Esperada: 0,537</p> <p data-bbox="878 1381 992 1409">Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
Verificación de la Exactitud de Longitud de onda 750 nm	Punto	Fecha
 <p data-bbox="878 1570 992 1598">Límite Máximo</p> <p data-bbox="878 1640 1105 1667">Absorbancia Esperada: 0,817</p> <p data-bbox="878 1717 992 1745">Límite Mínimo</p>	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	

Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 1		Punto	Fecha
<p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.020</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 2		Punto	Fecha
<p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.030</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 3		Punto	Fecha
<p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.040</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 4		Punto	Fecha
<p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.050</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		



## 5.6 Aplicación del formato para el registro de las evaluaciones periódicas del equipo para el control de linealidad periódico.

Cuadro N° 5: Aplicación del formato para verificación para la obtención de cartas control de linealidad a 445 nm

<p>Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 1</p>  <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.020</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	<p>Punto</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>5</p> <p>6</p> <p>Valor esperado</p>	<p>Fecha</p> <p>0.199</p> <p>0.201</p> <p>0.205</p> <p>0.201</p> <p>0.201</p> <p>0.203</p> <p><b>0.201</b></p>
<p>Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 2</p>  <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.030</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	<p>Punto</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>5</p> <p>6</p> <p>Valor esperado</p>	<p>Fecha</p> <p>0.503</p> <p>0.505</p> <p>0.510</p> <p>0.507</p> <p>0.507</p> <p>0.508</p> <p><b>0.506</b></p>
<p>Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 3</p>  <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.040</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	<p>Punto</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>5</p> <p>6</p> <p>Valor esperado</p>	<p>Fecha</p> <p>0.996</p> <p>1.001</p> <p>1.004</p> <p>1.001</p> <p>1.002</p> <p>1.001</p> <p><b>1.007</b></p>
<p>Verificación de la Linealidad Fotométrica tubo N° 4</p>  <p>Límite Máximo</p> <p>Absorbancia Esperada: <math>\pm 0.050</math></p> <p>Límite Mínimo</p>	<p>Punto</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>5</p> <p>6</p> <p>Valor esperado</p>	<p>Fecha</p> <p>1.500</p> <p>1.504</p> <p>1.507</p> <p>1.503</p> <p>1.502</p> <p>1.504</p> <p><b>1.510</b></p>
<p>No se observa tendencia alta o baja en ninguna carta de control</p>		

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en la verificación mediante el uso de filtro de óxido de holmio, difieren +/- 1.5 nm respecto de la especificación del equipo.
2. Las lecturas para verificar la escala de longitud de onda están dentro del rango establecido (+/- 3nm), lo cual indica que la escala de longitud de onda es correcta.
3. Las variaciones en la absorbancia luego de la verificación de la escala de la longitud de onda; puede variar según la experticia de los analistas y/o al no contar con los patrones trazables adecuados al equipo con el cual se realizó la verificación. Tendrán un comportamiento heterocedástico, es decir que el coeficiente de variación no se mantendrá estable en el tiempo.
4. La variación en la escala de la exactitud fotométrica; puede variar según la experiencia de los analistas y/o al uso de reactivos no adecuados
5. La verificación de la precisión fotométrica, puede variar por la utilización de reactivos no certificados o cuya certificación no haya podido ser comprobada.
6. El modelo lineal implementado en la verificación de la linealidad fotométrica es adecuado y razonable para modelar los datos de calibración; ya que la gráfica obtenida es señal de que no existen errores que lleven a los límites de tolerancia establecidos en el certificado de análisis del kit Spectroquant PhotoCheck.

7. La verificación de la Luz difusa o parásita, presento una transmitancia de 0.00054 T, que es menor al criterio del fabricante (de 0.01 T), no superando el criterio establecido.
8. En la verificación del ruido de fondo a 500 nm, los resultados no superaron el 0,000 de absorbancia menor a las especificaciones del fabricante de menos de 0.001 UA.
9. Los resultados obtenidos tendrán un mayor grado de confiabilidad, en la medida en que las verificaciones se realicen siguiendo de forma estricta las recomendaciones de uso del equipo que brinda el fabricante y utilizando reactivos debidamente certificados.
10. Al culminar la fase experimental cuatro de seis, de los parámetros de la verificación de la calibración del espectrofotómetro UV visible HACH DR 2700; se obtuvo resultados conformes al certificado del material y a los reactivos utilizados, siempre y cuando se cumpla el criterio de trazabilidad de los mismos como material de referencia.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

Al Jefe Químico de la Facultad de Química y Farmacia:

1. Gestionar la adquisición de patrones trazables de filtros de óxido de holmio en placa o en solución, para efectuar la verificación de precisión y exactitud de longitud de onda en espectrofotómetros UV Visible, ya que es recomendable realizarlo una vez por mes.
2. Gestionar la adquisición de patrones trazables de referencia de sulfato de cobre de calidad espectroscópica y ácido sulfúrico concentrado libre de trazas de metales para efectuar la verificación de exactitud y precisión fotométrica en fotómetros y espectrofotómetros visibles una vez por mes.
3. Gestionar la adquisición de patrones trazables de soluciones Spectroquant PhotoCheck para asegurar la linealidad fotométrica, ya que el utilizado en esta investigación venció en 2019 y es necesario realizarlo cada tres meses.
4. Programar el mantenimiento y calibración anual del espectrofotómetro visible Hach DR 2700.
5. Implementar el programa de verificación de la calibración del espectrofotómetro visible Hach DR 2700, con los formatos y cartas control recomendadas en esta investigación al menos una vez al año en equipos de espectroscopia Ultravioleta y visible.
6. Según los resultados obtenidos de parámetros de la calibración se recomienda usar material certificado para obtener resultados trazables y confiables.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Azcarate M., Kloster N., Ostinelli M., Carreira D., (2011), Guía para la verificación de espectrofotómetros UV-Visibles utilizados en el análisis de suelo y agua. Iberolab, España. [En línea] Disponibilidad en el sitio: [http://www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/IberolabVI2011/Comunicaciones/documentos\\_comunicaciones/Requisitos\\_Tecnicos\\_0079.pdf](http://www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/IberolabVI2011/Comunicaciones/documentos_comunicaciones/Requisitos_Tecnicos_0079.pdf)
2. Chung Chow Chan, (2004). Analytical method validation and instrument performance verification, 1 ed. Wiley, USA.
3. Claudio D, (2005). Espectrofotómetros y Fotocolorímetros - Guía práctica de actualización, Ecuador. [En línea] Disponibilidad en el sitio: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53539414.pdf>
4. Codex Alimentarius Commission, FAO, OMS, (2010). Manual Codex Alimentarius 19º Ed. Roma
5. Crouch S., Holler F., Skoog D., y West D., (2001) Química Analítica (7ª edición) México McGraw Interamericana editors S.A de C.V.
6. Danzer K., (2010). Analytical Chemistry. Theoretical and Metrological Fundamentals, 1st Edition, Springer.
7. Edmund Optics Inc, (2020), Technical Information, Recurso adquirido en: <https://www.edmundoptics.com/p/og-570-254mm-dia-longpass-filter/6548/>

8. Ellison S., Barwick V., Duguid T., (2009) Practical Statistics for the Analytical Scientist: A Bench Guide (Valid Analytical Measurement), 2nd edition. Royal Society of Chemistry.
9. Hach Company, (2013). Manual de usuario Espectrofotómetro Visible HACH DR 2700, Alemania. Disponibilidad en el sitio <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639982330>
10. Hibbert D., Gooding J., (2006). Data Analysis for Chemists – An introductory guide for students and laboratory scientists, 1st Edition, University Press, USA.
11. Instituto Nacional de Calidad, JCGM 200, (2012). Vocabulario Internacional de Metrología - Conceptos básicos y generales, y términos asociados (VIM) 3ª edición, Peru.
12. J.M. Juran; E. M. Gryna, (2007). Analysis y plantation de la calidad, 5ª Edition, Mc Graw Hill, Mexico.
13. Kallner A., (2014). Laboratory Statistics, Handbook of Formulas and Terms, 1st edition, Elsevier.
14. Khattree R., Rao C., (2003). Handbook of Statistics 22 – Statistics in Industry, 1st ed. Elsevier Publishing Company.
15. Meeker W., Hahn G., Escobar L., (2017) Statistical Intervals: A Guide for Practitioners and Researchers, 2nd edition, Wiley.



16. Merck Millipore, (2015). Spectroquant PhotoCheck 1.14693.0001, USA. [En línea] Disponible en: [http://www.merckmillipore.com/GT/es/product/PhotoCheck,MDA\\_CHEM-114693](http://www.merckmillipore.com/GT/es/product/PhotoCheck,MDA_CHEM-114693)
17. Miller J., Miller J., (2005) Estadística y Quimiometría Para Química Analítica, cuarta edición, Pearson, España.
18. Ministerio de Salud (1998), Manual de control de calidad en el laboratorio clínico. Chile
19. Mitra A. (2008). Fundamentals of quality control and improvement. Hoboken New Jersey: John Wiley & sons. Inc.
20. Montgomery D., (2009). Introduction to statistical quality control 7th edition, Wiley, USA.
21. Montgomery D., Peck E., Vining G., (2012), Introduction to Linear Regression Analysis, 5th edition, Wiley, EEUU.
22. Mullins E., (2003). Statistics for the Quality Control Chemistry Laboratory, First Edition. Royal Society of Chemistry.
23. Neubauer D., (2010) Manual on Presentation of Data and Control Chart Analysis, 8th Edition, Editor ASTM Publications Chair
24. NIST/SEMATECH, (2013). e-Handbook of Statistical Methods. [En línea] Disponibilidad en: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/section3/eda357.htm>.

25. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), (2016). Sistema de gestión de calidad, PO 9.1 Política de trazabilidad de las mediciones, Versión 1, Revisión 3. [En línea] Disponibilidad en: <http://www.osa.gob.sv/descarga/po-9-1-politica-de-trazabilidad-de-las-mediciones/>
26. Organización Mundial de la salud (OMS), (2016). Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio (LQMS), E.E.U.U.
27. Rubinson J., Rubinson K., (2001). Analisis Instrumental, 1st. edition, Pearson Publications Company.
28. The International Organization for Standardization (ISO), (1996). ISO 11095 - Linear calibration using reference materials.
29. The International Organization for Standardization (ISO), (2000). ISO 11843-2 Capability of detection. Methodology in the linear calibration.
30. The International Organization for Standardization (ISO), (2017). ISO 17025 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
31. The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), (1995). Nomenclature In Evaluation Of Analytical Methods Including Detection And Quantification Capabilities), USA.
32. Zschunke A., (2000), Reference Materials in Analytical Chemistry: A Guide for Selection and Use, first ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

## GLOSARIO

**Adecuación al propósito:**<sup>(10)</sup> Es el grado en que la aplicabilidad de un método se ajusta a los criterios o requerimientos acordados entre el analista y el usuario final (cliente) que hace uso de los informes o datos generados a través de un método de ensayo. Es decir es la adaptación de un método para un fin previsto.

**Analíto:**<sup>(10)</sup> Sustancia (química, física o biológica) buscada o determinada en una muestra, que debe ser recuperada, detectada o cuantificada por el método.

**Aplicabilidad:**<sup>(10)</sup> Los analítos, matrices y concentraciones para los cuales puede utilizarse satisfactoriamente un método de análisis con el fin de determinar su conformidad con una norma.

Nota: La declaración de aplicabilidad (ámbito o campo de aplicación), además de una declaración del margen de funcionamiento satisfactorio para cada factor, puede incluir también advertencias acerca de la interferencia conocida de otros analítos, o de la inaplicabilidad a determinadas matrices y situaciones.

**Blanco matriz:**<sup>(10)</sup> Matriz que no contiene el analíto de interés u objetivo para el método seleccionado.

**Calibración:**<sup>(10)</sup> Operación que, en condiciones especificadas, establece primero una relación entre los valores con incertidumbres de medición proporcionados por las normas de medición y las indicaciones correspondientes con las incertidumbres de medición asociadas, y utiliza luego esta información para establecer una relación a fin de obtener un resultado de medición a partir de una indicación.

Nota 1: La calibración se puede expresar por medio de una declaración, una función, un diagrama, una curva o una tabla. En algunos casos puede consistir

en una corrección aditiva o multiplicativa de la indicación con la incertidumbre de medición asociada.

Nota 2: La calibración no debe confundirse con el ajuste de un sistema de medición que a menudo se denomina erróneamente “autocalibración”, ni tampoco con la verificación de la calibración.

A menudo se percibe como calibración solamente la primera etapa mencionada en la definición anterior. Es decir, es un procedimiento de comparación entre lo que indica un instrumento y su "valor verdadero" de acuerdo a un patrón de referencia con valor conocido.

**Criterios de aceptabilidad:**<sup>(10)</sup> Exigencias de una característica de funcionamiento o comportamiento en función de las cuales se puede determinar que un método analítico es adecuado para la finalidad perseguida y ofrece resultados confiables.

**Calibración:**<sup>(10)</sup> Operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas y, en una segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación.

NOTAS:

1. Una calibración puede expresarse mediante una declaración, una función de calibración, un diagrama de calibración, una curva de calibración o una tabla de calibración. En algunos casos, puede consistir en una corrección aditiva o multiplicativa de la indicación con su incertidumbre correspondiente.
2. Conviene no confundir la calibración con el ajuste de un sistema de medida, a menudo llamado incorrectamente “autocalibración”, ni con una verificación de la calibración.

3. Frecuentemente se interpreta que únicamente la primera etapa de esta definición corresponde a la calibración.

**Certificado de un material de referencia:**<sup>(10)</sup> Documento que acompaña a un material de referencia certificado, que indica uno o más valores de sus propiedades y sus incertidumbres, y confirma que se han realizado los procedimientos necesarios para asegurar su validación y trazabilidad.

**Documentación:**<sup>(10)</sup> Cada paso de la cadena debe ser ejecutado de acuerdo con procedimientos documentados, generalmente reconocidos. Los resultados deben ser registrados de tal forma que puedan ser verificados. En el caso de laboratorios de ensayo, organismos de inspección y organismos de certificación deben tener registros identificados para evidenciar la trazabilidad de las mediciones que realice, y para el caso de los laboratorios de calibración, se deben tener dichos registros y además estar incluidos en los informes o certificados de calibración.

**Equipo Crítico:**<sup>(10)</sup> Aquellos que resultan necesarios para realizar una medición de acuerdo con el alcance de acreditación, y que ejercen una influencia significativa en el resultado de la medición.

**Ensayo:**<sup>(10)</sup> Operación técnica realizada de acuerdo a un procedimiento específico, que consiste en la determinación cualitativa y/o cuantificación de una o más características (propiedades o análisis) en un determinado producto, proceso o servicio.

**Error aleatorio:**<sup>(10)</sup> Es aquel error inevitable que se produce por eventos únicos imposibles de controlar durante el proceso de medición. Se contrapone al concepto de error sistemático. Las fuentes de los errores aleatorios son difíciles

de identificar o sus efectos no pueden corregirse del todo. Son numerosos y pequeños. Este error ocurre o está dado por el azar. Ejemplo: Errores de apreciación, tales como el paralaje, que depende del observador y su capacidad en cuanto al límite separador del ojo.

**Error Sistemático:**<sup>(10)</sup> Es aquel que se produce de igual modo en todas las mediciones que se realizan de una magnitud. El error sistemático está condicionado por algún factor distinto al azar. Ejemplo: el error de las masas patrón del laboratorio se transfiere sistemáticamente al momento de calibrar la balanza.

Componente del error de medición que al reiterar las mediciones se mantiene constante o bien varía de manera predecible.

**Idoneidad para el fin previsto:**<sup>(10)</sup> La medida en que los datos obtenidos en un proceso de medición permiten al usuario adoptar decisiones correctas, tanto desde el punto de vista técnico como administrativo, para alcanzar un fin establecido.

**Incertidumbre:**<sup>(10)</sup> Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

**Incertidumbre de la medición:**<sup>(10)</sup> Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de la cantidad de valores que se atribuyen a una mensurando, basándose en la información utilizada.

Nota: La incertidumbre de medición comprende, en general, muchos componentes. Algunos de estos pueden ser evaluados por tipo de una evaluación de: la distribución estadística de la cantidad de valores de una serie de mediciones y se pueden caracterizar por las desviaciones.

**Intervalo de trabajo:**<sup>(10)</sup> Es el intervalo entre el nivel más bajo y más alto de concentración que ha sido demostrado que puede ser determinado con la precisión y exactitud requeridas para una determinada matriz.

**Límite máximo permitido (LMP):**<sup>(10)</sup> Nivel máximo o tolerancia establecida para un análisis en una reglamentación.

**Límite máximo Residual (LMR):**<sup>(10)</sup> Concentración máxima de residuos de una sustancia (plaguicida o medicamento) que se permite legalmente su uso en la superficie o parte interna de un producto alimenticio.

**Matriz:**<sup>(10)</sup> Es el tipo de sustancia compuesta (líquida, sólida, gaseosa) que puede o no contener al análisis de interés, ejemplo: matriz de alimento, matriz ambiental, etc.

**Intervalo de Calibración:**<sup>(10)</sup> Las calibraciones se deberán repetir a intervalos apropiados cuya longitud dependerá de una serie de variables (por ejemplo, la incertidumbre requerida, la frecuencia de uso, la manera o forma de uso, la estabilidad de los equipos).

**Límite de determinación de un procedimiento analítico:**<sup>(10)</sup> Es la menor concentración de un análisis que se puede determinar cuantitativamente con una determinada probabilidad (p. ej. 99 %).

**Material de Referencia Certificado (MRC):**<sup>(10)</sup> Material de referencia acompañado de documentación, emitida por un órgano autorizado, en la que se indican uno a más valores de propiedades especificadas, así como la incertidumbre y rastreabilidad asociadas, con el uso de procedimientos válidos.

Es decir, es un material de referencia, al que se le ha asignado un contenido de analito especificado en un certificado a través de un método trazable.

**Material de referencia:**<sup>(10)</sup> Material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas.

NOTA 1 El examen de una propiedad cualitativa comprende la asignación de un valor a dicha propiedad y de una incertidumbre asociada. Esta incertidumbre no es una incertidumbre de medida.

NOTA 2 Los materiales de referencia con o sin valores asignados pueden servir para controlar la precisión de la medida, mientras que únicamente los materiales con valores asignados pueden utilizarse para la calibración o control de la veracidad de medida.

NOTA 3 Los materiales de referencia comprenden materiales que representan tanto magnitudes como propiedades cualitativas.

NOTA 4: Material homogéneo que tiene definidas sus propiedades, a través de un método validado que puede usarse para fines analíticas (calibración de equipos, comprobación de un método, etc.).

**Mensurando:**<sup>(10)</sup> Cantidad destinada a la medida.

**Método de ensayo validado:**<sup>(10)</sup> Método de ensayo aceptado para el que se han llevado a cabo estudios de validación (desempeño) con el fin de determinar su precisión y fiabilidad para un propósito específico.

**Método oficial:**<sup>(10)</sup> Es el método especificado por los organismos reglamentarios de un país, con fines de aplicaciones de normas (ejemplo; reglamento sanitario de alimentos) o estipulados por organizaciones comerciales.



**Método normalizado:**<sup>(10)</sup> Método apropiado para el ensayo dentro de su alcance, publicado por organismos de normalización internacional, nacional o regional (ISO, EN, NM, ASTM, BS, DIN, IRAM, etc.) o por organizaciones reconocidas en diferentes ámbitos ( AOAC, FIL-IDF, EPA, USP etc.)

**Método cualitativo:**<sup>(10)</sup> Método que permite determinar la presencia o ausencia de un analito en una muestra o matriz.

**Método cuantitativo:**<sup>(10)</sup> Método que permite determinar la concentración de un analito presente en una muestra o matriz.

**Metrología:**<sup>(10)</sup> Ciencia de la medición y su aplicación, es decir, es la ciencia de las mediciones o campo de los conocimientos relativos a las mediciones. Incluye cualquier tipo de medición del campo científico o tecnológico.

**Nivel:**<sup>(10)</sup> Es la concentración de una sustancia de interés en una solución estándar o matriz, generalmente, se habla en términos de nivel de concentración.

**Requerimiento del método:**<sup>(10)</sup> Corresponde a aquellas características del método que son esenciales para poder aplicarlo para el fin previsto. Cuando no están establecidas por el cliente o usuario, debe definir las el responsable del ensayo de manera confiable y científica.

**Resultado de un ensayo (X):**<sup>(10)</sup> El valor final notificado de una cantidad medida o calculada, tras aplicar un procedimiento de medición, incluidos todos los procedimientos secundarios y las evaluaciones.

**Sistema Internacional de Unidades (SI):**<sup>(10)</sup> Sistema de unidades, basado en el Sistema Internacional de cantidades, sus nombres y símbolos, incluyendo una

serie de prefijos y sus nombres y símbolos, así como las normas para su uso, aprobada por la Conferencia General de Pesas y Medidas (CGPM).

**Sub-muestra:**<sub>(10)</sub> Porción de una muestra para análisis.

Testigo reactivo o blanco: Es la solución que contiene todos los reactivos usados en los mismos volúmenes y concentraciones, que son utilizados en el procesamiento de la muestra. Este blanco debe seguir todos los pasos indicados en la técnica y ayuda a detectar trazas de contaminación provenientes del material o reactivos usados.

**Trazabilidad metrológica:**<sub>(10)</sub> Propiedad de un resultado de medición, mediante el cual el resultado puede estar relacionado con una referencia a través de una cadena continua y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuyen a la incertidumbre de medición.

Propiedad del resultado de una medición o del valor con su incertidumbre, que puede a través de una cadena ininterrumpida de comparación relacionarse a una referencia establecida, generalmente patrones de referencia nacionales o internacionales.

Propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida.

**Validación:**<sub>(10)</sub> Verificación de que los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto, verificación de determinados parámetros de un método en la que los requisitos especificados para estos, demuestran que el método es idóneo para un uso previsto.

**Valor verdadero:**<sub>(10)</sub> El grado de concordancia entre la media de un número infinito de valores reiterados de cantidad y un valor de cantidad de referencia.

Veracidad: El grado de concordancia entre la expectativa relativa al resultado de un ensayo o de una medición y el valor verdadero.

**Valor de Referencia:**<sup>(10)</sup> Valor cuantitativo que se utiliza como base para la comparación con valores cuantitativos del mismo tipo.

**Verificación:**<sup>(10)</sup> Suministro de prueba(s) objetiva(s) de que un elemento dado satisface el (los) requisito(s) especificado(s). Es decir, es la comprobación experimental de que un método establecido funciona de acuerdo con las especificaciones, en las condiciones disponibles en el laboratorio usuario. Se entiende como verificación a las pruebas realizadas por un laboratorio en la rutina de trabajo que permiten comprobar y documentar la aplicabilidad y uso adecuado del método por parte del laboratorio.

## **ANEXOS**

**ANEXO N° 1**  
**SIMBOLOGÍA MATEMÁTICA**

Tabla N° 52: Simbología matemática <sup>(24)</sup>

$a$	Intercepto en la expresión $y = a + bx + \varepsilon$
$\hat{a}$	Estimación del intercepto de $a$
$b$	Pendiente en la expresión $y = a + bx + \varepsilon$
$\hat{b}$	Estimación de la pendiente $b$
$c$	Intercepto en la expresión $\sigma(x) = c + dx$ para la desviación estándar residual
$\hat{c}$	Estimación de la intersección $c$
$d$	Pendiente en la expresión $\sigma(x) = c + dx$ para la desviación estándar residual
$\hat{d}$	Estimación de la pendiente $d$
$E ( )$	Expectativa (de la variable aleatoria dada entre paréntesis)
$I$	Número de estados de referencia utilizados en el experimento de calibración.
$i = 1, \dots, I$	Variable identificadora de los estados de referencia
$J$	Número de preparaciones para cada estado de referencia.
$j = 1, \dots, J$	Identificación de variable de preparaciones para el estado de referencia y básico.
$K$	Número de preparaciones para el estado actual.
$k = 1, \dots, K$	Identificando variable de preparaciones para el estado actual.
$L$	Número de mediciones repetidas para cada preparación.
$l = 1, \dots, L$	Variable identificativa de las medidas repetidas por preparación.
$M$	Factor multiplicador
$m$	Número de calibraciones consecutivas
$N$	Número de preparaciones en el experimento de calibración; si el número de preparaciones para cada estado de referencia es idéntico, entonces $N = I*J$ , y el número total de mediciones en el experimento de calibración es $N*L$
$q = 0,1,2, \dots$	Numero de paso de iteración
$s$	Desviación estándar empírica

Tabla N° 52: Continuación

$s_{xx} = J \sum_{i=1}^I (x_i - \bar{x})^2$	Suma al cuadrado de desviaciones de los valores elegidos de la variable de estado neto para los estados de referencia (con el estado básico) del promedio
$s_{xxw} = J \sum_{i=1}^I w_i (x_i - \bar{x}_w)^2$	Suma al cuadrado ponderada de desviaciones de los valores elegidos de la variable de estado neto para los estados de referencia (con el estado básico) del promedio ponderado
$T$	Valor auxiliar para el análisis de regresión lineal ponderada
$V()$	Varianza (de la variable aleatoria dada entre paréntesis)
$w_i$	Peso en $x_i$
$\hat{w}_{qi}$	Peso en $x_i$ en el paso de iteración $q^{esima}$
$X$	Variable de estado neto,
$x$	Un valor particular de la variable de estado neto.
$x_1, \dots, x_I$	Valores elegidos de la variable de estado neto $X$ para los estados de referencia, incluido el estado básico
$x_c$	Valor crítico de la variable de estado neto.
$x_d$	Valor mínimo detectable de la variable de estado neto
$\bar{x} = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I x_i$	Promedio de los valores elegidos de la variable de estado neto para los estados de referencia (incluido el estado básico)
$\hat{x} = \frac{\bar{y}_a - \hat{a}}{\hat{b}}$	Valor estimado de la variable de estado neto para un estado real específico
$\bar{x}_w = \frac{\sum_{i=1}^I w_i x_i}{\sum_{i=1}^I w_i}$	Promedio ponderado de los valores elegidos de la variable de estado neto para los estados de referencia (incluido el estado básico)
$Y$	Variable de respuesta
$y_c$	Valor crítico de la variable de respuesta.
$y_{ijl}$	$j^{esima}$ Medida de la $j^{esima}$ preparación del $j^{esimo}$ estado de referencia.
$y_{k1}, \dots, y_{kl}$	Valores obtenidos de la variable de respuesta para la $k^{esima}$ preparación de un estado real específico en la serie de medición
$\bar{y}_a = \frac{1}{K \cdot L} \sum_{k=1}^K \sum_{l=1}^L y_{kl}$	Promedio de los valores observados para un estado actual específico
$\bar{y} = \frac{1}{I \cdot J \cdot L} \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{l=1}^L y_{ijl}$	Promedio de los valores de medición $y_{ijl}$ .
$\bar{y}_{ij} = \frac{1}{I} \sum_{l=1}^L y_{ijl}$	Promedio de los valores de medición de la $j^{esima}$ preparación del $j^{esimo}$ estado de referencia

Tabla N° 52: Continuación

$\bar{y}_i = \frac{1}{J \cdot L} \sum_{j=1}^J \sum_{l=1}^L y_{ijl}$	Promedio de los valores de medición del <i>i</i> ésimo estado de referencia
$\bar{y}_0$	Promedio de los valores de medición $K \cdot L$ en $x=0$
$Z$	Variable de estado
$z_0$	Valor de la variable de estado en el estado básico.
$\alpha$	Probabilidad de rechazar erróneamente la hipótesis nula "el estado en cuestión no es diferente del estado básico con respecto a la variable de estado" para cada uno de los estados reales observados en la serie de mediciones para los cuales esta hipótesis nula es verdadera (probabilidad del error de primer tipo o de tipo I) en ausencia de recomendaciones específicas, el valor $\alpha$ debe fijarse en $\alpha = 0,05$
$\beta$	Probabilidad de aceptar erróneamente la hipótesis nula "el estado en consideración no es diferente del estado básico con respecto a la variable de estado" para cada uno de los estados reales observados en la serie de mediciones para los cuales la variable de estado neto es igual al valor mínimo detectable por determinar (probabilidad del error de segundo tipo o tipo II) en ausencia de recomendaciones específicas, el valor $\beta$ debe fijarse en $\beta = 0,05$
$\delta$	No centralidad: Parámetro no central de la distribución $t$
$\varepsilon$	Componente de la medición de la variable de respuesta que representa el componente aleatorio de errores de muestreo, preparación y medición
$\nu$	Grados de libertad
$\sigma_{diff}$	Desviación estándar de la diferencia entre el promedio, $y$ , y el intercepto estimado, $\hat{a}$
$\hat{\sigma}$	Estimación de la desviación estándar residual.
$\hat{\sigma}_{qi}$	Desviación estándar en $x_i$ en paso de la $q$ ésima iteración
$\hat{\sigma}_0$	Estimación de la desviación estándar residual, $x = 0$



**ANEXO N° 2:**Tabla N°53 Especificaciones técnicas del espectrofotómetro Hach DR 2700<sup>(9)</sup>

<b>Especificaciones de funcionamiento</b>	
Modo operativo	Transmitancia (%), absorbancia y concentración
Fuente de luz	Lámpara de (filamento de) tungsteno en atmósfera gaseosa (visible)
Rango de longitud de onda	400–900 nm
Precisión de longitud de onda	± 1.5 nm
Reproducibilidad de longitud de onda	< 0.1 nm
Resolución de longitud de onda	1 nm
Calibración de longitud de onda	Automática
Selección de longitud de onda	Automática, mediante selección de un método
Ancho de banda espectral	< 8 nm
Rango de medida fotométrico	± 3.0 Abs en el rango de longitud de onda 400–900 nm
Precisión fotométrica	5 mAbs a 0.0–0.5 Abs 1% a 0.50–2.0 Abs
Linealidad fotométrica	< 0.5%–2 Abs < = 1% a > 2 Abs con vidrio neutro a 546 nm
Luz difusa	< 0,1% T a 500 nm con filtro OG570/3
Almacenamiento de datos	500 valores medidos (resultado, fecha, hora, ID de la muestra, ID del usuario)
Programas del usuario	50
<b>Especificaciones físicas y ambientales</b>	
Anchura	220 mm (8.6 pulgadas)
Altura	135 mm (5.3 pulgadas)
Profundidad	330 mm (12.9 pulgadas)
Peso	4.06 kg (8.95 lbs) sin batería 4.38 kg (9.66 lbs) con batería
Condiciones de funcionamiento	10–40 °C (50–104 °F), 80% humedad relativa máxima (sin condensación)
Condiciones de almacenamiento	–40–60 °C (–40–140 °F), 80% humedad relativa máxima (sin condensación)
<b>Especificaciones técnicas adicionales</b>	
Conexión a la red	15 VDC / 30VA Cargador: (100–240 V/50–60 Hz) Batería, recargable de litio, 11.1 V, 4.4 Ah
Interfaces	Utilice únicamente cable blindado de una longitud máx. de 3 m. 1 x USB tipo A 1 x USB tipo B
Estando al agua según	IP 41 con la tapa cerrada IP 42 con la cubierta protectora colocada en su sitio
Clase de protección	Clase de protección II

## ANEXO N° 3

### Certificado de calidad del Kit de verificación

<h1 style="margin: 0;">Lot Certificate</h1> <h2 style="margin: 0;">Chargenzertifikat / Certificado del lote</h2>					
<b>Spectroquant® PhotoCheck</b> <b>Spectroquant® PhotoCheck / Spectroquant® PhotoCheck</b>					
<b>Cat.No. / Art.Nr. / Art. Nro.</b>	1.14693.0001				
<b>Lot no. / Charge-Nr. / Lote nro.</b>	HC691375				
<b>Expiry date / Verwendbarkeit / Fecha de caducidad</b>	2019/06/30				
<b>Photometer / Photometer / Fotómetro</b>	Reference / Referenz / Referencia				
<b>Tester / Prüfer / Verificador</b>	Fr. Brandner				
<b>Date / Datum / Fecha</b>	2016/07/20				
<b>File / Datei / Fichero</b>	114693_HC691375_EN				
<p><b>Instrument:</b> Reference Spectrophotometer Varian Cary 500; Lot EL 96073498 checked and calibrated using NIST-grey glass filters SRM 1930 and Holmiumoxide Solution Merck reference material Cat. No. 108166 [1].</p> <p><b>Meßgerät:</b> Referenzspektralphotometer Varian Cary 500; Ser. Nr. EL 96073498 geprüft und kalibriert mit Graugläsern NIST SRM 1930 sowie Holmiumoxid Lösung Merck Referenzmaterial Art. Nr. 108166 [1].</p> <p><b>Instrumento:</b> Espectrofotómetro de referencia Varian Cary 500; Núm. serie EL 96073498 probado y calibrado con filtros de vidrio gris NIST SRM 1930 así como solución de óxido de holmio de Merck material de referencia N° Art. 108166 [1].</p>					
<b>Check Solution for / Prüflösung für / Solución de control para:</b> <span style="float: right;"><b>445 / 446 nm</b></span>					
Solution / Lösung / Solución	Absorbance 10-mm cell / Extinktion 10-mm Küvette / Absorbancia cubeta de 10 mm	Result absorbance* round cell / Messwert Extinktion* Rundküvette / Resultado absorbancia* cubeta redonda	Tolerance / Toleranz / Tolerancia	Minimum / Mínimo	Maximum / Máximo
445/1	0,146	0,201	± 0,020	0,181	0,221
445/2	0,368	0,506	± 0,030	0,476	0,536
445/3	0,742	1,007	± 0,040	0,967	1,047
445/4	1,117	1,510	± 0,050	1,460	1,560
<b>Check Solution for / Prüflösung für / Solución de control para:</b> <span style="float: right;"><b>520 / 525 nm</b></span>					
525/1	0,148	0,200	± 0,020	0,180	0,220
525/2	0,372	0,495	± 0,030	0,465	0,525
525/3	0,741	0,998	± 0,040	0,958	1,038
525/4	1,107	1,490	± 0,050	1,440	1,540
<b>Check Solution for / Prüflösung für / Solución de control para:</b> <span style="float: right;"><b>690 nm</b></span>					
690/1	0,150	0,197	± 0,020	0,177	0,217
690/2	0,372	0,498	± 0,030	0,468	0,528
690/3	0,734	0,986	± 0,040	0,946	1,026
690/4	1,102	1,493	± 0,050	1,443	1,543
<p>* This value has been calculated from the absorbance of the 1 cm cell using the path length of the round cell and is entered as the desired.</p> <p>* Dieser Wert wird aus der Extinktion der 1 cm Küvette über die Schichtdicke der Rundküvette berechnet und ist als Sollwert Extinktion einzutragen.</p> <p>* Este valor ha sido calculado sobre la base de la absorbancia de la cubeta de 1 cm a través del espesor de capa de la cubeta redonda y ha de ser indicado como valor teórico de absorbancia.</p>					
<p>** ± 0,075 allowed tolerance for / zulässige Toleranz für / tolerancia permisible para / Spectroquant® NOVA 400</p> <p>[1] J. C. Travis et al., J. Phys. Chem. Ref. Data (2005), 34(1), 43-56.</p>					
<b>Merck KGaA</b> 		<b>Head of Lab. / Laborleiter / Jefe de laboratorio</b>			
<b>Quality control / Qualitätskontrolle / Control de calidad</b>					
<p>Preceding indicated goods were produced within the European Community (Germany) / Vorgenannte Ware wurde innerhalb der EU produziert (Deutschland) / Mercancia precitada fue producida en la Union Europea (Alemania)</p>					
<p><b>Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, Tel.: +49 (0)6151 72-2440</b>  <b>EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Tel.: +1-978-715-4321</b></p>					
		1/1			

Figura N° 29: Certificado de calidad del kit de verificación

**ANEXO N° 4**  
**FORMATO PARA ELABORACIÓN DE PROTOCOLOS EN EL**  
**LABORATORIO**

LOGO	NOMBRE DEL PROTOCOLO	Código:
		Fecha:
		Edición
		Cambio #
		Página N° __ de __

Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador

\_\_\_\_ EDICION

FECHA

FIRMA

ELABORADO POR: \_\_\_\_\_  
 Lic. xxx  
 Responsable

REVISADO POR: \_\_\_\_\_  
 Lic. xxxxxx  
 Responsable de Control de Calidad

AUTORIZADO POR: \_\_\_\_\_  
 Lic. xxxxxx  
 Gestor de Calidad

**1. PROPOSITO**

Establecimiento de la finalidad del estudio

**2. ALCANCE**

La declaración de la cobertura se efectuará en muestras y rangos declarados

**3. RESPONSABLES**

Analista titular:

Analista suplente:

Gerente de calidad:

**4. PARAMETROS A ESTUDIAR**

Descripción de las pruebas a desarrollar en el estudio

**5. MUESTRAS**

Las matrices de muestras de agua aplicables

**6. EQUIPOS INVOLUCRADOS**

Descripción de equipos a utilizar

**7. DESCRIPCION DEL METODO ANALITICO**

**7.1. REACTIVOS**

Listado y calidad de los reactivos a utilizar

**7.2. ESTANDARES**

Listado de los materiales de referencia a utilizar

**7.3. MATERIALES**

Listado de materiales a utilizar

**7.4. INSTRUMENTACION**

Listado de los equipos involucrados en el estudio

**7.5. CONDICIONES AMBIENTALES**

Referencia de las condiciones ambientales en que se realizara el estudio

**7.6. MEDIDAS DE SEGURIDAD PARA EL USO DE REACTIVOS**

Según referencia del método

**7.7. PREPARACION DEL ESTANDAR**

Si aplica

**7.8. PREPARACION DE LA MUESTRA**

Si aplica

**7.9. PROCEDIMIENTO**

Seguir procedimiento descrito en referencia del método

**7.10. CALCULOS**

N/A

**8. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LOS PARAMETROS A EVALUAR**

Descripción detallada de las pruebas a realizar

**9. CRITERIOS DE ACEPTACION**

Resumen de los criterios del estudio y una declaración de aplicabilidad

**10. REFERENCIAS**

Literatura de referencia utilizada

**ANEXO N° 5**  
**PROTOCOLO PARA LA ELABORACIÓN DE CARTAS DE CONTROL (23)**

**Métodos de control**

1.1 General

Cuando la función de calibración se va a utilizar durante un período de tiempo prolongado, es deseable implementar un método de control para verificar la validez de la curva de calibración, así como para identificar y, posteriormente, eliminar las fuentes de variación no deseadas. El método de control monitorea regularmente el sistema de medición para detectar rápidamente cuando el sistema se comporta de forma errática o se desplaza, lo que potencialmente hace que la función de calibración sea inútil o hasta perjudicial.

La detección se logra al monitorear los valores medidos (después de las transformaciones por la función de calibración) de un conjunto de “m” materiales de referencia con una técnica de gráficos de control. Este enfoque es una extensión de los cuadros de control tradicionales descritos en las normas ISO 7870 e ISO 8258.

El cuadro de control se establece primero a partir de los datos recopilados durante el experimento de calibración y se utiliza para decidir si la función de calibración debe volver a estimarse. También se utiliza para estimar la incertidumbre en las mediciones después de que se hayan transformado con la función de calibración.

**1.2 Cálculo de los límites de control superior e inferior.**

1.2.1 Modelo con desviación estándar residual constante

- a. Calcular el límite de control superior  $U_d$  y el límite de control inferior  $L_d$  con las formulas:

$$U_d = \frac{\hat{\sigma}}{\hat{\beta}} t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$$

$$L_d = -\frac{\hat{\sigma}}{\hat{\beta}} t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$$

Donde:

$\hat{\sigma}$  = Es la raíz cuadrada de la estimación  $\sigma^2$  obtenida del experimento de calibración

$NK - 2$  = Es el número de grados de libertad asociados con la estimación de  $\sigma^2$ ;

$\hat{\beta}_1$  = Es la estimación de b1 obtenida del experimento de calibración;

$\alpha$  = es el nivel de significación seleccionado para el gráfico de control;

$t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$  es el  $(1 - \zeta/2)$  -cuantil de la distribución t con  $NK - 2$  grados de libertad; es decir:  
 $P [t > t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)] = \zeta/2$

$\zeta$  = es el nivel de significación asociado con cada material de referencia individual y con los límites  $U_d$  y  $L_d$ , de tal manera que se obtiene la significación general de  $\alpha$  para todas las mediciones de “m” materiales de referencia simultáneamente; Se  $\zeta$  obtiene (para valores pequeños de  $\alpha$ ) como:

$$\zeta = 1 - \exp\left(\frac{\ln(1-\alpha)}{m}\right)$$

$$\approx \frac{\alpha}{m}$$

- b. Graficar los límites  $U_d$  y  $L_d$  en la Carta de control.

1.2.2 Modelo con desviación estándar residual proporcional

- a. Calcule el límite de control superior  $U_c$  y el límite de control inferior  $L_c$  como

$$U_c = \frac{\hat{\sigma}}{\hat{\gamma}} t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$$

$$L_c = -\frac{\hat{\tau}}{\hat{\gamma}} t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$$

Dónde:

- $\hat{\tau}$  = Es la raíz cuadrada de la estimación  $\tau^2$  obtenida del experimento de calibración (ver 2.4.2);
- $NK - 2 =$  es el número de grados de libertad asociados con la estimación de  $\tau^2$  (ver 2.5);
- $\hat{\gamma}_1 =$  Es la estimación de  $\gamma_1$  obtenida del experimento de calibración (ver 2.4.2).  
 $\alpha, t_{(1-\zeta/2)}(NK - 2)$  y  $\zeta$  son como se definen en 3.2.1 a).

b. Graficar los límites  $U_c$  y  $L_c$  en la carta de control.

**1.3 Recopilación y Grafica de los datos.**

- 1.3.1 Seleccionar un número “ $m$ ” materiales de referencia de modo que sus valores aceptados cubran el rango de valores encontrados en condiciones normales de operación del sistema de medición. Se necesita un mínimo de dos materiales de referencia, aunque se recomiendan tres materiales de referencia. Es preferible, pero no obligatorio, utilizar materiales de referencia que sean diferentes de los utilizados durante el experimento de calibración.
- 1.3.2 De forma regular (por ejemplo, una vez al día o una vez por turno), realizar una medición en cada uno de estos “ $m$ ” materiales de referencia.
- 1.3.3 Obtener los valores transformados de cada uno de estos “ $m$ ” materiales de referencia (ver 6.6). Estos valores transformados se refieren a  $x_i^*$  para  $i = 1, \dots, m$ .
- 1.3.4 Calcular las diferencias  $d_i$  entre los valores transformados  $x_i^*$  y los valores aceptados de estos materiales de referencia,  $x_i$ , como:

$$d_i = x_i^* - x_i$$

- 1.3.5 Si el modelo de calibración supone una desviación estándar residual constante, permitir que las diferencias  $d_i$  se designen como valores de control. Si el modelo de calibración supone una desviación estándar residual proporcional, normalizar las diferencias  $d_i$  dividiéndolas por  $x_i$ . Permitir que los valores resultantes  $c_i$  sean denominados valores de control, donde:

$$c_i = \frac{x_i^* - x_i}{x_i}$$

- 1.3.6 Grafique los valores de control apropiados ( $d_i$  o  $c_i$ ) en comparación con el momento en que se miden los “ $m$ ” materiales de referencia en el gráfico de control.

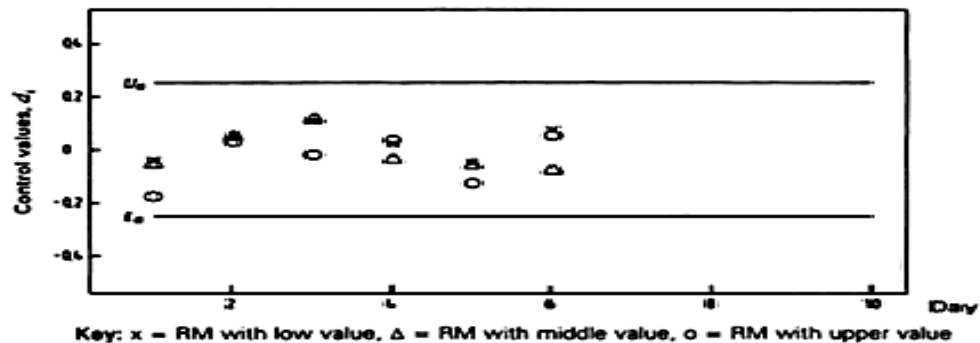


Figura 30: Diagrama esquemático de una carta de control para validar la curva de calibración asumiendo de una desviación residual constante.



#### 1.4 Decisión sobre el estado del sistema.

Si uno o más valores de  $d_i$  quedan fuera de los límites de control  $U_d$  y  $L_d$  para el modelo con una desviación estándar residual constante, el sistema se declara fuera de control en ese momento. Los "m" materiales de referencia deben volver a medirse. Si al menos una de las nuevas mediciones de los "m" materiales de referencia aún está fuera de los límites, se realizará una investigación en este punto para determinar la causa del problema.

Dependiendo de la naturaleza del problema, es posible que la función de calibración deba volver a estimarse a partir de un nuevo experimento de calibración.

Se llega a las mismas conclusiones para el modelo con una desviación estándar residual proporcional, al comparar los valores  $c_i$  con los límites  $U_c$  y  $L_c$ .

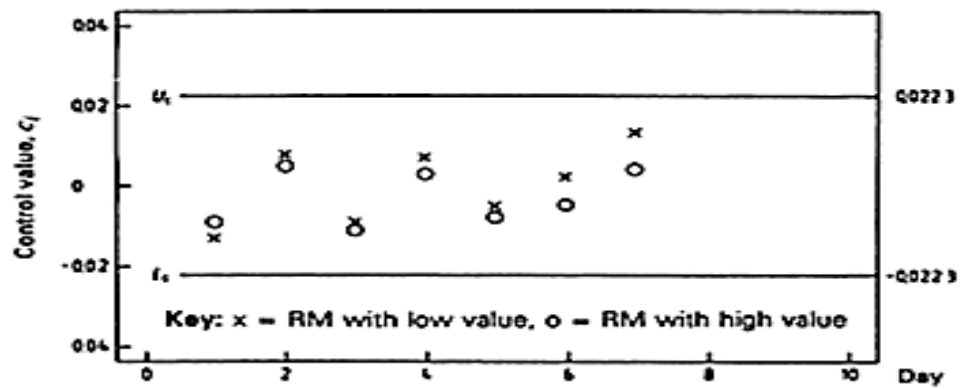


Figura 31: Carta de control para validar la curva de calibración para línea espaciada asumiendo una desviación estándar residual proporcional

1.14693.0001

Octubre 2015

Spectroquant®  
PhotoCheck

## TARJETA DE CONTROL

Lote: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Fotómetro: \_\_\_\_\_

Solución de control	Valor nominal de la absorbancia	Intervalo de tolerancia de la absorbancia	Valor real de la absorbancia	Evaluación (sí / no)
445-1		$\pm 0,020$		
445-2		$\pm 0,030$		
445-3		$\pm 0,040$		
445-4		$\pm 0,050$		
525-1		$\pm 0,020$		
525-2		$\pm 0,030$		
525-3		$\pm 0,040$		
525-4		$\pm 0,050$		
690-1		$\pm 0,020$		
690-2		$\pm 0,030$		
690-3		$\pm 0,040$		
690-4		$\pm 0,050$		

.....  
Controlador / Firma

Figura N° 32: Formato de registro de resultados propuesto por el proveedor (16)

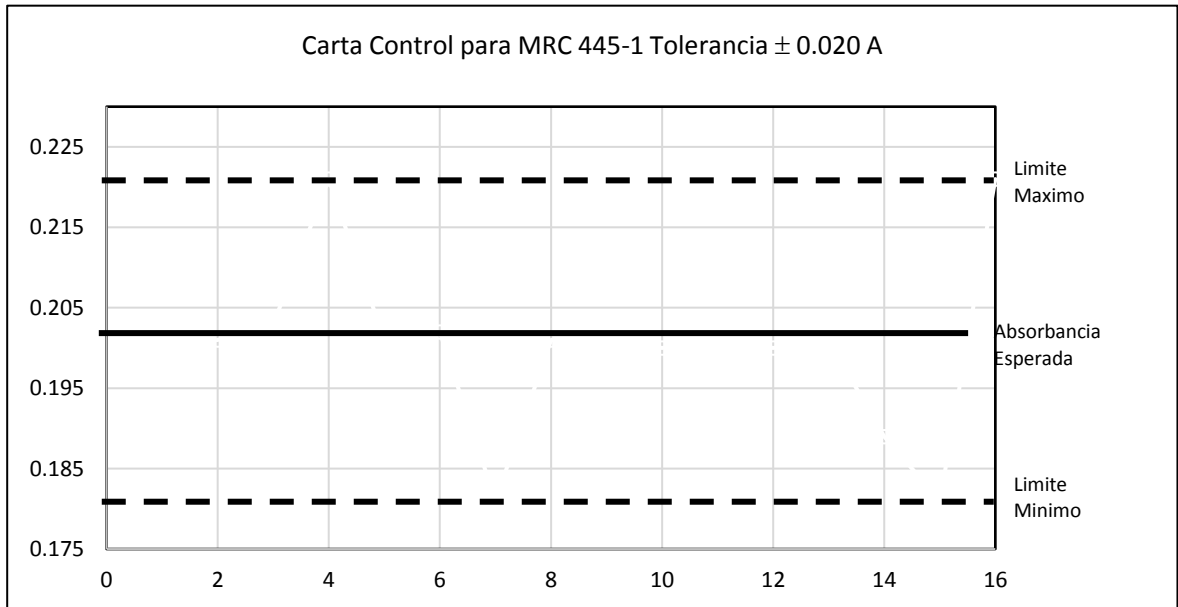


Figura N° 33: Esquema para el registro de los datos resultantes de un experimento de verificación para el material de referencia 1

**ANEXO N° 6**  
**PREPARACION DE REACTIVOS, ESPECIFICACIONES DE EQUIPO Y**  
**CRISTALERÍA**

## PREPARACION DE REACTIVOS.

### 1. Preparación de Reactivos

- **Solución de sulfato de cobre en ácido sulfúrico:**

Disolver en un vaso de precipitados 20,0 g de sulfato de cobre pentahidratado, en suficiente agua destilada. Adicionar, con cuidado, 10 ml de ácido sulfúrico ( $d = 1,84 \text{ g cm}^{-3}$ ), y trasvasar cuantitativamente la solución a un matraz aforado de 1 litro. Llevar a volumen con agua destilada y homogeneizar.

- **Solución de ácido sulfúrico 0.005 mol L<sup>-1</sup>:**

Pesar en un beacker 0.49 g de ácido sulfúrico ( $d = 1,84 \text{ g*cm}^{-3}$ ), diluir con agua destilada y trasvasar cuantitativamente a un matraz de 1 litro. Llevar a volumen con agua destilada y homogenizar.

### 2. Especificaciones de calidad de reactivos

Tabla N° 54: Especificaciones de los reactivos a utilizar en las verificaciones del equipo Hach DR 2700

Reactivo	Peso molecular (g/mol)	Pureza (%)
Ácido Sulfúrico	98.0	95 – 99
Sulfato de cobre Pentahidratado	249.68	98.21
Nitrito de sodio	69	99

## ESPECIFICACIONES DE EQUIPO.

Tabla N° 55: Especificaciones de los equipos a utilizar en la investigación

Equipo	Marca	Modelo	Especificaciones
Espectrofotómetro	Hach	DR 2700	Rango visible: 400 – 800 nm Precisión de longitud de onda: $\pm 1.5$ nm Reproducibilidad de longitud de onda: $< 0.1$ nm Resolución de longitud de onda: 1 nm Ancho de banda espectral: $< 8$ nm Rango de medida fotométrico: $\pm 3.0$ Abs en el rango de longitud de onda 400–900 nm Precisión fotométrica: 5 mAbs a 0.0–0.5 Abs, 1% a 0.50–2.0 Abs
Balanza analítica	Ohaus	Adventurer	Máxima capacidad: 210g Resolución de la lectura: 0.0001g
Estufa	Lab Line	3512	de +30 °C a +300 °C

## CRISTALERÍA

Tabla N° 56: Descripción de la cristalería a utilizar

Descripción del material	Clase	Tolerancia
Pipetas Volumétricas de: 5.0 mL 10.0 mL	Clase A	+/- 0.02 +/- 0.03
Balones Volumétricos de: 50.0 mL 100.0 mL 1000.0 mL	Clase A	+/- 0.5 +/- 0.5 +/- 0.5
Beackers: 50 mL 100 mL 500 mL	---	---
Probetas: 25 mL 100 mL	---	---

**ANEXO N° 7**  
**PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA (23)**

**PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA**

**1. Evaluación de la falta de ajuste de la función de calibración.**

**1.1 General**

Una comparación entre la variabilidad debida a la falta de ajuste del modelo seleccionado y la variabilidad del error puro que representa la incapacidad del sistema para repetir mediciones exactamente se lleva a cabo después de utilizar una tabla de análisis de varianza (ANOVA). Tal comparación es posible porque las mediciones de cada material de referencia se han replicado. La selección del nivel de significación  $\alpha$  depende de aplicaciones particulares del usuario.

**1.2 Modelo con desviación estándar residual constante**

La tabla ANOVA que se muestra como Tabla 18 se puede obtener usando las fórmulas a continuación o como respuesta de la mayoría de los paquetes de software de regresión lineal. La variabilidad debida al error puro es estimada por  $(\hat{\sigma}_1^2)$ . Esta variabilidad es independiente del modelo  $(y = \beta_0 + \beta_1 x)$  ajustado a los datos. La variabilidad debida a la falta de ajuste es estimada por  $(\hat{\sigma}_p^2)$ . Una prueba de la validez del modelo definido en 6.2.1 se realiza comparando  $\sigma_1^2 / \sigma_p^2$  con  $F(1 - \alpha)(N - 2; NK - N)$  donde  $F_{(1-\alpha)}(N - 2; NK - N)$  es el cuantil  $(1 - \alpha)$  de la distribución F con  $N - 2$  y  $NK - N$  grados de libertad.

- a. Si  $\sigma_1^2 / \sigma_p^2$  no es mayor que  $F_{(1-\alpha)}(N - 2; NK - N)$ , entonces no hay evidencia para rechazar el modelo lineal.
- b. Si  $\sigma_1^2 / \sigma_p^2$  es mayor que  $F_{(1-\alpha)}(N - 2; NK - N)$ , deben investigarse las causas potenciales de una gran variabilidad debido a la falta de ajuste en relación con la variabilidad del error puro.

Una causa común es la insuficiencia de la suposición lineal de la función de calibración. Otra causa posible puede ser las condiciones bajo las cuales se realizó el experimento de calibración (por ejemplo, las repeticiones pueden no haber sido repeticiones genuinas, sino simplemente repeticiones de la misma lectura).

Tabla N°57: Análisis de varianza para comparar la falta de ajuste y el error puro bajo el supuesto de desviación estándar residual constante.

Fuente	Grados de Libertad, GL	Suma de cuadrados, SS	SS/GL	Razón F
Función de calibración:	1	$SSR = SST - SSE$	$\hat{\sigma}^2 = \frac{SSE}{NK - 2}$	$\hat{\sigma}_1^2 / \hat{\sigma}_p^2$
Residual	$NK - 2$	SSE	$\hat{\sigma}_1^2 = \frac{SSE - SSP}{N - 2}$	
Falta de ajuste	$N - 2$	$SSE - SSP$	$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{SSP}{NK - N}$	
Error puro	$NK - N$	SSP		
Total	$NK - 1$	SST		



$$SST = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K (y_{nk} - \hat{y})^2$$

$$SSP = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K (y_{nk} - y_n)^2$$

### 1.3 Modelo con desviación estándar residual proporcional

Si se usó el modelo con desviación estándar residual proporcional, entonces la tabla ANOVA se construye como se muestra en la Tabla 36.

La misma prueba, interpretación, conclusiones y comentarios se aplican tanto a  $\hat{\tau}_1^2 / \hat{\tau}_p^2$  como a  $\hat{\sigma}_1^2 / \hat{\sigma}_p^2$ .

### 1.4 Transformación de futuros valores medidos con la función de calibración.

Una vez que se haya realizado un experimento de calibración, los valores medidos de nuevas cantidades desconocidas (en oposición a los estándares que tienen valores conocidos o aceptados) se transformarán a través de la función de calibración. Transformar estos valores medidos dará como resultado un valor único  $x_0^*$  que estima el valor verdadero de la cantidad desconocida.

La transformación depende de la suposición realizada con respecto a la varianza residual y se implementa de la siguiente manera.

Una nueva cantidad desconocida se mide  $p$  veces, resultando en  $p$  mediciones  $y_{01}, y_{02}, \dots, y_{0p}$ .

La media de estas  $p$  medidas se obtiene según la ecuación:

$$\bar{y}_0 = \frac{1}{p} \sum_{k=1}^p y_{0k}$$

Si  $p=1$  entonces  $\bar{y}_0 = y_{01}$

- Si se seleccionó el modelo con una desviación estándar residual constante, entonces

$$x_0^* = \frac{\bar{y}_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}$$

- Si se seleccionó el modelo con desviación estándar residual proporcional, entonces

$$x_0^* = \frac{\bar{y}_0 - \hat{\gamma}_0}{\hat{\gamma}_1}$$

Un método de control que permite la derivación de intervalos de confianza basados en la variabilidad observada en el monitoreo de algunos materiales de referencia durante un período de tiempo.

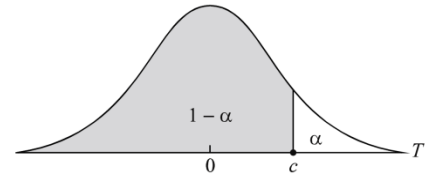
Tabla N°58: Análisis de varianza para comparar la falta de ajuste y el error puro bajo el supuesto de una desviación estándar residual proporcional.

Fuente	Grados de Libertad, GL	Suma de cuadrados, SS	SS/GL	Razón F
Función de calibración:	1	$WSSR = WSST - WSSE$	$\hat{\sigma}^2 = \frac{SSE}{NK - 2}$	$\hat{\sigma}_1^2 / \hat{\sigma}_p^2$
Residual	$NK - 2$	$WSSE$	$\hat{\sigma}_1^2 = \frac{SSE - SSP}{N - 2}$	
Falta de ajuste	$N - 2$	$WSSE - WSSP$		
Error puro	$NK - N$	$WSSP$	$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{SSP}{NK - N}$	
Total	$NK - 1$	$WSST$		
$WSST = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K (z_{nk} - \hat{z})^2$ $WSSP = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K (z_{nk} - z_n)^2$ <p>SSE está definido en el numeral 6.4.2</p>				

**ANEXO N° 8**  
**TABLAS ESTADISTICAS**

**TABLA N° 59: TABLA DE LA DISTRIBUCION t-Student<sub>(11)</sub>**

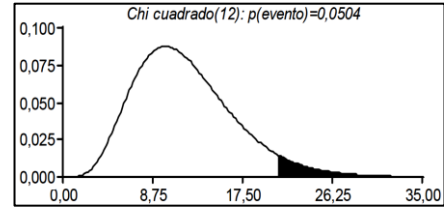
La tabla da áreas  $1 - \alpha$  y valores  $c = t_{1-\alpha, r}$ ,  
 donde,  $P[T \leq c] = 1 - \alpha$ , y donde  $T$  tiene  
 distribución t-Student con  $r$  grados de libertad.



	$1 - \alpha$							
$r$	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
$\infty$	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

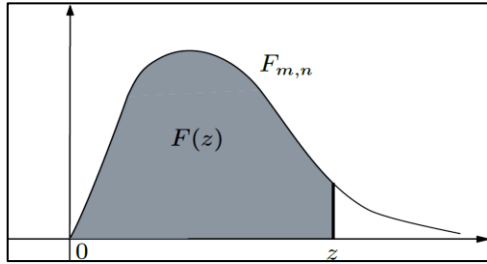
**TABLA N° 60: TABLA DE DISTRIBUCIÓN CHI-CUADRADO<sup>(11)</sup>**

En el margen superior se lee  $P(\chi^2 \leq x)$  para los valores de  $x$  que figuran en el cuerpo de la tabla y en el margen izquierdo los grados de libertad ( $\delta$ ).



$df$	$\chi^2_{.995}$	$\chi^2_{.990}$	$\chi^2_{.975}$	$\chi^2_{.950}$	$\chi^2_{.900}$	$\chi^2_{.100}$	$\chi^2_{.050}$	$\chi^2_{.025}$	$\chi^2_{.010}$	$\chi^2_{.005}$
1	0.000	0.000	0.001	0.004	0.016	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879
2	0.010	0.020	0.051	0.103	0.211	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597
3	0.072	0.115	0.216	0.352	0.584	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838
4	0.207	0.297	0.484	0.711	1.064	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860
5	0.412	0.554	0.831	1.145	1.610	9.236	11.070	12.833	15.086	16.750
6	0.676	0.872	1.237	1.635	2.204	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0.989	1.239	1.690	2.167	2.833	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.344	1.646	2.180	2.733	3.490	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.735	2.088	2.700	3.325	4.168	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589
10	2.156	2.558	3.247	3.940	4.865	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188
11	2.603	3.053	3.816	4.575	5.578	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757
12	3.074	3.571	4.404	5.226	6.304	18.549	21.026	23.337	26.217	28.300
13	3.565	4.107	5.009	5.892	7.042	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819
14	4.075	4.660	5.629	6.571	7.790	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4.601	5.229	6.262	7.261	8.547	22.307	24.996	27.488	30.578	32.801
16	5.142	5.812	6.908	7.962	9.312	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267
17	5.697	6.408	7.564	8.672	10.085	24.769	27.587	30.191	33.409	35.718
18	6.265	7.015	8.231	9.390	10.865	25.989	28.869	31.526	34.805	37.156
19	6.844	7.633	8.907	10.117	11.651	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582
20	7.434	8.260	9.591	10.851	12.443	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8.034	8.897	10.283	11.591	13.240	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401
22	8.643	9.542	10.982	12.338	14.041	30.813	33.924	36.781	40.289	42.796
23	9.260	10.196	11.689	13.091	14.848	32.007	35.172	38.076	41.638	44.181
24	9.886	10.856	12.401	13.848	15.659	33.196	36.415	39.364	42.980	45.559
25	10.520	11.524	13.120	14.611	16.473	34.382	37.652	40.646	44.314	46.928
26	11.160	12.198	13.844	15.379	17.292	35.563	38.885	41.923	45.642	48.290
27	11.808	12.879	14.573	16.151	18.114	36.741	40.113	43.195	46.963	49.645
28	12.461	13.565	15.308	16.928	18.939	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993
29	13.121	14.256	16.047	17.708	19.768	39.087	42.557	45.722	49.588	52.336
30	13.787	14.953	16.791	18.493	20.599	40.256	43.773	46.979	50.892	53.672
40	20.707	22.164	24.433	26.509	29.051	51.805	55.758	59.342	63.691	66.766
50	27.991	29.707	32.357	34.764	37.689	63.167	67.505	71.420	76.154	79.490
60	35.534	37.485	40.482	43.188	46.459	74.397	79.082	83.298	88.379	91.952
70	43.275	45.442	48.758	51.739	55.329	85.527	90.531	95.023	100.425	104.215
80	51.172	53.540	57.153	60.391	64.278	96.578	101.879	106.629	112.329	116.321
90	59.196	61.754	65.647	69.126	73.291	107.565	113.145	118.136	124.116	128.299
100	67.328	70.065	74.222	77.929	82.358	118.498	124.342	129.561	135.807	140.169

**TABLA N° 61: TABLAS DE LA DISTRIBUCION F DE FISHER<sup>(11)</sup>**



		$F_{0.90}(z)$																	
$m$	$n$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	40	60	120	$\infty$
1	1	39.86	49.50	53.59	55.83	57.24	58.20	58.91	59.44	59.86	60.19	60.71	61.22	61.74	62.26	62.53	62.79	63.06	63.33
2	1	8.53	9.00	9.16	9.24	9.29	9.33	9.35	9.37	9.38	9.39	9.41	9.42	9.44	9.46	9.47	9.47	9.48	9.49
3	1	5.54	5.46	5.39	5.34	5.31	5.28	5.27	5.25	5.24	5.23	5.22	5.20	5.18	5.17	5.16	5.15	5.14	5.13
4	1	4.54	4.32	4.19	4.11	4.05	4.01	3.98	3.95	3.94	3.92	3.90	3.87	3.84	3.82	3.80	3.79	3.78	3.76
5	1	4.06	3.78	3.62	3.52	3.45	3.40	3.37	3.34	3.32	3.30	3.27	3.24	3.21	3.17	3.16	3.14	3.12	3.10
6	1	3.78	3.46	3.29	3.18	3.11	3.05	3.01	2.98	2.96	2.94	2.90	2.87	2.84	2.80	2.78	2.76	2.74	2.72
7	1	3.59	3.26	3.07	2.96	2.88	2.83	2.78	2.75	2.72	2.70	2.67	2.63	2.59	2.56	2.54	2.51	2.49	2.47
8	1	3.46	3.11	2.92	2.81	2.73	2.67	2.62	2.59	2.56	2.54	2.50	2.46	2.42	2.38	2.36	2.34	2.32	2.29
9	1	3.36	3.01	2.81	2.69	2.61	2.55	2.51	2.47	2.44	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.23	2.21	2.18	2.16
10	1	3.29	2.92	2.73	2.61	2.52	2.46	2.41	2.38	2.35	2.32	2.28	2.24	2.20	2.16	2.13	2.11	2.08	2.06
11	1	3.23	2.86	2.66	2.54	2.45	2.39	2.34	2.30	2.27	2.25	2.21	2.17	2.12	2.08	2.05	2.03	2.00	1.97
12	1	3.18	2.81	2.61	2.48	2.39	2.33	2.28	2.24	2.21	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.99	1.96	1.93	1.90
13	1	3.14	2.76	2.56	2.43	2.35	2.28	2.23	2.20	2.16	2.14	2.10	2.05	2.01	1.96	1.93	1.90	1.88	1.85
14	1	3.10	2.73	2.52	2.39	2.31	2.24	2.19	2.15	2.12	2.10	2.05	2.01	1.96	1.91	1.89	1.86	1.83	1.80
15	1	3.07	2.70	2.49	2.36	2.27	2.21	2.16	2.12	2.09	2.06	2.02	1.97	1.92	1.87	1.85	1.82	1.79	1.76
16	1	3.05	2.67	2.46	2.33	2.24	2.18	2.13	2.09	2.06	2.03	1.99	1.94	1.89	1.84	1.81	1.78	1.75	1.72
17	1	3.03	2.64	2.44	2.31	2.22	2.15	2.10	2.06	2.03	2.00	1.96	1.91	1.86	1.81	1.78	1.75	1.72	1.69
18	1	3.01	2.62	2.42	2.29	2.20	2.13	2.08	2.04	2.00	1.98	1.93	1.89	1.84	1.78	1.75	1.72	1.69	1.66
19	1	2.99	2.61	2.40	2.27	2.18	2.11	2.06	2.02	1.98	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76	1.73	1.70	1.67	1.63
20	1	2.97	2.59	2.38	2.25	2.16	2.09	2.04	2.00	1.96	1.94	1.89	1.84	1.79	1.74	1.71	1.68	1.64	1.61
21	1	2.96	2.57	2.36	2.23	2.14	2.08	2.02	1.98	1.95	1.92	1.87	1.83	1.78	1.72	1.69	1.66	1.62	1.59
22	1	2.95	2.56	2.35	2.22	2.13	2.06	2.01	1.97	1.93	1.90	1.86	1.81	1.76	1.70	1.67	1.64	1.60	1.57
23	1	2.94	2.55	2.34	2.21	2.11	2.05	1.99	1.95	1.92	1.89	1.84	1.80	1.74	1.69	1.66	1.62	1.59	1.55
24	1	2.93	2.54	2.33	2.19	2.10	2.04	1.98	1.94	1.91	1.88	1.83	1.78	1.73	1.67	1.64	1.61	1.57	1.53
25	1	2.92	2.53	2.32	2.18	2.09	2.02	1.97	1.93	1.89	1.87	1.82	1.77	1.72	1.66	1.63	1.59	1.56	1.52
26	1	2.91	2.52	2.31	2.17	2.08	2.01	1.96	1.92	1.88	1.86	1.81	1.76	1.71	1.65	1.61	1.58	1.54	1.50
27	1	2.90	2.51	2.30	2.17	2.07	2.00	1.95	1.91	1.87	1.85	1.80	1.75	1.70	1.64	1.60	1.57	1.53	1.49
28	1	2.89	2.50	2.29	2.16	2.06	2.00	1.94	1.90	1.87	1.84	1.79	1.74	1.69	1.63	1.59	1.56	1.52	1.48
29	1	2.89	2.50	2.28	2.15	2.06	1.99	1.93	1.89	1.86	1.83	1.78	1.73	1.68	1.62	1.58	1.55	1.51	1.47
30	1	2.88	2.49	2.28	2.14	2.03	1.98	1.93	1.88	1.85	1.82	1.77	1.72	1.67	1.61	1.57	1.54	1.50	1.46
40	1	2.84	2.44	2.23	2.09	2.00	1.93	1.87	1.83	1.79	1.76	1.71	1.66	1.61	1.54	1.51	1.47	1.42	1.38
60	1	2.79	2.39	2.18	2.04	1.95	1.87	1.82	1.77	1.74	1.71	1.66	1.60	1.54	1.48	1.44	1.40	1.35	1.29
120	1	2.75	2.35	2.13	1.99	1.90	1.82	1.77	1.72	1.68	1.65	1.60	1.55	1.48	1.41	1.37	1.32	1.26	1.19
$\infty$	1	2.71	2.30	2.08	1.94	1.85	1.77	1.72	1.67	1.63	1.60	1.55	1.49	1.42	1.34	1.30	1.24	1.17	1.00

**TABLA N° 61: Continuación**

$m$	$F_{0.95}(z)$																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	40	60	120	$\infty$
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.55	1.55	1.43	1.35	1.25
$\infty$	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

**TABLA N° 61: Continuación**

$m$	$F_{0.975}(z)$																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	40	60	120	$\infty$
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1	1001	1006	1010	1014	1018
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45	39.46	39.47	39.48	39.49	39.50
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17	14.08	14.04	13.99	13.95	13.90
4	12.22	10.65	9.98	9.60	9.36	9.20	9.07	8.98	8.90	8.84	8.75	8.66	8.56	8.46	8.41	8.36	8.31	8.26
5	10.01	8.43	7.76	7.39	7.15	6.98	6.85	6.76	6.68	6.62	6.52	6.43	6.33	6.23	6.18	6.12	6.07	6.02
6	8.81	7.26	6.60	6.23	5.99	5.82	5.70	5.60	5.52	5.46	5.37	5.27	5.17	5.07	5.01	4.96	4.90	4.85
7	8.07	6.54	5.89	5.52	5.29	5.12	4.99	4.90	4.82	4.76	4.67	4.57	4.47	4.36	4.31	4.25	4.20	4.14
8	7.57	6.06	5.42	5.05	4.82	4.65	4.53	4.43	4.36	4.30	4.20	4.10	4.00	3.89	3.84	3.78	3.73	3.67
9	7.21	5.71	5.08	4.72	4.48	4.32	4.20	4.10	4.03	3.96	3.87	3.77	3.67	3.56	3.51	3.45	3.39	3.33
10	6.94	5.46	4.83	4.47	4.24	4.07	3.95	3.85	3.78	3.72	3.62	3.52	3.42	3.31	3.26	3.20	3.14	3.08
11	6.72	5.26	4.63	4.28	4.04	3.88	3.76	3.66	3.59	3.53	3.43	3.33	3.23	3.12	3.06	3.00	2.94	2.88
12	6.55	5.10	4.47	4.12	3.89	3.73	3.61	3.51	3.44	3.37	3.28	3.18	3.07	2.96	2.91	2.85	2.79	2.72
13	6.41	4.97	4.35	4.00	3.77	3.60	3.48	3.39	3.31	3.25	3.15	3.05	2.95	2.84	2.78	2.72	2.66	2.60
14	6.30	4.86	4.24	3.89	3.66	3.50	3.38	3.29	3.21	3.15	3.05	2.95	2.84	2.73	2.67	2.61	2.55	2.49
15	6.20	4.77	4.15	3.80	3.58	3.41	3.29	3.20	3.12	3.06	2.96	2.86	2.76	2.64	2.59	2.52	2.46	2.40
16	6.12	4.69	4.08	3.73	3.50	3.34	3.22	3.12	3.05	2.99	2.89	2.79	2.68	2.57	2.51	2.45	2.38	2.32
17	6.04	4.62	4.01	3.66	3.44	3.28	3.16	3.06	2.98	2.92	2.82	2.72	2.62	2.50	2.44	2.38	2.32	2.25
18	5.98	4.56	3.95	3.61	3.38	3.22	3.10	3.01	2.93	2.87	2.77	2.67	2.56	2.44	2.38	2.32	2.26	2.19
19	5.92	4.51	3.90	3.56	3.33	3.17	3.05	2.96	2.88	2.82	2.72	2.62	2.51	2.39	2.33	2.27	2.20	2.13
20	5.87	4.46	3.86	3.51	3.29	3.13	3.01	2.91	2.84	2.77	2.68	2.57	2.46	2.35	2.29	2.22	2.16	2.09
21	5.83	4.42	3.82	3.48	3.25	3.09	2.97	2.87	2.80	2.73	2.64	2.53	2.42	2.31	2.25	2.18	2.11	2.04
22	5.79	4.38	3.78	3.44	3.22	3.05	2.93	2.84	2.76	2.70	2.60	2.50	2.39	2.27	2.21	2.14	2.08	2.00
23	5.75	4.35	3.75	3.41	3.18	3.02	2.90	2.81	2.73	2.67	2.57	2.47	2.36	2.24	2.18	2.11	2.04	1.97
24	5.72	4.32	3.72	3.38	3.15	2.99	2.87	2.78	2.70	2.64	2.54	2.44	2.33	2.21	2.15	2.08	2.01	1.94
25	5.69	4.29	3.69	3.35	3.13	2.97	2.85	2.75	2.68	2.61	2.51	2.41	2.30	2.18	2.12	2.05	1.98	1.91
26	5.66	4.27	3.67	3.33	3.10	2.94	2.82	2.73	2.65	2.59	2.49	2.39	2.28	2.16	2.09	2.03	1.95	1.88
27	5.63	4.24	3.65	3.31	3.08	2.92	2.80	2.71	2.63	2.57	2.47	2.36	2.25	2.13	2.07	2.00	1.93	1.85
28	5.61	4.22	3.63	3.29	3.06	2.90	2.78	2.69	2.61	2.55	2.45	2.34	2.23	2.11	2.05	1.98	1.91	1.83
29	5.59	4.20	3.61	3.27	3.04	2.88	2.76	2.67	2.59	2.53	2.43	2.32	2.21	2.09	2.03	1.96	1.89	1.81
30	5.57	4.18	3.59	3.25	3.03	2.87	2.75	2.65	2.57	2.51	2.41	2.31	2.20	2.07	2.01	1.94	1.87	1.79
40	5.42	4.05	3.46	3.13	2.90	2.74	2.62	2.53	2.45	2.39	2.29	2.18	2.07	1.94	1.88	1.80	1.72	1.64
60	5.29	3.93	3.34	3.01	2.79	2.63	2.51	2.41	2.33	2.27	2.17	2.06	1.94	1.82	1.74	1.67	1.58	1.48
120	5.15	3.80	3.23	2.89	2.67	2.52	2.39	2.30	2.22	2.16	2.05	1.94	1.82	1.69	1.61	1.53	1.43	1.31
$\infty$	5.02	3.69	3.12	2.79	2.57	2.41	2.29	2.19	2.11	2.05	1.94	1.83	1.71	1.57	1.48	1.39	1.27	1.00



**TABLA N° 61: Continuación**

$m$	$F_{0.99}(z)$																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	40	60	120	$\infty$	
$n$																			
1	4052	4999.5	5403	5625	5764	5859	5928	5982	6022	6056	6106	6157	6209	6261	6287	6313	6339	6366	
2	98.50	99.00	99.17	99.25	99.30	99.33	99.36	99.37	99.39	99.40	99.42	99.43	99.45	99.47	99.47	99.48	99.49	99.50	
3	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.35	27.23	27.05	26.87	26.69	26.50	26.41	26.32	26.22	26.13	
4	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14.80	14.66	14.55	14.37	14.20	14.02	13.84	13.75	13.65	13.56	13.46	
5	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.46	10.29	10.16	10.05	9.89	9.72	9.55	9.38	9.29	9.20	9.11	9.02	
6	13.75	10.92	9.78	9.15	8.75	8.47	8.26	8.10	7.98	7.87	7.72	7.56	7.40	7.23	7.14	7.06	6.97	6.88	
7	12.25	9.55	8.45	7.85	7.46	7.19	6.99	6.84	6.72	6.62	6.47	6.31	6.16	5.99	5.91	5.82	5.74	5.65	
8	11.26	8.65	7.59	7.01	6.63	6.37	6.18	6.03	5.91	5.81	5.67	5.52	5.36	5.20	5.12	5.03	4.95	4.86	
9	10.56	8.02	6.99	6.42	6.06	5.80	5.61	5.47	5.35	5.26	5.11	4.96	4.81	4.65	4.57	4.48	4.40	4.31	
10	10.04	7.56	6.55	5.99	5.64	5.39	5.20	5.06	4.94	4.85	4.71	4.56	4.41	4.25	4.17	4.08	4.00	3.91	
11	9.65	7.21	6.22	5.67	5.32	5.07	4.89	4.74	4.63	4.54	4.40	4.25	4.10	3.94	3.86	3.78	3.69	3.60	
12	9.33	6.93	5.95	5.41	5.06	4.82	4.64	4.50	4.39	4.30	4.16	4.01	3.86	3.70	3.62	3.54	3.45	3.36	
13	9.07	6.70	5.74	5.21	4.86	4.62	4.44	4.30	4.19	4.10	3.96	3.82	3.66	3.51	3.43	3.34	3.25	3.17	
14	8.86	6.51	5.56	5.04	4.69	4.46	4.28	4.14	4.03	3.94	3.80	3.66	3.51	3.35	3.27	3.18	3.09	3.00	
15	8.68	6.36	5.42	4.89	4.56	4.32	4.14	4.00	3.89	3.80	3.67	3.52	3.37	3.21	3.13	3.05	2.96	2.87	
16	8.53	6.23	5.29	4.77	4.44	4.20	4.03	3.89	3.78	3.69	3.55	3.41	3.26	3.10	3.02	2.93	2.84	2.75	
17	8.40	6.11	5.18	4.67	4.34	4.10	3.93	3.79	3.68	3.59	3.46	3.31	3.16	3.00	2.92	2.83	2.75	2.65	
18	8.29	6.01	5.09	4.58	4.25	4.01	3.84	3.71	3.60	3.51	3.37	3.23	3.08	2.92	2.84	2.75	2.66	2.57	
19	8.18	5.93	5.01	4.50	4.17	3.94	3.77	3.63	3.52	3.43	3.30	3.15	3.00	2.84	2.76	2.67	2.58	2.49	
20	8.10	5.85	4.94	4.43	4.10	3.87	3.70	3.56	3.46	3.37	3.23	3.09	2.94	2.78	2.69	2.61	2.52	2.42	
21	8.02	5.78	4.87	4.37	4.04	3.81	3.64	3.51	3.40	3.31	3.17	3.03	2.88	2.72	2.64	2.55	2.46	2.36	
22	7.95	5.72	4.82	4.31	3.99	3.76	3.59	3.45	3.35	3.26	3.12	2.98	2.83	2.67	2.58	2.50	2.40	2.31	
23	7.88	5.66	4.76	4.26	3.94	3.71	3.54	3.41	3.30	3.21	3.07	2.93	2.78	2.62	2.54	2.45	2.35	2.26	
24	7.82	5.61	4.72	4.22	3.90	3.67	3.50	3.36	3.26	3.17	3.03	2.89	2.74	2.58	2.49	2.40	2.31	2.21	
25	7.77	5.57	4.68	4.18	3.85	3.63	3.46	3.32	3.22	3.13	2.99	2.85	2.70	2.54	2.45	2.36	2.27	2.17	
26	7.72	5.53	4.64	4.14	3.82	3.59	3.42	3.29	3.18	3.09	2.96	2.81	2.66	2.50	2.42	2.33	2.23	2.13	
27	7.68	5.49	4.60	4.11	3.78	3.56	3.39	3.26	3.15	3.06	2.93	2.78	2.63	2.47	2.38	2.29	2.20	2.10	
28	7.64	5.45	4.57	4.07	3.75	3.53	3.36	3.23	3.12	3.03	2.90	2.75	2.60	2.44	2.35	2.26	2.17	2.06	
29	7.60	5.42	4.54	4.04	3.73	3.50	3.33	3.20	3.09	3.00	2.87	2.73	2.57	2.41	2.33	2.23	2.14	2.03	
30	7.56	5.39	4.51	4.02	3.70	3.47	3.30	3.17	3.07	2.98	2.84	2.70	2.55	2.39	2.30	2.21	2.11	2.01	
40	7.31	5.18	4.31	3.83	3.51	3.29	3.12	2.99	2.89	2.80	2.66	2.52	2.37	2.20	2.11	2.02	1.92	1.80	
60	7.08	4.98	4.13	3.65	3.34	3.12	2.95	2.82	2.72	2.63	2.50	2.35	2.20	2.03	1.94	1.84	1.73	1.60	
120	6.85	4.79	3.95	3.48	3.17	2.96	2.79	2.66	2.56	2.47	2.34	2.19	2.03	1.86	1.76	1.66	1.53	1.38	
$\infty$	6.63	4.61	3.78	3.32	3.02	2.80	2.64	2.51	2.41	2.32	2.18	2.04	1.88	1.70	1.59	1.47	1.32	1.00	

## ANEXO N° 9

Vista Frontal	Descripción de los elementos de control
 <p>The front view of the spectrophotometer shows a black protective cover on top labeled 'PROTECTIVE COVER'. Below it is a control panel with a touch screen (6) and a compartment for cuvettes (7). The device has a rugged, rectangular design.</p>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Interruptor de encendido/apagado</li><li>2. USB Tipo B</li><li>3. Enchufe a la red</li><li>4. Protección</li><li>5. USB Tipo A</li><li>6. Pantalla de control táctil</li><li>7. Compartimiento de celdas</li></ol>
Vista Posterior	
 <p>The rear view of the spectrophotometer shows a circular power button (1) at the top. Below it are a USB Type A port (5), a USB Type B port (2), and a power input jack (3). At the bottom, there is a protective cover (4) for the ports.</p>	

Figura N° 34: Representación gráfica del espectrofotómetro Hach DR2700 y sus elementos de control.

**ANEXO N° 10**  
**RESUMEN ESTADÍSTICO DEL CONTROL DE LA EXACTITUD DE LA**  
**LONGITUD DE ONDA**

Tabla N° 62: Resumen estadístico para las mediciones de Absorbancia por cada longitud de onda en nm para cada día.

Longitud de onda de 418 nm							
Días	Recuento /Casos	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,202	0	0%	0,202	0,202	0
2	6	0,201	0	0%	0,201	0,201	0
3	6	0,201	0	0%	0,201	0,201	0
4	6	0,202	0	0%	0,202	0,202	0
5	6	0,202	0	0%	0,202	0,202	0
6	6	0,202	0	0%	0,202	0,202	0
Total	36	0,2017	0,00048	0,24%	0,201	0,202	0,001
Longitud de onda de 453 nm							
Días	Recuento	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,8237	0,00052	0,06269 %	0,823	0,824	0,001
2	6	0,8218	0,00041	0,04967 %	0,821	0,822	0,001
3	6	0,8205	0,00055	0,06675 %	0,820	0,821	0,001
4	6	0,8208	0,00041	0,04974 %	0,820	0,821	0,001
5	6	0,8202	0,00041	0,04978 %	0,820	0,821	0,001
6	6	0,8185	0,00084	0,10222 %	0,818	0,820	0,002
Total	36	0,8209	0,00168	0,20461 %	0,818	0,824	0,006
Longitud de onda de 460 nm							
Días	Recuento	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,8187	0,00052	0,0631 %	0,818	0,819	0,001
2	6	0,8198	0,00041	0,0498 %	0,819	0,820	0,001
3	6	0,8142	0,00041	0,0501 %	0,814	0,815	0,001
4	6	0,8102	0,00041	0,0504 %	0,810	0,811	0,001
5	6	0,8187	0,00082	0,0997 %	0,818	0,820	0,002
6	6	0,8110	0,00089	0,1103 %	0,810	0,812	0,002
Total	36	0,8154	0,00395	0,4847 %	0,810	0,820	0,010
Longitud de onda de 484 nm							
Días	Recuento	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,1262	0,00041	0,3236 %	0,126	0,127	0,001
2	6	0,1262	0,00041	0,3236 %	0,126	0,127	0,001
3	6	0,1272	0,00041	0,3210 %	0,127	0,128	0,001
4	6	0,1278	0,00041	0,3194 %	0,127	0,128	0,001
5	6	0,1278	0,00041	0,3194 %	0,127	0,128	0,001
6	6	0,1278	0,00041	0,3194 %	0,127	0,128	0,001
Total	36	0,1272	0,00084	0,6646 %	0,126	0,128	0,002

Tabla N° 62: Continuación

Longitud de onda de 536 nm							
Días	Recuento	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,3138	0,00041	0,1301 %	0,313	0,314	0,001
2	6	0,3122	0,00041	0,1308 %	0,312	0,313	0,001
3	6	0,3142	0,00041	0,1299 %	0,314	0,315	0,001
4	6	0,3168	0,00041	0,1288 %	0,316	0,317	0,001
5	6	0,3142	0,00041	0,1299 %	0,314	0,315	0,001
6	6	0,3152	0,00041	0,1295 %	0,315	0,316	0,001
Total	36	0,3144	0,00148	0,4704 %	0,312	0,317	0,005
Longitud de onda de 648 nm							
Días	Recuento	Promedio diario	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,1362	0,00041	0,2998 %	0,136	0,137	0,001
2	6	0,1362	0,00041	0,2998 %	0,136	0,137	0,001
3	6	0,1362	0,00041	0,2998 %	0,136	0,137	0,001
4	6	0,1368	0,00041	0,2983 %	0,136	0,137	0,001
5	6	0,1368	0,00041	0,2983 %	0,136	0,137	0,001
6	6	0,1368	0,00041	0,2983 %	0,136	0,137	0,001
Total	36	0,1365	0,00051	0,3715 %	0,136	0,137	0,001

Tabla N° 63: Sesgo espectral para promedios diarios de los resultados de absorbancia a cada longitud de onda.

Longitud de onda de 418 nm			Longitud de onda de 453 nm		
Días	Promedio	Sesgo	Días	Promedio	Sesgo
1	0,202	0,068	1	0,8237	0,2843
2	0,201	0,069	2	0,8218	0,2862
3	0,201	0,069	3	0,8205	0,2875
4	0,202	0,068	4	0,8208	0,2872
5	0,202	0,068	5	0,8202	0,2878
6	0,202	0,068	6	0,8185	0,2895
Valor esperado	0,270		Valor esperado	1,1080	
Longitud de onda de 460 nm			Longitud de onda de 484 nm		
Días	Promedio	Sesgo	Días	Promedio	Sesgo
1	0,8187	0,4083	1	0,1262	0,0218
2	0,8198	0,4072	2	0,1262	0,0218
3	0,8142	0,4128	3	0,1272	0,0208
4	0,8102	0,4168	4	0,1278	0,0202
5	0,8187	0,4083	5	0,1278	0,0202
6	0,811	0,4160	6	0,1278	0,0202
Valor esperado	1,227		Valor esperado	0,148	

Tabla N° 63: Continuación

Longitud de onda de 536 nm			Longitud de onda de 648 nm		
Días	Promedio	Sesgo	Días	Promedio	Sesgo
1	0,3138	0,096	1	0,1362	0,0108
2	0,3122	0,098	2	0,1362	0,0108
3	0,3142	0,096	3	0,1362	0,0108
4	0,3168	0,093	4	0,1368	0,0102
5	0,3142	0,096	5	0,1368	0,0102
6	0,3152	0,095	6	0,1368	0,0102
Valor esperado	0,410		Valor esperado	0,147	

Tabla N° 64: Resultado del análisis de varianza (ANOVA) en la medición de absorbancia en cada longitud de onda por seis Días.

Longitud de onda de 418 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000008	5	0,0000016	*****	0,0000
Intra grupos	0	30	0		
Total (Corr.)	0,000008	35			
Longitud de onda de 453 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00009	5	1,798x10 <sup>-5</sup>	61,08	0,0000
Intra grupos	0,00001	30	2,944x10 <sup>-7</sup>		
Total (Corr.)	0,00010	35			
Longitud de onda de 460 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0005356	5	1,071x10 <sup>-4</sup>	287,78	0,0000
Intra grupos	0,0000112	30	3,722x10 <sup>-7</sup>		
Total (Corr.)	0,0005467	35			
Longitud de onda de 484 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000020	5	4,000x10 <sup>-6</sup>	24,00	0,0000
Intra grupos	0,000005	30	1,667x10 <sup>-7</sup>		
Total (Corr.)	0,000025	35			
Longitud de onda de 536 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0000716	5	1,431x10 <sup>-5</sup>	85,87	0,0000
Intra grupos	0,0000050	30	1,667x10 <sup>-7</sup>		
Total (Corr.)	0,0000766	35			
Longitud de onda de 648 nm					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado promedio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000004	5	8,00x10 <sup>-7</sup>	4,80	0,0024
Intra grupos	0,000005	30	1,67x10 <sup>-7</sup>		
Total (Corr.)	0,000009	35			

Tabla N° 65: Resumen estadístico del sesgo y curtosis estandarizada de la medición de absorbancia en cada longitud de onda nm para cada día.

	Longitud de onda de 418 nm		Longitud de onda de 453 nm	
Días	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	1,36931	-1,66667	-0,968	-0,9375
2	-1,36931	-1,66667	-2,449	3,0000
3	-1,36931	-1,66667	0,000	-1,6667
4	1,36931	-1,66667	-2,449	3,0000
5	1,36931	-1,66667	2,449	3,0000
6	1,36931	-1,66667	1,537	0,7143
Total	-1,80829	-1,89115	0,433	-0,2744
	Longitud de onda de 460 nm		Longitud de onda de 484 nm	
Días	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	-0,968246	-0,937	2,44949	3,00
2	-2,44949	3,000	2,44949	3,00
3	2,44949	3,000	2,44949	3,00
4	2,44949	3,000	-2,44949	3,00
5	0,85732	-0,150	-2,44949	3,00
6	0,00000	-0,9375	-2,44949	3,00
Total	-0,57494	-2,0564	-0,81834	-1,87
	Longitud de onda de 536 nm		Longitud de onda de 648 nm	
Días	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
1	-2,4495	3,000	2,4495	3,000
2	2,4495	3,000	2,4495	3,000
3	2,4495	3,000	2,4495	3,000
4	-2,4495	3,000	-2,4495	3,000
5	2,4495	3,000	-2,4495	3,000
6	2,4495	3,000	-2,4495	3,000
Total	0,5628	-0,386	-1,277x10 <sup>-12</sup>	-2,598

Tabla N° 66: Resultados de la prueba de rangos múltiples para las mediciones de Absorbancia en para cada Longitud de onda de nm para seis días.

Longitud de onda de 418 nm				Longitud de onda de 453 nm			
Días	Casos	Promedios	Grupos Homogéneos	Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	6	0,201	X	6	6	0,818	X
2	6	0,201	X	5	6	0,820	X
6	6	0,202	X	3	6	0,820	X
5	6	0,202	X	4	6	0,821	X
4	6	0,202	X	2	6	0,822	X
1	6	0,202	X	1	6	0,824	X
Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.				Se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.			
Longitud de onda de 460 nm				Longitud de onda de 484 nm			
Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	6	0,810	X	2	6	0,126	X
6	6	0,811	X	1	6	0,126	X
3	6	0,814	X	3	6	0,127	X
1	6	0,819	X	6	6	0,128	X
5	6	0,819	X	5	6	0,128	X
2	6	0,820	X	4	6	0,128	X
Se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.				Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.			
Longitud de onda de 536 nm				Longitud de onda de 648 nm			
Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos	Días	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	6	0,312	X	3	6	0,136	X
1	6	0,314	X	1	6	0,136	X
5	6	0,314	X	2	6	0,136	X
3	6	0,314	X	6	6	0,137	X
6	6	0,315	X	5	6	0,137	X
4	6	0,317	X	4	6	0,137	X
Se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.				Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.			
No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.							



Tabla N° 67: Prueba de contraste de los resultados de promedios de absorbancia de cada longitud de onda en nm entre los días de prueba.

Longitud de onda de 418 nm				Longitud de onda de 453 nm			
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0,001	0	1 - 2	*	0,0018	0,0006
1 - 3	*	0,001	0	1 - 3	*	0,0032	0,0006
1 - 4		0	0	1 - 4	*	0,0028	0,0006
1 - 5		0	0	1 - 5	*	0,0035	0,0006
1 - 6		0	0	1 - 6	*	0,0052	0,0006
2 - 3		0	0	2 - 3	*	0,0013	0,0006
2 - 4	*	-0,001	0	2 - 4	*	0,0010	0,0006
2 - 5	*	-0,001	0	2 - 5	*	0,0017	0,0006
2 - 6	*	-0,001	0	2 - 6	*	0,0033	0,0006
3 - 4	*	-0,001	0	3 - 4		-0,0003	0,0006
3 - 5	*	-0,001	0	3 - 5		0,0003	0,0006
3 - 6	*	-0,001	0	3 - 6	*	0,0020	0,0006
4 - 5		0	0	4 - 5	*	0,0007	0,0006
4 - 6		0	0	4 - 6	*	0,0023	0,0006
5 - 6		0	0	5 - 6	*	0,0017	0,0006
Longitud de onda de 460 nm				Longitud de onda de 484 nm			
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0,0012	0,0007	1 - 2		0,0000	0,0005
1 - 3	*	0,0045	0,0007	1 - 3	*	-0,0010	0,0005
1 - 4	*	0,0085	0,0007	1 - 4	*	-0,0017	0,0005
1 - 5		0,0000	0,0007	1 - 5	*	-0,0017	0,0005
1 - 6	*	0,0077	0,0007	1 - 6	*	-0,0017	0,0005
2 - 3	*	0,0057	0,0007	2 - 3	*	-0,0010	0,0005
2 - 4	*	0,0097	0,0007	2 - 4	*	-0,0017	0,0005
2 - 5	*	0,0012	0,0007	2 - 5	*	-0,0017	0,0005
2 - 6	*	0,0088	0,0007	2 - 6	*	-0,0017	0,0005
3 - 4	*	0,0040	0,0007	3 - 4	*	-0,0007	0,0005
3 - 5	*	-0,0045	0,0007	3 - 5	*	-0,0007	0,0005
3 - 6	*	0,0032	0,0007	3 - 6	*	-0,0007	0,0005
4 - 5	*	-0,0085	0,0007	4 - 5		0,0000	0,0005
4 - 6	*	-0,0008	0,0007	4 - 6		0,0000	0,0005
5 - 6	*	0,0077	0,0007	5 - 6		0,0000	0,0005

Tabla N° 67: Continuación

Longitud de onda de 536 nm				Longitud de onda de 648 nm			
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0,0017	0,0005	1 - 2		0,0000	0,0005
1 - 3		-0,0003	0,0005	1 - 3		0,0000	0,0005
1 - 4	*	-0,0030	0,0005	1 - 4	*	-0,0007	0,0005
1 - 5		-0,0003	0,0005	1 - 5	*	-0,0007	0,0005
1 - 6	*	-0,0013	0,0005	1 - 6	*	-0,0007	0,0005
2 - 3	*	-0,0020	0,0005	2 - 3		0,0000	0,0005
2 - 4	*	-0,0047	0,0005	2 - 4	*	-0,0007	0,0005
2 - 5	*	-0,0020	0,0005	2 - 5	*	-0,0007	0,0005
2 - 6	*	-0,0030	0,0005	2 - 6	*	-0,0007	0,0005
3 - 4	*	-0,0027	0,0005	3 - 4	*	-0,0007	0,0005
3 - 5		0,0000	0,0005	3 - 5	*	-0,0007	0,0005
3 - 6	*	-0,0010	0,0005	3 - 6	*	-0,0007	0,0005
4 - 5	*	0,0027	0,0005	4 - 5		0,0000	0,0005
4 - 6	*	0,0017	0,0005	4 - 6		0,0000	0,0005
5 - 6	*	-0,0010	0,0005	5 - 6		0,0000	0,0005

Tabla N° 68: Prueba de verificación de Varianza - prueba de Levene's

Longitud de onda de 418 nm				
Levene's	Prueba		Valor-P	
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0	0	1,0	1,0000
1 / 3	0	0	1,0	1,0000
1 / 4	0	0	1,0	1,0000
1 / 5	0	0	1,0	1,0000
1 / 6	0	0	1,0	1,0000
2 / 3	0	0	1,0	1,0000
2 / 4	0	0	1,0	1,0000
2 / 5	0	0	1,0	1,0000
2 / 6	0	0	1,0	1,0000
3 / 4	0	0	1,0	1,0000
3 / 5	0	0	1,0	1,0000
3 / 6	0	0	1,0	1,0000
4 / 5	0	0	1,0	1,0000
4 / 6	0	0	1,0	1,0000
5 / 6	0	0	1,0	1,0000

Tabla N° 68: Continuación

Longitud de onda de 453 nm				
Levene's	Prueba	0,659	Valor-P	0,657
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00052	0,00041	1,6000	0,6186
1 / 3	0,00052	0,00055	0,8889	0,9003
1 / 4	0,00052	0,00041	1,6000	0,6186
1 / 5	0,00052	0,00041	1,6000	0,6186
1 / 6	0,00052	0,00084	0,3809	0,3131
2 / 3	0,00041	0,00055	0,5556	0,5345
2 / 4	0,00041	0,00041	1,0000	1,0000
2 / 5	0,00041	0,00041	1,0000	1,0000
2 / 6	0,00041	0,00084	0,2381	0,1413
3 / 4	0,00055	0,00041	1,8000	0,5345
3 / 5	0,00055	0,00041	1,8000	0,5345
3 / 6	0,00055	0,00084	0,4286	0,3739
4 / 5	0,00041	0,00041	1,0000	1,0000
4 / 6	0,00041	0,00084	0,2381	0,1413
5 / 6	0,00041	0,00084	0,2381	0,1413
Longitud de onda de 460 nm				
Levene's	Prueba	1,806	Valor-P	0,1419
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00052	0,00041	1,600	0,619
1 / 3	0,00052	0,00041	1,600	0,619
1 / 4	0,00052	0,00041	1,600	0,619
1 / 5	0,00052	0,00082	0,400	0,337
1 / 6	0,00052	0,0009	0,333	0,253
2 / 3	0,00041	0,00041	1,000	1,000
2 / 4	0,00041	0,00041	1,000	1,000
2 / 5	0,00041	0,00082	0,250	0,154
2 / 6	0,00041	0,0009	0,208	0,110
3 / 4	0,00041	0,00041	1,000	1,000
3 / 5	0,00041	0,00082	0,250	0,154
3 / 6	0,00041	0,0009	0,208	0,110
4 / 5	0,00041	0,00082	0,250	0,154
4 / 6	0,00041	0,0009	0,208	0,110
5 / 6	0,00082	0,0009	0,833	0,846

Tabla N° 68: Continuación

Longitud de onda de 484 nm				
	Prueba	0,00	Valor-P	1,00
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
5 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
Longitud de onda de 536 nm				
	Prueba	0,00	Valor-P	1,00
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
5 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000

Tabla N° 68: Continuación

Longitud de onda de 648 nm				
	Prueba	0,00	Valor-P	1,00
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
1 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 3	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
2 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 4	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
3 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 5	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
4 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000
5 / 6	0,00041	0,00041	1,0	1,0000

Tabla N° 69: Prueba de Kruskal-Wallis para los resultados de Absorbancia en cada longitud de onda para seis Días

Longitud de onda de 418 nm			Longitud de onda de 453 nm		
Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio
1	6	24,5	1	6	33,50
2	6	6,5	2	6	26,75
3	6	6,5	3	6	15,50
4	6	24,5	4	6	18,83
5	6	24,5	5	6	12,17
6	6	24,5	6	6	4,25
	Estadístico	= 35,0		Estadístico	= 30,9563
	Valor-P	= 0,0000015		Valor-P	= 0,0000095
Longitud de onda de 460 nm			Longitud de onda de 484 nm		
Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio
1	6	25,000	1	6	7,1667
2	6	32,417	2	6	7,1667
3	6	15,500	3	6	17,6667
4	6	4,833	4	6	26,3333
5	6	25,083	5	6	26,3333
6	6	8,167	6	6	26,3333
	Estadístico	= 32,2465		Estadístico	= 27,441
	Valor-P	= 0,0000053		Valor-P	= 0,000047

Tabla N° 69: Continuación

Longitud de onda de 536 nm			Longitud de onda de 648 nm		
Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Días	Tamaño Muestra	Rango Promedio
1	6	13,58	1	6	12,5
2	6	3,58	2	6	12,5
3	6	16,83	3	6	12,5
4	6	33,42	4	6	24,5
5	6	16,83	5	6	24,5
6	6	26,75	6	6	24,5
	Estadístico	= 32,0554		Estadístico	= 15,5556
	Valor-P	= 0,0000058		Valor-P	= 0,0082

## **ANEXO N° 11**

Resumen Estadístico del control de la exactitud fotométrica

Tabla N° 70: Resumen de cálculos estadísticos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm.

Resumen Estadístico para Absorbancia 600 nm						
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,1013	0,00234	0,099	0,104	0,005
2	6	0,1003	0,00186	0,098	0,102	0,004
3	6	0,1018	0,00041	0,101	0,102	0,001
4	6	0,0997	0,00052	0,099	0,100	0,001
5	6	0,0995	0,00055	0,099	0,100	0,001
6	6	0,0992	0,00075	0,098	0,100	0,002
Total	36	0,1003	0,00156	0,098	0,104	0,006
Resumen Estadístico para Absorbancia 650 nm						
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,3172	0,00293	0,314	0,322	0,008
2	6	0,3197	0,00052	0,319	0,320	0,001
3	6	0,3212	0,00075	0,320	0,322	0,002
4	6	0,3110	0,00063	0,310	0,312	0,002
5	6	0,3132	0,00172	0,311	0,316	0,005
6	6	0,3128	0,00041	0,312	0,313	0,001
Total	36	0,3158	0,00404	0,310	0,322	0,012
Resumen Estadístico para Absorbancia 700 nm						
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	0,7173	0,003559	0,714	0,724	0,010
2	6	0,7195	0,003146	0,716	0,723	0,007
3	6	0,7280	0,001265	0,727	0,730	0,003
4	6	0,7188	0,000408	0,718	0,719	0,001
5	6	0,7220	0,000632	0,721	0,723	0,002
6	6	0,7157	0,001033	0,715	0,717	0,002
Total	36	0,7202	0,004473	0,714	0,730	0,016
Resumen Estadístico para Absorbancia 750 nm						
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo	Rango
1	6	1,116	0,0022	1,114	1,120	0,006
2	6	1,116	0,0005	1,116	1,117	0,001
3	6	1,133	0,0009	1,132	1,134	0,002
4	6	1,133	0,0006	1,132	1,134	0,002
5	6	1,133	0,0008	1,131	1,133	0,002
6	6	1,133	0,0006	1,132	1,134	0,002
Total	36	1,127	0,0080	1,114	1,134	0,020



Tabla N° 71: Resumen Estadístico para de los resultados de Absorbancia a las longitudes de onda en nm establecidas.

		Absorbancia 600 nm		Absorbancia 650 nm	
Días	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	
1	0,245	-1,207	0,904	0,125	
2	-0,165	-1,403	-0,968	-0,937	
3	-2,449	3,000	-0,312	-0,052	
4	-0,968	-0,937	0,000	1,250	
5	0,000	-1,667	0,678	0,407	
6	-0,312	-0,052	-2,449	3,000	
Total	1,810	-0,275	0,530	-1,936	
		Absorbancia 700 nm		Absorbancia 750 nm	
Días	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada	
1	1,627	1,525	1,540	1,068	
2	0,000	-1,495	0,000	-1,667	
3	0,889	-0,391	0,000	-0,937	
4	-2,449	3,000	0,000	1,250	
5	0,000	1,250	-2,449	3,000	
6	0,968	-0,937	0,000	1,250	
Total	1,528	-0,700	-1,855	-1,761	

Tabla N° 72: Resultados del análisis de varianza (ANOVA) de las Absorbancias a cada longitud de onda en nm para los seis días.

Absorbancia a la longitud de onda de 600 nm						
Fuente	Suma de Cuadrados	de	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0000344722		5	0,00000689444	4,04	0,0064
Intra grupos	0,0000511667		30	0,00000170556		
Total (Corr.)	0,0000856389		35			
Absorbancia a la longitud de onda de 650 nm						
Fuente	Suma de Cuadrados	de	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000506		5	0,0001013	46,98	0,0000
Intra grupos	0,000065		30	0,0000022		
Total (Corr.)	0,000571		35			
Absorbancia a la longitud de onda de 700 nm						
Fuente	Suma de Cuadrados	de	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,000571		5	0,000114	26,57	0,0000
Intra grupos	0,000129		30	0,000004		
Total (Corr.)	0,000700		35			
Absorbancia a la longitud de onda de 750 nm						
Fuente	Suma de Cuadrados	de	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00222		5	0,000445	362,19	0,0000

Intra grupos	0,00004	30	0,000001		
Total (Corr.)	0,00226	35			

Tabla N° 73: Resultados para la Prueba de Múltiples Rangos de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días

Longitud de onda de 600 nm				Longitud de onda de 650 nm			
Días	Casos	Promedios	Grupos Homogéneos	Días	Casos	Promedios	Grupos Homogéneos
6	6	0,0992	X	4	6	0,311	X
5	6	0,0995	X	6	6	0,313	X
4	6	0,0997	X	5	6	0,313	X
2	6	0,1003	XX	1	6	0,317	X
1	6	0,1013	X	2	6	0,320	X
3	6	0,1018	X	3	6	0,321	X
Longitud de onda de 700 nm				Longitud de onda de 750 nm			
Días	Casos	Promedios	Grupos Homogéneos	Días	Casos	Promedios	Grupos Homogéneos
6	6	0,716	X	1	6	1,116	X
1	6	0,717	XX	2	6	1,116	X
4	6	0,719	X	5	6	1,133	X
2	6	0,719	X	3	6	1,133	X
5	6	0,722	X	4	6	1,133	X
3	6	0,728	X	6	6	1,133	X

Tabla N° 74: Resultados del contraste en pares para la prueba de múltiples rangos de absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis días.

Absorbancia 600 nm por Días				Absorbancia 650 nm por Días			
Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites	Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0,0010	0,00154	1 - 2	*	-0,0025	0,00173
1 - 3		-0,0005	0,00154	1 - 3	*	-0,0040	0,00173
1 - 4	*	0,0017	0,00154	1 - 4	*	0,0062	0,00173
1 - 5	*	0,0018	0,00154	1 - 5	*	0,0040	0,00173
1 - 6	*	0,0022	0,00154	1 - 6	*	0,0043	0,00173
2 - 3		-0,0015	0,00154	2 - 3		-0,0015	0,00173
2 - 4		0,0007	0,00154	2 - 4	*	0,0087	0,00173
2 - 5		0,0008	0,00154	2 - 5	*	0,0065	0,00173
2 - 6		0,00117	0,00154	2 - 6	*	0,0068	0,00173
3 - 4	*	0,00217	0,00154	3 - 4	*	0,0102	0,00173
3 - 5	*	0,00233	0,00154	3 - 5	*	0,0080	0,00173
3 - 6	*	0,00267	0,00154	3 - 6	*	0,0083	0,00173
4 - 5		0,00017	0,00154	4 - 5	*	-0,0022	0,00173
4 - 6		0,00050	0,00154	4 - 6	*	-0,0018	0,00173
5 - 6		0,00033	0,00154	5 - 6		0,0003	0,00173

Tabla N° 74: Continuación

Absorbancia 700 nm				Absorbancia 750 nm			
Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites	Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0,0022	0,00244	1 - 2		-0,0005	0,00131
1 - 3	*	-0,0107	0,00244	1 - 3	*	-0,0170	0,00131
1 - 4		-0,0015	0,00244	1 - 4	*	-0,0170	0,00131
1 - 5	*	-0,0047	0,00244	1 - 5	*	-0,0167	0,00131
1 - 6		0,0017	0,00244	1 - 6	*	-0,0170	0,00131
2 - 3	*	-0,0085	0,00244	2 - 3	*	-0,0165	0,00131
2 - 4		0,0007	0,00244	2 - 4	*	-0,0165	0,00131
2 - 5	*	-0,0025	0,00244	2 - 5	*	-0,0162	0,00131
2 - 6	*	0,0038	0,00244	2 - 6	*	-0,0165	0,00131
3 - 4	*	0,0092	0,00244	3 - 4		0,0000	0,00131
3 - 5	*	0,0060	0,00244	3 - 5		0,0003	0,00131
3 - 6	*	0,0123	0,00244	3 - 6		0,0000	0,00131
4 - 5	*	-0,0032	0,00244	4 - 5		0,0003	0,00131
4 - 6	*	0,0032	0,00244	4 - 6		0,0000	0,00131
5 - 6	*	0,0063	0,00244	5 - 6		-0,0003	0,00131

\* indica una diferencia significativa.

Tabla N° 75: Prueba de verificación de Varianza para los resultados de Absorbancia a las longitudes de onda en nm establecidas.

Longitud de onda de 600 nm				
Levene's	Prueba	12,57	Valor-P	1,25x10 <sup>-6</sup>
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00234	0,00186	1,577	0,6294
1 / 3	0,00234	0,00041	32,800	0,0016
1 / 4	0,00234	0,00052	20,500	0,0048
1 / 5	0,00234	0,00055	18,222	0,0063
1 / 6	0,00234	0,00075	9,647	0,0265
2 / 3	0,00186	0,00041	20,800	0,0047
2 / 4	0,00186	0,00052	13,000	0,0137
2 / 5	0,00186	0,00055	11,556	0,0178
2 / 6	0,00186	0,00075	6,118	0,0686
3 / 4	0,00041	0,00052	0,625	0,6186
3 / 5	0,00041	0,00055	0,556	0,5345
3 / 6	0,00041	0,00075	0,294	0,2054
4 / 5	0,00052	0,00055	0,889	0,9003
4 / 6	0,00052	0,00075	0,471	0,4277
5 / 6	0,00055	0,00075	0,529	0,5020

Tabla N° 75: Continuación

Longitud de onda de 650 nm				
Levene's	Prueba	3,611	Valor-P	0,0112
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00293	0,00052	32,125	0,0017
1 / 3	0,00293	0,00075	15,118	0,0097
1 / 4	0,00293	0,00063	21,417	0,0044
1 / 5	0,00293	0,00172	2,888	0,2693
1 / 6	0,00293	0,00041	51,400	0,0005
2 / 3	0,00052	0,00075	0,471	0,4277
2 / 4	0,00052	0,00063	0,667	0,6672
2 / 5	0,00052	0,00172	0,090	0,0194
2 / 6	0,00052	0,00041	1,600	0,6186
3 / 4	0,00075	0,00063	1,417	0,7116
3 / 5	0,00075	0,00172	0,191	0,0933
3 / 6	0,00075	0,00041	3,400	0,2054
4 / 5	0,00063	0,00172	0,135	0,0463
4 / 6	0,00063	0,00041	2,400	0,3587
5 / 6	0,00172	0,00041	17,800	0,0067
Longitud de onda de 700 nm				
Levene's	Prueba	4,650	Valor-P	0,0029
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,00356	0,00315	1,279	0,7934
1 / 3	0,00356	0,00126	7,917	0,0404
1 / 4	0,00356	0,00041	76,000	0,0002
1 / 5	0,00356	0,00063	31,667	0,0017
1 / 6	0,00356	0,00103	11,875	0,0168
2 / 3	0,00315	0,00126	6,187	0,0671
2 / 4	0,00315	0,00041	59,400	0,0004
2 / 5	0,00315	0,00063	24,750	0,0031
2 / 6	0,00315	0,00103	9,281	0,0288
3 / 4	0,00126	0,00041	9,600	0,0268
3 / 5	0,00126	0,00063	4,000	0,1544
3 / 6	0,00126	0,00103	1,500	0,6672
4 / 5	0,00041	0,00063	0,417	0,3587
4 / 6	0,00041	0,00103	0,156	0,0627
5 / 6	0,00063	0,00103	0,375	0,3055

Tabla N° 75: Continuación

Longitud de onda de 750 nm				
Levene's	Prueba	1,031	Valor-P	0,417
Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
1 / 2	0,0022	0,0005	16,000	0,0086
1 / 3	0,0022	0,0009	6,000	0,0713
1 / 4	0,0022	0,0006	12,000	0,0164
1 / 5	0,0022	0,0008	7,200	0,0492
1 / 6	0,0022	0,0006	12,000	0,0164
2 / 3	0,00055	0,0009	0,375	0,3055
2 / 4	0,00055	0,0006	0,750	0,7600
2 / 5	0,00055	0,0008	0,450	0,4014
2 / 6	0,00055	0,0006	0,750	0,7600
3 / 4	0,0009	0,0006	2,000	0,4650
3 / 5	0,0009	0,0008	1,200	0,8463
3 / 6	0,0009	0,0006	2,000	0,4650
4 / 5	0,0006	0,0008	0,600	0,5887
4 / 6	0,0006	0,0006	1,000	1,0000
5 / 6	0,0008	0,0006	1,667	0,5887

Tabla N° 76: Prueba de Kruskal-Wallis para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm durante seis Días

Días	600 nm		650 nm	
	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Tamaño Muestra	Rango Promedio
1	6	22,92	6	23,00
2	6	18,08	6	26,67
3	6	29,17	6	32,33
4	6	15,83	6	4,17
5	6	14,00	6	12,67
6	6	11,00	6	12,17
	Estadístico	= 12,67	Estadístico	= 30,605
	Valor-P	= 0,027	Valor-P	= 0,000011
Días	700 nm		750 nm	
	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Tamaño Muestra	Rango Promedio
1	6	11,33	6	5,25
2	6	17,83	6	7,75
3	6	33,50	6	25,0
4	6	17,42	6	25,0
5	6	24,58	6	23,0
6	6	6,33	6	25,0
	Estadístico	= 25,361	Estadístico	= 25,6571
	Valor-P	= 0,00012	Valor-P	= 0,000104

## ANEXO N° 12

### Resumen Estadístico del control de la precisión fotométrica

Tabla N° 77: Tabla resumen de cálculos estadísticos para los resultados de Absorbancia a cada longitud de onda en nm.

Resumen Estadístico para Absorbancia 600 nm				
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación %
1	6	0,1013	0,00234	2,307 %
2	6	0,1003	0,00186	1,856 %
3	6	0,1018	0,00041	0,401 %
4	6	0,0997	0,00052	0,518 %
5	6	0,0995	0,00055	0,550 %
6	6	0,0992	0,00075	0,759 %
Total	36	0,1003	0,00156	
Resumen Estadístico para Absorbancia 650 nm				
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación %
1	6	0,3172	0,00293	0,923 %
2	6	0,3197	0,00052	0,161 %
3	6	0,3212	0,00075	0,234 %
4	6	0,3110	0,00063	0,203 %
5	6	0,3132	0,00172	0,550 %
6	6	0,3128	0,00041	0,130 %
Total	36	0,3158	0,00404	
Resumen Estadístico para Absorbancia 700 nm				
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación %
1	6	0,7173	0,003559	0,496 %
2	6	0,7195	0,003146	0,437 %
3	6	0,7280	0,001265	0,174 %
4	6	0,7188	0,000408	0,057 %
5	6	0,7220	0,000632	0,088 %
6	6	0,7157	0,001033	0,144 %
Total	36	0,7202	0,004473	
Resumen Estadístico para Absorbancia 750 nm				
Días	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coeficiente de Variación
1	6	1,116	0,0022	0,196 %
2	6	1,116	0,0005	0,049 %
3	6	1,133	0,0009	0,079 %
4	6	1,133	0,0006	0,056 %
5	6	1,133	0,0008	0,072 %
6	6	1,133	0,0006	0,056 %
Total	36	1,127	0,0080	

**ANEXO N° 13**  
**RESUMEN ESTADÍSTICO DEL CONTROL DE LA LINEALIDAD**  
**FOTOMÉTRICA**

Tabla N° 78: Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 445 nm para seis días.

Variable dependiente: Días 1 a 6	$Y_{\text{Día 1}} = -0,0006982 + 0,992802 * X$					
Variable independiente: X	$Y_{\text{Día 2}} = 0,00091795 + 0,994829 * X$					
Referencia Lineal:	$Y_{\text{Día 3}} = 0,00564697 + 0,993614 * X$					
Y = a + b*X	$Y_{\text{Día 4}} = 0,00222740 + 0,993514 * X$					
	$Y_{\text{Día 5}} = 0,00263607 + 0,993007 * X$					
	$Y_{\text{Día 6}} = 0,00388225 + 0,992702 * X$					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Coefficiente de Correlación r =	0,999993	0,999998	0,999996	0,999996	0,999997	0,999994
R-cuadrada =	99,9986%	99,9996%	99,9991%	99,9992%	99,9994%	99,9989%
R-cuadrado (ajustado para g.l.) =	99,9979%	99,9994%	99,9987%	99,9987%	99,9992%	99,9983%
Error estándar del estimado =	0,00261	0,00145	0,00206	0,00203	0,00166	0,00236
Error absoluto promedio =	0,00153	0,00085	0,00129	0,00131	0,00095	0,00147

Tabla N° 79: Coeficientes de regresión simple obtenidos por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 445 nm para seis días.

Día 1	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	-0,000698183	0,00248025	-0,281497	0,8048
Pendiente	0,992802	0,00261784	379,245	0,0000
Día 2	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,000917949	0,00138207	0,664182	0,5749
Pendiente	0,994829	0,00145874	681,977	0,0000
Día 3	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00564697	0,0019663	2,87187	0,1029
Pendiente	0,993614	0,00207538	478,763	0,0000
Día 4	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,0022274	0,00193449	1,15142	0,3686
Pendiente	0,993514	0,0020418	486,587	0,0000
Día 5	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00263607	0,0015763	1,67232	0,2364
Pendiente	0,993007	0,00166374	596,853	0,0000



Tabla N° 79: Continuación

Día 6	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00388225	0,0022472	1,72759	0,2262
Pendiente	0,992702	0,00237186	418,533	0,0000

Tabla N° 80: Registro de resultados de absorbancia a 445 nm para el control de linealidad fotométrica por 6 días.

Parámetros /Días	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
b <sub>0</sub>	-0,000698	0,000918	0,005647	0,002227	0,002636	0,003882
b <sub>1</sub>	0,992802	0,994829	0,993614	0,993514	0,993007	0,992702
S <sub>a</sub>	0,002480	0,001382	0,001966	0,001934	0,001576	0,002247
S <sub>b</sub>	0,002618	0,001459	0,002075	0,002042	0,001664	0,002372
r	0,999993	0,999998	0,999996	0,999996	0,999997	0,999994

Tabla N° 81: Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 445 nm para seis días de análisis.

Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 1	Modelo	0,977811	1	0,977811	143826,95	0,0000
	Residuo	0,0000136	2	0,0000068		
	Total (Corr.)	0,977825	3			
	<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Día 2	Modelo	0,981809	1	0,981809	465092,77	0,0000
	Residuo	0,0000042	2	0,0000021		
	Total (Corr.)	0,981813	3			
	<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Día 3	Modelo	0,979412	1	0,979412	229213,83	0,0000
	Residuo	0,0000085	2	0,0000043		
	Total (Corr.)	0,979421	3			
	<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Día 4	Modelo	0,979216	1	0,979216	236766,62	0,0000
	Residuo	0,0000083	2	0,0000041		
	Total (Corr.)	0,979224	3			

Tabla N° 81: Continuación

	<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Día 5	Modelo	0,978217	1	0,978217	356232,97	0,0000
	Residuo	0,0000055	2	0,0000027		
	Total (Corr.)	0,978222	3			
	<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Día 6	Modelo	0,977615	1	0,977615	175169,74	0,0000
	Residuo	0,0000112	2	0,0000056		
	Total (Corr.)	0,977626	3			

Tabla N° 82: Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 525 nm para seis días.

Variable dependiente: Días 1 a 6 Variable independiente: X Referencia Lineal: Y = a + b*X	$Y_{\text{Día 1}} = -0,0007017 + 0,982346 * X$ $Y_{\text{Día 2}} = 0,0039541 + 0,981522 * X$ $Y_{\text{Día 3}} = 0,0119158 + 0,979371 * X$ $Y_{\text{Día 4}} = 0,0074935 + 0,978959 * X$ $Y_{\text{Día 5}} = 0,0048613 + 0,981324 * X$ $Y_{\text{Día 6}} = 0,0070379 + 0,981731 * X$					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Coefficiente de Correlación r =	0,99999	0,99999	0,99998	0,999997	0,99999	0,99999
R-cuadrada =	99,997%	99,998%	99,997%	99,999%	99,998%	99,998%
R-cuadrado (ajustado para g.l.) =	99,996%	99,997%	99,996%	99,999%	99,997%	99,997%
Error estándar del estimado =	0,00339	0,00266	0,00353	0,00174	0,00302	0,00298
Error absoluto promedio =	0,00238	0,00184	0,00248	0,00121	0,00208	0,00210



Tabla N° 85: Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 525 nm para seis días de análisis.

Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 1	Modelo	0,934371	1	0,934371	81340,29	0,0000
	Residuo	0,000023	2	0,000011		
	Total (Corr.)	0,934394	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 2	Modelo	0,932804	1	0,932804	131932,09	0,0000
	Residuo	0,000014	2	0,000007		
	Total (Corr.)	0,932818	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 3	Modelo	0,92872	1	0,92872	74478,71	0,0000
	Residuo	0,000025	2	0,000012		
	Total (Corr.)	0,928745	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 4	Modelo	0,927939	1	0,927939	305590,58	0,0000
	Residuo	0,0000061	2	0,000003		
	Total (Corr.)	0,927945	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 5	Modelo	0,932428	1	0,932428	101988,70	0,0000
	Residuo	0,0000183	2	0,000009		
	Total (Corr.)	0,932447	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 6	Modelo	0,933201	1	0,933201	104719,32	0,0000
	Residuo	0,000018	2	0,000009		
	Total (Corr.)	0,933219	3			

Tabla N° 86: Resumen de la regresión simple por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 690 nm para seis días.

Variable dependiente: Días 1 a 6 Variable independiente: X Referencia Lineal: $Y = a + b \cdot X$	$Y_{\text{día 1}} = 0,0007374 + 0,999701 \cdot X$ $Y_{\text{día 2}} = 0,0043217 + 0,999595 \cdot X$ $Y_{\text{día 3}} = 0,0097528 + 1,000630 \cdot X$ $Y_{\text{día 4}} = 0,0042455 + 1,000010 \cdot X$ $Y_{\text{día 5}} = 0,0060753 + 0,999905 \cdot X$ $Y_{\text{día 6}} = 0,0043217 + 0,999595 \cdot X$					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Coefficiente de Correlación $r =$	0,99999	0,99999	0,99998	0,99999	0,99999	0,99999
R-cuadrada =	99,999%	99,999%	99,997%	99,999%	99,997%	99,999%
R-cuadrado (ajustado para g.l.) =	99,990%	99,998%	99,996%	99,999%	99,996%	99,998%
Error estándar del estimado =	0,00211	0,00263	0,00349	0,00154	0,00360	0,00263
Error absoluto promedio =	0,00120	0,00148	0,00197	0,00088	0,00199	0,00148

Tabla N° 87: Coeficientes de regresión simple obtenidos por el método de mínimos cuadrados para los resultados de absorbancia a 690 nm para seis días.

Día 1	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,000737	0,00200214	0,368285	0,7480
Pendiente	0,999701	0,00214403	466,271	0,0000
Día 2	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00432166	0,00249491	1,73219	0,2254
Pendiente	0,999595	0,00267173	374,138	0,0000
Día 3	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00975278	0,00331053	2,94599	0,0985
Pendiente	1,00063	0,00354516	282,252	0,0000
Día 4	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,0042455	0,00146157	2,90474	0,1009
Pendiente	1,00001	0,00156516	638,916	0,0000

Tabla N° 87: Continuación

Día 5	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,0060753	0,00341892	1,77696	0,2176
Pendiente	0,999905	0,00366123	273,106	0,0000
Día 6	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	0,00432166	0,00249491	1,73219	0,2254
Pendiente	0,999595	0,00267173	374,138	0,0000

Tabla N° 88: Registro de resultados de absorbancia a 690 nm para el control de linealidad fotométrica por 6 días.

Parámetros /Días	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
b <sub>0</sub>	0,000737	0,004322	0,009753	0,004245	0,006075	0,004322
b <sub>1</sub>	0,999701	0,999595	1,000630	1,000010	0,999905	0,999595
S <sub>a</sub>	0,002002	0,002495	0,003310	0,001462	0,003419	0,002495
S <sub>b</sub>	0,002144	0,002672	0,003545	0,001565	0,003661	0,002672
r	0,99999	0,99999	0,99998	0,99999	0,99999	0,99999

Tabla N°89: Resultado del análisis de varianza para los resultados de linealidad a 690 nm para seis días de análisis.

Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 1	Modelo	0,968909	1	0,968909	217408,63	0,0000
	Residuo	0,0000089	2	0,00000446		
	Total (Corr.)	0,968918	3			
Día 2	Modelo	0,968703	1	0,968703	139979,02	0,0000
	Residuo	0,0000138	2	0,00000692		
	Total (Corr.)	0,968717	3			
Día 3	Modelo	0,970704	1	0,970704	79666,07	0,0000
	Residuo	0,0000244	2	0,0000122		
	Total (Corr.)	0,970729	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P

Tabla N° 89: Continuación

Día 4	Modelo	0,9695	1	0,9695	408213,21	0,0000
	Residuo	0,00000475	2	0,0000024		
	Total (Corr.)	0,969505	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 5	Modelo	0,969305	1	0,969305	74586,97	0,0000
	Residuo	0,000026	2	0,000013		
	Total (Corr.)	0,969331	3			
Análisis de Varianza	Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Día 6	Modelo	0,968703	1	0,968703	139979,02	0,0000
	Residuo	0,000014	2	0,0000069		
	Total (Corr.)	0,968717	3			