

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



**DETERMINACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO EN METODOS
ANALITICOS ESPECTROFOTOMETRICOS ESPECIFICOS PARA
CUANTIFICAR FOSFORO Y POTASIO EN SUELOS UTILIZADOS PARA
CULTIVO DE CAFE.**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
LUZ MARINA LOPEZ.**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA.**

ABRIL 2009.

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSC. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSC. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION.

COORDINADORA GENERAL:

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORAS DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS

FARMACEUTICOS, COSMETICOS, Y VETERINARIOS:

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez.

MSc. Rocío Ruano de Sandoval.

DOCENTES DIRECTORES:

Licda. Reina Elizabeth Funes de Cruz.

Lic. José Danilo Ramírez Martínez.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios Todopoderoso y a todos los ángeles que me protegieron, guiaron e iluminaron para la culminación de uno de mis primeros éxitos profesionales y que continuarán haciéndolo en cada meta que he establecido para el aquí y ahora de mi vida.

Agradezco infinitamente al personal del Laboratorio de Servicios Analíticos de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE) por su apoyo y disposición para la realización de este trabajo de investigación.

A mis docentes directores Licda. Reina Elizabeth Funes de Cruz y el Lic. José Danilo Ramírez Martínez, por asumir este reto con mucha responsabilidad, apoyo y orientación a lo largo de la realización de este proyecto; cultivando en mí un aprecio incondicional, por el cual los recordaré siempre en mí ser interior.

Asimismo agradezco de manera especial a Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras e Ing. Jorge Medrano por brindarme sus conocimientos que contribuyeron a despejar todas las interrogantes en sus áreas de desempeño.

A todas las personas que demostraron ser mis verdaderos amigos por su apoyo total MIL GRACIAS!!!

DEDICATORIA.

Especialmente dedico unos de mis primeros triunfos profesionales a mi adorable tío Moyo, porque tú fuistes y serás el mejor padre que pude haber tenido aquí en la materialización de tu espíritu; sé que ahora te has convertido en uno de mis Ángeles guardianes que me iluminará y guiará siempre, mil gracias por tu inmenso amor hacia mí. TE QUERRÉ SIEMPRE.

A uno de los pilares fundamentales de mi vida que han contribuido a un enriquecimiento integral, moral e intelectual; lo cual es mi mami Luz María López, mi abuelita Marina Fischman, mi querido hermanito Carlos Manuel y mis tías (Elvia y Edith); porque una vez más han demostrado su gran amor, apoyándome en todas las áreas para poder culminar un peldaño más de mis múltiples objetivos profesionales.

Y en un futuro a mis lindos, encantadores, inteligentes y brillantes hijos (Mis añorados gemelitos); los mega adoraré.

Luz Marina López. (Minina)

“La gloria del mundo es pasajera, y no debemos medir nuestra vida por ella; sino por nuestra decisión de cumplir nuestra leyenda personal, de creer en nuestras utopías y de luchar por nuestros sueños”.

Paulo Coelho.

INDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	XV
Capítulo II	
2.0 Objetivos	18
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	21
3.1 Definición y composición del suelo	21
3.2 Fundamento del Método Carolina del Norte (Mehlich I) para determinación de fósforo y potasio en suelos	24
3.3 Fundamento de Espectrofotometría	24
3.4 Fundamento de Fotometría de Llama	26
3.5 Validación de Métodos Analíticos	27
3.6 Documentación	29
3.7 Parámetros de Desempeño	31

Capítulo IV

4.0	Diseño Metodológico	37
4.1	Tipo de estudio	37
4.2	Investigación bibliográfica	37
4.3	Investigación de campo	38
4.4	Parte experimental	38
4.5	Parámetros para la realización de la validación de fósforo y potasio en suelos para el cultivo del café	42

Capítulo V

5.0	Resultados y Discusión de Resultados	51
-----	--------------------------------------	----

Capítulo VI

6.0	Conclusiones	89
-----	--------------	----

Capítulo VII

7.0	Recomendaciones	93
-----	-----------------	----

Bibliografía

Glosario

Anexos

INDICE DE ANEXOS.

ANEXO N°

1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.
2. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.
3. FOTOGRAFIAS DE EQUIPOS.
4. FORMATO DE RESULTADOS PARA DETERMINAR FÓSFORO Y POTASIO EN SUELOS.
5. TABLA ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT n GRADOS DE LIBERTAD.

SIMBOLOS Y ABREVIATURAS.

r_2	Coeficiente de Correlación.
CV	Coeficiente de Variación.
S	Desviación Estándar.
S (m)	Desviación Estándar de la pendiente.
$S_{Y/X}$	Desviación Estándar de Regresión.
K	Factor de Cobertura.
$\mu_{(c)}$	Incertidumbre combinada.
$\mu_{(cu)}$	Incertidumbre de cucharilla medidora.
$\mu_{(J.F)}$	Incertidumbre de jeringa de filtrado.
$\mu_{(J.S)}$	Incertidumbre de jeringa de solución de color.
$\mu_{(J.A)}$	Incertidumbre de jeringa de agua.
$\mu_{(St)}$	Incertidumbre de Solución Estándar.
U (St. F)	Incertidumbre de Solución Estándar de Fosfato de Potasio.
U (St. K)	Incertidumbre de Solución Estándar de Potasio.
$\mu_{(S.E)}$	Incertidumbre de Solución Extractora.
$\mu_{(B 10)}$	Incertidumbre Estándar de bureta de 10 mL.
$\mu_{(B 25)}$	Incertidumbre Estándar de bureta de 25 mL.
$\mu_{(B 100)}$	Incertidumbre Estándar de bureta de 100 mL.
$\mu_{(Re)}$	Incertidumbre Estándar por resolución.
IC (m)	Intervalo de Confianza para la pendiente.
LC	Límite de Cuantificación.
LR	Línea de Regresión.

\geq	Mayor o Igual.
\leq	Menor o Igual.
mL	Mililitros.
mg/ L	Miligramos por Litro.
n	Número de repeticiones o réplicas.
B _o	Ordenada al Origen.
ppm	Partes por millón.
m	Pendiente.
\bar{Y}	Promedio Aritmético.
Σ	Sumatoria.
Σy	Sumatoria de datos obtenidos de los ensayos.

RESUMEN.

El presente trabajo detalla el proceso establecido para la determinación de parámetros de desempeño: Exactitud, precisión (repetibilidad), linealidad, límite de cuantificación e Incertidumbre, preparatorios para validar los métodos analíticos espectrofotométricos específicos para la cuantificación de Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo de café, que se llevaron a cabo bajo las condiciones del Laboratorio de Servicios Analíticos de la Fundación para Investigaciones del Café (PROCAFE) y de esta manera proporcionar mayor credibilidad de los análisis que brindan a sus clientes en dicha institución.

El análisis de suelo es trascendental porque nos permite conocer el estado de fertilidad de los suelos de fincas cafetaleras en El Salvador. Es por ello que el presente estudio demuestra por medio de los resultados obtenidos de la parte experimental, los parámetros de desempeño en los métodos para la determinación de Fósforo con el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible Marca Milton Roy 20 D , una precisión con un coeficiente de variación de 3.030%, exactitud con un coeficiente de variación de 3.89%, linealidad con un coeficiente de correlación de 1.1070, límite de cuantificación con un coeficiente de correlación de 0.9790 y un intervalo de confianza de la pendiente de 0.02 a 0.04, incertidumbre combinada de 1.1216 y el Fotómetro de Llama Marca Cole Palmer 2655 , con una precisión con un coeficiente de variación de 1.500%, exactitud con un coeficiente de variación de 1.96%,

linealidad con un coeficiente de correlación de 0.9813, límite de cuantificación con un coeficiente de correlación de 1.0000 y un intervalo de confianza de la pendiente de 5.14 a 5.47, incertidumbre combinada de 2.8939; indicando que cumplen con los criterios de aceptación de los parámetros de desempeño establecidos para la Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001 y la GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

De esta manera se efectuó el desarrollo de parámetros de desempeño para que en un futuro se realice la validación de dichos métodos de análisis cumpliendo así una exigencia establecida ante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), bajo por la Norma Salvadoreña ISO/ IEC 17025:2005.

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN.

I. INTRODUCCIÓN.

El análisis de suelos es importante porque a través de él, se conocen las diferentes cantidades de nutrimentos necesarios para la planta del café, el cual sirve de base para establecer un programa de fertilización, dando como resultado la minimización de los costos de producción de este cultivo. Por lo que el caficultor necesita conocer el estado de fertilidad del suelo de su finca por medio del análisis químico de los mismos, que descubren los elementos minerales que se encuentran disponibles en el suelo.

Por tal razón el presente trabajo investigativo permitirá demostrar por medio de estudios experimentales manifestados científicamente, que los métodos analíticos tiene las características de desempeño adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Para ello se realizará la determinación de parámetros de desempeño como:

Precisión, exactitud, linealidad, límite de cuantificación e incertidumbre de el método tanto del Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D en la determinación de fósforo y la determinación de potasio a través de el Fotómetro de llama marca Cole Palmer 2655, en suelos para el cultivo de café; el cual se llevará a cabo bajo las condiciones de Laboratorio de Servicios Analíticos de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE), con la finalidad que los resultados esperados en esta investigación cumplan con los criterios de aceptación establecidos por los parámetros de desempeño que se analizarán y que contribuirán a una

posterior validación de los métodos espectrofotométricos específicos para determinar fósforo y potasio en suelo cafetalero para poder acreditarlos ante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) bajo la Norma Salvadoreña ISO/EC 17025:2005, ya que el Laboratorio de Servicios Analíticos se encuentra preparando las condiciones necesarias para realizar este proceso, el cual aumentará la confiabilidad de los resultados de los análisis que brindan a los usuarios de estos servicios y a la población Salvadoreña en general, ya que es el único laboratorio especializado en el análisis de suelos cafetaleros a nivel nacional.

CAPITULO II

OBJETIVOS.

2.0 OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

2.2.1 Seleccionar muestras de suelos cafetaleros para realizar la determinación parámetros de desempeño.

2.2.2 Cuantificar el fósforo por medio del Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D, y potasio por el Fotómetro de Llama marca Cole Palmer 2655 en muestras de suelos utilizados para el cultivo del café.

2.2.3 Establecer los parámetros de desempeño: Exactitud, precisión (repetibilidad), linealidad, límite de cuantificación e incertidumbre, preparatorios para validar los métodos analíticos espectrofotométricos específicos.

2.2.4 Identificar las ventajas y limitaciones en el empleo del Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D, y

el Fotómetro de llama marca Cole Palmer 2655 en la determinación de Fósforo y Potasio respectivamente.

2.2.5 Elaborar una propuesta de formato para Protocolo de Parámetros de Desempeño hacia una posterior validación de métodos espectrofotométricos específicos para determinar fósforo y potasio, en muestras de suelos para cultivo de café.
(Tolerancia)

CAPITULO III
MARCO TEÓRICO.

3.0 MARCO TEÓRICO.

3.1 DEFINICIÓN Y COMPOSICIÓN DEL SUELO. ⁽¹¹⁾

El suelo es una capa constituida de materiales orgánicos y minerales que cubren la corteza terrestre, en la cual las plantas desarrollan sus raíces y toman los nutrimentos que le son necesarios para su sostenimiento.

En la historia del suelo comienza con la acumulación de materiales rocosos meteorizados y finamente divididos, luego aparecen los organismos vivos y con ellos se inicia la fase constructiva de los procesos de formación; así mismo, el suelo está formado por substancias en estado sólido, líquido y gaseoso, como también de componentes minerales.

3.1.2 CONSTITUYENTES MINERALES DEL SUELO. ⁽¹²⁾

Según los conocimientos actuales, son 14 elementos que deben considerarse de primera categoría porque las plantas los absorben en cantidades relativamente grandes; ellos son: carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, magnesio, hierro, silicio, aluminio, cloro y sodio.

No obstante, es de gran importancia destacar el nitrógeno, fósforo y potasio, porque forman parte en lo que concierne a la fertilidad del suelo, aunque la producción natural de estos compuestos solubles es la única forma en que sean fácilmente aprovechables por la planta y se realiza

muy lentamente en el suelo, como las plantas en crecimientos los absorben en cantidades grandes, se agotan con facilidad. La pérdida anual de estos elementos, originada por las cosechas, es mucho más grave y sabemos que cuando el nitrógeno, fósforo y potasio no se reintegran regularmente al suelo mediante la aplicación de fertilizantes naturales o artificiales, tarde o temprano aparecen síntomas de deficiencia en las plantas.

El fósforo elemental (P) no se encuentra en forma libre en la naturaleza, porque su elevada facilidad de oxidación no lo permite, pero es común encontrar el fósforo en forma de fosfatos en el suelo, ya que es uno de los nutrimentos vegetales esenciales; que para su aprovechamiento es evidente el valor de pH en el suelo ya que de él depende la existencia de diferentes fosfatos y para su fijación en el suelo se realiza por bases cálcicas, óxidos de hierro y aluminio o por minerales arcillosos . El fosfato dicálcico, es el más aprovechable, existe sólo entre pH 6.0 y 7.8; por debajo de pH 6.0 aumenta la solubilidad de los compuestos de hierro y aluminio, formándose fosfatos de hierro y aluminio insolubles, y por arriba de pH 7.5 se forma el fosfato tricálcico que también es prácticamente insoluble.

Para cafetos en producción, el fósforo ocupa el quinto lugar en el requerimiento para el cultivo, pero la necesidad de la presencia de este elemento en el suelo se determina mediante un muestreo de suelo con

su respectivo análisis químico y foliar como complemento. La movilidad del fósforo en el suelo es bien mínima, debido a las interacciones que existen con el hierro, aluminio y manganeso en suelos ácidos; con el calcio en suelos neutros y alcalinos. Este elemento contribuye enormemente a la formación de raíces en los primeros estados de crecimiento del cafeto, forma parte de moléculas que transportan energía en la planta, es necesario para la división celular y los procesos fotosintéticos, como en la asimilación de nitrógeno. ^(6.11)

El potasio (K) nunca se encuentra libre en su forma elemental, sino más bien al estado de combinación en los granitos, y en la mayoría de rocas ígneas, calculándose que constituye el 3% de la litosfera o corteza terrestre. Pero este elemento es de gran importancia en el proceso de crecimiento y maduración del cultivo del café, debido a que influye en los rendimientos, calidad del grano, resistencia a plagas y sequía. El nivel de Potasio en el suelo debe ser de un 5%, en relación con 65% de calcio y 18% de magnesio, dentro de la capacidad de intercambio catiónico total, CICT (capacidad productiva del suelo).

Este elemento participa en el tamaño, forma, color, fragancia y sabor del café, también, al endurecimiento de los tejidos de sostén y resistencia a enfermedades. ⁽⁶⁾

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO CAROLINA DEL NORTE (MEHLICH I) PARA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO Y POTASIO EN SUELOS. ⁽⁷⁾

La extracción del fósforo y potasio con una solución de carolina del Norte o Mehlich I, consiste en que la solución hace las funciones de la raíz para extraer dichos elementos del suelo.

Los métodos de cuantificación para el fósforo es con el empleo del azul molíbdico y por medio de un espectrofotómetro ultravioleta visible, marca Milton Roy 20 D, leyéndose dicho elemento a una longitud de onda de 680 nm; mientras que el potasio se cuantifica en un fotómetro de llama, marca Cole Palmer 2655, obteniéndose en ambas determinaciones su concentración en ppm.

3.3 FUNDAMENTO DE ESPECTROFOTOMETRÍA. ^(7, 9,14)

La espectrofotometría proviene del sol, es decir la radiación ultravioleta visible utiliza haces del espectro electromagnético y radiaciones del campo UV de 80 a 400 nm (UV cercano), principalmente de 200 a 400 nm, emplea haces de luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar las soluciones en la región ultravioleta y visible del espectro.

Es el método de análisis óptico más utilizado en las investigaciones y se refiere a la medida de cantidades relativas de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda. Se emplea el

espectrofotómetro que es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia; constituido para operar en la región visible del espectro, son por lo general sencillos aparatos de un solo haz, con monocromador de rejilla, de costo no muy elevado, resistentes y fácilmente trasladables de un lugar a otro. Su eficiencia, resolución, sensibilidad y rango espectral, dependerán de las variables de diseño y de la selección de los componentes ópticos que lo conforman.

El espectrofotómetro Espectronic 20 D, marca Milton Roy, es un espectrofotómetro de haz único con una longitud de onda de 340 nm a 950 nm, con un espectral nominal de la ranura de ancho de 20 nm y es constante a lo largo de toda la gama. La longitud básica es de 340 nm a 600 nm, se emplea a 950 nm mediante la adición de un filtro de infrarrojos y la evolución del fototubo.

En relación a la espectrofotometría se tiene una ley muy importante que es la ecuación de Beer- Lambert: a mayor cantidad de moléculas presentes en la muestra, mayor será la cantidad de energía absorbida por sus electrones. **Abs = K C L**

Abs: absorbancia.

K: coeficiente de extinción molar.

C: concentración.

L: distancia que viaja la luz a través de la muestra. (Normalmente es de 1 cm). La celda promedio, que guarda la muestra, tiene dimensiones internas de un centímetro (L).

La ecuación describe una línea recta, donde el origen es cero y a su vez relaciona la concentración, absorbancia de la muestra y el factor de calibración que relaciona la concentración y la absorbancia de los estándares.

Dentro de los usos de la espectrofotometría, podemos mencionar:

- Análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones desconocidas en laboratorios de investigación.
- Estandarización de colores de diversos materiales, como plásticos y pinturas.
- Detección de niveles de contaminación en aire, agua y suelo.
- Determinación de elementos presentes en agua y suelos.
- Evaluación de impurezas en alimentos y reactivos.

3.4 FUNDAMENTO DE FOTOMETRÍA DE LLAMA. (7,14)

También llamado Fotometría de Emisión de Llama, es una técnica de emisión que utiliza una llama como fuente de excitación con una temperatura comprendida entre 1700 y 3200⁰C (como las de acetileno/aire o acetileno/oxígeno) y un fotodetector electrónico como dispositivo de medida.

Los fotómetros de llama son aparatos más sencillos y precisos que permiten la determinación de elementos alcalinos, alcalino-terreos,

tierras raras, cromo, manganeso, litio, potasio, entre otros. Se trata principalmente de un método de análisis cuantitativo y se utiliza en análisis rutinario de suelos, aguas, productos metalúrgicos, cementos, vidrios, materiales biológicos.

Es importante tener en cuenta que un fotómetro de llama bien calibrado, la principal fuente de variaciones proviene de la presión del gas y aire con la cual se ésta trabajando.

3.5 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ⁽⁴⁾

Frecuentemente, los laboratorios tanto del sector químico, industrial, farmacéutico y ambiental, se manifiestan con la necesidad de implementar sistemas que aseguren la calidad establecida bajo normas internacionales, con el propósito de lograr los niveles más elevados de confiabilidad, tanto en los materiales, equipos, metodologías y en la calidad de los datos que se generan de ellos.

Con respecto a lo anterior, uno de los elementos primordiales de calidad en los laboratorios es el empleo de métodos analíticos validados, por tal razón los procesos de validación consisten en un aporte de pruebas, estudios o ensayos con la finalidad de asegurar que el proceso es confiable y capaz de cumplir ciertos requisitos establecidos. Por tal motivo, la realización de la validación de métodos analíticos en El Salvador es necesario cumplir la Norma Salvadoreña ISO/IEC 17025: 2005 que contiene los requisitos generales para la competencia de

laboratorios de prueba y calibración; que define la validación como la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico propuesto.

Así mismo, la validación de un método analítico establece por medio de estudios experimentales una base de datos que demuestren científicamente que el procedimiento analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas; para ello en esta investigación se validará el método para la determinación de fósforo y potasio en suelos para el cultivo de café; los cuales se llevan a cabo bajo las condiciones de Laboratorio de Servicios Analíticos de PROCAFE.

Los parámetros de desempeño que se exigen en la validación de métodos analíticos son: ⁽⁵⁾

Tabla N° 1: Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos.

1	Precisión/ Adecuabilidad del Sistema
2	Exactitud y Repetibilidad
3	Precisión del Método o Precisión Intermedia
4	Estabilidad Analítica de la Muestra
5	Linealidad del Sistema
6	Linealidad del método
7	Robustez
8	Tolerancia
9	Especificidad
10	Limite de Detección
11	Limite de Cuantificación

Los parámetros de desempeño a determinar serán cinco debido a que el método que se emplea es oficial ⁽²⁾, tales medidas son la exactitud, precisión (repetibilidad), linealidad, límite de cuantificación e incertidumbre del método empleado pues son los obligatorios según la Guía de validación de Métodos Analíticos ⁽⁵⁾, de esta manera cumplir un requisito establecido por esta Norma Salvadoreña ISO/ 17025: 2005, y así poder llevar a cabo la acreditación de estos análisis, que es un procedimiento que otorga un reconocimiento formal al laboratorio competente para efectuar dichos ensayos específicos.

En los siguientes apartados enfatizan tanto la documentación necesaria, como también los parámetros de desempeño para realizar la validación de métodos analíticos para la determinación de fósforo y potasio en suelos para el cultivo del café.

3.6 DOCUMENTACION. ⁽⁵⁾

Cuando se realiza la validación de métodos analíticos, debe ser respaldado por una serie de actividades que son sustentados por los siguientes documentos:

- 3.6.1 PROTOCOLO.** El contenido del protocolo de validación debe contener un grupo de especificaciones necesarias como:
- Título.
 - Propósito u Objetivo.
 - Responsabilidades.

- Plan de prueba. En este se deben describir los parámetros de desempeño que permitan verificar la aplicación analítica deseada.
- Criterios de aceptación para cada parámetro.
- Formato de registro de resultados.

3.6.2 REPORTE: El contenido mínimo de un reporte de validación debe abarcar los siguiente datos:

- Título.
- Resultados.
- Análisis de resultados.
- Confrontación contra los criterios de aceptación.
- Conclusión.

Cuando se documentan todos los registros analíticos es interesante realizarlo de una manera cuidadosa, debido a que esta documentación es muy crítica, por lo cual debe estar ordenada y disponible, bajo la responsabilidad del área de calidad.

Es considerable, enfatizar que para iniciar las determinaciones metodológicas se debe supervisar la calificación del equipo, por ende su calibración y comprobación del método.

3.7 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO.

3.7.1 EXACTITUD. ⁽⁸⁾

La exactitud o veracidad, nos expresa la cercanía entre el valor que es aceptado, ya sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interna), como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o estándar de una farmacopea) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces.

Este parámetro se puede realizar tomando en cuenta tres aspectos significativos:

- Cuando se aplica un procedimiento analítico a un analito de pureza conocida; por ejemplo un material de referencia.
- Por comparación de resultados de métodos analíticos propuestos con un segundo procedimiento bien caracterizado, exactitud en la cual esta establecida o definida.
- La exactitud puede ser inferida una vez que la precisión, linealidad y especificidad han sido establecida.

Experimentalmente, la exactitud debe ser establecida a través del rango especificado en el procedimiento analítico, ser evaluado usando un mínimo de tres niveles de concentración, cada uno por triplicado y ser reportado sus resultados como porcentaje de recobro de la cantidad conocida añadida (material de referencia) o la diferencia entre el resultado promedio del ensayo y el valor aceptado.

3.7.2 PRECISIÓN. ⁽⁸⁾

La precisión nos expresa la cercanía de coincidencia entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea, bajo condiciones establecidas. Cuando se este determinando este parámetro, de preferencia se debería usar muestras homogéneas y auténticas, así mismo puede considerarse la precisión en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

Generalmente la precisión se expresa como: desviación estándar, varianza o coeficiente de variación de una serie de mediciones; en cuanto al intervalo de confianza debería ser reportado para cada tipo de precisión.

Cuando nos referimos a la repetibilidad o repetitividad, se trata de la precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo; mientras que la precisión intermedia expresa variaciones dentro del laboratorio, analistas, equipos y días. La reproducibilidad se lleva a cabo entre laboratorios como resultado de estudios interlaboratorial diseñados para estandarizar la metodología que se emplee.

3.7.3 LINEALIDAD. ⁽⁸⁾

La linealidad nos ayuda a una mayor disposición del procedimiento analítico en obtener resultados de prueba que sean directamente proporcional a la concentración de analito en la muestra.

Este parámetro puede ser evaluado por inspección visual del gráfico señal vrs concentración del analito y por métodos estadísticos apropiados como:

- Regresión lineal ($y = mx + b$).
- Coeficiente de correlación, y- intercepto (b), pendiente (m).

Se requieren como mínimo cinco niveles de concentraciones para su realización.

3.7.4 LIMITE DE CUANTIFICACIÓN. ⁽⁸⁾

Al hablar de límite de cuantificación nos referimos a la cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable

Dentro de los requerimientos generales para su determinación tenemos:

- Calificación y Calibración de instrumentos.
- Métodos documentados.
- Referencias estándar confiables.
- Analistas calificados.
- Integridad de la muestra.
- Control de cambios.

3.7.5 INCERTIDUMBRE. ⁽³⁾

La incertidumbre es de gran trascendencia, debido a que es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que sensatamente podrían ser atribuidos a la cantidad a medir, por tal razón la Guía EURACHEM / CITAC, detalla la evaluación de

esta medida en el análisis químico cuantitativo basada en la propuesta tomada de la ISO en la “ Guía para la Expresión de la Incertidumbre en la Medición ”, está es aplicada a todos los niveles de exactitud, en todos los campos – desde el análisis de rutina hasta la investigación básica, métodos empíricos y racionales.

Algunas áreas comunes en donde las mediciones químicas son necesarias, y en donde los principios de esta Guía son aplicados son:

- Control y aseguramiento de la calidad en la industria de la manufactura.
- Ensayos para el cumplimiento reglamentario.
- Ensayos utilizando un método acordado.
- Calibración de patrones y equipos.
- Mediciones asociadas con el desarrollo y certificación de materiales de referencia.
- Investigación y desarrollo.

Desde que mediciones formales del aseguramiento de la calidad han sido introducidas por los laboratorios, es valioso implementar la estimación de la incertidumbre en la medición, en áreas como:

- Evaluación del efecto de las fuentes identificadas de incertidumbre sobre los resultados analíticos para un solo método implementado como un procedimiento de medición definido en un solo laboratorio.
- Resultados de procedimientos definidos del control interno de la calidad en un solo laboratorio.

- Resultados de pruebas de intercambio usadas para validar métodos de análisis en varios laboratorios competentes.
- Resultados de esquemas de pruebas usados para evaluar la competencia analítica de los laboratorios.

Se realizan estas mediciones o evaluaciones del rendimiento de procedimientos, ventaja efectiva de la calidad y las mediciones de control que están presentes para asegurar que el proceso de medición es estable y controlado.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO.

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO.

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

Es Analítico, experimental debido a que consiste en la determinación de parámetros de desempeño de métodos analíticos espectrofotométricos en muestras de suelo. Y con respecto al tiempo, transversal, porque el área demostrativa de los métodos para cuantificar fósforo y potasio se realizó en el período de Agosto a Septiembre del año 2008.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA:

Se realizó la obtención de la información en las bibliotecas de las universidades:

Universidad de El Salvador:

- Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia,
- Félix Choussy de la Facultad de Ingeniería Agronómica,
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.

Universidad Nueva San Salvador:

- Facultad de Ciencias de la Salud.
- Escuela de Química y Farmacia.

Internet.

Así como también de las instituciones públicas y privadas, tal como: Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE) y Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG).

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO:

Se efectuó este estudio porque interesa evaluar la eficacia de los métodos empleados en la determinación de fósforo y potasio en muestras de suelos para el cultivo de café; comprobándolo por medio de una serie de parámetros de desempeño para analizar el desarrollo de los procedimientos de dichas determinaciones.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL:

Protocolo de análisis de fósforo y potasio en muestras de suelos.⁽²⁾

En el presente estudio se realizaron 38 ensayos para determinar fósforo y potasio en suelos, con muestras de suelos que se utilizan para controles internos en el Laboratorio de Servicios Analíticos de PROCAFE, proveniente de la finca Concepción situada en Ciudad Barrios, Departamento de San Miguel.

- Materiales, reactivos y equipo. (Ver anexo N°1)

Los procedimientos a desarrollar son:

4.4.1 Procedimiento de extracción de fósforo y potasio en suelos.

4.4.2 Cuantificación de fósforo y de potasio, disponibles en el suelo.

4.4.1 PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE FÓSFORO Y POTASIO: ⁽²⁾

- Medir 5 mL de suelo con una cucharilla volumétrica y colocar en recipientes plásticos.
- Enjuagar con la solución extractora. (Ver anexo N° 2)
- Adicionar 25 mL de solución extractora.

- Agitar por 5 minutos en un agitador de vaivén, tapando los recipientes plásticos.
- Filtrar en papel Whatman N° 1.
- El filtrado obtenido se utiliza para la determinación de Fósforo (P), Potasio (K).
- Llevar un blanco, en la institución se utiliza la Solución extractora de Carolina del Norte. (Ver anexo N° 2)

NOTA: Cuando es tomada la muestra de suelo a analizar, es medida en cucharillas volumétricas ya calibradas por fabricación por lo que se obvia el empleo de equipos volumétricos.

4.4.2 CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO Y POTASIO, DISPONIBLES EN EL SUELO. (2)

- Con un diluidor-dispensador, (previamente lavado y extraído sus burbujas con la solución a utilizar), tomar 1 mL tanto de los estándares como del filtrado de las muestras.
- Adicionar 9.0 mL de agua y 10.0 mL de solución de color de trabajo (Ver anexo N° 2). Dejar reposar mínimo una hora, mientras se desarrolla el color para efectuar las lecturas tanto de Fósforo como de Potasio.

Se emplearon dos equipos para determinar estos nutrimentos, los cuales son:

- Fotómetro de Llama (Determinación de Potasio).
- Espectrofotómetro Ultravioleta Visible (Determinación de Fósforo), método Colorimétrico con azul fosfomolibdico.

4.4.3 AJUSTE DEL FOTÓMETRO DE LLAMA MARCA COLE PALMER 2655-00 PARA DETERMINACIÓN DE POTASIO: (7)

- Encender el regulador.
- Abrir la llave del gas propano.
- Encender el equipo y comprobar que se encuentre en el filtro de Potasio.
- Dejar calentar el equipo por un aproximado de 10 minutos.
- Colocar sensibilidad gruesa con la perilla adecuada en el rango en donde se encuentran las concentraciones de las muestras.
- Establecer el estándar cero con la perilla del blanco y leer el blanco como referencia.
- Ajustar el estándar de 20 ppm de Potasio con la perilla de sensibilidad fina.
- Leer el estándar de 40 ppm de Potasio y anotar los parámetros anteriores en las hojas de trabajo para cada grupo de muestras.
- Leer la muestra, cada 9 muestras se lee un estándar para revisar el ajuste.
- Cerrar la llave de gas propano hasta que la llama se extinga.

- Eliminar el exceso de agua.
- Apagar el switch de encendido.

4.4.4 AJUSTE DEL ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA VISIBLE MARCA MILTON ROY PARA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO: (7)

- Precalentar el equipo mínimo 15 minutos.
- Establecer la longitud de onda a 680 nm.
- Fijar el 0% de Transmitancia. (Ver anexo N° 3).
- Pasar a Modo absorbancia para que registre ese dato.
- Colocar la celda del sistema intercambiador de solución con solución extractora y fijar a 100% de Transmitancia.
- Colocar el estándar cero en la celda y fijar cero de Absorbancia.
- Lavar la celda entre cada lectura con la solución a leer, procediendo a la correspondiente medición de la muestra.
- Poner nuevamente la solución extractora como referencia y anotar la lectura. (Ver anexo N° 4)
- Leer el estándar de 50 ppm de Fósforo en suelo, cuya absorbancia promedio es de 0.264 unidades de Absorbancia y leer el estándar de 100 ppm.

Nota: Las lecturas de absorbancias de muestras controles para determinación de fósforo y potasio, deben escribirse en hojas con formatos especiales para dichos elementos. Inspeccionar los resultados. (Ver anexo N° 4).

Terminado el análisis, introducir las unidades de absorbancia del estándar y resultados de muestras analizadas, a la computadora. Posteriormente chequear los datos digitados.

4.5 PARÁMETROS PARA LA REALIZACIÓN DE LA VALIDACIÓN DE FÓSFORO Y POTASIO EN SUELOS PARA EL CULTIVO DEL CAFÉ. ⁽⁵⁾

Para la determinación de fósforo y potasio en suelos para el cultivo del café, se utilizan métodos normalizados según los Métodos de Análisis utilizados en el Laboratorio del Departamento de Suelos ⁽²⁾, por lo tanto se puede validar con 5 parámetros:

Exactitud y repetibilidad, Precisión, Linealidad, Límite de Cuantificación e Incertidumbre, para sus determinaciones las muestras se trataron todas juntas en un mismo día y se dejaron reposar por 10 días para que las soluciones adicionadas se absorbieran en su totalidad, luego se determinó cada parámetro en un mismo día y mismo analista.

4.5.1 PRECISIÓN DEL SISTEMA: ⁽⁵⁾

Para esta determinación un analista preparó un sextuplicado de muestras de suelo, se llevó a cabo por el procedimiento del Método de Carolina del Norte para determinar Fósforo y Potasio, y se realizó tal como se efectúa en dicha institución.

Posteriormente se leyeron las absorbancias en la determinación de Fósforo y las partes por millón en la determinación de Potasio.

Con los datos obtenidos se calculó la desviación estándar (S), y el coeficiente de variación (CV) para cada elemento determinado.

- Criterio de Aceptación: ⁽¹⁾

El CV debe ser menor o igual a 3.88 %.

Fórmulas: ⁽⁵⁾

- Desviación Estándar:

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}} \quad \text{ECUACIÓN (1)}$$

- Coeficiente de Variación:

$$CV = \frac{S}{y} \times 100 \quad \text{ECUACIÓN (2)}$$

4.5.2 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO: ⁽⁵⁾

Para determinar la exactitud y repetibilidad del método, un mismo analista en un mismo día, preparó seis muestras de suelo a las que se les adicionó 5.0 mL de una cantidad conocida del analito, lo necesario para obtener una concentración de 33.5 mg/L para determinar Fósforo y 42.3 mg/L para determinar Potasio.

Se desarrolló la extracción de los elementos por el método de Carolina del Norte, luego se procedió a tomar las lecturas de absorbancia en la determinación de Fósforo y de partes por millón en la determinación de Potasio, respectivamente.

La exactitud del método se expresa como porcentaje de recobro.

Estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar la curva de calibración para determinar Fósforo, cuyas concentraciones son de 5, 10, 15, 20, 25 mg/L (ppm) y para Potasio sus concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm).

Se calculó el promedio aritmético (\bar{y}), desviación estándar (S), coeficiente de variación (CV) y el porcentaje de recobro.

- Criterio de Aceptación: ⁽¹⁾

El coeficiente de variación del porcentaje de recobro $\leq 5.81\%$.

Fórmulas: ⁽⁵⁾

- Promedio Aritmético:

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{n} \quad \text{ECUACIÓN (3)}$$

- Porcentaje de Recobro:

$$\%Re\ cobro = \frac{Concentración\ calculada}{Concentración\ original} \times 100$$

ECUACIÓN (4)

4.5.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO: ⁽⁵⁾

La linealidad del método se determinó analizando muestras de suelo con soluciones estándares con concentraciones de 10, 20, 33.5 mg / L (ppm) para la determinación de Fósforo y 12.62, 25.25, 42.30 mg / L (ppm) para determinar Potasio, durante un día de trabajo.

Estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar la curva de calibración cuyas concentraciones son de 5, 10, 15, 20, 25 mg/ L (ppm) para determinar Fósforo y para Potasio sus concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm), y se prosiguió a desarrollar la extracción de los elementos por el método de Carolina del Norte.

Con los datos obtenidos se calculó la línea de regresión (LR) y el coeficiente de correlación (r^2) por la estimación de los mínimos cuadrados, a partir de las lecturas de absorbancias para determinar Fósforo y partes por millón para determinar Potasio; con el promedio de tres replicas para cada concentración en las dos determinaciones respectiva, en un día de trabajo.

- Criterio de aceptación: (5)

El coeficiente de correlación debe ser mayor o igual a 0.98%.

Fórmulas: (5)

- Pendiente:

$$m = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad n = \text{Número de réplicas}$$

ECUACIÓN (5)

- Ordenada al Origen:

$$b_0 = \frac{\sum y - m \sum x}{n}$$

ECUACIÓN (6)

- Coeficiente de Correlación:

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)} \quad \text{ECUACIÓN (7)}$$

4.5.4 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: (5)

El límite de cuantificación se determinó por la preparación de cinco soluciones estándares de concentración de 10, 20, 30, 40, 80 mg / L (ppm) para la determinación de Potasio, estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar su curva de calibración cuyas concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm); simultáneamente se preparó 5 blancos.

Para la determinación Fósforo se preparó cinco soluciones estándares de concentración de 5, 10, 15, 20, 25 mg / L (ppm), estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar su curva de calibración cuyas concentraciones son 5, 10, 15, 20, 25 mg/ L (ppm); simultáneamente se preparó 5 blancos. Posteriormente se prosiguió a desarrollar el método de extracción de Carolina del Norte.

Con los datos obtenidos de las partes por millón para determinar Potasio y las lecturas de las absorbancias en la determinación de Fósforo, se calculó el valor de la pendiente (m), coeficiente de correlación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente IC (m). Para los blancos, calcular el límite de cuantificación con la siguiente ecuación:

$$LC = \frac{10 \times S}{m} \quad \text{ECUACIÓN (11)}$$

- Criterio de aceptación: ⁽⁵⁾

El coeficiente de correlación debe ser mayor o igual a 0.98, y el intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el cero.

Fórmulas: ⁽⁵⁾

- Intervalo de confianza para la pendiente:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - m \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}} \quad \text{ECUACIÓN (8)}$$

$$S_m = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}} \quad \text{ECUACIÓN (9)}$$

$$IC(m) = m \pm t_{0,975,n-2} S_m \quad \text{ECUACIÓN (10)}$$

Donde: $t_{0,975}$ = *t de student*. (Anexo N° 18)

4.5.5 INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO: Pasos comprendidos para su realización: ⁽⁵⁾

4.5.5.1 Especificación de el mesurando para cada método.

Se refiere a un informe claro y sin confusiones de lo que se esta midiendo, con una expresión cuantitativa refiriendo el valor del mesurando a los parámetros a los cuales éste depende.

4.5.5.2 Identificación de las fuentes de incertidumbre.

Es necesario hacer una lista de las principales fuentes de incertidumbre, con el objetivo de estar completamente claros acerca de que medidas se debe considerar.

4.5.5.3 Cuantificación de las fuentes de incertidumbre.

Se realiza una vez que se han identificado las fuentes de incertidumbre, luego se evalúan las incertidumbres que provienen de cada fuente individual y finalmente se determina directamente la incertidumbre combinada.

Fórmulas: (13)

- Incertidumbre estándar:

$$u(xi) = \frac{sx}{\sqrt{n}} \quad \text{ECUACIÓN (12)}$$

Donde: $u(xi) = \text{Incertidumbre estándar.}$

$sx = \text{Desviación estándar obtenida de los datos experimentales.}$

$n = \text{mediciones.}$

- Incertidumbre estándar por resolución de los instrumentos y/o equipo:

$$u(Re) = \text{Lectura Mínima} / \sqrt{12} \quad \text{ECUACIÓN (13)}$$

- Incertidumbre de las soluciones estándares:

$$u(S_t) = U / k \quad \text{ECUACIÓN (14)}$$

Donde: U = Incertidumbre del estándar declarado en el certificado.

k = Factor de cobertura.

4.5.5.4 Cálculo la incertidumbre combinada.

Se llevará a cabo por medio de datos obtenidos específicamente del método, así como también del equipo empleado; por medio de métodos estadísticos adecuados.

Fórmula: (13)

$$u_c = \sqrt{\sum [C_i \cdot u(x_i)]^2} \quad \text{ECUACIÓN (15)}$$

Donde: C_i = Coeficiente de sensibilidad.

u(x_i) = Incertidumbre estándar.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El avance de la parte experimental del presente trabajo se fundamenta en un criterio trascendental, el cual es la determinación de propiedades analíticas del método para la determinación de fósforo por Espectrofotometría Ultravioleta Visible y la determinación de potasio por Fotometría de Llama en suelo para el cultivo del café, y es por esta razón, que se presentan los resultados experimentales obtenidos durante la determinación de parámetros de desempeño: Exactitud, precisión (repetibilidad), linealidad, límite de cuantificación e incertidumbre, para una posterior validación de métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar fósforo y potasio en suelos. Para los cálculos de los parámetros se utilizó un software de Microsoft Office Excel 2003. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

5.1 DETERMINACIÓN DE PRECISIÓN DEL MÉTODO.

TABLA N° 1 RESULTADOS DE PRECISIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE POTASIO.

Precisión en la determinación de Potasio	
Nº. RÉPLICA	Concentración ppm (x)
1	156
2	153
3	150
4	152
5	150
6	151
Promedio	152
S	2.2804
CV	1.500%

TABLA N° 2 RESULTADOS DE PRECISIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO.

Precisión en la determinación de Fósforo.	
Nº. RÉPLICA	Absorbancia (x)
1	0.016
2	0.017
3	0.017
4	0.016
5	0.017
6	0.016
Promedio	0.0165
S	0.0005
CV	3.030%

Las tablas N° 1 y N° 2 muestran los resultados obtenidos de la precisión de la determinación de Potasio y Fósforo en un sextuplicado de muestras de suelo, en el mismo día y con el mismo analista.

Se muestra el promedio aritmético calculado (\bar{y}), la Desviación Estándar (S), y el Coeficiente de Variación (CV) de las respuestas analíticas para la determinación de Fósforo y Potasio.

- Para Potasio se determinó de la siguiente forma:

$$n = 6 \qquad \bar{y} = 152$$

$$S = \sqrt{\frac{6(138650) - (912)^2}{6(6-1)}} = 2.2804$$

$$CV = (2.2804/152) \times 100 = 1.500\%$$

- Para Fósforo se determinó así:

$$n = 6 \qquad \bar{y} = 0.0165$$

$$S = \sqrt{\frac{6(0.001635) - (0.099)^2}{6(6-1)}} = 0.0005$$

$$CV = (0.0005 / 0.0165) \times 100 = 3.030\%$$

En el parámetro de la precisión de las determinaciones de Potasio y Fósforo, la Desviación Estándar (S), se calculó por la ecuación (1) y el Coeficiente de Variación (CV) por la ecuación (2).

Para la determinación de Potasio se reflejó un Coeficiente de Variación de 1.500% y para la determinación de Fósforo un CV de 3.030% indicando que los métodos son precisos.

De esta manera se cumple el criterio de aceptación determinado por Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001, que para este parámetro establece que $CV \leq 3.88\%$ (Coeficiente de variación menor o igual a 3.88%).

5.2 DETERMINACIÓN DE EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.

TABLA N° 3 RESULTADOS DE EXACTITUD Y REPETIBILIDAD EN LA DETERMINACIÓN DE POTASIO.

Exactitud de Potasio			
N°. RÉPLICA	Concentración Original (ppm)	Concentración Calculada ppm (x)	% de Recobro (y)
1	156	185	118.59%
2	153	182	118.95%
3	150	186	124.00%
4	152	180	118.42%
5	150	185	123.33%
6	151	182	120.53%
Promedio			120.64%
S			2.3713
CV			1.96%

La tabla N° 3 muestra los resultados de un sextuplicado de muestras de suelo con una cantidad conocida de estándar hasta obtener una concentración de 42.3 mg/L para determinar Potasio, en el mismo día y con el mismo analista.

Se muestra el promedio aritmético (\bar{y}), la Desviación Estándar (S), el Coeficiente de Variación (CV), el Porcentaje de Recobro de las respuestas analíticas para la determinación de Potasio.

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Promedio Aritmético:

$$\sum y = 723.82 \quad n = 6 \quad \bar{y} = \frac{723.82}{6} = 120.64$$

- Desviación Estándar:

$$y^2 = 87349.76 \quad S = \sqrt{\frac{6(87349.76) - (723.82)^2}{6(6-1)}} = 2.3713$$

- Coeficiente de Variación:

$$CV = (2.3713/120.64) \times 100 = 1.96\%$$

- Porcentaje de Recobro:

$$\%Recobro = \frac{185 \text{ ppm}}{156 \text{ ppm}} \times 100 = 118.59$$

TABLA N° 4 RESULTADOS DE EXACTITUD Y REPETIBILIDAD EN LA DETERMINACION DE FÓSFORO.

Exactitud de Fósforo					
N° RÉPLICA	Absorbancia Original	Concentración Original (ppm)	Absorbancia Calculada (x)	Concentración Calculada (ppm) (x)	% de Recobro (y)
1	0.016	0.595	0.044	1.636	275.00%
2	0.017	0.632	0.045	1.673	264.71%
3	0.017	0.632	0.044	1.636	258.82%
4	0.016	0.595	0.045	1.673	281.25%
5	0.017	0.632	0.043	1.598	252.94%
6	0.016	0.595	0.043	1.598	268.75%
Promedio					266.91%
S					10.3916
CV					3.89%

La tabla N° 4 muestra los resultados de un sextuplicado de muestras de suelo con una cantidad conocida de estándar hasta obtener una concentración de 33.5 mg/L para determinar Fósforo, en el mismo día y con el mismo analista.

Se observa la concentración original y la concentración calculada a partir de las absorbancias obtenidas por el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D, tomando como referencia la absorbancia de una de las soluciones estándares, el cual fué de 20 ppm con una absorbancia de 0.538.

También se visualiza el promedio aritmético (\bar{y}), la Desviación Estándar (S), el Coeficiente de Variación (CV), el porcentaje de recobro de las respuestas analíticas para la determinación de Fósforo.

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Promedio Aritmético:

$$\sum y = 1601.47 \quad n = 6 \quad \bar{y} = \frac{1601.47}{6} = 266.91$$

- Desviación Estándar:

$$y^2 = 427990.95 \quad S = \sqrt{\frac{6(427990.95) - (1601.47)^2}{6(6-1)}} = 10.3916$$

- Coeficiente de Variación:

$$CV = (10.3916 / 266.91) \times 100 = 3.89\%$$

- Porcentaje de Recobro:

$$\% \text{Recobro} = \frac{1.636 \text{ ppm}}{0.595 \text{ ppm}} \times 100 = 275.00$$

En exactitud y repetibilidad del método, el promedio aritmético (\bar{y}) se calculó por la ecuación (3), la Desviación Estándar (S), obtenida por la ecuación (1), el Coeficiente de Variación (CV) por la ecuación (2), el porcentaje de recobro (IC (μ)) conforme la ecuación (4).

Para la determinación de Potasio se reflejó un Coeficiente de Variación de 1.96% y para la determinación de Fósforo un CV de 3.89% demostrando que los métodos son exactos y repetibles.

De esta manera se cumple el criterio de aceptación determinado por Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001, que para este parámetro establece que $CV \leq 5.81\%$.

5.3 DETERMINACIÓN DE LINEALIDAD DE MÉTODO.

TABLA N° 5 RESULTADOS DE CONCENTRACIONES PARA LAS TRES RÉPLICAS DE ESTÁNDARES DE POTASIO.

Linealidad de Potasio				
Concentración mg/L (ppm)	ppm (1)	ppm (2)	ppm (3)	ppm promedio
12.62	156	159	160	158.33
25.25	166	178	174	172.67
42.30	187	184	183	184.67
				0.8771
				148.4509
				0.9813

La tabla N° 5 muestra los resultados de la linealidad del método que se determinó analizando muestras de suelo con soluciones estándares con concentraciones de 12.62, 25.25, 42.30 mg / L (ppm) para determinar Potasio, en un día de trabajo.

Se calculó la línea de regresión por el método de mínimos cuadrados, a partir de las partes de millón (ppm) promedio de las tres replicas versus la concentración en mg/L (ppm), el coeficiente de correlación (r^2), se calculó a través de la ecuación (7).

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Pendiente (m): $n = 3$ $x = \text{Concentracion mg / L}$

$y = \text{ppm promedio}$

$$\sum x = 80.17 \qquad \sum x^2 = 2586.1169$$

$$\sum y = 515.67 \qquad \sum xy = 14169.5831$$

$$m = \frac{3(14169.5831) - (80.17)(515.67)}{3(2586.1169) - (80.17)^2} = 0.8771$$

- Ordenada al Origen:

$$b_0 = \frac{515.67 - 0.8771(80.17)}{3} = 148.4509$$

- Coeficiente de Correlación: $\sum y^2 = 88986.3267$

$$r^2 = \frac{(3(14169.5831) - (80.17)(515.67))^2}{(3(2586.1169) - (80.17)^2)(3(88986.3267) - (515.67)^2)} = 0.9813$$

-Línea de Regresión (LR):

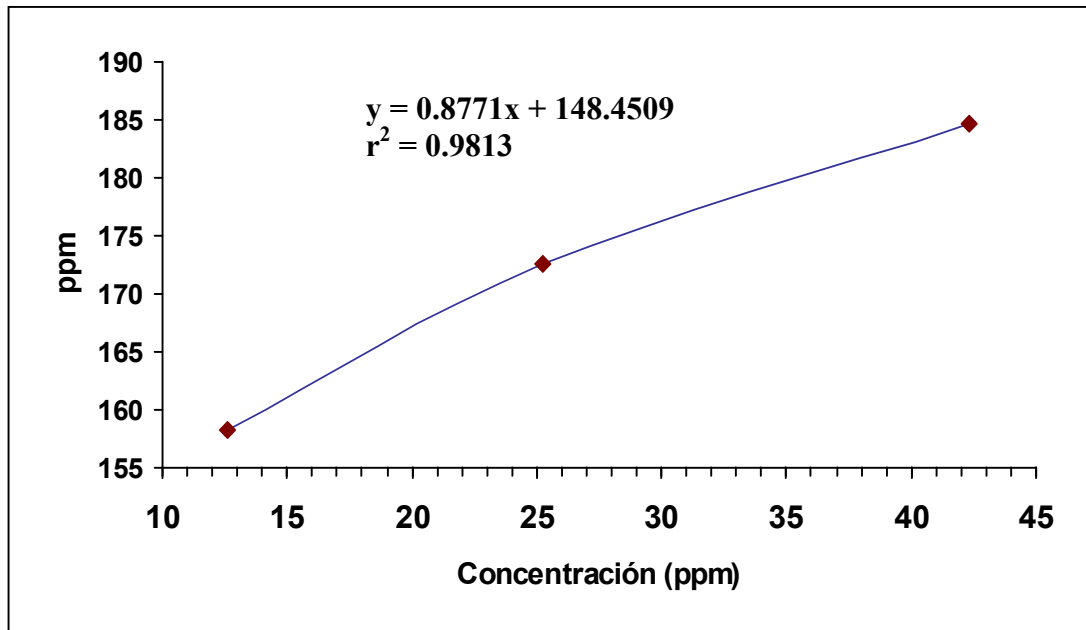


Fig. N° 1 Gráfica que representa los resultados promedios obtenidos en la tabla N° 5 de la prueba de linealidad donde establece la relación existente entre las partes por millón (ppm) versus la concentración durante el análisis de potasio en muestras de suelo por Fotometría de Llama.

TABLA N° 6 RESULTADOS DE CONCENTRACIONES PARA LAS TRES RÉPLICAS DE ESTÁNDARES DE FÓSFORO.

Linealidad de Fósforo				
Concentración mg/L (ppm)	Absorbancia (1)	Absorbancia (2)	Absorbancia (3)	Absorbancia promedio
10.00	0.020	0.019	0.020	0.020
20.00	0.031	0.030	0.031	0.031
33.50	0.042	0.040	0.045	0.042
			m	0.0009
			B₀	0.0359
			r²	1.1070

La tabla N° 6 muestra los resultados de la linealidad del método que se determinó analizando muestras de suelo con soluciones estándares con concentraciones de 10.00, 20.00, 33.50 mg / L (ppm) para determinar Fósforo, en un día de trabajo.

Se calculó la línea de regresión (LR) por el método de mínimos cuadrados, a partir de las absorbancias promedio de las tres replicas versus la concentración en mg/L (ppm), el coeficiente de correlación (r^2) que se calculó a través de la ecuación (7).

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Pendiente (m): $n = 3$ $x = \text{Concentracion mg / L}$

$y = \text{Absorbancias promedio}$

$$\sum x = 63.50 \qquad \sum x^2 = 1622.25$$

$$\sum y = 0.093 \qquad \sum xy = 2.227$$

$$m = \frac{3(2.227) - (63.50)(0.093)}{3(1622.25) - (63.50)^2} = 0.0009$$

- Ordenada al Origen:

$$b_0 = \frac{0.093 - 0.009(63.50)}{3} = 0.0359$$

- Coeficiente de Correlación: $\sum y^2 = 0.0031$

$$r^2 = \frac{(3(2.227) - (63.50)(0.093))^2}{(3(1622.25) - (63.50)^2)(3(0.0031) - (0.0093)^2)} = 1.1070$$

-Línea de Regresión (LR):

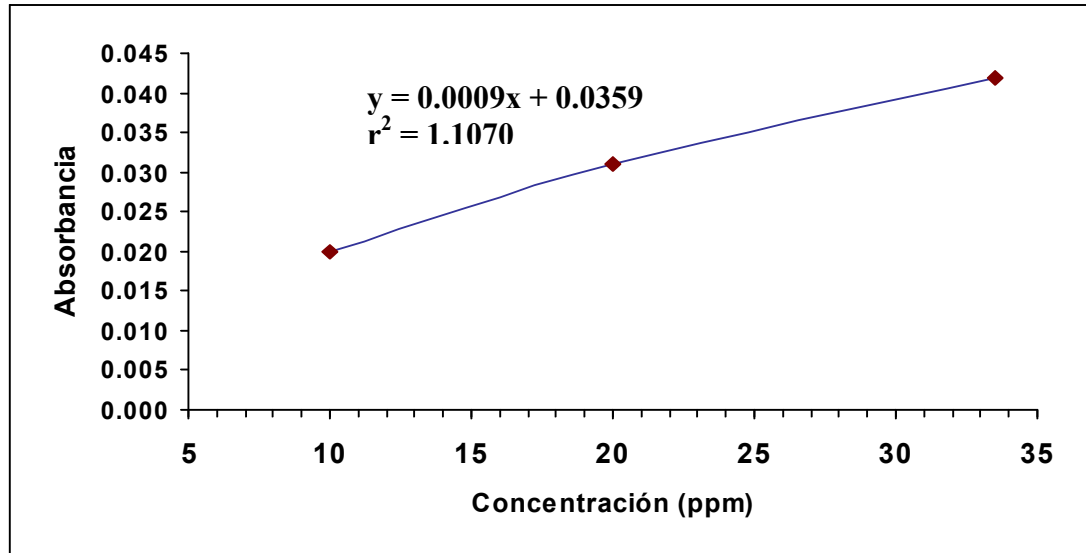


Fig. N° 2 Gráfica que representa los resultados promedios obtenidos en la tabla N° 6 de la prueba de linealidad donde establece la relación existente entre las absorbancias versus la concentración durante el análisis de fósforo en muestras de suelo por Espectrofotometría Ultravioleta Visible.

En la linealidad de la determinación de Potasio y Fósforo, el coeficiente de correlación (r^2) se calculó por medio de la ecuación (7). Para la determinación de Potasio se reflejó un valor de 0.9813. Mostrando que existe correlación entre la concentración del analito (x) y las partes por millón promedio (y), en el rango de trabajo de 12.62 a 42.30 mg /L (ppm). Más sin embargo, en la determinación de Fósforo se observó que su coeficiente de correlación fué 1.1070, indicando que existe reciprocidad entre la concentración del analito (x) y las absorbancias promedio (y), en el rango de trabajo de 10.00 a 33.50 mg /L (ppm).

De esta manera se cumple el criterio de aceptación determinado por la GUIA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, que para este parámetro establece que $r^2 \geq 0.98$.

5.4 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN. (LC)

Se realizó el Límite de cuantificación utilizando soluciones estándares de 10, 20, 30, 40,80 mg/ L (ppm) para determinar potasio y soluciones estándares de 5, 10, 15, 20, 25 mg / L (ppm) para determinar fósforo. Simultáneamente se utilizaron 5 blancos para cada determinación, los cuales contenían suelo sin adición de ninguna solución estándar.

TABLA N° 7 RESULTADOS DE LIMITE DE CUANTIFICACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE POTASIO.

ANALITO DE POTASIO mg /L	ppm
10.00	51
20.00	100
30.00	155
40.00	204
80.00	421
m r ² IC(m)	5.3027
	1.0000
	Rango 5.14 a 5.47

TABLA N° 8 RESULTADOS DE BLANCOS DE POTASIO.

BLANCOS	ppm (Y)
1	152
2	154
3	155
4	156
5	160
Sm	2.9665
LC	5.5942

La tabla N° 7 muestran los resultados de limite de cuantificación que se determinó por la preparación de cinco soluciones estándares de concentración de 10, 20, 30, 40, 80 mg / L (ppm) y simultáneamente se preparó 5 blancos cuyas ppm se observan en la tabla N° 8.

Con los datos obtenidos de las partes por millón para determinar Potasio se calculó el valor de la pendiente (m), coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente IC (m). Para los blancos, calcular el límite de cuantificación (LC).

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Pendiente (m) : $n = 5$ $x = \text{Analito de Potasio}$

$y = \text{ppm}$

$$\sum x = 180$$

$$\sum x^2 = 9400$$

$$\sum y = 931$$

$$\sum xy = 49000$$

$$m = \frac{5(49000) - (180)(931)}{5(9400) - (180)^2} = 5.3027$$

- Coeficiente de Correlación: $\sum y^2 = 255483$

$$r^2 = \frac{(5(49000) - (180)(931))^2}{(5(9400) - (180)^2)(5(255483) - (931)^2)} = 1.0000$$

- Ordenada al Origen:

$$b_0 = \frac{931 - 5.3027(180)}{5} = -4.6972$$

- Intervalo de confianza para la pendiente:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{255483 - 5.3027(49000) - (-4.6972)(931)}{5-2}} = 2.8162$$

$$S_m = 2.8162 \sqrt{\frac{1}{9400 - \frac{(180)^2}{5}}} = 0.0521$$

$$IC(m) = 5.3027 \pm 3.182 (0.0521) = 5.14, 5.47$$

Para los blancos:

$$\sum y = 777 \quad \sum y^2 = 255483 \quad n = 5$$

- Desviación Estándar:

$$S = \sqrt{\frac{5(120781) - (777)^2}{5(5-1)}} = 2.9665$$

- Limite de cuantificación:

$$LC = \frac{10 \times 2.9665}{5.3027} = 5.5942$$

TABLA N° 9 RESULTADOS DE LIMITE DE CUANTIFICACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO.

ANALITO DE FÓSFORO mg /L	ABSORBANCIA
5.00	0.136
10.00	0.273
15.00	0.364
20.00	0.538
25.00	0.746
	0.0297
	0.9790
m r² IC(m)	Rango 0.02 a 0.04

TABLA N° 10 RESULTADOS DE BLANCOS DE FÓSFORO.

BLANCOS	ABSORBANCIAS (Y)
1	0.020
2	0.016
3	0.018
4	0.016
5	0.021
Sm	0.0023
LC	0.7678

La tabla N° 9 muestran los resultados de limite de cuantificación que se determinó por la preparación de cinco soluciones estándares de concentración de 5, 10,15, 20, 25 mg / L (ppm) y simultáneamente se preparó 5 blancos cuyas ppm se observan en la tabla N° 10.

Con los datos obtenidos de las absorbancias para determinar Fósforo se calculó el valor de la pendiente (m), coeficiente de determinación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente IC (m). Para los blancos, calcular el límite de cuantificación (LC).

A continuación se ejemplifica como se realizaron sus cálculos:

- Pendiente (m): $n = 5$ $x = \text{Analito de Fósforo}$

$y = \text{absorbancia}$

$$\sum x = 75 \qquad \sum x^2 = 1375$$

$$\sum y = 2.057 \qquad \sum xy = 38.28$$

$$m = \frac{5(38.28) - (75)(2.057)}{5(1375) - (75)^2} = 0.0297$$

- Coeficiente de Correlación: $\sum y^2 = 1.071481$

$$r^2 = \frac{(5(38.28) - (75)(2.057))^2}{(5(1375) - (75)^2)(5(1.071481) - (2.057)^2)} = 0.9790$$

- Ordenada al Origen:

$$b_0 = \frac{2.057 - 0.0297(75)}{5} = -0.0341$$

- Intervalo de confianza para la pendiente:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{1.071481 - (0.0297)(38.28) - (-0.0341)(2.057)}{5 - 2}} = 0.0396$$

$$S_m = 0.0396 \sqrt{\frac{1}{1375 - \frac{(75)^2}{5}}} = 0.0025$$

$$IC(m) = 0.0297 \pm 3.182 (0.0025) = 0.02, 0.04$$

Para los blancos:

$$\sum y = 0.091 \quad \sum y^2 = 0.001677 \quad n = 5$$

- Desviación Estándar:

$$S = \sqrt{\frac{5(0.001677) - (0.091)^2}{5(5-1)}} = 0.0023$$

- Limite de cuantificación:

$$LC = \frac{10 \times 0.0023}{0.0297} = 0.7678$$

El límite de cuantificación se evaluó con los datos obtenidos de las partes por millón para determinar Potasio y las lecturas de las absorbancias en la determinación de Fósforo, luego se calculó el valor de la pendiente (m); ecuación (5), coeficiente de correlación (r^2); ecuación (7), intervalo de confianza para la pendiente IC (m); ecuación (10). Para los blancos se calculó el límite de cuantificación con la ecuación (11).

Para la determinación de Potasio se mostró un coeficiente de correlación de 1.0000 y un intervalo de confianza de 5.14 a 5.47.

En la determinación de Fósforo se observó un coeficiente de correlación de 0.9790 y un intervalo de confianza de 0.02 a 0.04. De esta manera se cumple el criterio de aceptación determinado por la GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS que establece un $r^2 \geq 0.98$ y un intervalo de confianza para la pendiente que no debe incluir el cero.

5.5 INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO (μ).⁽³⁾

Pasos comprendidos para su realización:

5.5.1 Especificación de el mesurando para el método de Potasio.

Determinación de Potasio en suelo cafetalero.

5.5.2 Identificación de las fuentes de incertidumbre.

- Efectos atribuibles a los instrumentos de medición: cucharillas volumétricas, buretas, diluidor dispensador.
- Pureza de reactivos: Solución Estándar de Potasio, Solución Estándar de Fosfato de Potasio.
- Equipo utilizable: Fotómetro de Llama marca Cole Palmer 2655.

5.5.3 Cuantificación de las fuentes de incertidumbre (μ).⁽¹³⁾

- Incertidumbre estándar del método en la determinación de potasio:

Datos: $S = 2.2804$ $n = 6$

$$u_{(M.P)} = \frac{2.2804}{\sqrt{6}} = 0.9310$$

- Incertidumbre estándar de cucharilla:

TABLA N° 11 RESULTADOS DE INCERTIDUMBRE EN CUCHARILLA VOLUMÉTRICA.

REPETICIONES	MILITROS
1	4.6
2	4.6
3	4.8
4	4.7
5	4.8
6	4.8
7	5.0
8	4.8
9	4.4
10	4.8
PROMEDIO S u (cu)	4.73
	0.1636
	0.0517

Cálculo de la incertidumbre estándar de la cucharilla volumétrica:

$$\text{Datos: } n = 10 \quad \sum y = 47.3 \quad \sum y^2 = 223.97$$

$$S = \sqrt{\frac{10(223.97) - (47.3)^2}{10(10-1)}} = 0.1636$$

$$u (cu) = \frac{0.1636}{\sqrt{10}} = 0.0517$$

- Incertidumbre estándar de las buretas:

TABLA N° 12 RESULTADOS DE INCERTIDUMBRE EN BURETAS.

BURETAS (mL)	LECTURA MINIMA (mL)	INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR
10	0.10	0.0289
25	0.05	0.0144
100	0.20	0.0577

Cálculo de incertidumbre estándar de las buretas:

$$u_{(B_{10})} = \frac{0.1}{\sqrt{12}} = 0.0289$$

$$u_{(B_{25})} = \frac{0.05}{\sqrt{12}} = 0.0144$$

$$u_{(B_{100})} = \frac{0.2}{\sqrt{12}} = 0.0577$$

- Incertidumbre combinada de los diluidores dispensadores:

TABLA N° 13 RESULTADOS DE INCERTIDUMBRE EN DILUIDOR DISPENSADOR DE SOLUCIÓN EXTRACTORA.

DILUIDOR DISPENSADOR	LECTURA MINIMA (mL)	INCERTIDUMBRE ESTANDAR
Solución extractora	1.0	0.2887

Cálculo de incertidumbre en diluidor dispensador de solución extractora:

$$u_{(S.E)} = \frac{1.0}{\sqrt{12}} = 0.2887$$

TABLA N° 14 RESULTADOS DE INCERTIDUMBRE EN DILUIDOR DISPENSADOR DE FILTRADO (F) + SOLUCION DE COLOR (S) + AGUA (A). [F.S.A]

DILUIDOR DISPENSADOR DE FILTRADO + SOLUCION DE COLOR + AGUA		
DILUIDOR DISPENSADOR	LECTURA MINIMA (mL)	INCERTIDUMBRE ESTANDAR
Jeringa 1 F	0.1	0.0289
Jeringa 2 S	1.0	0.2887
Jeringa 3 A	1.0	0.2887
INCERTIDUMBRE COMBINADA		0.4093

Cálculo de incertidumbre de las jeringas del diluidor dispensador (F.S.A):

$$u_{(J.F)} = \frac{0.1}{\sqrt{12}} = 0.0289$$

$$u_{(J.S)} = \frac{1.0}{\sqrt{12}} = 0.2887$$

$$u_{(J.A)} = \frac{1.0}{\sqrt{12}} = 0.2887$$

Cálculo de incertidumbre combinada del diluidor dispensador (F.S.A):

Donde: $C_i = 1$ $C_i =$ Coeficiente de sensibilidad.

$$u_c(F.S.A) = \sqrt{(u_{(J.F)})^2 + (u_{(J.S)})^2 + (u_{(J.A)})^2}$$

$$u_c(F.S.A) = \sqrt{(0.0289)^2 + (0.2887)^2 + (0.2887)^2}$$

$$u_c(F.S.A) = 0.4093$$

- Incertidumbre de las soluciones estándares:

Datos: $U_{(St.F)} = 2 \text{ mg / L}$ $U_{(St.k)} = 5 \text{ mg / L}$ $k = 2$

Cálculo de incertidumbre de la solución estándar de fosfato de potasio:

$$u_{(St.F)} = \frac{2}{2} = 1.0000$$

Cálculo de incertidumbre de la solución estándar de potasio:

$$u_{(St.k)} = \frac{5}{2} = 2.5000$$

- Incertidumbre estándar de la resolución del Fotómetro de Llama:

Datos: *Lectura Minima* = 0.1

$$u_{(Re)} = \frac{0.1}{\sqrt{12}} = 0.0289$$

Cada fuente de incertidumbre de la determinación de Potasio en suelo se calculó por tres formulas las cuales son:

La incertidumbre estándar; ecuación (12), incertidumbre estándar de resolución; ecuación (13) y la incertidumbre de estándares; ecuación (14).

5.5.4 Cálculo de la incertidumbre combinada de la determinación de Potasio.

Donde: $C_i = 1$

$C_i =$ Coeficiente de sensibilidad.

$$u_c = \sqrt{(M.P)^2 + (Cu)^2 + (B_{10})^2 + (B_{25})^2 + (B_{100})^2 + (S.E)^2 + (F.S.A)^2 + (St.F)^2 + (St.K)^2 + (Re)^2}$$

$$u_c = \sqrt{(0.9310)^2 + (0.0517)^2 + (0.0289)^2 + (0.0144)^2 + (0.0577)^2 + (0.2887)^2 + (0.4093)^2 + (1.0000)^2 + (2.5000)^2 + (0.0289)^2}$$

$$u_c = 2.8939$$

La incertidumbre combinada de la determinación de Potasio se cálculo por la ecuación (15), reportando una incertidumbre de 2.8939 expresada con $k = 1$ con una probabilidad de aproximadamente el 68%.

5.6 Especificación de el mesurando para el método de Fósforo.

Determinación de Fósforo en suelo cafetalero.

5.6.1 Identificación de las fuentes de incertidumbre.

- Efectos atribuibles a los instrumentos de medición: cucharillas volumétricas, buretas, diluidor dispensador.
- Pureza de reactivos: Solución Estándar de Fosfato de Potasio.
- Equipo utilizado: Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D.

5.6.2 Cuantificación de las fuentes de la incertidumbre.

Las fuentes de incertidumbre del método para determinar el Fósforo en suelo son iguales a las fuentes de incertidumbre del método para determinar Potasio; solo que se presentan excepciones en cuanto ha:

- Incertidumbre estándar del método en la determinación de Fósforo:

Datos: $S = 0.0005$ $n = 6$

$$u_{(M.F)} = \frac{0.0005}{\sqrt{6}} = 0.0002$$

- Incertidumbre estándar de la solución estándar:

Datos: $U_{(St.F)} = 2 \text{ mg} / L$ $k = 2$

Cálculo de incertidumbre del estándar de fosfato de potasio:

$$u_{(St.F)} = \frac{2}{2} = 1.0000$$

- Incertidumbre estándar de la resolución del Espectrofotómetro Ultravioleta

Visible: Datos: *Lectura Minima* = 0.001

$$u(\text{Re}) = \frac{0.001}{\sqrt{12}} = 0.0003$$

Cada fuente de incertidumbre de la determinación de Fósforo en suelo se calculó por tres formulas las cuales son:

La incertidumbre estándar; ecuación (12), incertidumbre estándar de resolución; ecuación (13) y la incertidumbre de estándares; ecuación (14).

5.6.3 Cálculo de la incertidumbre combinada de la determinación de Fósforo.

Donde: $C_i = 1$

$C_i =$ Coeficiente de sensibilidad.

$$u_c = \sqrt{(M.F)^2 + (Cu)^2 + (B_{10})^2 + (B_{25})^2 + (B_{100})^2 + (S.E)^2 + (F.S.A)^2 + (St.F)^2 + (Re)^2}$$

$$u_c = \sqrt{(0.0002)^2 + (0.0517)^2 + (0.0289)^2 + (0.0144)^2 + (0.0577)^2 + (0.2887)^2 + (0.4093)^2 + (1.0000)^2 + (0.0003)^2}$$

$$u_c = 1.1216$$

La incertidumbre combinada de la determinación de Fósforo se calculó por la ecuación (15), reportando una incertidumbre de 1.1216 expresada con $k = 1$ con una probabilidad de aproximadamente el 68%.

5.7 Tabla resumen de evaluación de parámetros de desempeño.

Con los resultados obtenidos se puede observar que el desempeño de los parámetros son óptimos en la determinación de Fósforo y Potasio en suelos, según Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001 y la GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS 2002 del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos de México.

TABLA N° 15 TABLA RESUMEN DE EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO.

PARÁMETRO	CRITERIO	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
PRECISIÓN	$CV \leq 3.88 \%$	Fósforo un CV de 3.030% Potasio un CV de 1.500%	Establece y comprueba que los métodos son precisos, reportando resultados aceptables según el criterio de aceptación.
EXACTITUD	$CV \leq 5.81 \%$	Fósforo un CV de 3.89% Potasio un CV de 1.96%	Los métodos manifestaron que son exactos y repetibles, porque existe concordancia en sus resultados dentro del coeficiente de variación permitido.
LINEALIDAD	$r^2 \geq 0.98.$	Fósforo $r^2 = 1.1070.$ Potasio $r^2 = 0.9813.$	Las pruebas de Linealidad en la determinación de Fósforo y Potasio son satisfactorias de acuerdo a que cumplen lo establecido por el criterio de aceptación.
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	$r^2 \geq 0.98$ IC (m) No debe incluir el cero.	Fósforo $r^2 = 0.9790$ IC (m) = 0.02 a 0.04. Potasio $r^2 = 1.0000$ IC (m) = 5.14 a 5.47.	El Límite de Cuantificación en la determinación de Fósforo y Potasio demostraron que son sensibles y cuantificables, cumpliendo el criterio de aceptación.
INCERTIDUMBRE	$K= 1$ probabilidad aproximadamente 68%. $K= 2$ probabilidad aproximadamente 95%.	Fósforo $\mu_c = 1.1216$ Potasio $\mu_c = 2.8939$	La incertidumbre combinada en las determinaciones de Fósforo y Potasio se reportaron con un $k= 1$ con una probabilidad aproximada del 68%.

5.8 VENTAJAS Y LIMITACIONES DE EQUIPOS. ^(10,14)

5.8.1 VENTAJAS DEL ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA

VISIBLE MARCA MILTON ROY 20 D.

- Una de las ventajas del empleo del espectrofotómetro ultravioleta visible es su versatilidad, precisión, fácil manejo y bajo costo.
- Los espectrofotómetros tienen la gran ventaja que pueden variar continuamente la longitud de onda, haciendo posible el registro del espectro de absorción.
- Permiten la realización de estudios cuantitativos y cuantitativos de soluciones desconocidas en laboratorios de investigación.

5.8.2 LIMITACIONES DEL ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA

VISIBLE MARCA MILTON ROY 20 D.

- La espectrofotometría ultravioleta visible es la más limitada para la investigación de compuestos, lo cual deben presentar cualquier grupo de átomos que absorban la luz, independientemente se visualicen con o sin coloración.

- Por ser un equipo de un solo haz, que posee una celda de compartimiento limita el análisis de compuestos a realizarse en periodo de tiempo más corto.

5.8.3 VENTAJAS DEL FOTÓMETRO DE LLAMA MARCA COLE

PALMER 2655.

- La principal ventaja analítica del fotómetro de llama es su simplicidad, precisión y rapidez en su utilización.
- Es una técnica de emisión que emplea una llama como fuente de excitación y un fotodetector electrónico como dispositivo de medida.
- Es un método de análisis cuantitativo que permite la determinación de elementos alcalinos, siendo la mayor parte metales alcalinotérreos, y algún elemento metálico.

5.8.4 LIMITACIONES DEL FOTÓMETRO DE LLAMA MARCA COLE

PALMER 2655.

- La fuente de excitación es baja, por lo que no se alcanzan niveles de excitación muy elevados y numerosos.
- Su aplicación es limitada porque la llama permite excitar únicamente de 30 a 50 elementos, siendo este número, función del tipo de llama

utilizada y es necesario que la muestra este disuelta para su identificación.

- Una fuente crucial de variación en los resultados obtenidos por la utilización del fotómetro de llama es la proveniente de la presión del gas y aire con el que se esta trabajando.

5.9 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN: ⁽⁵⁾

A continuación se presenta el Protocolo de Parámetros de Desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para determinar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 1 DE: 9
		PÁGINA	
1.0	OBJETIVO		2
2.0	ALCANCE		2
3.0	RESPONSABILIDAD		2
4.0	PARÁMETROS DE DESEMPEÑO		2
4.1	PRECISIÓN DEL SISTEMA.		3
4.2	EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.		3
4.3	LINEALIDAD DEL MÉTODO.		4
4.4	LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.		4
4.5	INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO.		5
	4.5.1 Especificación de mesurando para cada método.		5
	4.5.2 Identificación de las fuentes de incertidumbre.		5
	4.5.3 Cuantificación de las fuentes de la incertidumbre.		6
	4.5.4 Cálculo de incertidumbre combinada.		7
5.0	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.		7
6.0	FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS.		9
ELABORADO POR:			
	_____	_____	
	NOMBRE DE ANALISTA 1	FIRMA	
REVISADO POR:			
	_____	_____	
	NOMBRE DE ANALISTA	FIRMA	
APROBADO POR:			
	_____	_____	
	NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO	FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 2 DE: 9
<p>1.0 OBJETIVO. Demostrar mediante este documento que los métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo de café, cumple con los requerimientos de Exactitud, Precisión (repetibilidad), Linealidad, Limite de Cuantificación e Incertidumbre, y que proporcionan resultados confiables dentro de los límites de aceptación establecidos.</p> <p>2.0 ALCANCE. Métodos de análisis que se utilizan para determinar Fósforo por el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D y Potasio por Fotometría de Llama marca Cole Palmer 2655 en suelos utilizados para cultivo de café.</p> <p>3.0 RESPONSABILIDADES. El trabajo experimental y la evaluación de los parámetros de desempeño para cuantificar Fósforo y Potasio en suelo cafetalero estará a cargo de: Luz Marina López. La supervisión y aprobación de la validación estará a cargo del Jefe de Laboratorio de Servicios Analíticos de PROCAFE.</p> <p>4.0 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO. Para la validación de los métodos se estudio los siguientes parámetros:</p> <p>4.1 Precisión del Sistema. 4.2 Exactitud y Repetibilidad del Método. 4.3 Linealidad del Método. 4.4 Limite de Cuantificación. 4.5 Incertidumbre del Método.</p>			
ELABORADO POR:		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR :		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 3 DE: 9
<p>4.1 Precisión del Sistema.</p> <p>Un analista preparó un sextuplicado de muestras de suelo, posteriormente se llevó a cabo por el procedimiento del Método de Carolina del Norte para determinar Fósforo y Potasio, y se realizó tal como se efectúa en dicha institución. Posteriormente se leyeron las absorbancias en la determinación de Fósforo y las partes por millón en la determinación de Potasio.</p> <p>Con los datos obtenidos se calculó la desviación estándar (S), y el coeficiente de variación (CV) para cada elemento determinado.</p> <p>4.2 Exactitud y Repetibilidad.</p> <p>Un mismo analista en un mismo día, preparó seis muestras de suelo a las que se les adicionó 5.0 mL de una cantidad conocida del analito, lo necesario para obtener una concentración de 33.5 mg/L para determinar Fósforo y 42.3 mg/L para determinar Potasio. Se desarrolló la extracción de los elementos por el método de Carolina del Norte, luego se procedió a tomar las lecturas de absorbancia en la determinación de Fósforo y de partes por millón en la determinación de Potasio, respectivamente. Estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar la curva de calibración para determinar Fósforo, cuyas concentraciones son de 5, 10, 15, 20, 25 mg/L (ppm) y para Potasio sus concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm).</p> <p>Se calculó el promedio aritmético (\bar{y}), desviación estándar (S), coeficiente de variación (CV) y el intervalo de confianza para la media poblacional del porcentaje de recobro (IC (μ)).</p>			
ELABORADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 4 DE: 9
<p>4.3 Linealidad del Método.</p> <p>Se determinó analizando muestras de suelo con soluciones estándares con concentraciones de 10, 20, 33.5 mg / L (ppm) para la determinación de Fósforo y 12.62, 25.25, 42.30 mg / L (ppm) para determinar Potasio, durante un día de trabajo. Estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar la curva de calibración cuyas concentraciones son de 5, 10, 15, 20, 25 mg/ L (ppm) para determinar Fósforo y para Potasio sus concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm), y se prosiguió a desarrollar la extracción de los elementos por el método de Carolina del Norte.</p> <p>Con los datos obtenidos se calculó la línea de regresión (LR) y el coeficiente de correlación (r^2) por la estimación de los mínimos cuadrados, a partir de las lecturas de absorbancias para determinar Fósforo y partes por millón para determinar Potasio; con el promedio de tres replicas para cada concentración en las dos determinaciones respectiva, en un día de trabajo.</p> <p>4.4 Limite de Cuantificación.</p> <p>El límite de cuantificación se determinó por la preparación de cinco soluciones estándares de concentración de 10, 20, 30, 40, 80 mg / L (ppm) para la determinación de Potasio, estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar su curva de calibración cuyas concentraciones son 10, 20, 30, 40, 80 mg/L (ppm); simultáneamente se preparó 5 blancos.</p>			
ELABORADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 5 DE: 9
<p>Para la determinación Fósforo se preparó cinco soluciones estándares de concentración de 5, 10,15, 20, 25 mg / L (ppm), estas preparaciones son independientes de las soluciones estándares para elaborar su curva de calibración cuyas concentraciones son 5, 10, 15, 20, 25 mg/ L (ppm); simultáneamente se preparó 5 blancos. Posteriormente se prosiguió a desarrollar el método de extracción de Carolina del Norte.</p> <p>Con los datos obtenidos de las partes por millón para determinar Potasio y las lecturas de las absorbancias en la determinación de Fósforo, se calculó el valor de la pendiente (m), coeficiente de correlación (r^2), el intervalo de confianza para la pendiente IC (m). Para los blancos, calcular el límite de cuantificación con la siguiente ecuación:</p> $LC = \frac{10 \times Sm}{m}$ <p>4.5 Incertidumbre del Método. Pasos comprendidos para su realización:</p> <p>4.5.1 Especificación de mesurando para cada método. Se refiere a un informe claro y sin confusiones de lo que se esta midiendo, con una expresión cuantitativa refiriendo el valor del mesurando a los parámetros a los cuales éste depende.</p> <p>4.5.2 Identificación de las fuentes de incertidumbre. Es necesario hacer una lista de las principales fuentes de incertidumbre, con el objetivo de estar completamente claros a cerca de que medidas se debe considerar.</p>			
ELABORADO POR: _____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR : _____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR : _____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 6 DE: 9
<p>4.5.3 Cuantificación de las fuentes de la incertidumbre. Se realiza una vez que se han identificado las fuentes de incertidumbre, luego se evalúan las incertidumbres que provienen de cada fuente individual y finalmente se determina directamente la incertidumbre combinada.</p> <p>Fórmulas: - Incertidumbre estándar: $u(xi) = \frac{sx}{\sqrt{n}}$ Donde: $u(xi) = \text{Incertidumbre estándar.}$ $sx = \text{Desviacion estándar obtenida de los datos experimentales.}$ $n = \text{Mediciones.}$</p> <p>- Incertidumbre estándar por resolución de los instrumentos y/o equipo: $u(re) = \text{Lectura Minima} / \sqrt{12}$</p> <p>- Incertidumbre de las soluciones estándares: $u(St) = U / k$ Donde: $U = \text{Incertidumbre del estándar declarado en el certificado.}$ $k = \text{Factor de cobertura.}$</p>			
ELABORADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR :			
_____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 7 DE: 9
<p>4.5.4 Cálculo de incertidumbre combinada. Se llevará a cabo por medio de datos obtenidos específicamente del método, así como también del equipo empleado; por medio de métodos estadísticos adecuados.</p> <p>Fórmula:</p> $u_c = \sqrt{\sum [C_i \cdot u(x_i)]^2}$ <p><i>Donde: C_i = Coeficiente de sensibilidad.</i> <i>u(x_i) = Incertidumbre estándar.</i></p> <p>5.0 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.</p> <p>5.1 PRECISIÓN DEL SISTEMA.</p> <p>El criterio de aceptación determinado por Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001, para este parámetro establece que $CV \leq 3.88\%$ (Coeficiente de variación menor o igual a 3.88%).</p>			
ELABORADO POR: _____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR : _____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR: _____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 8 DE: 9
<p>5.2 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD DEL MÉTODO.</p> <p>El criterio de aceptación determinado por Validación de Métodos Analíticos A.E.F.I (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA) 2001, para este parámetro establece que $CV \leq 5.81\%$.</p> <p>5.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO.</p> <p>El criterio de aceptación determinado por la GUIA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, para este parámetro establece que $r^2 \geq 0.98$. (Coeficiente de Correlación mayor o igual a 0.98)</p> <p>5.4 LIMITE DE CUANTIFICACIÓN.</p> <p>El criterio de aceptación determinado por la GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS que establece un $r^2 \geq 0.98$ y un intervalo de confianza para la pendiente que no debe incluir el cero.</p>			
ELABORADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :			
_____		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR:			
_____		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

LABORATORIO DE SERVICIOS ANALITICOS DE LA FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. (PROCAFE)		PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar Fósforo y Potasio en suelos utilizados para cultivo del café.			
FECHA DE EMISION:	FECHA DE REVISION:	FECHA DE APROBACION:	PAGINA: 9 DE: 9
<p>5.5 INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO.</p> <p>La incertidumbre combinada expresada con $k = 1$ (Factor de cobertura) con una probabilidad de aproximadamente el 68%.</p> <p>La incertidumbre combinada expresada con $k = 2$ (Factor de cobertura) con una probabilidad de aproximadamente el 95%.</p> <p>6.0 FORMATO DE REGISTRO DE RESULTADOS.</p> <p>Microsoft Office Excel 2003.</p>			
ELABORADO POR:		_____	
NOMBRE DE ANALISTA 1		FIRMA	
REVISADO POR :		_____	
NOMBRE DE ANALISTA		FIRMA	
APROBADO POR:		_____	
NOMBRE DEL JEFE DE LABORATORIO		FIRMA	

CAPITULO VI
CONCLUSIONES.

6.0 CONCLUSIONES.

1. Los resultados de los parámetros desempeño determinados para una posterior validación de los métodos, permiten la obtención de respuestas confiables que contribuyen a una mayor credibilidad al análisis para determinar fósforo y potasio en suelo cafetalero; de igual manera permitirá efectuar un requisito para lograr la acreditación de dichos métodos de análisis cumpliendo una exigencia establecida ante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) bajo la Norma Salvadoreña ISO/ IEC 17025:2005.
2. Para la determinación de la precisión de los métodos en la determinación de fósforo y potasio, se establece y comprueba que los métodos son igualmente precisos cuando son desarrollados por un analista en un mismo día y en condiciones iguales.
3. Para la determinación de exactitud y repetibilidad de los métodos, se obtuvo un grado de concordancia entre los resultados para cada uno de los métodos, indicando estar presente dentro del coeficiente de variación del porcentaje de recobro menor o igual a 5.81 % .
4. Se ha demostrado que en las condiciones de trabajo empleadas y entre los intervalos de concentraciones mostradas tanto para la determinación de fósforo y potasio, las pruebas de linealidad son satisfactorias como lo

establece la GUIA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, en este parámetro con un coeficiente de correlación mayor o igual a 0.98.

5. El límite de cuantificación, revela que los métodos son sensibles y cuantificables para las determinaciones de fósforo y potasio en suelo; cumpliendo el criterio de aceptación del coeficiente de correlación que es mayor o igual a 0.98, presentando un intervalo de confianza para la pendiente que no debe incluir el cero, según la GUIA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS (2002).
6. Las incertidumbres combinadas de los métodos para determinar fósforo y potasio demostraron que el parámetro con el cual se reportan los resultados, indican una incertidumbre aceptable con $k=1$ y una probabilidad de aproximadamente el 68%.
7. Los parámetros de desempeños demostrados enfatizan que proporcionan resultados aceptables de acuerdo a las Guías Internacionales de Validación a pesar que el Método para determinar Fósforo por Espectrofotometría Ultravioleta Visible y Potasio por Fotometría de Llama, se encuentra ajustado a las condiciones del Laboratorio Analítico.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES.

7.0 RECOMENDACIONES.

1. Establecer un procedimiento que detalle la forma adecuada del buen lavado y secado de las gradillas con recipientes plásticos y sus respectivas tapaderas, que se utilizan para la determinación de fósforo y potasio en suelos; para evitar interferencias en dichos análisis.
2. Registrar los informes de datos de las calibraciones que se realicen en el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D, Fotómetro de Llama marca Cole Palmer 2655 y equipos de análisis rápido, en las determinaciones de Fósforo y Potasio; para que se utilicen en el cálculo de incertidumbre en análisis de suelos.
3. Capacitar a los analistas que efectúen los análisis para determinar fósforo y potasio en suelo, practicando las buenas prácticas de laboratorio, para evitar errores y resultados no confiables en los análisis.
4. A partir de estos resultados se proceda a validar los métodos empleados para determinar Fósforo (Espectrofotómetro Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D) y Potasio (Fotómetro de llama marca Cole Palmer 2655) en suelo cafetalero de interés, además del presente estudio realizado, el Laboratorio Analítico deberá cumplir con los requerimientos que establece el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) bajo la Norma Salvadoreña ISO/ EC 17025:2005.

5. Validar otros métodos de análisis que se efectúen en suelos, porque se encuentran pocos estudios de validación de métodos empleando este tipo de matriz a nivel nacional y de esta manera cumplir un requisito previo a la acreditación, contribuyendo a la mejora de la calidad de los laboratorios de ensayo especializados en suelo garantizando resultados confiables a los usuarios de estos servicios.

BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFÍA.

1. A.E.F.I. (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria) 2001. Validación de Métodos Analíticos. Ed. A.E.F.I. Madrid, E. p.67.
2. CENTA. (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria). 1974. Métodos de Análisis utilizados en el Laboratorio del Departamento de Suelos. Ed. CENTA. San Salvador, ES. p. 1- 5.
3. CITAC. GUIA EURACHEM. 2000. Cuantificación de la Incertidumbre en la Medición Analítica. 2 Ed. Reino Unido. p. 7-8, 15- 18, 20,131-132.
4. CONACYT. (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) NSR ISO / IEC 17025: 2005. Norma Salvadoreña. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración. San Salvador, ES. Ed. CONACYT 2005. p.14.
5. García, M. y otros. 2002. Guía de Validación de Métodos Analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos, A.C. México. P. 8-11, 21- 22, 25- 30, 35- 36, 51,116.

6. PROCAFE. (Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café).
Manual del Caficultor Salvadoreño. 1997. San Salvador, ES. Ed.
PROCAFE. P. 44- 45.
7. PROCAFE. (Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café)
2008. Fundamento del Método de Carolina del Norte para determinar
Fósforo y Potasio en suelos / Operación del Espectrofotómetro
Ultravioleta Visible marca Milton Roy 20 D, y el Fotómetro de llama
marca Cole Palmer 2655. Laboratorio de Servicios Analíticos de
PROCAFE.
8. Quality Systems Advisors S.A. de C.V. 2008. Validación de Métodos
Analíticos bajo la Norma ISO/ IEC 17025: 2005. San Salvador, ES. p.
24- 27.
9. Skoog, D y otros. Análisis Instrumental. 2 ed. México. McGraw-
HILL/ INTERAMERICANA DE MEXICO, S.A. DE CV. p.192.
10. Skoog, D y otros. Análisis Instrumental. 7 ed. México. McGraw-
HILL/ INTERAMERICANA DE MEXICO, S.A. DE CV. p.606.
11. Suárez, F. 1979. Conservación de Suelos. 3 ed. San José, Costa
Rica. IICA Editorial. p. 3.

12. Theuscher, H. y otros. 1984. El Suelo y su Fertilidad. 8 ed. México. Editorial Continental, S.A. de CV. p. 23- 24, 249, 251, 254, 257.

13. Wolfgang, S y otros. 2000. Guía para Estimar la Incertidumbre de la Medición. México. P.7-9, 11-14.

14. <http://www.calidadbioquimica.com.ar/spec.htm>

<http://www.frlp.utn.edu.ar/materias/qcasis/mostracion2.html>

http://greco.fmc.cie.uva.es/mineralogia/contenido/intr_miner2_4_1_2_3_2.html

http://www.xtec.es/~gjimene2/licencia/students/bscw.gmd.de_bscw_bscw.cgi_d32817116-3_____AAS_final.html#Fotometría%20de

<http://es.wikipedia.org/wiki/Espectrofotometr%C3%ADa>

<http://www.basculasbalanzas.com/instrumentomedicion/espectrofotometria-visible.html>.

<http://www.mty.itesm.mx/dia/deptos/iq/iq95-972/espe.pdf>

<http://www.conacyt.gov.py/ona/ley-2279-03.php#>

GLOSARIO. (3, 5, 13, 14.)

1. Acreditación: Procedimiento por el cual se otorga reconocimiento formal a un organismo o persona competente para efectuar tareas específicas.

2. Coeficiente de correlación: Medida de la dependencia relativa mutua de dos variables aleatorias, igual a su covarianzas dividida por la raíz cuadrada positiva del producto de sus varianzas.

3. Coeficiente de sensibilidad: Variación diferencial que describe, qué tan alterable es el mensurando con respecto a las variaciones de la magnitud correspondiente.

4. Estándar de referencia: Material emitido por la Oficina Nacional de Normas de Estados Unidos (U.S National Bureau of Standars) cuyo nombre fue cambiado a Instituto Nacional para Normas y Tecnología (National Institute for Standards and Technology, NIST).

5. Exactitud: Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

6. Factor de cobertura: Factor numérico usado para multiplicador de la incertidumbre estándar combinada para obtener una incertidumbre expandida (típicamente su valor se encuentra entre 2 y 3).

7. Incertidumbre: Un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando.

8. Incertidumbre estándar: Incertidumbre de un resultado de una medición expresado como una desviación estándar.

9. Incertidumbre combinada: incertidumbre estándar de un resultado de una medición cuando ese resultado es obtenido a partir de valores de otras cantidades, que es igual a la raíz cuadrada positiva de la suma de los términos, siendo estos términos, las varianzas o covarianzas de esas cantidades divididas por resultados de esas mediciones.

10. Intervalo de confianza: Intervalo de valores alrededor de un parámetro muestral en los que, una probabilidad o nivel de confianza determinado, se situará el parámetro poblacional a estimar.

11. Límite de Cuantificación: Concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.

12. Linealidad: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

13. Método Analítico: Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

14. Mesurando: Cantidad particular sujeta a una medición.

15. Parámetros de desempeño: Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.

16. Precisión: Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.

17. Protocolo de validación: Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso de resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.

18. Repetibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.

19. Validación de método analítico: Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

ANEXO N° 1

MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.

MATERIALES:

- Beaker de 50 y 600 mL.
- Bureta de 10, 25, 100 mL.
- Carretilla.
- Cucharilla volumétrica de 5.0 mL.
- Espátula.
- Gradilla con recipientes plásticos.
- Muestra de suelo.
- Papel Whatman N° 1.
- Perilla succionadora.
- Pipeta volumétrica de 5.0 mL.
- Porta gradillas.
- Probeta de 1000 mL.
- Tapaderas plásticas.

EQUIPOS:

- Agitador de vidrio.
- Agitador múltiple de vaivén.
- Diluidor – dispensador.
- Dispensadores.
- Espectrofotómetro Milton Roy, Espectronic 20 D.
- Fotómetro de llamas Cole Palmer 2655 – 00.
- Intercambiador de soluciones para lectura.

REACTIVOS: ⁽²⁾

- **Agua destilada.**
- **Acido clorhídrico concentrado HCl []**. Reactivo Analítico. Pureza 37%.
Lote número E41D00. Laboratorio Guardado.
- **Acido sulfúrico concentrado (H₂SO₄[])**. Calidad Reactivo. Pureza 98.5%. Lote número E9C00.
- **Acido Ascórbico**. Grado Reactivo. Sensible a la luz. Marca SIGMA. Lote número 096k0117. Polvo blanco.
- **Cloruro de sodio (NaCl)**. Pureza 99.5%. Marca MERCK. Lote número GF040500.
- **Solución Estándar Certificada Trazable a NIST de 1000 mg/ L de Fosfato de Potasio (KH₂ PO₄) en H₂O**. Marca MERCK. Lote número HC606 248. Equivalente a 326.145 ppm de Fósforo. Titrisol.
- **Solución Estándar Certificada Trazable a NIST de 1000 mg/ L de Potasio en HNO₃ 0.5 mol/ L**. Marca MERCK. Lote número HC754420. Titrisol.
- **Trióxido de antimonio (Sb₂O₃)**. Pureza 99%. Usar cuidadosamente. No respirar el polvo. Polvo blanco. Marca MERCK. Lote número B716836.

ANEXO N° 2

PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

PREPARACION DE REACTIVOS.

- Solución extractora de Carolina del Norte. ⁽²⁾

(Preparación de solución extractora de Carolina del Norte.

Medir aproximadamente 24.88 litros (L) de agua desionizada, agregar 101.35 mL de ácido clorhídrico concentrado y 17.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar y llevar a volumen en un frasco de 25 L.)

- Solución para desarrollo de color de fósforo. ⁽²⁾

Pesar 0.26 g de trióxido de antimonio y 1.0 g de cloruro de sodio en un beaker de 1 L, adicionar aproximadamente 400 ML de agua destilada, disolver y colocar el beaker en agua fría, despacio y cuidadosamente agregar 290 mL de ácido sulfúrico concentrado mientras se agita y se deja que la solución se enfríe y llevar a volumen.

- Solución de color para trabajo. ⁽²⁾

Diluir 150 mL de solución original para de color de fósforo y llevar a 1 litro con agua destilada, adicionar 1 g de ácido ascórbico con una cucharilla medidora y disolver.

Nota: Esta solución debe ser preparada el día que se utilice y la cantidad dependerá del número de análisis a realizar.

- Solución patrón de 100 ppm de fósforo. ⁽²⁾

Tomar 100 mL de la solución de 1000 ppm de fósforo y llevar a volumen de 1 L con agua destilada.

- Patrones de trabajo de fósforo. ⁽²⁾

Medir volumétricamente las siguientes cantidades de la solución de 100 ppm de fósforo en frascos volumétricos de 250 mL identificados respectivamente con las concentraciones especificadas. Llevar a volumen con solución extractora de Carolina del Norte.

TABLA N^o 16 PATRONES DE TRABAJO DE FÓSFORO.

ESTANDARES (ppm)	SOLUCIÓN 100 mg / L (ppm) DE FÓSFORO.
5	12.5 mL
10	25.0 mL
15	37.5 mL
20	50.0 mL
25	62.5 mL
33.5	83.8 mL

- Patrones de trabajo de potasio. ⁽²⁾

Medir volumétricamente las siguientes cantidades de la solución estándar de 1000 ppm de potasio en frascos volumétricos de 250 mL identificados respectivamente con las concentraciones especificadas. Llevar a volumen con solución extractora de Carolina del Norte.

TABLA N^o 17 PATRONES DE TRABAJO DE POTASIO.

ESTANDARES (ppm)	SOLUCIÓN 1000 mg / L (ppm) DE POTASIO.
10	2.5 mL
20	5.0 mL
30	7.5 mL
40	10.0 mL
80	20.0 mL

- Patrones de trabajo de potasio a partir de solución estándar de Fosfato de Potasio de 1000 mg/ L (KH_2PO_4). ⁽²⁾

Medir volumétricamente las siguientes cantidades de la solución estándar de 1000 ppm de fosfato de potasio en frascos volumétricos de 250 mL identificados respectivamente con las concentraciones especificadas. Llevar a volumen con solución extractora de Carolina del Norte.

TABLA N^o 18 PATRONES DE TRABAJO DE POTASIO A PARTIR DE FOSFATO DE POTASIO.

ESTANDARES (ppm)	SOLUCIÓN 1000 mg/L DE (KH_2PO_4)
12.62	3.2 mL
25.25	6.3 mL
42.30	10.6 mL

ANEXO N° 3
FOTOGRAFIAS DE EQUIPOS.



Fig. Nº 1 DILUIDOR- DISPENSADOR.



Fig. Nº 2 AGITADOR MULTIPLE DE VAIÉN.



Fig. Nº 3 ESPECTROFOTOMETRO 20-D (MARCA MILTON ROY).



Fig. Nº 4 FOTÓMETRO DE LLAMA (MARCA COLE PALMER 2655).

ANEXO N° 4
FORMATO DE RESULTADOS PARA DETERMINAR FÓSFORO
Y POTASIO EN SUELOS.

TABLA N° 19 FORMATO DE RESULTADOS UTILIZADO PARA DETERMINAR FÓSFORO Y POTASIO EN SUELOS.

	FECHA/ ANALISTA	P U. Abs.	K ppm
R	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	0		
C			
B	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	0		
C			
N	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	7		
	8		
	9		
	0		
C			

R= Gradilla Roja

B= Gradilla Blanca

N= Gradilla Negra

ANEXO N° 5

**TABLA ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT n
GRADOS DE LIBERTAD.**

TABLA N^o 20 TABLA ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT. ⁽⁵⁾

Grados de Libertad	t_{0.975}	Grados de Libertad	t_{0.975}	Grados de Libertad	t_{0.975}	Grados de Libertad	t_{0.975}
1	12.706	21	2.080	41	2.020	61	2.000
2	4.303	22	2.074	42	2.018	62	1.999
3	3.182	23	2.069	43	2.017	63	1.998
4	2.776	24	2.064	44	2.015	64	1.998
5	2.571	25	2.060	45	2.014	65	1.997
6	2.447	26	2.056	46	2.013	66	1.997
7	2.365	27	2.052	47	2.012	67	1.996
8	2.306	28	2.048	48	2.011	68	1.995
9	2.262	29	2.045	49	2.010	69	1.995
10	2.228	30	2.042	50	2.009	70	1.994
11	2.201	31	2.040	51	2.008	71	1.994
12	2.179	32	2.037	52	2.007	72	1.993
13	2.160	33	2.035	53	2.006	73	1.993
14	2.145	34	2.032	54	2.005	74	1.993
15	2.131	35	2.030	55	2.004	75	1.992
16	2.120	36	2.028	56	2.003	76	1.992
17	2.110	37	2.026	57	2.002	77	1.991
18	2.101	38	2.024	58	2.002	78	1.991
19	2.093	39	2.023	59	2.001	79	1.990
20	2.086	40	2.021	60	2.000	80	1.990

Los grados de libertad se fijan con base a la formula indicada en el subíndice del símbolo de la t de Student.