

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



**PROPUESTA DE VALIDACION DEL PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE
LA MEDICION DE pH EN EL LABORATORIO FISICOQUIMICO DE AGUAS
DE LA FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE EL
SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

MAIRA JEANNETTE LAZO VELASQUEZ

JOSÉ JAVIER PEREIRA RIVAS

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO DE 2008.

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÀVEZ.

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO ARÉVALO

SECRETARIA

LICDA. MORENA LIZETTE MARTÍNEZ DE DÍAZ

COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORAGENERAL:

Licda. Maria Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORA DEL ÁREA DE GESTION AMBIENTAL:

Toxicología y Química Legal: Licda. María Luisa Ortiz de López.

ASESORA DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS:

Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez.

DOCENTE DIRECTOR:

Lic. Henry Alfredo Hernández Contreras.

AGRADECIMIENTOS.

Agradeciendo especialmente a DIOS y LA SANTISIMA VIRGEN MARÍA por su sabiduría y fortaleza depositada a lo largo de nuestros estudios.

A NUESTRO DOCENTE DIRECTOR:

Lic. Henry Hernández que nos permitió estar en este proyecto de tesis y depositar su confianza en nosotros compartiendo su conocimiento desinteresadamente.

A NUESTRAS ASESORAS DE AREA:

Licda. Maria Luisa Ortiz, Licda. Ivonne Arévalo, por su generosidad científica y valiosa critica al discutir los resultados de este trabajo.

A NUESTRA CORDINADORA GENERAL:

Lic. Odette Rauda por sus valiosas sugerencias, disposición, cooperación a lo largo de la tesis.

A MSc Mirna Lorena Sorto por su disposición y desinteresada ayuda.

AL Ing. Oscar Alberto Rodríguez Reyes por sus sugerencias y acertados aportes durante el desarrollo de este trabajo.

A todos ustedes mil gracias que Dios los bendiga, también a las personas que directa o indirectamente colaboraron en el desarrollo de nuestro trabajo.

Maira Jeannette Iazo Velásquez y José Javier Pereira Rivas.

DEDICATORIA.

Primeramente a Dios todo poderoso por siempre brindar la fidelidad, sabiduría, fortaleza y fe en mi camino y a la Santísima Virgen Maria por ser mi consuelo, refugio y mano amiga en los momentos de quebranto que tuve.

A mi familia:

A MI PADRE, René Armando Lazo Ayala por brindar su apoyo incondicional en este proyecto, su amor y respeto para con mis decisiones.

A MI Madre, Catalina Velásquez de Lazo, por su gran amor, por ser mi amiga, mi auxilio, y compañera a la vez en esta aventura.

A MI HERMANA, Katya Rocío Lazo Velásquez por sus palabras certeras en el momento indicado, apoyo y consejo.

A MI ESPOSO, Oscar Alberto Rodríguez Reyes por su paciencia, comprensión y amor.

A MI HIJO, Oscar Armando Rodríguez Lazo por que a su corta, edad me apoyo con su sacrificio al estar lejos de mí en ciertos momentos.

A mis amigos:

Ustedes saben quienes son, gracias por haber tenido la iniciativa y disponibilidad para brindarme su ayuda oportuna, en el desarrollo de nuestro trabajo, gracias que Dios y la Virgen Maria los bendigan, los iluminen y protejan siempre.

Maira Jeannette Lazo Velásquez.

DEDICATORIA.

A DIOS Y LA SANTISIMA VIRGEN MARIA por su ayuda en los momentos más difíciles de mi vida, por su fortaleza y no dejarme caer nunca.

A mi familia:

A MI PADRE: José Osmin Pereira, que ha sido siempre un hombre admirable, quien con sus sabios consejos oriento mis pasos por el camino recto de la vida, acertada y rica herencia en su ejemplo.

A MI MADRE: Deysi Mercedes Rivas, recibe esta modesta dedicatoria como homenaje a tu grandeza, que de niño me dieras cuidado y de hombre fortaleza.

A MIS HERMANOS: Cecilia, Luís por estar en momentos significativos y enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr objetivos.

† Osvaldo (Q.D.D.G) a pesar de no estar aquí se que tu alma si lo esta y porque compartiste los mismos sueños. Nunca te olvidare.

A MI ABUELA: Felicita Tovar por sus oraciones.

A MIS TIOS, CUÑADOS, PRIMOS y SOBRINOS por su apoyo moral, por ser los mejores y estar con migo incondicionalmente.

A mis Amigos:

Por compartir con migo conocimientos, experiencia logrando así un encuentro fraternal y superación continua.

José Javier Pereira Rivas.

ÍNDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo.	
I. Introducción.	xvii
II. Objetivos.	20
III. Marco Teórico.	22
3.1 Muestreo / Tratamiento de muestras.	24
3.2 Parámetros.	24
3.3 Protocolo para evaluación de los parámetros.	27
3.4 Incertidumbre.	29
IV. Diseño Metodológico.	33
4.1 Tipo de estudio.	33
4.2 Investigación bibliográfica.	33
4.3 Parte experimental.	34
4.4 Calibración de equipo.	35
4.5 Procedimiento general para la medición de pH de las muestras.	36
4.6 Procedimiento para evaluar la exactitud.	37
4.7 Procedimiento para evaluar la precisión.	39
4.8 Procedimiento para evaluar la linealidad.	40
4.9 Procedimiento para evaluar la robustez.	47

4.10	Procedimiento para evaluar la incertidumbre.	51
4.11	Tutorial para el manejo de la hoja de Excel propuesta para el cálculo de la exactitud, precisión, linealidad, robustez e incertidumbre.	56
V.	Resultados y discusión de resultados.	
5.1	Resultados.	70
5.2	Discusión de Resultados	71
VI.	Conclusiones.	74
VII.	Recomendaciones.	77
	Bibliografía	
	Glosario	
	Anexos	

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Manual de instrucciones del pHmetro Mettler Toledo Modelo 355.
2. Instrucciones para el manejo del electrodo.
3. Equipo, cristalería y reactivos.
4. Certificados de buffers pH 4, pH 7 y pH 10.
5. Tabla para registro y tratamiento de resultados de medición de pH.
6. Tabla para registro y tratamiento de resultados de medición de pH para la incertidumbre.
7. Diagrama de pasos para la determinación de la incertidumbre.
8. Tabla de la distribución t –student n grados de libertad.
9. Gráfica de la tendencia de la pendiente para el parámetro de la Linealidad.
10. Tabla para la cuantificación de los componentes de la incertidumbre para análisis de pH.
11. Método para valor de pH 4500 – H⁺ (A y B) extraído de “ Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales”.

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS N°	PAGINAS
1. Parámetros.	27
2. Exactitud.	27
3. Precisión como repetibilidad y reproducibilidad.	28
4. Robustez para mediciones cuantitativas d pH.	28
5. Rango lineal y de trabajo.	29
6. Datos para cálculos de la exactitud de la medición de pH.	39
7. Datos para el cálculo de la precisión de la medición de pH.	41
8. Datos para el cálculo de la Linealidad del pH (mv).	45
9. Valores para lecturas de pH para la robustez al variar el % de humedad, temperatura y cambio de analista.	50
10. Tabla resumen de discusión e interpretación de resultados y análisis de los diferentes parámetros para la medición de pH.	70

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS N°	PAGINAS
1. Diagrama de causa y efecto para medición de incertidumbre en el análisis para la medición de pH.	52
2. Icono para abrir programa de Excel.	58
3. Pantalla inicial para programa Excel.	59
4. Pantalla para cálculo de exactitud.	60
5. Pantalla para el cálculo de la precisión.	61
6. Pantalla para el cálculo de la Linealidad.	63
7. Pantalla para el cálculo de la robustez.	65
8. Pantalla para el cálculo de la incertidumbre.	67
9. Grafica de la tendencia de la pendiente para el parámetro de la linealidad	(Anexo 9)

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

mv	: Milivoltios.
mL	: Mililitros.
%	: Porcentaje.
b_1	: Pendiente.
b_0	: Ordenada.
r^2	: Coeficiente de determinación.
IC	: Índice de confianza.
y_0	: Condición normal de operación
y_i	: Condición de operación diferente a la condición normal.
$ d_i $: Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición r respecto a la condición normal.
E%	: Exactitud.
$\overline{\text{pH}}$: Media aritmética de pH
pH_0	: Valor Teórico.
\bar{y}	: Media aritmética de los valores de la precisión.
n	: Numero de muestras.
S	: Desviación estándar.
$\text{IC}(\beta_1)$: Intervalo de confianza para la pendiente.
$S_{b_1} = S_{y/x}$: Desviación estándar para la pendiente

- \bar{y}_0 : Media aritmética de la toma del pH en condiciones normales de operación para análisis de la robustez.
- n_0 : Número de muestras de la condición normal de operación.
- Σy_0 : Sumatoria para toma de pH en condiciones normales de operación para análisis de pH de cada condición de operación diferente a la condición normal.
- \bar{y}_i : Media aritmética del análisis de pH de cada condición de operación diferente a la condición normal.
- n_i : Número de muestras de la i-esima condición de la operación.
- Σy_i : Sumatoria toma del pH en condiciones diferentes a las condiciones normales de operación para análisis de la robustez.
- d_t : Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto de la media aritmética de la condición normal.
- μ_c : Incertidumbre combinada.
- μ_e : Incerteza expandida.
- $K = 2$: Factor de cobertura.

RESUMEN

El presente trabajo comprende la evaluación de los parámetros de desempeño del procedimiento normalizado de medición de pH que es el procedimiento utilizado para la medición de pH en muestras de aguas y otras sustancias, con el fin de asegurar la confiabilidad de su aplicación en el servicio de análisis que realiza el Laboratorio Físicoquímico de Aguas de La Facultad Química y Farmacia de La Universidad de El Salvador.

El objetivo que se persiguió fue la comprobación de el desempeño del procedimiento Normalizado de medición de pH descrito originalmente en 17ª edición de APHA (American Public Health Association); para el cual se utiliza para las mediciones el pHmetro Mettler Toledo 355 y muestras de buffer trazables al NIST.

Así también se pretendió la aplicación de la metodología para calcular los parámetros de desempeño de la exactitud, precisión, linealidad, robustez e incertidumbre. Como también los procedimientos para realizar cada parámetro y el diseño de hojas electrónicas para el tratamiento y obtención de resultados.

Con los resultados de la validación y la documentación presentada, se obtuvieron resultados confiables que dan una mayor credibilidad al análisis, lo cual constituye un paso que permitirá ampliar el alcance actual de la acreditación del Laboratorio bajo la NORMA ISO/ IEC: 17025:2005 y el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) que ha adoptado dicha norma.

Es por ello que se hace necesario que los laboratorio de análisis y ensayos actualicen su documentación relacionada con los procedimientos de análisis a favor de lograr la acreditación por parte de entidades Nacionales e Internacionales haciendo valaderos los métodos según las normativas vigentes y de esta manera proveer un aseguramiento y confiabilidad en los resultados que sean obtenidos.

I. INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

El pH es el logaritmo negativo de la concentración de ión hidrogeno ⁽⁶⁾, o más precisamente, de la actividad del ión hidrogeno, en moles por litro. El pH interviene en el cálculo del carbono, bicarbonato y bióxido de carbono, lo mismo que el cálculo del índice de corrosión o estabilidad y el control de los procesos de tratamiento de aguas.

El pH óptimo varía según la composición de agua, el tipo de materiales de construcción utilizados en el sistema de distribución; pero con frecuencia el valor de pH se ubica entre 6.5 y 9.5, los valores extremos de pH pueden ser el resultado de vertimientos accidentales, de interrupciones del proceso y del tratamiento o del curado insuficiente del revestimiento del mortero de cemento utilizado en la tuberías ⁽¹⁾.

Aunque el pH no es una medición directa de la acidez constituye uno de los criterios más importantes en los sistemas físicos, electrofísicos, biológicos y tienen una gran aplicación en el tratamiento de aguas potables y de desecho, así como en los sistemas de control de calidad.

El pH se puede medir bien sea colorimétrica ó electrométricamente. El método colorimétrico requiere una inversión menor inicial, pero esta sujeto a graves interferencias ya que es cualitativo ⁽¹⁾.

Debido a la importancia del método electrométrico y de ser cuantitativo se hace necesario que la medición de pH por dicho método electrométrico se valide y esto se realizará tomando en cuenta los parámetros siguientes:

Exactitud, precisión, linealidad, robustez e incertidumbre mediante la utilización de buffers trazables y cuantificables al National Institute of Standard and Technology (NIST), tomando en cuenta los lineamientos establecidos en la norma ISO/IEC 17025/2005 con el fin de acreditar el procedimiento normalizado de pH en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador y asegurar que los análisis que se realizan en el laboratorio son confiables.

II. OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Proponer la validación del procedimiento normalizado de la medición de pH en el laboratorio fisicoquímico de agua de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

2.2.1 Realizar el procedimiento normalizado de pH de acuerdo a lo establecido en el libro oficial Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales.

2.2.2 Comprobar que las condiciones en que se realiza el procedimiento normalizado de pH en el Laboratorio Fisicoquímico de agua de la Facultad Química y Farmacia son los adecuados según los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025 versión 2005.

2.2.3 Aplicar la metodología para calcular la exactitud, precisión, linealidad, robustez e incertidumbre del procedimiento normalizado de pH en El Laboratorio Fisicoquímico de Aguas de la Facultad Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

2.2.4 Obtener datos verificables y trazables para el desarrollo estadístico de la validación del método de pH.

2.2.5 Diseñar una hoja electrónica para el tratamiento y obtención de resultados.

III. MARCO TEÓRICO

3.0. MARCO TEÓRICO

Las determinaciones en el laboratorio están sometidas a múltiples fuentes de error como en la toma de muestra, manejo y conservación de la misma, equipo, analista que pueden evitarse o no y en su conjunto determinan la calidad del análisis.

Para controlar estos errores, el laboratorio debe establecer su propio sistema de calidad sobre la base de las buenas prácticas de laboratorio y los procedimientos de control interno.

Es necesario llevar a cabo en la mayoría de las ocasiones estudios experimentales que permitan demostrar la confiabilidad de lo que se está midiendo. Un proceso que permite cumplir este fin es la validación.

Los tipos de validación son:

Validación Interna: La cual se realiza dentro del laboratorio, siempre y cuando se halla desarrollado un nuevo método o se le adopte o modifique algún componente del mismo ⁽⁵⁾.

Validación Externa: Cuando se da entre laboratorios, y su comparación debe ser entre al menos 8 laboratorios ⁽⁵⁾.

Entre los esfuerzos para mantener la calidad del análisis de procedimientos analíticos tenemos que la validación es indispensable para el aseguramiento de la calidad y esto se logra a través de la Norma ISO/IEC17025/2005.

La Norma Salvadoreña del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que es una adopción de la Norma ISO/IEC17025/2005 en el numeral 5.4. nos dice que validación es “la confirmación por verificación y la presentación de la evidencia objetiva de que los requisitos particulares para un uso específico previsto son cumplidos”.

Para validar un método analítico se debe tomar en cuenta los siguientes aspectos:

- a. Seleccionar el equipo, reactivos, personal capacitado ó idóneo, procedimiento o método a validar, materiales de referencia, métodos de referencia previamente validados si es posible.
- b. Llevar a cabo pruebas que apliquen: Precisión, exactitud, robustez u otras que se considere importantes.
- c. Si la validación es contra un método ya validado, entonces se prepararán pares de muestras identificadas para poder comparar los resultados adecuadamente para determinar si existen equivalencia de métodos.
- d. El método validado esta descrito en el manual de procedimientos analíticos.
- e. La realización del ensayo y su repetibilidad se efectúa como se explica en el método.

3.1. Muestreo / Tratamiento de muestras.

También se debe de incluir como es el almacenamiento (conservación, tiempo de acondicionamiento, etc.), la cantidad de muestra y/o alícuotas de la muestra, su número y sistema de preparación, si hay diferencia en la preparación de las muestras de diferentes matrices.

Condiciones ambientales:

Para asegurar la repetibilidad del ensayo se registra las condiciones ambientales requeridas por la muestra, el procedimiento de ensayo y los equipos.

Se declara el acondicionamiento de los aparatos (por ejemplo: tiempo previo de calentamiento), calibración o verificación de los equipos antes de realizar ensayos (pudiendo hacer referencia a un procedimiento independiente que describa estas actividades) etc.

3.2. Parámetros

Para demostrar que el método es adecuado y que aplica, para la validación se define por medio de las características como ⁽¹³⁾.

1. Exactitud
2. Especificidad
3. Linealidad
4. Robustez
5. Selectividad

6. Incertidumbre
7. Identidad
8. Sensibilidad
9. Recuperación
10. Rango lineal
11. Precisión (reproducibilidad)
12. Límite de Detección (LDD)
13. Límite de Cuantificación (LDC)

Nota:

Para el proceso de análisis de pH sólo se determinarán cinco características que son: Exactitud, incertidumbre, linealidad, precisión y robustez.

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

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.

Robustez: Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.

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

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 (2).

Debida a la naturaleza y alcance del método de ensayo a validar, los parámetros anteriores son de criterio propio seleccionados como los más importantes ya que es conocido que hay criterios de desempeño primarios y secundarios en donde:

Los criterios de desempeño primarios son: Precisión, exactitud, límite de detección, y a partir de estos se pueden obtener otros parámetros secundarios (ver tabla N°1).

Los criterios de desempeño secundarios son: Linealidad, rango o dominio de cuantificación, selectividad, sensibilidad, robustez o fortaleza del método (5).

Los tipos de ensayo a considerar serán los siguientes: (15)

- a. Métodos de identificación.
- b. Determinación cuantitativa de un componente.

En la tabla No 1 se definen los parámetros a considerar para cada tipo de ensayo ⁽¹³⁾.

TABLA N° 1: “PARAMETROS”

TIPO DE MÉTODO	PARÁMETRO
Identificación	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Identidad ▪ Selectividad / Especificidad
Determinación cuantitativa de un componente.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Precisión ▪ Exactitud ▪ Linealidad ▪ Ámbito lineal ▪ Incertidumbre ▪ Sensibilidad ▪ Recuperación ▪ Rugosidad (Robustez) ▪ Limite de cuantificación ▪ Selectividad / Especificidad
Determinación cualitativa	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Selectividad / Especificidad ▪ Limite de Detección

3.3. Protocolo para la Evaluación de los Parámetros

A continuación se da el procedimiento a seguir de cada una de las características ⁽¹³⁾:

TABLA N° 2: EXACTITUD

EXACTITUD		
Analizar	N° veces	Calcular
Estándar certificados trazables al NIST pH 9.18	10	El valor promedio del estándar del material de referencia. La exactitud se calcula restando el pH teórico al valor promedio del pH, la respuesta se divide entre el valor de pH teórico y el resultado se multiplica ente cien.

TABLA Nº 3: PRECISION COMO REPETIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

PRECISION COMO REPETIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD		
Analizar	Nº veces	Calcular
a) El mismo analista, equipo laboratorio, en un periodo corto	6	<p>La precisión se calcula a través del coeficiente de variación que se a su vez se calcula dividiendo la desviación estándar entre el valor promedio y este resultado se multiplica por cien. (La desviación estándar para la exactitud se calcula por la siguiente ecuación):</p> $S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$

TABLA Nº 4: ROBUSTEZ PARA MEDICIONES CUANTITATIVAS

ROBUSTEZ		
Analizar	Nº veces	Calcular
<p>Identificar las variables que pudieran tener un efecto significativo en el desempeño del método. (% humedad y temperatura del ambiente) Establecer experimentos (analizar materiales de referencia, muestra de composición conocida o materiales de referencia certificados) para controlar el efecto en la exactitud y precisión de cambios sistemáticos de variables. Establecer cual es la propiedad o característica de interés que se va a medir (lectura de pH).</p>	<p>Analizar cada serie de condiciones experimentales una vez. Con tres repeticiones cada condición.</p>	<p>Determinar el efecto sobre la medida de cada cambio de condición. Clasificar las variables identificando la que causa mayor efecto en el desempeño del método. Verificar que la prueba distingue de manera consistente un tipo de muestra de otra, por medio de una estadística básica apropiada. Se calcula a través de la media aritmética de cada condición de operación, diferente a la condición normal; La diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto de la condición normal.</p>

TABLA N° 5: RANGO LINEAL Y DE TRABAJO

linealidad		
Analizar	N° veces	Calcular
Analizar pH4, pH7 y pH10 , utilizando soluciones estándar, con sus respectivos certificados y obtendrá los mv de dichas mediciones, éstas serán bajo las mismas condiciones de medición, se reportara la relación pH versus respuesta analítica (mv).	Se analizaran tres niveles de pH por triplicado	Calcular el valor de la pendiente (b1), la ordenada en el origen (bo), el coeficiente de determinación (r) y el intervalo de confianza para la pendiente (IC) Graficar la respuesta de la medición (eje y). Contra la concentración del analito (eje x). Realizar un examen visual para identificar valores irregulares que no deben ser incluidos en la regresión.

3.4. INCERTIDUMBRE

La incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuida al mesurando.

El procedimiento general para el cálculo de la incertidumbre comprende de 4 pasos (Ver anexo 7) los cuales son necesario seguir para obtener el valor de incertidumbre expandida que es el valor que se asocia al resultado de la medición que da el equipo.

Al error cometido en el laboratorio, medido por la precisión, también es un tipo de incertidumbre y esta cuantifica todos los errores cometidos durante el proceso de análisis ⁽³⁾.

Las fuentes típicas de incertidumbre son:

a) Muestreo: Forma parte del procedimiento especificado. Tiene efectos tales como variaciones al azar entre diferentes muestras debido a un sesgo en el procedimiento de muestreo, formando componentes de incertidumbre afectando al resultado final.

b) Condiciones de almacenamiento: Donde los puntos de prueba están almacenados para cualquier periodo previo al análisis, la duración del almacenamiento como las condiciones durante el almacenamiento deben considerarse como fuentes de incertidumbre.

c) Efectos del instrumental: Ejemplo Limite de precisión en la calibración de una balanza, un autoanalizador que puede ser sujeto a efectos de transporte.

d) Pureza de reactivo: La pureza de tales sustancias es usualmente mostrada por los fabricantes como no menor de un nivel especificado.

e) Condiciones de medición: Temperatura, humedad, presión ambiental, luz pueden dar resultados diferentes a los esperados debido a las variaciones de los mismos.

f) Efectos del cálculo, selección del modelo de la calibración: Ejemplo usar una línea recta en lugar de una curva, redondeo de números, etc.

g) Corrección del blanco: Habrá una incertidumbre sobre el valor y sobre lo apropiado de la corrección del blanco.

h) Efectos del operador: Posibilidad de hacer una interpretación ligeramente diferente del método. ⁽⁵⁾

Con el estudio que ha de realizarse se pretende dar respuesta a las hipótesis planteadas las cuales son:

El procedimiento de análisis para determinación del potencial de hidrogeno obedece a los requisitos de validación de la Norma ISO/IEC 17025/2005.

El procedimiento de análisis para determinación del potencial de hidrogeno no obedece a los requisitos de validación de la Norma ISO/IEC 17025/2005⁽¹⁵⁾.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de Estudio.

Experimental, transversal y prospectivo.

Experimental, por que se desarrollaran ensayos en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas en la Universidad de El Salvador.

Transversal, ya que la investigación se realizara en un tiempo determinado estudiando el problema en el presente, en el momento en que se realiza la investigación.

Prospectivo, porque a partir de lo investigado da la opción para obtener datos mas exactos en el análisis o investigaciones futuras para el método de medición de pH.

Esta propuesta consta de investigación bibliográfica e investigación experimental.

4.2 Investigación Bibliográfica.

La investigación bibliográfica se ha realizado en las Bibliotecas de facultades de Ingeniería, Química y Farmacia, Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador, biblioteca de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) , biblioteca de la Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas” y a través de redes internacionales de investigación (Internet) .

4.3 Parte Experimental.

4.3.1 Muestra:

Para la obtención de datos para la propuesta de validación del procedimiento normalizado para la medición de pH se utilizara:

- Muestras de evaluación de rendimiento reconstituidas en el propio laboratorio.
- Estándares de suministro externos trazables al National Institute Of. Standard and Technology (NIST).

4.3.2 Investigación Experimental:

Se realizó de acuerdo al procedimiento normalizado para la medición de pH Descrito en el libro “Métodos Normalizado Para el Análisis de Aguas Potables y Residuales” (Ver anexo 11); cumpliendo los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025/2005 Apartado 5.4.5.2 Que dice” El Laboratorio validará los métodos no estandarizados, los métodos diseñados/desarrollado por el Laboratorio, métodos estándar usados fuera de su alcance planeado, ampliaciones modificaciones de métodos estándar para confirmar que los métodos son convenientes para su uso previsto.

PROCEDIMIENTO PARA CALIBRACION DEL POTENCIOMETRO METTLER TOLEDO 355. ⁽¹²⁾

4.4 Calibración del equipo:

Calibrar el sistema de electrodos de referencia de calomelanos y Ag/AgCl frente a soluciones tampón estándar (pH 4, pH 7 y pH 10). Seguir las instrucciones del fabricante del pH Mettler Toledo 355 en cada caso

(Ver anexo 1):

Para el medidor de pH, para conservación y preparación de los electrodos para su uso ⁽¹⁾.

1. Mantener los electrodos en solución de almacenamiento siempre que no estén en uso (las soluciones de almacenamiento pueden ser pH 4, pH 7 y solución de KCl 3M).
2. Encender el equipo pulsando el botón on / off .
3. Colocar la serie de soluciones buffers de pH4, pH7 y pH10 respectivamente en vasos de precipitados de 50mL; llevando a un volumen de 30 mL.
4. Sacar los electrodos de la solución de almacenamiento antes de su uso, Lavar con agua destilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción.
5. Introducir el electrodo en la solución, iniciando con buffer pH 7, dar agitación magnética, pulsar el botón cal para dar inicio a la calibración y seleccionar en pantalla el buffer pH 7, esperar la respuesta del equipo.

6. Sacar los electrodos de la solución de pH 7, Lavar con agua destilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción.
7. Introducir el electrodo en la solución buffer pH 4, dar agitación magnética, seleccionar en pantalla el buffer pH 4, esperar la respuesta del equipo.
8. Sacar los electrodos de la solución de pH 4, Lavar con agua destilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción.
9. Introducir el electrodo en la solución buffer pH 10, dar agitación magnética, seleccionar en pantalla el buffer pH 10, esperar la respuesta del equipo.

Nota:

Cuando solo se realicen determinaciones ocasionales del pH, se estandarizará el aparato antes de cada uno de ellos. Cuando sean frecuentes y el aparato sea estable, estandarizar con menor frecuencia (una vez al día). Si el pH de las muestras varía mucho, estandarizar cada muestra con un tampón cuyo pH no difiera más de 1 o 2 unidades de pH de la muestra.

4.5 Procedimiento general para la medición de pH de las muestras (7).

1. Colocar la muestra a analizar en vasos de precipitado de 50 mL llevando a un volumen de aproximadamente 30 mL.
2. Calibrar el potenciómetro Mettler Toledo 355.
3. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura.

4. Sacar los electrodos de la solución muestra, lavar con agua destilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

4.6 Procedimiento para evaluar la exactitud.

4.6.1 Preparación de la muestra (una muestra):

1. Disolver el estándar de pH 9.18 (muestra) en un balón volumétrico de 100 mL, llevar a volumen con agua bidestilada.
2. Tomar tres alícuotas de 30 mL y colocar en vasos de precipitado de 50 mL respectivamente (rotarlas de manera que se obtengan diez lecturas).

4.6.3 Procedimiento para la medición de exactitud ⁽¹¹⁾.

1. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (10 veces).
2. Calibrar el potenciómetro Mettler Toledo 355.
3. Sacar los electrodos de la solución muestra, Lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

Nota:

Para el control de la exactitud, se utilizara muestras controles preparadas o de fabricantes conocidos, con los certificados de las concentraciones, esta se analizarán como cualquier muestra, los resultados se comparan con lo que

indica la etiqueta y/o la preparación, si no esta dentro del rango permitido, se analizará de nuevo. Un analista debe analizar la muestra diez veces según el método. (11)

Calcular el promedio aritmético, determinar la concentración teórica.

Criterios de aceptación:

El coeficiente de variación o desviación estándar, no es mayor del 3%₍₄₎

4.6.4 Formulas y procedimientos para el calculo de la exactitud. (11)

Formulas para cálculo de la exactitud.

Ecuación:

$$E\% = \frac{\overline{pH} - pH_o}{pH_o} \times 100$$

Donde:

E%= Exactitud.

\overline{pH} = Media aritmética de pH.

pH_o = Valor Teórico del patrón.

TABLA N° 6: DATOS PARA CÁLCULO DE EXACTITUD DE MEDICIONES DE pH

#	pH
1	9.01
2	8.99
3	9.01
4	9.01
5	9.02
6	9.01
7	9.05
8	9.02
9	9.04
10	9.06
\overline{pH}	9.02
Exactitud	1.72

$$E\% = \frac{9.02 - 9.18}{9.18} \times 100$$

$$E\% = 1.72\%$$

4.7 Procedimiento para evaluar la precisión ⁽⁴⁾.

4.7.1 Preparación de la muestra para la precisión:

1. Disolver un estándar de pH 9.18 (muestra) en un balón volumétrico de 100mL, llevar a volumen con agua bidestilada
2. Tomar seis alícuotas de 30 mL y colocarla en un vaso de precipitado de 50 mL.

Nota:

Este proceso se efectuó dos veces para obtener el doble de muestra.

4.7.2 Procedimiento para la medición de Precisión.

1. Calibrar el potenciómetro Mettler Toledo 355.
2. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (6 veces).
3. Sacar los electrodos de la solución muestra, Lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

Nota:

Un analista realiza las mediciones de la muestra seis veces. Medir la respuesta analítica (pH), bajo las mismas condiciones, obteniendo seis valores₍₄₎ de los cuales se llevara el control en la bitácora detallada en el anexo 5.

Calcular el promedio de los valores aritméticos, la desviación estándar, el coeficiente de variación o desviación estándar de la respuesta analítica.

Criterios de aceptación:

El coeficiente de variación, es menor o igual de 1.5%₍₄₎.

4.7.3 Formulas y procedimiento para el calculo de la precisión (4).

Formulas para la precisión

Media aritmética.

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

Desviación estándar.

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

Coeficiente de variación.

$$cv = \frac{S}{\bar{y}} \times 100$$

TABLA N° 7: DATOS PARA CÁLCULO DE LA PRECISIÓN DE MEDICIONES DE pH.

LECTURAS REFERENCIA	RESULTADOS(y)	(y ²)
1	9.05	81.9025
2	9.06	82.0836
3	9.06	82.0836
4	9.05	81.9025
5	9.07	82.2649
6	9.06	82.0836
Total	54.35	492.3207
Media aritmética	9.0583	82.0534
Desviación Estándar	0.007528	
Coeficiente de Variación	0.083	0.083

$$S = \sqrt{\frac{6(492.3207) - (54.35)^2}{6(6-1)}}$$

$$S = \sqrt{\frac{2953.9242 - 2953.9225}{30}}$$

$$S = 0.007528$$

$$cv = \frac{0.007528}{9.0583} \times 100$$

$$cv = 0.083\%$$

4.8 Procedimiento para evaluar la linealidad ⁽⁴⁾.

4.8.1 Preparación de la muestra:

Transferir directamente del recipiente que contienen los buffers de pH 4, pH 7 y pH 10, 30mL respectivamente en un vaso de precipitado de 50mL.

4.8.2 Procedimiento para la medición de la linealidad.

4. Calibrar el potenciómetro Mettler Toledo 355.
5. Introducir el electrodo en la solución muestra de pH 4, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, en mv de dichas mediciones, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).
6. Introducir el electrodo en la solución muestra de pH 7, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del

equipo, en mv de dichas mediciones, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).

7. Introducir el electrodo en la solución muestra de pH 10.1, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, en mv de dichas mediciones, registrando el dato (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).

Nota:

Sacar los electrodos de la solución muestra, Lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

Se reportara la relación pH versus respuesta analítica (mv)₍₄₎ (ver anexo 5).

Calcular el valor de la pendiente (b1), la ordenada en el origen (bo), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente (IC). (Ver anexo 5).

Criterios de aceptación:

El coeficiente de determinación es mayor o igual de 0.98, el intervalo de confianza no incluye el cero₍₄₎.

4.8.3 Formulas y procedimiento para el calculo de la linealidad. (5)

Formulas para el cálculo de la linealidad.

Pendiente:

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n = numero de mediciones.

Ordenada al origen:

$$b_o = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coefficiente de determinación:

$$r^2 = \frac{[n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[n(\sum x^2) - (\sum x)^2][n(\sum y^2) - (\sum y)^2]}$$

Intervalo de confianza para la pendiente.

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0,975,n-2} S_{b_1}$$

$$S_{b_1} = s_{x/y} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

$t_{0.975, n-2}$ = Referirse al anexo 8 para determinar el valor de la t de Student.

Procedimiento de cálculo.

1) Tabulación de resultados:

TABLA Nº 8: DATOS PARA EL CALCULO LA LINEALIDAD DEL pH (mv)

solución	X (pH)	X ²	Y (mv)	Y ²	XY
1	4.00	16.00	771.90	595829.61	3087.60
2	4.00	16.00	771.90	595829.61	3087.60
3	4.00	16.00	771.90	595829.61	3087.60
4	7.00	49.00	719.50	517680.25	5036.50
5	7.00	49.00	719.50	517680.25	5036.50
6	7.00	49.00	719.50	517680.25	5036.50
7	10.00	100.00	669.90	448766.01	6699.00
8	10.00	100.00	669.70	448498.09	6697.00
9	10.00	100.00	669.90	448766.01	6699.00
Total \sum	63.00	495.00	6483.70	4686559.69	44467.30

2) Calcular $\sum x$, $\sum y$, $\sum x^2$, $\sum y^2$, $\sum xy$ y determinar n.

$$\sum x = 4.00 + 4.00 + \dots + 10.00 = 63$$

$$\sum y = 771.9 + 771.9 + \dots + 669.9 = 6483.7$$

$$\sum x^2 = 16 + 16 + \dots + 100 = 495$$

$$\sum y^2 = 595829.61 + 595829.61 + \dots + 448766.01 = 4686559.69$$

$$\sum xy = 3087.6 + 3087.6 + \dots + 6699.0 = 44467.3$$

$$n = 9$$

3) Calcular b_1 , b_0 y r^2

$$b_1 = \frac{9 \times 44467.3 - 63 \times 6483.7}{9 \times 495 - (63)^2} = -17.011$$

$$b_0 = \frac{6483.7 - (-17.011)(63)}{9} = 839.4889$$

$$r^2 = \frac{(9 \times 44467.3 - 63 \times 6483.7)^2}{(9 \times 495 - 63^2)(9 \times 4686559.69 - 6483.7^2)} = 0.9997$$

El valor es mayor de 0.98.

4) Calcular $S_{y/x}$ y S_{b_1} .

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{468655969 - [(-17.011)(44467.3)] - [(839.48)(6483.7)]}{9 - 2}} = 0.7331$$

$$S_{b_1} = 0.7331 \sqrt{\frac{1}{495 - \frac{(63)^2}{9}}} = 0.0998$$

5) Determinar en el Tabla de Anexo 8 $t_{0.975, n-2}$ y calcular el $IC(\beta_1)$

$$t_{0.975, n-2} = t_{0.975, 7} = 2.365$$

$$IC(\beta_1) = -17.01 \pm (2.365)(0.0998) = -16.774 \text{ y } -17.246$$

El Intervalo no incluye cero

6) Graficar la tendencia de la pendiente para el parámetro de la linealidad (ver Anexo 9).

4.9 Procedimiento para evaluar la Robustez. (4)

4.9.1 Preparación de la muestra:

1. Disolver el estándar de pH 10.01 (muestra) en un balón volumétrico de 100 ml, llevar a volumen con agua bidestilada.
2. Tomar una alícuota de 30 mL y colocarla en un vaso de precipitado de 50 mL.

4.9.2 Procedimiento para la medición de Robustez.

Calibrar el potenciómetro Mettler Toledo 355.

4.9.2.1 Para la condición baja a 48% de Humedad a 23 °C

1. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato de pH (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).
2. Sacar los electrodos de la solución muestra, Lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

4.9.2.2 Para la condición Normal a 50% de Humedad a 25 °C

3. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato de pH (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).

4. Sacar los electrodos de la solución muestra, lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

4.9.2.3 Para la condición alta a 55% de Humedad a 27 °C

3. Introducir el electrodo en la solución muestra, aplicar agitación magnética a 10 rpm, pulsar el botón **read** esperar respuesta del equipo, registrando el dato de pH (ver anexo 5) cada vez que se realice una lectura (3 veces).
4. Sacar los electrodos de la solución muestra, lavar con agua bidestilada y secar con un paño suave tratando de no producir fricción cada vez que se realice una medición.

Nota:

Se debe de establecer factores, relacionados al propio método que se consideren críticos, en este caso se tomo en cuenta el porcentaje de humedad y la temperatura del ambiente del laboratorio, obteniendo condiciones de operación, baja, normal y alta.

Calcular la media aritmética de la condición normal de operación (y_o) y de cada condición de operación diferente a la condición normal (y_i).

Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la condición normal $|d_i|_{(4)}$.

Criterio de aceptación:

$|d_i|$ menor o igual de 3%, para métodos químicos y espectrofotométricos ⁽⁴⁾

4.9.3 Formulas y procedimientos para el cálculo de la robustez. (4)

4.9.3.1 Formulas para el cálculo de la robustez.

Media aritmética para la condición normal de operación.

$$\bar{y}_o = \frac{\sum y_o}{n_o}$$

n_o = número de muestras de la condición normal de operación.

Media aritmética para el análisis de condiciones diferentes a la condición normal de operación.

$$\bar{y}_i = \frac{\sum y_i}{n_i}$$

n_i = número de muestras de la i-esima condición de la operación.

Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto a la media aritmética de la condición normal:

$$d_t = \bar{y}_i - \bar{y}_o$$

4.9.3.2 Procedimiento de cálculo para la robustez. (4)

Tabular los resultados:

TABLA Nº 9: VALORES PARA LECTURAS DE pH PARA LA ROBUSTEZ AL VARIAR EL % DE HUMEDAD, TEMPERATURA Y CAMBIAR ANALISTA.

	48% A 23 °C	50% A 25 °C	55% A 27 °C
MUESTRA	BAJA (y1)	NORMAL (y0)	ALTA (y2)
1	9.91	9.87	9.89
2	9.90	9.88	9.88
3	9.92	9.88	9.89
Total \sum	29.73	29.63	29.66

1) Calcular $\sum y_0, \sum y_1, \sum y_2$ y determinar n_0, n_1, n_2 .

$$\sum y_0 = 9.87 + 9.88 + 9.88 = 29.63$$

$$\sum y_1 = 9.91 + 9.90 + 9.92 = 29.73$$

$$\sum y_2 = 9.89 + 9.88 + 9.89 = 29.66$$

$$n_0, n_1, n_2 = 3$$

2) Calcular $\bar{y}_0, \bar{y}_1, \bar{y}_2$

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum 29.63}{3} = 9.88$$

$$\bar{y}_1 = \frac{\sum 29.73}{3} = 9.91$$

$$\bar{y}_2 = \frac{\sum 29.66}{3} = 9.89$$

3) Calcular $|d_1|$

$$|d_1| = \bar{y}_1 - \bar{y}_o = |9.91 - 9.88| = 0.03\%$$

El valor no excede el 3%

$$|d_2| = \bar{y}_2 - \bar{y}_o = |9.89 - 9.88| = 0.01\%$$

El valor no excede el 3% ⁽⁴⁾

4.10 Procedimiento para el cálculo de la incertidumbre. ⁽³⁾

Paso 1. Especificación del mesurando.

Escribir una declaración clara de qué es lo que está siendo medido, incluyendo la relación entre el mesurando y las cantidades utilizadas, (por ejemplo, cantidades medidas, constantes, valores del patrón de calibración, etc) de las que depende el mesurando. Donde sea posible, incluir correcciones para efectos sistemáticos conocidos. Los datos de la especificación deberán ser dados en el Procedimiento de Operación del Patrón pertinente u otra descripción del método ⁽³⁾

Ejemplo:

Medir el pH de un mesurando de pH 9.18 trazable al NIST, utilizando equipo Mettler modelo 355 con una combinación de electrodo para pH modelo inLab 410, Calibrando a un rango de 4 – 10 unidades de pH.

Paso 2. Identificación de las fuentes de la incertidumbre.

Hacer una lista de las posibles fuentes de incertidumbre. Esta incluirá las fuentes que contribuyen con la incertidumbre de los parámetros en relación al Paso 1. Pero puede incluir otras fuentes que resultan de las hipótesis químicas (3)

Ejemplo:

Electrodo: sensibilidad, estabilidad, velocidad de respuestas (dada por el proveedor). Ver anexo 2

Equipo: Tolerancia, lectura, tiempo de compensación. (Dada por el proveedor).

Reproducibilidad: Precisión calculada en la validación.

Calibración: Buffers certificados trazables al NIST, Linealidad calculada en la validación.

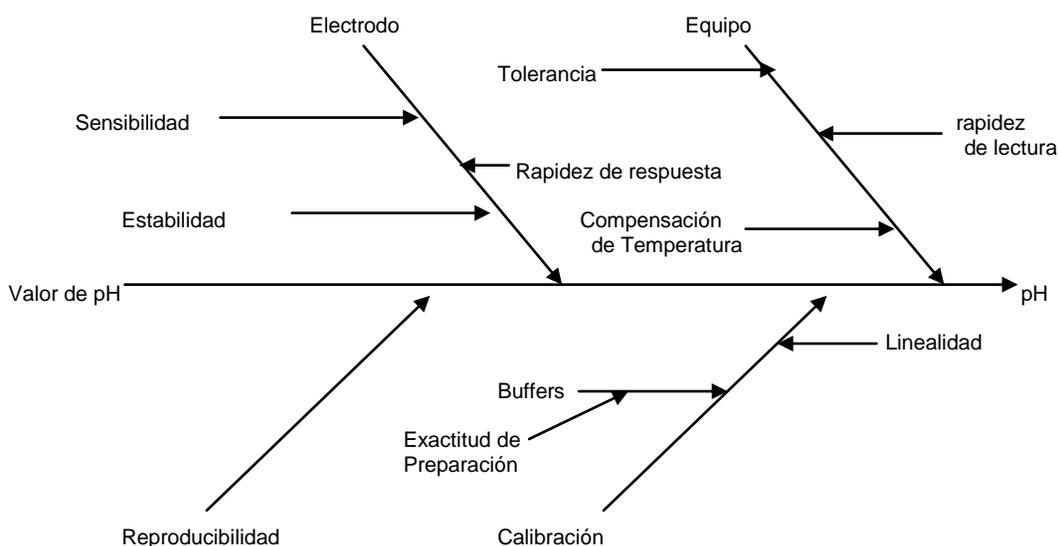


Figura1: Diagrama de causa y efecto para medición de incertidumbre en el análisis para la medición de pH.

Paso 3. Cuantificación de los componentes de la incertidumbre.

Medir o estimar el tamaño de los componentes de la incertidumbre asociados con cada fuente potencial de la incertidumbre identificada. Es a menudo posible estimar o determinar una sola contribución de la incertidumbre asociada con un número de fuentes separadas. También es importante considerar si los datos disponibles abarcan suficientemente a todas las fuentes de la incertidumbre; y planear experimentos adicionales y estudios cuidadosamente diseñados para asegurar que todas las fuentes de la incertidumbre son adecuadamente tomadas en cuenta ⁽³⁾. (Ver ejemplo en anexo 10).

Para el Electrodo: a una medida $x \pm 0.25$ según certificado del proveedor, lo cual aplica para una distribución rectangular.

Dividiendo este valor en $0.25/\sqrt{3}=0.1443$

La incerteza es de 0.144(A)

Para el equipo (Tolerancia): se da ± 0.002 según el proveedor, lo cual aplica para una distribución rectangular

Dividiendo este valor en $0.002/\sqrt{3}=0.00115$

La incerteza es de 0.00115 (B)

Para la precisión: la desviación estándar de la muestra calculada en la validación es de 0.0075.

$0.0075/1.96=.3.826 \times 10^{-3}$

La incerteza es de 3.826×10^{-3} (C).

Para la linealidad (calibración): De tres niveles de pH la desviación estándar de la linealidad calculada en la validación es de 0.998

$$0.9997/1.96=0.51 \text{ (D).}$$

La incerteza es de 0.51 (D).

Paso 4. Cálculo de la incertidumbre combinada.

El dato obtenido en el Paso 3 consistirá en un número de contribuciones cuantificadas de la incertidumbre total, sea asociada con fuentes individuales o con efectos combinados de diferentes fuentes. Las contribuciones tienen que ser expresadas como desviaciones estándares y combinadas de acuerdo a las reglas apropiadas para dar una incertidumbre estándar combinada.

El factor de cobertura apropiado deberá ser aplicado para dar una incertidumbre expandida ⁽³⁾.

Incertidumbre combinada.

$$u_c = \sqrt{(A)^2 + (B)^2 + (C)^2 + (D)^2}$$

$$u_c = \sqrt{(0.144)^2 + (1.15 \times 10^{-3})^2 + (3.826 \times 10^{-3})^2 + (0.51)^2} = \sqrt{0.2810} = 0.5301$$

$$u_c = 0.53$$

Incerteza expandida: ($K=2$) multiplicado por el factor de cobertura ($K=2$), este asegura que el intervalo contienen el valor verdadero al 95% de probabilidad.

$$u_E = u_C \times 2$$

$$u_E = 0.53 \times 2$$

$$u_E = 1.06$$

El resultado podrá ser reportado como:

$$\text{"Resultado : } X \pm u_E = \text{valor} \pm 1.06$$

Nota: Los datos obtenidos para estimar la incertidumbre se reportarán en el cuadro del anexo 6.

4.11 TUTORIAL PARA EL MANEJO DE LA HOJA DE EXCEL PROPUESTA PARA EL CÁLCULO DE LA EXACTITUD, PRECISIÓN, LINEALIDAD, ROBUSTEZ E INCERTIDUMBRE.

1. GENERALIDADES DE EXCEL. (7)

Excel es una aplicación del tipo **hoja de cálculo**, integrada en el entorno **Windows** y desarrollada por **Microsoft**, en la cual se combinan las capacidades de una hoja de cálculo normal, base de datos, programa de gráficos bidimensionales y tridimensionales, lenguaje propio de programación y generación de macros; todo dentro de la misma aplicación. Las hojas de cálculo son, junto a los procesadores de texto, una de las aplicaciones informáticas de uso más general y extendido.

Una hoja de cálculo es una especie de tabla cuyas casillas o celdas pueden contener:

- texto
- valores numéricos, fechas y datos horarios
- fórmulas o funciones matemáticas, que permiten determinar el valor de esta celda en función de los valores de otras celdas.

Además, un programa como Excel contiene un gran número de utilidades para introducir, formatear y presentar total o parcialmente el contenido de las hojas de cálculo.

Excel puede trabajar simultáneamente con un número ilimitado de hojas de cálculo siempre que la memoria del ordenador lo permita. Distintas hojas de cálculo se agrupan formando un fichero denominado libro de trabajo. Cada hoja puede contener hasta 65536 filas y 256 columnas, haciendo un total de 16.777.216 celdas. Las columnas se identifican mediante letras (A, B, C,..., AA, AB,..., IV), mientras que las filas son identificadas mediante números (1, 2, 3,..., 65536).

Una casilla se identifica con la/s letra/s indicadoras de la columna, seguidas del número indicativo de la fila (por ejemplo: A2, R6, V165, AJ231, etc.)¹.

Como se ha apuntado, con Excel se puede guardar, manipular, calcular y analizar datos numéricos, textos y fórmulas; dicho programa permite además presentar rápidamente todos estos datos mediante gráficos de distinto tipo, que pueden ser creados sobre la misma hoja de cálculo o en otro fichero independiente. Estos gráficos pueden tener muchas formas (funciones, nubes de puntos, diagramas de barras, de líneas, de tarta...) y estar representados en dos o tres dimensiones. Dependiendo de las necesidades del usuario. Excel permite establecer relaciones entre los valores de distintas celdas y hojas, para realizar análisis de sensibilidad de forma rápida, recalculando toda la hoja al mínimo cambio que se efectúe en alguna de las celdas relacionadas.

La utilización de Excel se realiza de forma similar a la de cualquier otro software en el entorno Windows, esto es, mediante ratón (haciendo clic y arrastrando para seleccionar y haciendo doble clic para accionar) o mediante el

teclado, haciendo uso de distintas teclas tales como las flechas para los desplazamientos, la tecla Intro para accionar, Alt. + la letra subrayada de cada menú o comando para seleccionar, etc....

2. PROCEDIMIENTO PARA INICIALIZACION DE EXCEL

- a. Para inicializar **Excel** en **Windows** se puede utilizar el menú **Inicio** o **Inici/ Programas**, del modo habitual.
- b. Se puede también buscar con el **Explorer** la ventana del grupo de programas en el que está **Excel** y luego hacer doble clic sobre el icono que se muestra:



Figura 2: Icono para abrir programa de Excel.

Nota: También se puede arrancar haciendo doble clic sobre cualquier fichero producido con **Excel** (extensiones o más en general).

Una vez arrancado el programa, dependiendo de la configuración instalada, aparecerá una pantalla similar a la que se muestra:

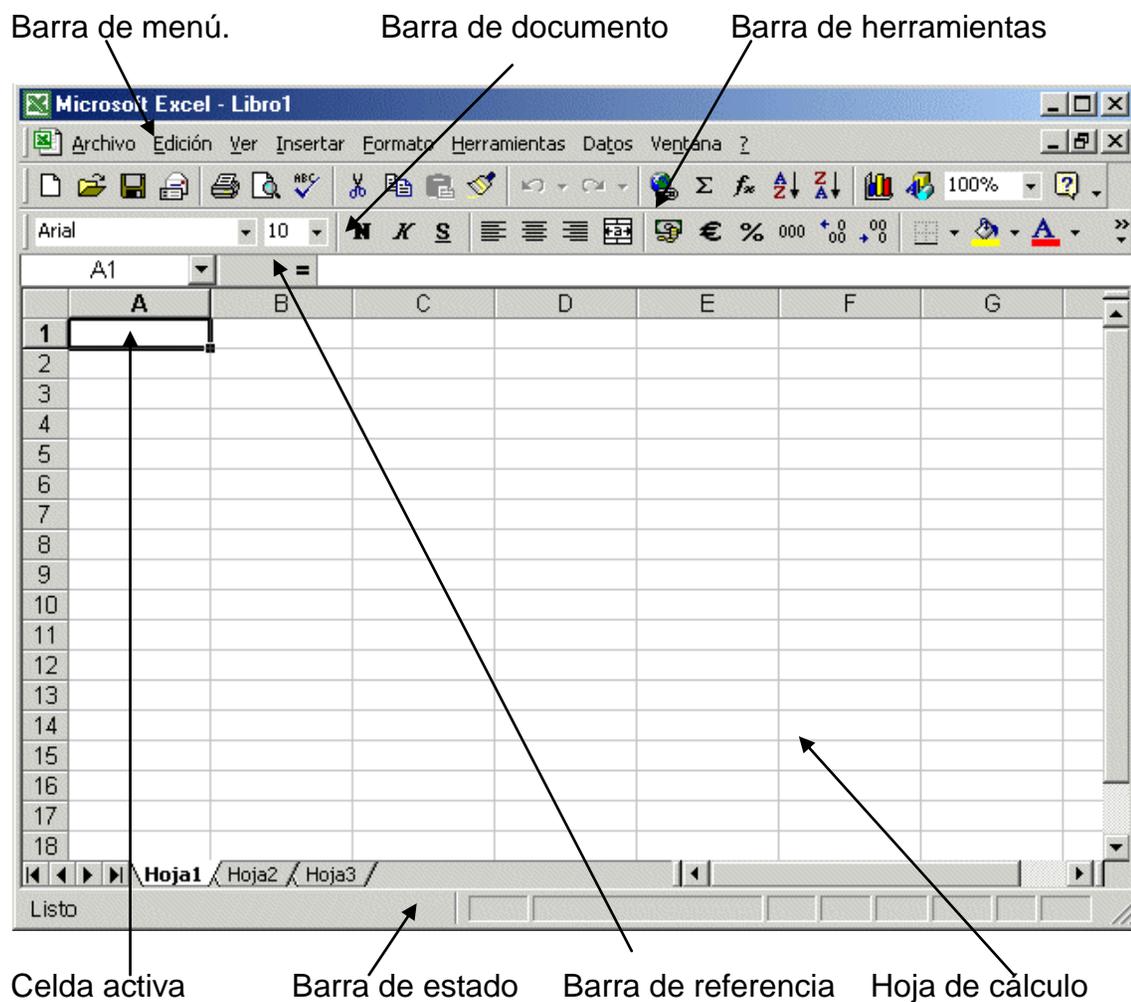


Figura 3: Pantalla inicial para programa Excel.

3. PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DE EXACTITUD EN HOJA ELECTRONICA.

- Inicializar Excel.
- Hacer clic izquierdo en menú **Archivo** seleccionar la opción **Abrir**.
- Buscar y seleccionar el archivo **validación de parámetros pH**. Se desplegará la pantalla siguiente.

PARAMETRO DE EXACTITUD	
E% = Exactitud	
pH = Media aritmética	
pH ₀ = Concentración teórica = 9.18	
Tabulación Para el Cálculo de la Exactitud	
Número de mediciones	Valores de pH
1	9.01
2	8.99
3	9.01
4	9.01
5	9.02
6	9.01
7	9.05
8	9.02
9	9.04
10	9.06
pH	9.02
$\bar{pH} =$	9.02
E% =	$\frac{9.02 - 9.18}{9.18} \times 100$
E% =	1.72% Cumple EXACTITUD

Figura 4: Pantalla para cálculo de la exactitud.

- d. Ingresar los valores de pH en la tabla para cálculo de la exactitud.
- e. El programa dará el resultado de exactitud con la leyenda de “cumple, no cumple exactitud”.

4. PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DE PRECISION EN HOJA ELECTRONICA.

- a. Una vez abierto el archivo **validación de parámetros pH** ubicarse en la hoja de precisión (pestaña) dar clic izquierdo se desplegara la ventana siguiente:

PARAMETRO DE PRECISION		
		
Tº	Medición	Resultado (Y)
24.3	1	9.05
24.3	2	9.06
24.2	3	9.06
24.1	4	9.05
24	5	9.07
24	6	9.06
	Promedio	9.0583333
	Desviación Estándar	0.0075277
	Coeficiente de variación	0.0831028 %
		Cumple PRECISION

Figura 5: Pantalla para el cálculo de la Precisión.

- b. Ingresar los valores de pH obtenidos en la tabla para cálculo de la precisión.
En columna Resultados (y).
- c. El programa dará los resultados de Desviación estándar, coeficiente de variación y desplegará la leyenda de “cumple o no cumple precisión”.

5. PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DE LA LINEALIDAD EN HOJA ELECTRONICA.

- a. Una vez abierto el archivo **validación de parámetros pH** ubicarse en la hoja de Linealidad (pestaña) izquierdo dar clic se desplegara la ventana siguiente:

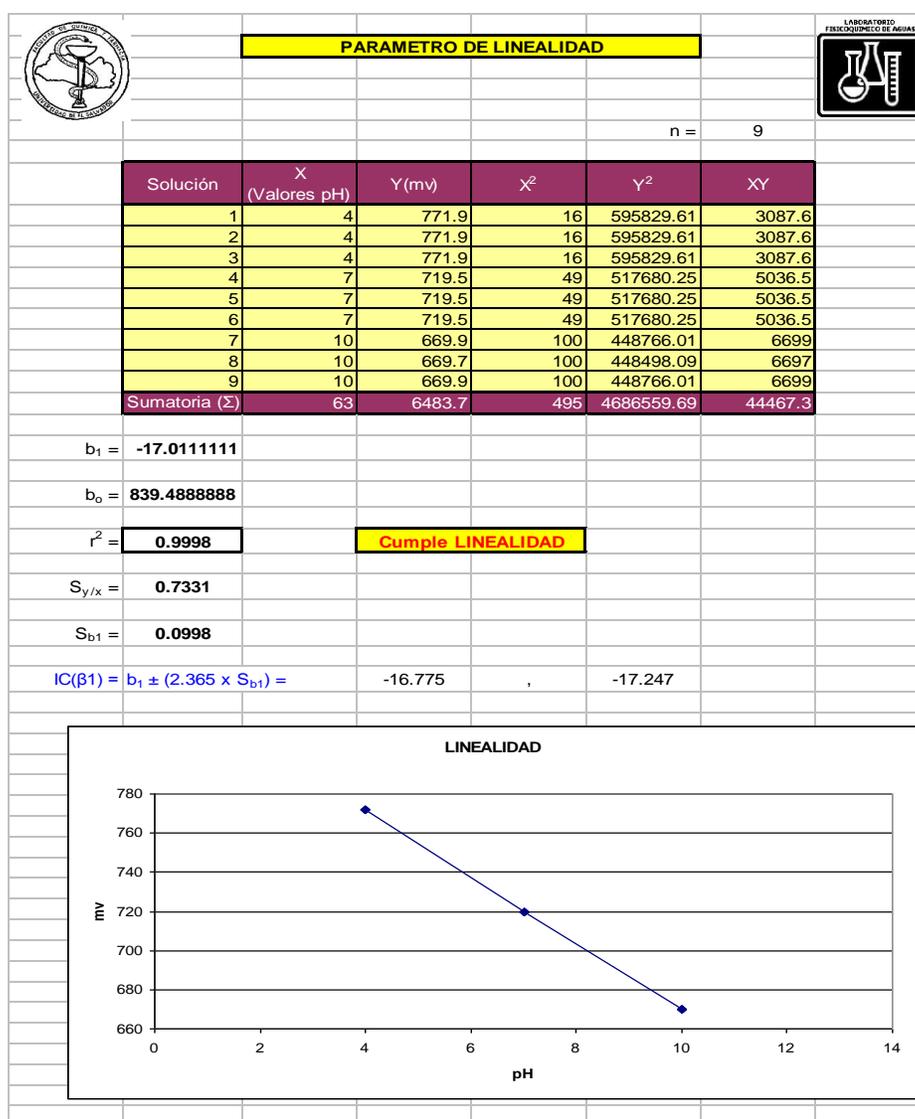


Figura 6: Pantalla para el cálculo de la linealidad.

- b. Ingresar los valores de mv obtenidos de la medición de cada buffer, en la tabla para cálculo de la linealidad. En columna Y (mv).
- c. El programa dará los resultados de coeficiente de determinación (r^2), Intervalo de confianza para la pendiente poblacional $IC_{(\beta_1)}$, grafica de la linealidad y desplegara la leyenda de “cumple o no cumple linealidad”

6. PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DE LA ROBUSTEZ EN HOJA ELECTRONICA.

- a. Una vez abierto el archivo **validación de parámetros pH** ubicarse en la hoja de Robustez (pestaña) se desplegara la ventana siguiente:

PARAMETRO DE ROBUSTEZ			
MUESTRA (y)	48% A 23 °C BAJA (y1)	50% A 25 °C NORMAL (y0)	55% A 27 °C ALTA (y2)
1	9,91	9,87	9,89
2	9,90	9,88	9,88
3	9,92	9,88	9,89
Σy	29,73	29,63	29,66
$\bar{y}_0 = 9,88$			
$\bar{y}_1 = 9,91$			
$\bar{y}_2 = 9,89$			
Calcular $ d $			
$ d_1 =$	0,03%	Cumple ROBUSTEZ	
El valor no excede el 3%			
$ d_2 =$	0,01%	Cumple ROBUSTEZ	
El valor no excede el 3%			

Figura 7: Pantalla para el cálculo de la Robustez.

- b. Ingresar los valores de pH obtenidos en la tabla para cálculo de la Robustez. En columna respectivas a la condición baja (y1), normal (y0), alta (y2).
- c. El programa dará los resultados de diferencia absoluta $|d_i|$ de cada condición con respecto a la condición normal y desplegará la leyenda “cumple o no cumple robustez”

7. PROCEDIMIENTO PARA EL CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE EN HOJA ELECTRONICA.

- a. Una vez abierto el archivo **validación de parámetros pH** ubicarse en la hoja de Incertidumbre (pestaña) se desplegara la ventana siguiente:

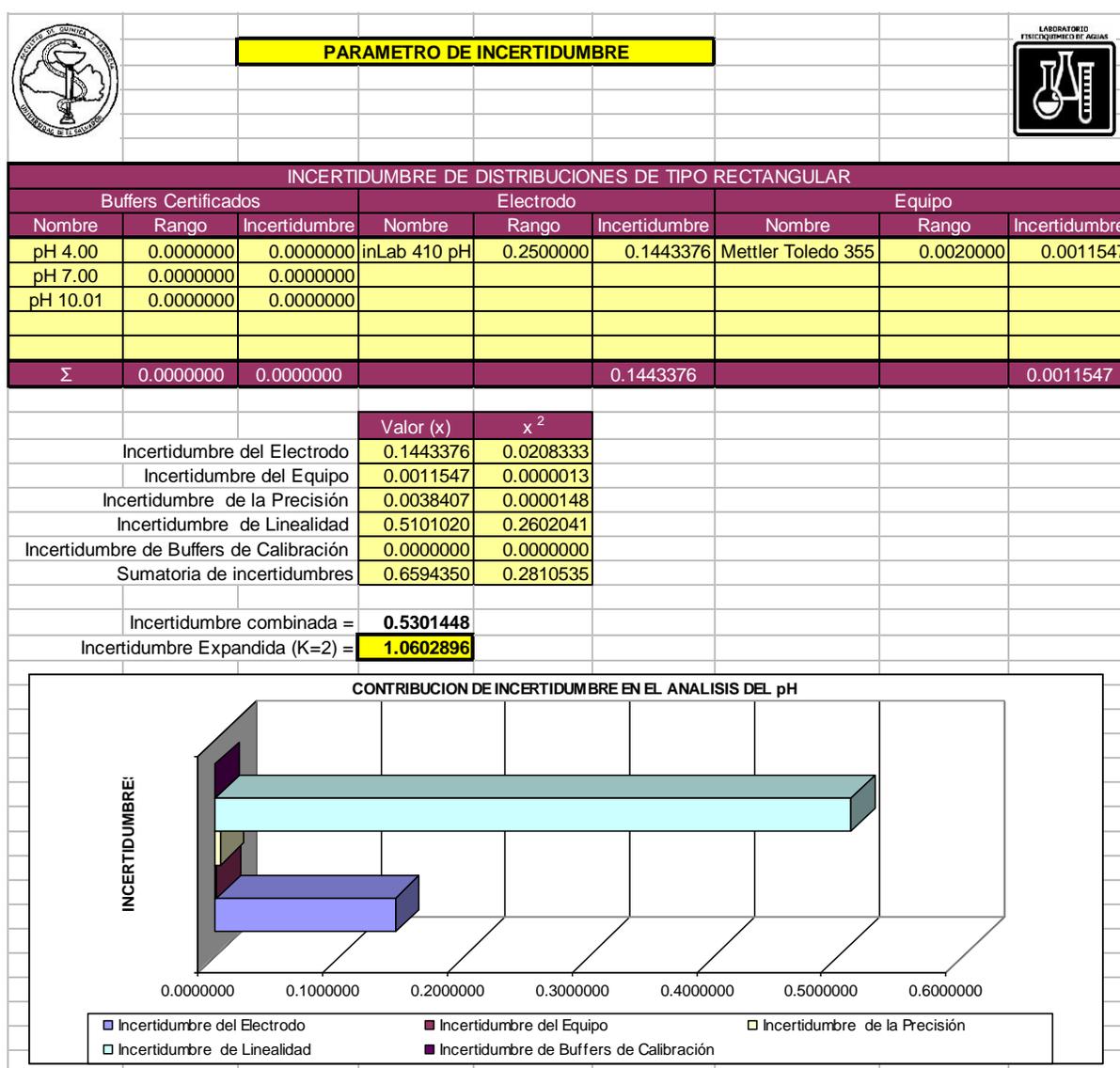


Figura 8: Pantalla para el cálculo de la incertidumbre.

- b. Ingresar valores en tabla de incertidumbre de distribución de tipo rectangular de las fuentes de incertidumbre en las respectivas columnas de rango.
- c. El programa dará los resultados de Incertidumbre combinada, Incertidumbre expandida y grafico de contribución de las incertidumbres estándar de cada fuente.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. RESULTADOS

TABLA Nº 10: TABLA RESUMEN DE DISCUSION E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS PARA MEDICIÓN DE pH .

Parámetro	Criterio	Resultado	Interpretación
Exactitud	No Mayor 3%	1.72%	El método es exacto porque no sobrepasa el 3% del criterio de aceptación por que los valores experimentales obtenidos están muy cercanos al valor teórico del estándar de referencia (11).
Precisión	$CV \leq 1.5\%$	$CV = 0.083\%$	El método es preciso porque no sobrepasa el 1.5 % del criterio del aceptación lo cual nos indica que los resultados no son lejanos entre si proporcionando así valores claramente repetibles (4).
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$ IC(β) No debe incluir cero	$r^2 = 0.999 \approx 1$ $-17.01 \pm 2.365 \times 0.0998 = -16.774, -17.246$	El coeficiente de determinación indica que el método es lineal por lo que refleja la invariabilidad de la pendiente la cual es negativa puesto que los valores de pH son inversamente proporcionales a los mv; un cambio en esta condición nos indica desperfecto en el equipo (4).
Robustez	$ d_i \leq 3\%$	Baja = $ d_1 = 0.03\%$ Alta = $ d_2 = 0.01\%$	El método es robusto porque en condiciones alteradas de trabajo (baja y alta (ver anexo1)) mantiene una pequeña diferencia entre los datos obtenidos durante el análisis; con respecto al criterio de aceptación (la cual no es una diferencia significativa) (4).
Incertidumbre	Ninguno	$U_E = 1.06$	El resultado podrá ser reportado, como $X \pm 1.06$, para la incerteza expandida, se utilizó un factor de cobertura de $K = 2$, el cual asegura que el intervalo contiene el valor verdadero en un 95% de probabilidad (3).

5.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

a. EXACTITUD:

Para el análisis de la exactitud se realizaron lecturas en condiciones habituales de trabajo en el laboratorio fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador y se observaron lecturas con poca variabilidad entre los valores obtenidos (con una media aritmética de 9.02) y el valor real del estándar de referencia (9.18 trazable al NIST) proporcionando una exactitud de 1.72% la cual se encuentra dentro del límite establecido por la Guía de Validación de Procesos Analíticos que es No Mayor del 3%.

b. PRECISIÓN (REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD):

Con el fin de evaluar la reproducibilidad del método se obtuvieron mediciones de diferentes analistas y el dato resultante del CV (0.083%) no sobrepasa el CV 1.5 % del criterio de aceptación propuesto por la Guía de Validación de Procesos Analíticos lo cual nos indica que los resultados no son lejanos entre si proporcionando así valores claramente repetibles.

c. LINEALIDAD:

Para la linealidad, las lecturas obtenidas por el equipo nos permiten visualizar directa y claramente la tendencia del método en la cual nos muestra al graficar una línea recta que no pasa por el origen obteniendo así una pendiente de -17.01 y que es típica de la relación inversa que existe entre milivoltios y la respuesta a los cambios de pH. El coeficiente de

determinación obtenido (0.999) en relación al propuesto por la Guía de Validación de Procesos Analíticos (≥ 0.98), y un cambio en esta condición nos indica que existe un desperfecto en el equipo.

d. ROBUSTEZ:

Para el análisis de robustez dos analistas realizaron mediciones de pH en el laboratorio fisicoquímico de aguas, con aire acondicionado (condición baja y normal) y a temperatura ambiente (condición alta), obteniéndose que el método es robusto porque en condiciones alteradas de trabajo (baja y alta) proporciona cambios poco perceptibles (0.01% - 0.03%) y no incumple el criterio de aceptación propuesto por la Guía de Validación de Procesos Analíticos ($\leq 3\%$).

e. INCERTIDUMBRE:

La incertidumbre es calculada con base a datos de los componentes del equipo dados por el proveedor y el resultado de las desviaciones estándar (que en el caso de análisis de pH) son para la linealidad y precisión como repetibilidad, calculados previamente para la validación del método.

La mayor contribución a la incertidumbre en comparación con las fuentes identificadas esta dada por la linealidad. El resultado podrá ser reportado, como $X \pm 1.06$; para la incerteza expandida (1.06), se utilizó un factor de cobertura de $K = 2$, que asegura que el intervalo contiene el valor verdadero en un 95% de probabilidad. ⁽³⁾

VI. CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. El método electrométrico de determinación de pH evaluado, es exacto puesto que brinda una diferencia mínima entre los datos experimentales y estos concuerdan con el valor que rotula el estándar de referencia (trazable al NIST).
2. Además es preciso puesto que los resultados obtenidos muestran una gran concordancia entre una lectura y otra; lo cual nos ofrece la repetibilidad del método y por tanto seguridad en el mismo.
3. A mayor escala de pH en la lectura, menor serán los milivoltios obtenidos y viceversa. La temperatura puede ocasionar una variación en la pendiente mv/pH alrededor del punto isotencial (0 mv/pH 7) (pendiente del electrodo) pero esto es evitable gracias a que el equipo cuenta con un electrodo que compensa automáticamente la temperatura.
4. El método de medición de pH con el equipo Mettler Toledo 355 es robusto puesto que las variaciones en la respuesta son pequeñas; por lo que el equipo puede funcionar perfectamente incluso sin empleo de ambiente controlado.
5. La validación de los métodos de ensayo y calibración para el método electrométrico de determinación de pH, demuestra que el método es apto para el propósito previsto y que los resultados tienen una incertidumbre aceptable (parámetro que caracteriza el intervalo de valores dentro del cual se espera que esté el valor que se mide).

La validación debe entregar información sobre la representatividad, repetibilidad y reproducibilidad del método de ensayo así como también sobre la influencia de los factores instrumentales, humanos y ambientales en la incerteza de los resultados. Todo esto con el objeto de conocer las características y funcionamiento del método y proporcionar confianza y seguridad en éste y los resultados que genera.

6. La incertidumbre debe analizarse de acuerdo al tipo de ley de distribución que aplica para cada fuente de incertidumbre: Las dadas por el proveedor (distribución rectangular), las obtenidas a través de análisis experimental de un equipo (distribución normal) y a través de análisis volumétricos (distribución triangular).

VII. RECOMENDACIONES.

7.0. RECOMENDACIONES.

1. Hacer cambios periódicos del buffer de mantenimiento del electrodo cada 15 días.
2. Revisar que el electrodo tenga más del mínimo del nivel de la solución de referencia KCl 3 M y cambiar periódicamente la solución interna del electrodo por lo menos cada 15 días o cuando el analista así lo disponga por contaminación de la misma.
3. Realizar una calibración por lo menos el día que se utilice el equipo.
4. Tener el cuidado que el orificio de llenado del electrodo este abierto antes de hacer calibraciones y mediciones.
5. Realizar las calibraciones a una hora específica del día entre las 8:00 – 9:00 a.m. antes de dar inicio a los análisis.
6. Utilizar siempre agitador magnético previamente lavado con agua bidestilada para homogenizar la solución a analizar.
7. Efectuar las calibraciones cuando las soluciones buffer certificadas estén a una temperatura específica de 25 °C.
8. Proveer las instalaciones del laboratorio con equipo e infraestructura adecuada para mantener la temperatura y humedad estables.
9. Se recomienda diseñar un control de calidad (control de muestras, procedimientos de documentación, procedimiento estándar de

funcionamiento, procedimientos de mantenimiento preventivo del equipo y procedimientos de calibración) para controlar las variables críticas.

10. Que el analista priorice en las variables críticas (humedad, temperatura y analista) para un mejoramiento del método en lo que concierne a la robustez.
11. Controlar las fuentes involucradas (analista, equipo, ambiente interno, etc.) en el parámetro de la linealidad y utilizar un tipo de electrodo que brinde una baja incertidumbre ya que son los que contribuyen a incrementar la incertidumbre expandida.

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

1. APHA (American Public Health Association) , “METODO ESTANDAR PARA EXAMEN DE AGUAS Y AGUAS DE DESECHO”11ª Edición, Editorial interamericana, S.A. México 1963, Páginas 1 a 3; 18 a 19; 27 a 29; 34 a 37; 206 a 209; 229 a 230; 317.
2. APHA (American Public Health Association), “METODOS NORMALIZADOS PARA EL ANALISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES” 17ª Edición, Ediciones Días de Santos, S.A México 1992, Páginas 1-1 a 1-27; 4-106 a 4-115.
3. CITAC-EURACHEM, Guía para Cuantificación de la Incertidumbre en la Medición Analítica, segunda edición, Reino Unido, Año 2000.
4. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, A.C. “GUIA DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS”, Edición 2002 volumen único México Páginas 1 a 123.
5. Delgado G., Validación de Métodos Analíticos, Facultad de Ciencias, UNAN LEON, México.
6. Drew H.Wolfe, “Química General Orgánica y Biológica” 2ª Edición en español, Editorial McGraw-Hill, 1996 Ciudad de México, pag 734.
7. García de Jalón, J. Fernández C, D. García Mantos C.2001, “Aprenda Excel como si estuviera en primero”, Escuela técnica superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid España.

8. Limusa W, "INSTRUMENTACIÓN Y CONTROL EN EL TRATAMIENTO DE AGUA POTABLE, INDUSTRIALES Y DE DESECHO", Editorial Limusa Wiley, S:A 1971. Paginas 33 a 44.
9. Maroto Sánchez A, tesis doctoral, Incertidumbre de Métodos Analíticos de Rutina, Universitat Rovira I Virgili, Facultad de Química, Tarragona, 2002.
- 10.OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD) "GUIA PARA LA CALIDAD DE AGUA POTABLES" Volumen 3, México, 1985, Paginas 22 a 27.
- 11.Merck, Manual de Fotómetro SQ118 Merck, E. Merck, Frankfurter Straße 250, Postfach 4119 D-6100 Darmstadt, Republica Federal de Alemania, B147201005-162234, Pág. 18.
- 12.Mettler Toledo, Manual de instrucciones de pHmetro Mettler Toledo 355.
- 13.Eurachem, The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to methods validation and related topics (en línea). 1ª version en internet en diciembre de1998, 1ª Edición en Inglés 1.0-1998. sl: Eurachem, 1998.Disponible en internet: <URL: <http://www.eurachem.bam.de/index,htm>>. Fecha de última descarga 26 de abril de2006.
- 14.webs.uvigo.es/pintos-clapes/docencia/Tabla-t.d.

15.Comandari Reyes CA 2004. Análisis de Precisión y Control de Procesos de Medición Alternativa a los Métodos Estándar de Análisis de Aguas de De desecho, Trabajo de Graduación Ing. Agr. El Salvador, Universidad Centroamérica José Simeón Cañas.

16.CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), “REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LABORATORIOS DE PRUEBA Y CALIBRACION” Editada por CONACYT, N° 51, San Salvador, El Salvador, C.A. Páginas de 1 a 37.

17.Morales López C y Otros, Año de publicación 2002, “ELABORACION DE UN FILTRO PARA REDUCIR LA CONTAMINACION FISICO QUIMICO DEL AGUA EN LAS COMUNIDADES EL BUEN SAMARITANO BARRIO CONCEPCION DE SAN LUIS LA HERRADURA” Trabajo de graduación para Lic. en Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador, Páginas de 1 a 70

GLOSARIO ⁽²⁾ ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ ⁽¹³⁾

- 1. Adecuabilidad del sistema:** Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.
- 2. Analito:** Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.
- 3. Anova (Análisis de varianza):** Técnica estadística para determinar los componentes de la Varianza.
- 4. Calibración:** Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.
- 5. Coeficiente de aceptación:** Probabilidad, en porcentaje, de que el resultado de una medida esté comprendido en el intervalo de aceptación o entre los límites de aceptación.
- 6. Control de calidad:** Conjunto de medidas que según una metodología de análisis de muestras, aseguran que el proceso se encuentra bajo control.
- 7. Control de muestras:** Son controles que permiten seguir la pista de una muestra y de sus derivados a través de todas las etapas, desde la toma de muestra al análisis y la visualización de resultados.
- 8. Desviación estándar de la muestra:** Es un estimado de la desviación estándar de la población o según una muestra de resultados.

- 9. Documentación:** Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.
- 10. Duplicado:** Normalmente, número mínimo de replicas (dos), aunque en casos específico se refiere a las muestras duplicadas, es decir, dos muestras tomadas en el instante en un lugar concreto
- 11. Error aleatorio:** Desviación en cualquier fase de un procedimiento analítico que puede tratarse mediante técnicas estadísticas estándar.
- 12. Error tipo I:** También denominado error alfa, es la probabilidad de determinar que un componente está presente cuando en realidad está ausente.
- 13. Error tipo II:** También denominado error beta, es la probabilidad de no detectar un componente que en realidad está presente.
- 14. Especificaciones:** Descripción del material, sustancia o producto, que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.
- 15. Especificidad:** Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.
- 16. Estudio colaborativo:** Reproducibilidad realizada en distintos laboratorios, por diferentes químicos.

- 17. Estabilidad analítica de la muestra:** Propiedad de una muestra, preparada para su cuantificación, de conservar su integridad Fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.
- 18. Estándar de comprobación de calibrado:** Estándar utilizado para determinar el estado de calibración de un instrumento entre calibrados periódicos.
- 19. Estándar de sustitución:** Compuesto puro añadido en una muestra en el laboratorio justo antes de su proceso de modo que pueda determinar la eficacia global de un método.
- 20. Estándar de control de laboratorio:** Estándar, normalmente certificado por un organismo externo, utilizado para medir el sesgo en un procedimiento. Para ciertos componentes y matrices, utilídense los materiales de referencia estándar (Standard Reference Materials) del National Institute of Standards and Technology (NIST) cuando se encuentre disponibles.
- 21. Estándar interno:** Compuesto puro añadido a un extracto de muestra justo antes del análisis instrumental para permitir la coerción de ineficacias.
- 22. Evaluación tipo A:** Es un método de evaluación de la incertidumbre por el análisis estadístico de una serie de observaciones.
- 23. Evaluación tipo B:** Es un método de evaluación de la incertidumbre por otros medios diferentes al análisis estadístico.

24.Exactitud: Es el acuerdo entre el resultado de una medición y el valor verdadero de una medición.

25. Factor de cobertura: Es un factor numérico usado como un multiplicador de la incertidumbre estándar combinada para obtener una incertidumbre expandida.

26.Garantía de calidad: *Plan definidor del funcionamiento del laboratorio que especifica las medidas utilizadas para producir datos de una precisión y un sesgo conocido.*

27.Incertidumbre: Al error cometido en el laboratorio, medido por la precisión, también se le denomina incertidumbre y esta cuantifica todos los errores cometidos durante el proceso de análisis; siendo la incertidumbre un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuida al mesurando.

28.Incertidumbre (de la medición): Es un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mesurando.

29.Incertidumbre estándar: Incertidumbre del resultado de una medición expresada como desviación estándar.

- 30. Incertidumbre estándares combinados:** resultado de una medición cuando el resultado es obtenido con los valores de varias otras cantidades, igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos.
- 31. Incertidumbre expandida:** Cantidad que define un intervalo acerca del resultado de una medición que puede ser esperado que abarque una fracción grande de la distribución de valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando.
- 32. Intervalo:** Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.
- 33. Límite de cuantificación:** Concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.
- 34. Límite de detección:** Concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada. bajo las condiciones de operación establecidas.
- 35. 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.
- 36. Media aritmética:** Es el valor de una media aritmética de una muestra de resultados.

- 37.Medición:** Grupo de operaciones que tiene el objeto de determinar el valor de una cantidad.
- 38.Mesurando:** Cantidad particular sujeta a una medición, la especificación de un mesurando puede requerir expresiones acerca de cantidades tales como tiempo, temperatura y presión.
- 39.Metodología de prueba:** Procedimiento o grupo de procedimientos, para determinar si un producto o materia prima cumple con las especificaciones establecidas.
- 40.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.
- 41.Método analítico desarrollado internamente:** método desarrollado por el propio laboratorio.
- 42.Método analítico indicativo de estabilidad:** Método cuantitativo capaz de detectar variaciones en las propiedades del material evaluado, debidas a las condiciones de almacenaje.
- 43.Método analítico oficial:** Método que aparece en la literatura oficial reconocida.
- 44.Método analítico no oficial:** Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.
- 45.Método de medición:** Es una secuencia lógica de operaciones, descritas generalmente, usada en la ejecución de las mediciones.

46.Muestra: Porción del material a evaluar.

47.Muestra analítica: Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.

48.Muestra adicionada: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.

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

50.Placebo analítico: Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

51. Placebo adicionado: Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.

52.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.

53.Precisión intermedia: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

54.Procedimiento de medición: Grupo de operaciones, descritos específicamente, usando en el rendimiento de las mediciones de acuerdo a un método dado y es usualmente bien detallado para permitir a un operador llevar a cabo mediciones sin información adicional.

- 55.Procedimiento de mantenimiento preventivo del equipo:** Procedimiento que reducirá los fallos de funcionamiento de los instrumentos, mantendrá el nivel de calibrado y reducirá los periodos de paralización.
- 56.Proporcionalidad:** Relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.
- 57.Protocolo de validación:** Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.
- 58.Recobro:** Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado o muestra adicionada, empleando el método analítico.
- 59.Repetibilidad:** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método.
- 60. Reproducibilidad:** Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.
- 61.Revalidación:** Comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño cuando existen cambios en la composición del producto, en el método analítico, o cambios críticos en los procesos de fabricación.
- 62.Robustez:** Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.

63.Sesgo: Es una medida del error sistemático.

64.Sustancia de referencia: Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con la sustancia en evaluación.

65.Sustancia de referencia primaria: Sustancia que es designada o reconocida por tener la más alta calidad metrológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.

66.Sustancia de referencia secundaria: Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación con una sustancia de referencia primaria, o bien, cuando es certificada mediante un procedimiento científicamente reconocido.

67.Tolerancia: Reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como pueden ser: equipos, columnas. La robustez y la tolerancia son conceptos diferentes, ya que el primero se refiere a la influencia de factores internos del método, mientras que la tolerancia, se refiere a factores externos al método.

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

69. Valor verdadero: Es el valor consistente con la definición de una cantidad particular dada.

ANEXOS

ANEXO N° 1

MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL pHMETRO METTLER TOLEDO

MODELO 355

MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL METTLER TOLEDO MODELO 355

1.1 Empacamiento e instalación.

1. Empaque del medidor, la guía para medición y el distribuidor de poder. Si ordena un electrodo este debe ser incluido también.

2. Si ordena el set de inicio, revisa el contenido:

brazo del electrodo y manejador	1
Solución de llenado/almacenamiento del electrodo	1 Frasco
Pipeta de transferencia	1
Contenedor para almacenamiento del electrodo	1
Buffers pH	3 Frascos
ATC prueba	1
Solución acondicionadora para el electrodo	1 Frasco
Vaso de precipitado	1
Guía para medición de pH	1

3. Empaque para el brazo del electrodo para medición de pH.

a. El brazo del electrodo puede abrirse de mano izquierda o derecha.

Utilizando el manejador correctamente para mover apropiadamente la capucha del medidor de pH.

b. Deslizar el brazo dentro del recibidor y apretar fuertemente el tornillo.

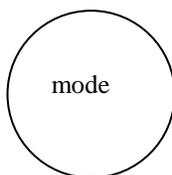
Sustituya por el capuchón.

- c. Ajuste bien el brazo del electrodo sobre la palanca. Ajuste la /tensión del tornillo como es requerido.
- d. Llene la tarjeta de garantía. Para tu control has notas por número de serie, fechas de preparación y distribuye en pagina 60.

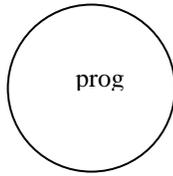
1.2 conexiones para salida de energía.

1. desconecte los enchufes cortos de las conexiones, sustraiga los enchufes fuera de las conexiones. Si usas dos Electrodo sensores conéctalos en los canales A y b. Si usas un solo electrodo conéctelo en canal A.
2. Conecte el electrodo de referencia, si estas usándolo, para el enchufe REF.
3. Si estas usando el ATC de prueba conéctalo en el enchufe ATC. Si estas usando el PT1000 de prueba conéctalo en el enchufe PT.
4. Conecta la unidad de distribución de poder en el enchufe DC.
5. Cuando el 355 esta encendido es enviado fuera de la pantalla para ser auto-examinado.

1.3 Pantalla y controles

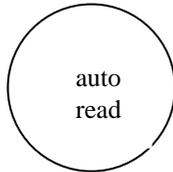


Selecciona pH, mV, mV relativos, concentración, Adiciones conocidas, o modalidad de adición de Muestras.



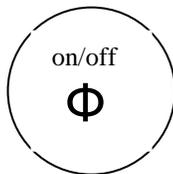
Accesa al sistema del menú desde el modo corriente.

Existe un sistema de menú un paso a tiempo.

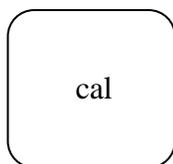


Selecciona automáticamente el punto final, el tiempo de punto

Final o punto final manual facilitado.



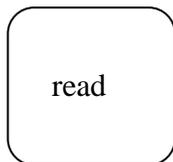
Apaga la pantalla, y coloca el medidor en modo suspendido.



Da comienzo a la calibración de la secuencia de pH

Concentración mV relativos. Comienza la secuencia de

Adiciones conocidas y la modalidad de adición de muestra.



Comienza la medición de la muestra en todas las

Modalidades. Presiona nuevamente para punto final manual.

Comienza y termina el tiempo de datos alargando

Manualmente el punto final.



Selecciona opciones en el sistema del menú, ingresa los datos o

los selecciona.

Cursores: Se utilizan para mover el sistema del menú  y 
Estas son usadas también para ajustar las luces.

Teclas Son teclas de entrada de datos, para un set de buffers de
Numéricas calibración, fecha/tiempo, Limites altos/ bajos, pueden ser
Usados también para mover alrededor del sistema
Rápidamente.

2.1 Medición de pH.

Recomendamos calibrar el equipo antes de la medición de una muestra (ver sección 2.1.1).

Para medición del pH de una muestra:

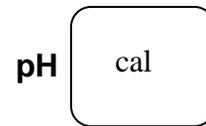
Colocar el electrodo en la muestra y presionar **read** para comenzar la medición.

El tablero enseña el pH de la muestra. Puedes usar la temperatura de prueba mostrada o ingresar la temperatura manualmente (ver sección 2.13.2).

Si usas el punto final automático la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). para punto final manual y congelamiento de la pantalla

Presionar **read**.

2.1.1 Calibración para un electrodo para pH



NOTAS Si usas temperatura de prueba la temperatura del buffer es mostrada, o puedes ingresar la temperatura del buffer manualmente (ver sección 2.13.2) Si usas el punto final automático la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). Para punto final manual presionar **read**

Para calibrar los electrodos:

Presione **cal** Si usas ambos canales de medición (A y B),

Selecciona uno que desees calibrar usando ▲ y ▼

luego presionar **enter**.

La calibración de los buffers es mostrada en la pantalla. Si quieres usar otro buffer necesitaras ingresar los valores (ver sección 3.5).

La compensación del electrodo es mostrada en el tablero.

Para regresar a la medición de la muestra presionar **read**.

2 puntos de calibración.

Para continuar con 2 puntos de calibración:

Colocar el electrodo en el segundo buffer y presiona **cal**

Cuando la pantalla este congelada el electrodo en valor de inclinación será mostrado. Para regresar a la medición de la muestra presionar **read** .

3,4 y 5 puntos de calibración

Repita el procedimiento usando el tercero, cuarto y quinto buffer de calibración.

NOTA Los buffer para calibración pueden ser seleccionados en cualquier orden.

Usa ▼ y ▲ para seleccionar el buffer que quieras usar para la calibración y presionar **cal**.

2.2 Medición de mV

mode mV read

Para medición de los mV absolutos de una muestra:

Coloca el electrodo y presionar **read** para comenzar la medición.

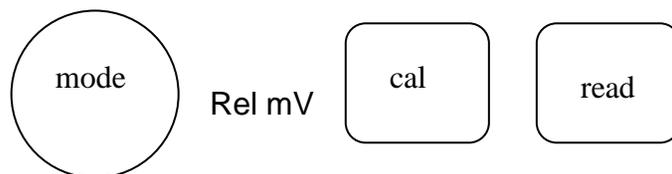
La pantalla muestra los mV absolutos de la muestra

Si usas el punto final automático la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). Para punto final manual y congelamiento de la pantalla

Presionar **read**.

Si comienzas una nueva medición presiona **read**.

2.2.1 medición de mV relativos.



Coloca el electrodo de referencia y presiona **cal**.

La pantalla muestra los mV de la muestra de referencia.

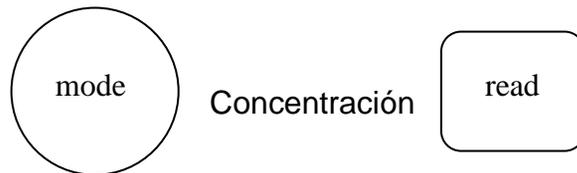
Si usas el punto final automático la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). para punto final manual y congelamiento de la pantalla

Presionar **read**.

Si ingresas compensación de mV (ver sección 2.10.3) la muestra resultante será la diferencia entre la medición y el set de valores.

Si comienzas una nueva medición presiona **read**

2.3 Medición de concentraciones.



Recomendamos regular la calibración antes de medir la concentración de la muestra (sección 2.3.1).

Para medir la concentración de la muestra:

Introduzca el electrodo en la muestra y presione **read** para comenzar la medición.

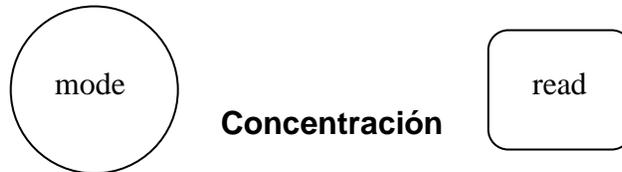
La pantalla muestra la concentración de la muestra (puedes cambiar las unidades de las mediciones – ver sección 2.11.2). Si estas usando temperatura de prueba la temperatura de muestra aparece o puedes ingresar la temperatura manualmente (ver sección 2.13.2).

Si usas el punto final automático la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). para punto final manual y congelamiento de la pantalla

Presionar **read**.

Si comienzas una nueva medición presiona **read**.

2.3.1 Calibrando un electrodo de Ion selectivo.



Notas: Si usas una temperatura prueba la temperatura del estándar es conocida y mostrada o puedes introducir la temperatura del estándar manualmente (ver sección 2.13.2).

Si usas el auto punto final o tiempo del punto final la pantalla se congela automáticamente (ver sección 2.7). Para el punto final manual y congelar la pantalla presionar **read**.

Para calibrar un electrodo.

Presione **Cal** si usas dos canales de medición (A y B) selecciona uno que quieras calibrar usando ▲ y ▼ luego presionar **enter**.

Cinco calibraciones estándares son mostradas en la pantalla. Si quieres usar otros estándares, puedes necesitar que introduzcan los valores (ver sección 2.10.1).

1 punto de calibración.

Coloque el electrodo en el estándar 1 como el cálculo de punto final una marca (✓) aparece.

El electrodo impreso es mostrado.

Para regresar a la muestra determinada presionar **read**.

2 puntos de calibración.

Para continuar con el punto 2 de calibración:

Coloque el electrodo en el segundo estándar y presione **Cal**.

Cuando el tablero congele el electrodo se inclinara y el valor es observado en la pantalla.

Para regresar al dato de la muestra presionar **read**

3, 4 y 5 puntos de calibración.

Repita el procedimiento usando el tercero, cuarto y quinto estándar de calibración.

NOTAS: El estándar o set de estándares del primer estándar de calibración es del punto isotencial.

El quinto estándar puede seleccionarse para calibraciones cualquier orden.

Usa **▲ y ▼** para seleccionar los estándares que quieras usar para calibrar y presionar **Cal**.

1.4 Adición conocida/ sustracción de medidas.

Mode K. add **Cal** **read**.

Introduzca el tipo del electrodo inclinación, volúmenes y concentraciones de los estándares antes de la medición (ver Sección 2.18).

Para medir una muestra por adición conocida/sustracción

Coloque el electrodo en muestra y presione **Cal** para iniciar la medición.

La pantalla muestra la primera parte de la medición (puedes cambiar las unidades de las mediciones -Ver Sección 2.11.2) Si usas una temperatura de prueba, La temperatura de la muestra es dada en la pantalla, puedes usar también la temperatura manual (ver seccion2).

Si usas el auto punto final o tiempo de punto final la pantalla recongela automáticamente (ver sección 2.7.).Para punto final de manual y congelar pantalla presionar **read**.

Adicionar el estándar a la muestra y presione **read**.

La muestra resultante es mostrada y presionar **read**.

La muestra resultante es mostrada. Si usas el auto punto final o tiempo de punto final el tablero congela automáticamente Ver sección 2.7.

Para punto final manual y congelar el tablero presionar **read**

Nota valores conocidos Sección 2.18.3. Meter el volumen y concentración de los estándares utilizados, inclinar el electrodo volumen de muestras (sección 2.18.4) introduzca el volumen de tu muestra como volumen muestra.

1.5 Adición de muestras / sustracción de mediciones.

Mode S.add **cal** **read** .

Introduzca el electrodo tipo inclinado, volúmenes y concentración del estándar antes de la medición. Ver sección 2.18.

Para medir una muestra por muestra presione **Cal** para comenzar las mediciones.

La pantalla muestra la primera parte de la medición (puede cambiar las unidades de la medición – ver Sección 2.11.2). Si usas una temperatura prueba del estándar es mostrada o puedes introducir la temperatura manual mente.

Sección 2.13.2.

Si usas el auto punto final o tiempo de punto final la pantalla se congela automáticamente .Sección 2.7. Para el punto final manual y congelar la pantalla presionar **read**.

Puedes introducir los volúmenes de 4 muestras. Ver sección 2.18 .4.

Entonces si es posible la modificación de 4 muestras empleando el mismo estándar. Puedes medir mas de 4 muestras (el 355 asume el volumen de la muestra es que entera por volumen de muestra 4) pero el máximo de análisis que se recomienda son la medición de 4 muestras por cada estándar.

También comenzar nuevamente agregar la próxima muestra al estándar (previamente a la muestra) y presione **read**.

El 355 usa el valor conocido por encima de la muestra, para calcular un nuevo valor de estándar y por lo tanto la nueva medición de muestra.

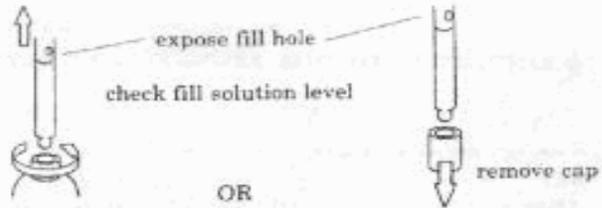
Nota valores conocidos. Sección 2.18.3- Introducir el volumen y concentración del estándar que usas y la inclinación del electrodo.

Volúmenes de muestras. Sección 2.18.4. – Introducir el volumen de las muestras (arriba de 4).

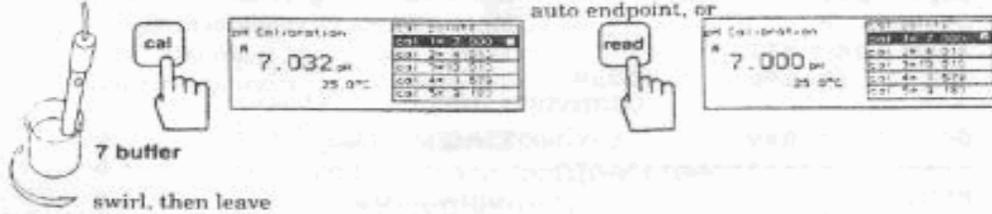
Paso por paso Guía para tomar mediciones de pH.

Step-by-step guide to taking pH measurements

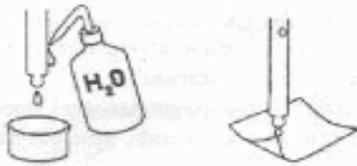
1. Prepare Electrode



2. 1-Point Calibration



3. Rinse Electrode

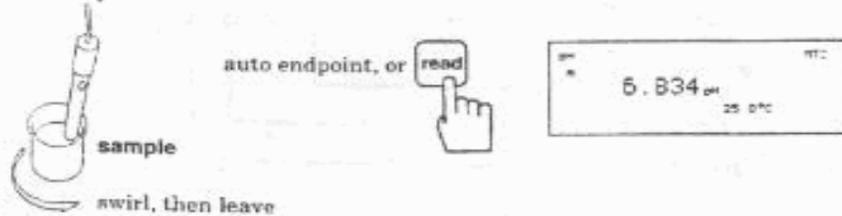


4. 2-, 3-, 4- and 5-Point Calibration



repeat step 2 using 2nd, 3rd, 4th and 5th buffer, rinsing in between. Rinse.

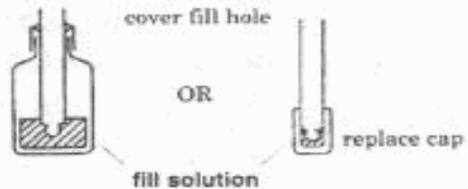
5. Measure Sample



6. Rinse Electrode



7. Store Electrode



ANEXO Nº 2

INSTRUCCIONES PARA EL MANEJO DEL ELECTRODO.

INSTRUCCIONES DE MANEJO DEL ELECTRODO.

Importante

El electrodo semipila de pH METTLER TOLEDO in Lab esta destinado a la medición precisa del pH en el laboratorio a presión ambiente junto con un electrodo de referencia.

Todos los electrodos llevan impresa la información en su cuerpo, por ejemplo:

Modelo	inLab 410 pH
Tipo de sonda de temperatura Incorporada (solo se indica cuando existe).	NTC
Intervalo de pH	pH 0....14
Intervalo de temperatura	0.....100°C
Electrolito de referencia para relleno (los electrodos cargados de gel no se rellenan)	ELECTROLYT 9823 nº de pedido Completo: 209823250.

Precauciones.

El electrodo debe utilizarse únicamente en la aplicación indicada. Es aconsejable llevar gafas de seguridad cuando se manipulen electrolitos y agentes de limpieza. Los electrolitos contienen partes de vidrio.

Preparación.

El electrodo se entrega preparado para el uso. Observar si hay partes rotas. En los electrodos con cable separable, conectar la cabeza del electrodo con el conector del cable girando en el sentido de las agujas de reloj. En los cables y en los electrodos con conector MultiPin ambas marcas (blacas/grisas) deben estar alineadas antes del giro. Conectar el otro extremo del al pH-metro. Si el electrodo contiene una sonda de temperatura incorporada, el cable de la sonda cambien debe estar conectado.

Los electrodos recargables van provistos de un dispositivo móvil de “cierre de seguridad”. La abertura de relleno esta cerrada cuando se ve el orificio a través de la parte transparente del cierre de seguridad. Cuando no se ve el orificio el electrodo esta preparado para su uso. Para el almacenamiento la abertura de llenado se cierra girando el cierre de seguridad hasta su posición original. Si el

electrodo esta en un brazo de electrodos, deslizar el cierre de seguridad unos 20mm hacia abajo y sujetar el electrodo en el brazo.

Después de retirar el capuchón de humectación y lavar el electrodo con agua destilada. Eliminar las posibles burbujas del aire del interior de la membrana de vidrio (electrolito de referencia interna) del electrodo sacudiendo ligeramente como si se tratara de un termómetro clínico. El electrodo esta listo para la calibración. Seguir exactamente el procedimiento de calibración descrito en el manual del electrodo de pH. Después de calibración electrodo esta listo para la medición.

Sugerencia práctica: Después del lavado no frotar la membrana de vidrio, pues ello puede aumentar el tiempo de respuesta.

Almacenamiento.

Lavar o limpiar el electrodo después de usarlo y volver a mantener el capuchón de humectación, lleno en parte (1/3) con electrolito de referencia.

Relleno (solo para electrodos con carga líquida).

Deslizar el cierre de seguridad unos 20mm hacia abajo. Rellenar el electrodo con electrolito de referencia recomendado, si fuera necesario. El nivel aproximado de electrolito de un electrodo llenado correctamente es de 10mm por debajo del orificio de la carga.

Localización de fallos

Comprobar todas las conexiones.

La sonda de temperatura de estar conectada a la correspondiente entrada del pH-metro.

Respuesta lenta/deriva.

Limpiar el diafragma.

Después de un almacenamiento en seco, sumergir durante 24 horas en el electrolito de referencia.

Pendiente no ajustable.

Limpiar el diafragma.

Limpiar el conector.

Cero no ajustable.

Limpiar el diafragma.

Cambiar el electrolito de referencia.

Ensuciamiento debido a...

Proteínas: usar solución de limpieza de pepsina/HCL (nº de pedido 209891250)

Sulfuros: usar solución de limpieza de tío urea.

Líquidos oleosos/orgánicos: lavar con acetona o etanol (inflamables)

Residuo soluble en ácido/álcali: Lavar con HCl 0.1 M o NaOH 0.1 M

Cada vez que se limpia el electrodo hay que calibrarlo.

ANEXO N° 3

EQUIPO, CRISTALERIA, REACTIVOS

Equipo

- Medidor de pH(Consta de un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo para compensar la temperatura)
- Balanza analítica.
- Estufa.
- Termómetro.
- Frasco lavador.
- Gotero.
- Espátula.

Cristalería:

- Vasos de precipitado (de polietileno o teflón).
- Agitador(utilizar agitador magnético, con barra recubierta de teflón)

Reactivos:

- Buffer (estándar de referencia) pH 10.0 color azul.
- Buffer (estándar de referencia) pH 7.0 color amarillo.
- Buffer (estándar de referencia) pH 4.0 color rojo.
- Soluciones:
 - Solución de Fluoruro ácido de potasio.
 - Solución saturada de KCl.

ANEXO N° 4

Certificados de buffers pH 4, pH 7, pH 10.



PO Box 13090
Arlington, TX 76094
<http://www.riccachemical.com>
1-888-GO-RICCA
customerservice@riccachemical.com

Buffer, Reference Standard, pH 4.00 ± 0.01 at 25°C (Color Coded Red), Private Labeled for Corning

Lot Number: 1510787 Product Number: 478551 Expiration Date: OCT 2007 Manufacture Date: 11/1/2005

The certified value for this product is confirmed in independent testing by a second qualified chemist.

Contains:

Name	CAS#	Grade
Inert Dye	Proprietary	Commercial Grade
Potassium Acid Phthalate	877-24-7	Buffer or ACS
Preservative (No Mercury compounds or Formaldehyde)	Proprietary	Commercial Grade
Water, Deionized	7732-18-5	ACS, ASTM D 1193 (Type I), EP, USP

Test Name	Assay Method	Specification	Result
Appearance	Clarity, Color, Odor	Clear, light red, odorless	Passed Test
pH at 25.0°C (traceable to NIST SRM 185g, 186-I-e, 186-II-e)	pH determination	4.00 ± 0.01 pH at 25.0 °C	4.01 pH at 25.0 °C

Volumetric glassware complies with Class A tolerance requirements of ASTM E 288 and NIST Circular 434; it is calibrated before first use and recalibrated regularly in accordance with ASTM E 542 and NIST Procedure NBSIR 74-461. Balances are calibrated regularly with weights certified traceable to the NIST national mass standard. Thermometers and temperature probes are calibrated before first use and recalibrated regularly with a thermometer traceable to NIST standards. All products are prepared according to master documents that assure manufacture according to validated methods. Batch records document raw material traceability and production and testing history for each lot manufactured.

Shelf Life (unopened container):

Part Number	Shelf Life
478551	24 months

Recommended Storage: 15°C - 30°C (59°F - 86°F)

Joan Lutkenhaus
Director of Quality Assurance and Regulatory Affairs

This Certificate of Analysis is designed to comply with ISO Guide 31 "Reference Materials -- Contents of Certificates and Labels."



PO Box 13090
Arlington, TX 76094
<http://www.riccachemical.com>
1-888-GO-RICCA
customerservice@riccachemical.com

Buffer, Reference Standard, pH 7.00 ± 0.01 at 25°C (Color Coded Yellow), Private Labeled for Corning

Lot Number: 1510256 Product Number: 478552 Expiration Date: SEP 2007 Manufacture Date: 10/11/2005

The certified value for this product is confirmed in independent testing by a second qualified chemist.

Contains:

Name	CAS#	Grade
Inert Dye	Proprietary	Commercial Grade
Potassium Phosphate, Monobasic	7778-77-0	ACS
Preservative (No Mercury compounds or Formaldehyde)	Proprietary	Commercial Grade
Sodium Phosphate, Dibasic	7558-79-4	ACS
Water, Deionized	7732-18-5	ACS, ASTM D 1193 (Type I), EP, USP

Test Name	Assay Method	Specification	Result
Appearance	Clarity, Color, Odor	Clear, yellow, odorless	Passed Test
pH at 25.0°C (traceable to NIST SRM 186-I-e & 186-II-e, 191b & 192b)	pH determination	7.00 ± 0.01 pH at 25.0 °C	7.01 pH at 25.0 °C

Volumetric glassware complies with Class A tolerance requirements of ASTM E 288 and NIST Circular 434; it is calibrated before first use and recalibrated regularly in accordance with ASTM E 542 and NIST Procedure NBSIR 74-461. Balances are calibrated regularly with weights certified traceable to the NIST national mass standard. Thermometers and temperature probes are calibrated before first use and recalibrated regularly with a thermometer traceable to NIST standards. All products are prepared according to master documents that assure manufacture according to validated methods. Batch records document raw material traceability and production and testing history for each lot manufactured.

Shelf Life (unopened container):

Part Number	Shelf Life
478552	24 months

Recommended Storage: 15°C - 30°C (59°F - 86°F)

Joan Lutkenhaus
Director of Quality Assurance and Regulatory Affairs

This Certificate of Analysis is designed to comply with ISO Guide 31 "Reference Materials -- Contents of Certificates and Labels."



PO Box 1309
Arlington, TX 76094
<http://www.riccachemical.com>
1-888-GO-RICCA
customerservice@riccachemical.com

Buffer, Reference Standard, pH 10.01 ± 0.01 at 25°C (Color Coded Blue), Private Labeled for Corning

Lot Number: 1601473 Product Number: 478553 Expiration Date: JUL 2007 Manufacture Date: 1/19/2006

The certified value for this product is confirmed in independent testing by a second qualified chemist.

Contains:

Name	CAS#	Grade
Inert Dye	Proprietary	Commercial Grade
Preservative (No Mercury compounds or Formaldehyde)	Proprietary	Commercial Grade
Sodium Bicarbonate	144-55-8	ACS
Sodium Carbonate	497-19-8	ACS
Water, Deionized	7732-18-5	ACS, ASTM D 1193 (Type I), EP, USP

Test Name	Assay Method	Specification	Result
Appearance	Clarity, Color, Odor	Clear, blue, odorless	Passed Test
pH at 25.0°C (traceable to NIST SRM 186-I-e & 186-II-e, 191b & 192b)	pH determination	10.01 ± 0.01 pH at 25.0 °C	10.01 pH at 25.0 °C

Volumetric glassware complies with Class A tolerance requirements of ASTM E 288 and NIST Circular 434; it is calibrated before first use and recalibrated regularly in accordance with ASTM E 542 and NIST Procedure NBSIR 74-461. Balances are calibrated regularly with weights certified traceable to the NIST national mass standard. Thermometers and temperature probes are calibrated before first use and recalibrated regularly with a thermometer traceable to NIST standards. All products are prepared according to master documents that assure manufacture according to validated methods. Batch records document raw material traceability and production and testing history for each lot manufactured.

Shelf Life (unopened container):

Part Number	Shelf Life
478553	18 months

Recommended Storage: 15°C - 30°C (59°F - 86°F)

Joan Lutkenhaus
Director of Quality Assurance and Regulatory Affairs

This Certificate of Analysis is designed to comply with ISO Guide 31 "Reference Materials -- Contents of Certificates and Labels."

ANEXO N° 5

**TABLA PARA REGISTRO Y TRATAMIENTO DE RESULTADOS DE
MEDICION DE pH.**

ANEXO N° 6

**TABLA PARA REGISTRO Y TRATAMIENTO DE RESULTADOS DE
MEDICION DE pH PARA LA INCERTIDUMBRE**

Tabla N° 12: Tabla de registro y tratamiento de resultados para la incertidumbre de la medición de pH.



LABORATORIO FÍSICOQUÍMICO DE AGUAS
 TABLA PARA REGISTRO Y TRATAMIENTO DE RESULTADOS PARA LA INCERTIDUMBRE PARA LA DE MEDICION DE pH.
 NOMBRE Y MODELO DEL EQUIPO. _____
 PARAMETRO A ANALIZAR _____
 ANALISTA _____

Constante para distribución rectangular.

$a/\sqrt{3} =$

Constante para distribución normal.

$a/1.96 =$

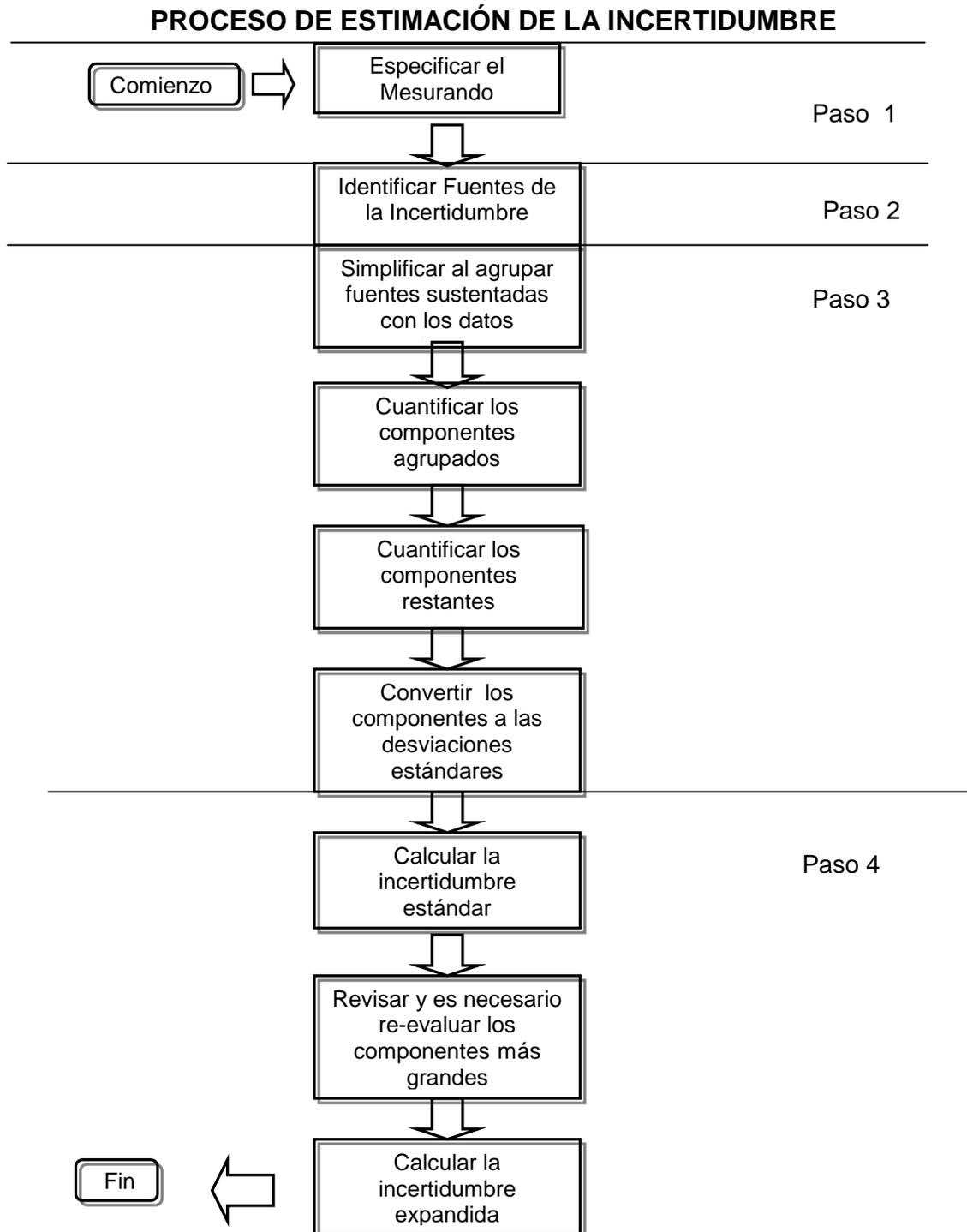
DETERMINACION	COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE	METODO DE DETERMINACION	DISTRIBUCION CORRESPONDIENTE	VALOR	INCERTIDUMBRE ESTANDAR
<i>pH</i>	Tolerancia (dada por el proveedor del equipo)	Método de evaluación tipo B	Rectangular ($a/\sqrt{3}$)		
	Precisión (experimental reproducibilidad)	Método de evaluación tipo A	Normal ($a/1.96$)		
	Electrodo	Método de evaluación tipo B	Rectangular ($a/\sqrt{3}$)		
	Calibración (linealidad)	Método de evaluación tipo A	Normal ($a/1.96$)		

Nota: en una distribución normal el valor de la incertidumbre estándar es el residuo de la desviación estándar con 1.96 considerando una probabilidad del 95 %.

ANEXO N° 7

DIAGRAMA DE PASOS PARA DETERMINACIÓN DE INCERTIDUMBRE

Figura 9: Diagrama de pasos para determinación de incertidumbre.



ANEXO N° 8

TABLA DE LA DISTRIBUCION t -Student n grados de libertad

Tabla N° 13: TABLA DE LA DISTRIBUCION t -Student n grados de libertad.

1- α

n	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

ANEXO N° 9

**GRAFICA DE LA TENDENCIA DE LA PENDIENTE PARA EL
PARÁMETRO DE LA LINEALIDAD**

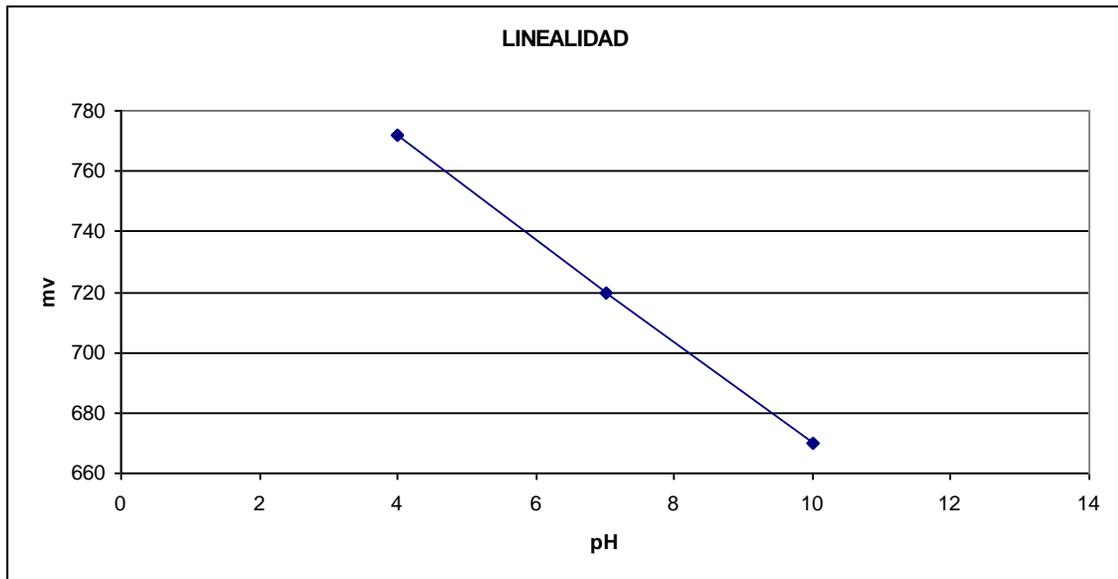


FIGURA Nº 9 : GRAFICA DE LA TENDENCIA DE LA PENDIENTE PARA EL PARAMETRO DE LA LINEALIDAD

ANEXO Nº10

**TABLA PARA CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA
INCERTIDUMBRE PARA ANALISIS DE pH**

Tabla N°14: Tabla para Cuantificación de los componentes de la incertidumbre para el análisis de pH

COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE	DETERMINACION	METODO DE DETERMINACION	DISTRIBUCION CORRESPONDIENTE	VALOR	INCERTIDUMBRE ESTANDAR
Precisión (equipo)	<i>pH</i>	Método de evaluación tipo B	Rectangular ($a/\sqrt{3}$)	0.002	1.155×10^{-3}
Exactitud (reproducibilidad)		Método de evaluación tipo A	Normal ($a/1.96$)	0.0075	3.826×10^{-4}
Electrodo		Método de evaluación tipo B	Rectangular ($a/\sqrt{3}$)	0.25	0.433
Calibración (linealidad)		Método de evaluación tipo A	Normal ($a/1.96$)	0.998	0.51

Nota: en una distribución normal el valor de la incertidumbre estándar es el residuo de la desviación estándar con 1.96 considerando una probabilidad del 95 %.

ANEXO Nº 11

METODO PARA VALOR DE pH 4500-H+ (A y B) EXTRAIDO DE

“MÉTODOS NORMALIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES

Y RESIDUALES”

Móntese el aparato como muestra la figura 4500-F⁻² y síganse las instrucciones del fabricante.

5. Cálculo

Prepárense curvas patrón, comparando los picos de altura de los patrones procesados por el aparato con las concentraciones de los componentes en los patrones. Calcúlense las concentraciones de la muestra por comparación de la altura del pico de la muestra con la curva patrón.

6. Precisión y sesgo

En un único laboratorio, se analizaron cuatro muestras de agua natural conteniendo de 0,40 a 0,82 mg F⁻/l, por septuplicado. La precisión media fue de $\pm 0,03$ mg F⁻/l. Se añadieron 0,20 y 0,80 mg F⁻/l a dos de las muestras. La recuperación media fue del 98 por 100.

7. Bibliografía

WEINSTEIN, L. H., R. H. MANDL, D. C. MCCUNE, J. S. JACOBSON & A. E. HITCHCOCK. 1963. A semi-automated method for the determination of fluorine in air and plant tissues. *Boycce Thompson Inst.* 22:207.

4500-H⁺ VALOR DE pH*

4500-H⁺ A. Introducción

1. Principios

La medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases del tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido-base, suavizado, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, dependen del pH. El pH se utiliza en las determinaciones de alcalinidad y dióxido de carbono y en muchos otros equilibrios ácido-base. A una temperatura determinada, la *intensidad* del carácter ácido o básico de una solución viene dada por la actividad del ion hidrógeno o pH. La alcalinidad y acidez son las capacidades neutralizantes de ácidos y bases de un

agua, y normalmente se expresan como miligramos de CaCO₃ por litro. La capacidad tampón es la cantidad de ácido o base fuerte, normalmente expresada en moles por litro, necesaria para cambiar el valor del pH de 1 l de muestra en 1 unidad. Sorenson¹ definió el pH como el $-\log [H^+]$; es el factor de «intensidad» o acidez. El agua pura está muy poco ionizada y en el equilibrio el producto iónico es:

$$[H^+][OH^-] = K_w = 1,01 \times 10^{-14} \text{ a } 25^\circ\text{C} \quad (1)$$

y

$$[H^+] = [OH^-] = 1,005 \times 10^{-7}$$

donde:

[H⁺] = actividad de iones hidrógeno, moles/l,
[OH⁻] = actividad de iones hidroxilo, moles/l, y
K_w = producto iónico del agua.

* Aprobado por el Standard Methods Committee, 1985.

Debido a las interacciones en todas las soluciones, excepto en las muy diluidas, es necesario utilizar la «actividad» de un ion y no su concentración molar. El uso del término pH supone que se está considerando la actividad del ion hidrógeno, a_{H^+} . La equivalencia *aproximada* con la molaridad, $[H^+]$, sólo se puede presumir en soluciones muy diluidas (fuerza iónica $< 0,1$).

Para expresar una amplia gama de actividades iónicas es conveniente una escala logarítmica. La ecuación 1 en forma logarítmica y corregida para reflejar la actividad es:

$$(-\log_{10} a_{H^+}) + (-\log_{10} a_{OH^-}) = 14 \quad (2)$$

o

$$pH + pOH = pK_w$$

donde:

$$pH \dagger = \log_{10} a_{H^+} \text{ y}$$

$$pOH = -\log_{10} a_{OH^-}$$

† p designa $-\log_{10}$ de un número.

Según la ecuación 2, al aumentar el pH disminuye el pOH en la misma proporción y viceversa, porque pK_w es constante para una temperatura determinada. A 25 °C, un pH 7,0 es neutro, las actividades de los iones hidrógeno e hidroxilo son iguales y cada una corresponde a una actividad aproximada de 10^{-7} moles/l. El punto neutro depende de la temperatura y es pH 7,5 a 0 °C y pH 6,5 a 60 °C.

El valor del pH de una solución muy diluida es aproximadamente el mismo que el logaritmo común negativo de la concentración del ion hidrógeno. Las aguas naturales tienen normalmente valores de pH en la zona de 4 a 9, y la mayoría son ligeramente básicas debido a la presencia de bicarbonatos y carbonatos de los metales alcalinos y alcalino térreos.

2. Referencia

1. SORENSON, S. 1909. Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoff ionen Konzentration bei Enzymatischen Prozessen. *Biochem. Z.* 21:131.

4500-H⁺ B. Método electrométrico

1. Discusión general

a) *Principio:* El principio básico de la determinación electrométrica del pH es la medida de la actividad de los iones hidrógeno por mediciones potenciométricas utilizando un electrodo patrón de hidrógeno y otro de referencia. El electrodo de hidrógeno consiste en un electrodo de platino por el que se pasan burbujas de hidrógeno gaseoso a una presión de 101 kPa. Debido a la dificultad de utilizarlo y al potencial de intoxicación del electrodo de hidrógeno, se utiliza comúnmente el electrodo de vidrio.

La fuerza electromotriz (fem) producida en el sistema de electrodo de vidrio varía linealmente con el pH y esta relación lineal se describe comparando la fem medida con el pH de diferentes tampones. El pH de la muestra se determina por extrapolación.

Dado que no se pueden medir las actividades iónicas aisladas, como a_{H^+} , el pH se define operacionalmente o en una escala potenciométrica. El instrumento para medir el pH se calibra potenciométricamente con un electrodo indicador (vidrio) y uno de referencia, utilizando los tampones del National Institute of

Standards and Technology (NIST) de los Estados Unidos, que tienen valores asignados de forma que:

$$\text{pH}_B = -\log_{10} a_{H^+}$$

donde:

$$\text{pH}_B = \text{pH asignado al tampón NIST.}$$

La escala operativa del pH se utiliza para medir el pH de la muestra y se define como:

$$\text{pH}_x = \text{pH}_B \pm \frac{F(E_x - E_s)}{2.303 RT}$$

donde:

pH_x = pH de la muestra medido potenciométricamente.

F = Faraday: $9,649 \times 10^4$ culombios/mol,

E_x = muestra fem, V,

E_s = tampón fem, V,

R = constante del gas; 8,314 julio/(mol °K), y

T = temperatura absoluta, °K

NOTA: Aunque la ecuación para pH_x aparece en la literatura con un signo más, el signo de las lecturas de fem en milivoltios para la mayoría de los medidores de pH fabricados en Estados Unidos es negativo. La elección del signo negativo se realiza conforme a la convención de la IUPAC en Estocolmo relativa al signo del potencial de los electrodos^{1, 2}.

La escala de actividad da valores 0,04 unidades más elevados que los de la escala Sorenson:

$$\text{pH (actividad)} = \text{pH (Sorenson)} + 0,04$$

La ecuación para pH_x supone que la fem de las células que contiene la muestra y el tampón se deben únicamente a la actividad del hidrógeno no afectada por la composición de la muestra. En la práctica, las muestras tendrán especies y fuerzas iónicas variables, que afectarán a la

actividad de H^+ , lo que impone una limitación experimental a la medida del pH; por ello, para obtener resultados significativos, la diferencia entre E_x y E_s debe ser mínima. Las muestras deben ser soluciones acuosas diluidas o solutos simples (<0,2M). (Selecciónense tampones que protejan a la muestra.) No se puede determinar el pH con exactitud en medios no acuosos, suspensiones, coloides o soluciones de gran fuerza iónica.

b) *Interferencias*: El electrodo de vidrio está relativamente libre de interferencias debidas al color, turbidez, materia coloidal, oxidantes, reductores o salinidad elevada, excepto para un error de sodio a $\text{pH} > 10$. Redúzcase este error utilizando electrodos especiales con «bajo error de sodio».

La temperatura afecta a la medida del pH de dos formas: efectos mecánicos producidos por cambios en las propiedades de los electrodos y efectos químicos causados por cambios de equilibrio. En el primer caso, la pendiente Nernstian aumenta al hacerlo la temperatura, y los electrodos necesitan tiempo para conseguir el equilibrio térmico, lo que puede producir un desplazamiento prolongado del pH. Dado que el equilibrio químico afecta al pH, los tampones patrón de pH tienen un pH específico a las temperaturas indicadas.

Se debe indicar siempre a qué temperatura se ha medido el pH.

2. Instrumental

a) *Medidor de pH* que conste de un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo para compensar la temperatura. El circuito se completa a través del potenciómetro cuando los electrodos se sumergen en la solución test. Muchos medidores de pH son capaces de medir pH o milivoltios y algunos tienen una expansión de escala que permite lecturas de

hasta 0,001 unidades de pH, pero la mayoría de instrumentos no son tan precisos.

Para trabajos de rutina utilícese un medidor de pH exacto y reproducible hasta 0,1 unidades de pH con una escala de 0 a 14, y dotado de un ajuste compensador de la temperatura.

Aunque los fabricantes proporcionan instrucciones de trabajo, los términos descriptivos pueden ser confusos. En la mayoría de los instrumentos existen dos controles: intersección (ajuste de tampón, asimetría, estandarizar) y pendiente (temperatura, compensación); sus funciones se muestran en forma de diagrama en las figuras 4500-H⁺:1, y 2. El control de intersección desvía lateralmente la curva de respuesta, que atraviesa el punto isotérmico sin cambio en la pendiente. Así se puede llevar el apartado a la escala (0 mV) con un tampón de pH 7 que no tiene cambio de potencial con la temperatura.

El control de pendiente hace rotar la pendiente mV/pH alrededor del punto isotérmico (0 mV/pH 7). Para ajustar la pendiente para la temperatura, sin alte-

rar la intersección, selecciónese un tampón que proteja la muestra con tampón pH 7 y ajústese el control de pendiente al pH de este tampón. El aparato indicará el cambio correcto de milivoltios por unidad de pH a la temperatura de la prueba.

b) *Electrodo de referencia* consistente en media pila que suministra un potencial constante de electrodo. Normalmente se utilizan calomelanos y plata: electrodos de plata-cloruro. Cualquiera de ellos se encuentra con varios tipos de conexiones líquidas.

La conexión líquida del electrodo de referencia es crítica porque en ese punto el electrodo forma un puente de sal con la muestra o tampón y se genera un potencial de conexión líquida que afecta, a su vez, al potencial producido por el electrodo de referencia. Las conexiones del electrodo de referencia pueden ser de cerámica anular, cuarzo o fibra de amianto, o de tipo de manguito. El tipo más utilizado es la conexión de cuarzo. La fibra de amianto no es recomendable para soluciones fuertemente básicas. Sígase las instrucciones del fabricante para

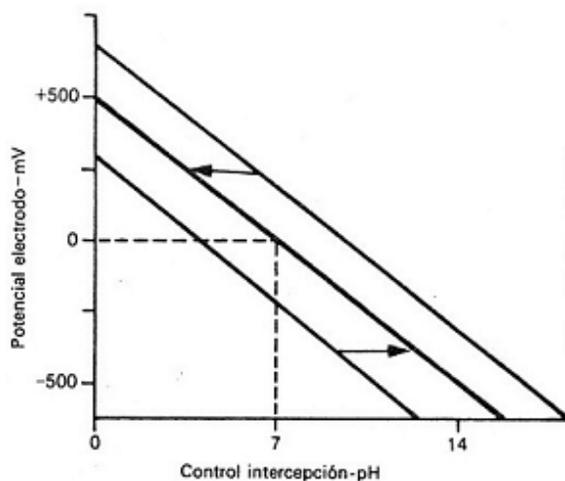


Figura 4500-H⁺:1. Potencial del electrodo frente a pH. El control de intersección desvía lateralmente la curva de respuesta.

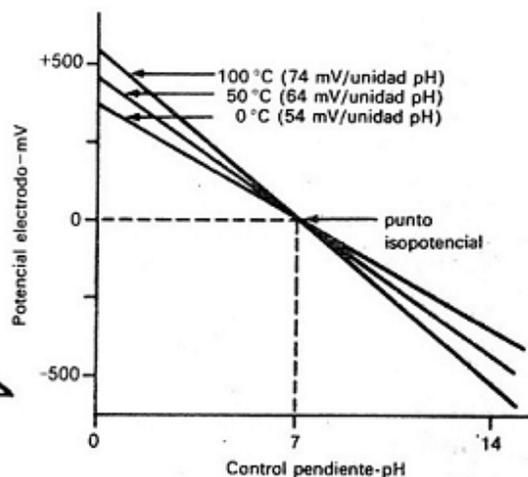


Figura 4500-H⁺:2. Respuesta típica del electrodo de pH como función de la temperatura.

uso y mantenimiento del electrodo de referencia.

Rellénense los electrodos no sellados con el electrolito correcto hasta el nivel adecuado y asegúrese que la conexión se ha humedecido correctamente.

c) *Electrodo de vidrio*: El electrodo del sensor es un bulbo de vidrio especial que contiene una concentración fija de HCl o una solución tamponada de cloruro en contacto con un electrodo interno de referencia. Al sumergir un nuevo electrodo en una solución, la superficie exterior del bulbo se hidrata e intercambia iones sodio por iones hidrógeno para formar una capa superficial de iones hidrógeno. Ésta, junto con la repulsión de aniones por puntos fijos de silicato, cargados negativamente, produce un potencial en la interfase vidrio-solución, que está en función de la actividad del ion hidrógeno en solución.

Existen varios tipos de electrodos de vidrio. Los electrodos de combinación incorporan en una única sonda los electrodos de vidrio y de referencia. Utilícese un electrodo con «bajo error de sodio» que pueda funcionar a temperaturas elevadas, para medir un pH superior a 10, porque los electrodos de vidrio estándar dan valores bajos erróneos. Para medir un pH inferior a 1, los electrodos de vidrio dan valores erróneamente elevados; utilícense en su lugar electrodos de membrana líquida.

d) *Vasos de precipitados*: Son preferibles los de polietileno o TFE*.

e) *Agitador*: Utilícese un agitador magnético, con barra recubierta de TFE, o uno mecánico con impulsor inerte recubierto de plástico.

f) *Cámara de flujo*: Utilícese para determinaciones de flujo continuo o para soluciones mal tamponadas.

3. Reactivo.

a) *Preparación general*: Calíbrese el sistema de electrodos frente a soluciones tampón estándar o con pH conocido. Dado que las soluciones tampón se pueden deteriorar como consecuencia del crecimiento de hongos o por contaminación, prepárense recientes a medida que se necesiten para un trabajo más preciso, pesando las cantidades de productos químicos que se especifican en la tabla 4500-H⁺:I, disolviéndolas en agua destilada a 25 °C y diluyendo a 1.000 ml. Esto es especialmente importante para los tampones borato y carbonato.

Hiérvase y enfríese el agua destilada que tenga una conductividad inferior a 2 μ ohms/cm. A 50 ml, añádase 1 gota de solución saturada de KCl adecuada para el uso en electrodos de referencia. Si el pH de esta solución test estuviera entre 6,0 y 7,0, utilícese para preparar todas las soluciones patrón.

Séquese KH₂PO₄ de 110 a 130 °C durante 2 horas antes de pesarlo, pero sin calentar el tetraoxalato de potasio hidratado, inestable, por encima de 60 °C, ni secar las otras sales especificadas para tampones.

Aunque los productos químicos de calidad ACS suelen ser satisfactorios para preparar soluciones tampón, cuando se precise mayor precisión se deben utilizar productos certificados, suministrados por National Institute of Standards and Technology. Para análisis de rutina, úsense las pastillas para tampones, polvos o soluciones existentes en el comercio de calidad comprobada. Al preparar soluciones tampón a partir de sales sólidas, verifíquese disolución completa.

Como norma, selecciónense y prepárense las soluciones tampón clasificadas como patrones primarios en la tabla 4500-H⁺:I; resérvense los patrones secundarios para situaciones extremas, en-

TABLA 4500-H⁺.I. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN DE pH³

Solución patrón (molalidad)	pH a 25 °C	Peso necesario de producto químico/1.000 ml solución acuosa a 25 °C
<i>Patrones primarios:</i>		
Tartrato ácido de potasio (saturado a 25 °C)	3,557	> 7 g KHC ₄ H ₄ O ₆ *
Citrato diácido de potasio 0,05	3,776	11,41 g KH ₂ C ₆ H ₅ O ₇
Ftalato ácido de potasio 0,05	4,004	10,12 g KHC ₈ H ₄ O ₄
Fosfato ácido de potasio 0,05 + fosfato ácido disódico 0,025	6,863	3,387 g KH ₂ PO ₄ + 3,533 g Na ₂ HPO ₄ †
Fosfato diácido de potasio 0,008695 + fosfato ácido disódico 0,03043	7,415	1,179 g KH ₂ PO ₄ + 4,303 g Na ₂ HPO ₄ †
Borato de sodio decahidrato (bórax) 0,01	9,183	3,80 g Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O†
Bicarbonato de sodio 0,025 + carbonato de sodio 0,025	10,014	2,092 g NaHCO ₃ + 2,640 g Na ₂ CO ₃
<i>Patrones secundarios:</i>		
Tetraoxalato de potasio dihidrato 0,05	1,679	12,61 g KH ₂ C ₄ O ₆ · 2H ₂ O
Hidróxido de calcio (saturado a 25 °C)	12,454	> 2 g Ca(OH) ₂ *

* Solubilidad aproximada.

† Preparar con agua destilada recién hervida y enfiada (exenta de dióxido de carbono).

TABLA 4500-H⁺-II. VALORES PATRÓN DEL pH³

Temperatura °C	Patrones primarios							Patrones secundarios		
	Tartrato (saturado)	Citrato (0,05M)	Ftalato (0,05M)	Fosfato (1:1)	Fosfato (1:3,5)	Bórax (0,01M)	Bicarbonato- carbonato (0,025M)	Tetraoxalato (0,05M)	Hidróxido de calcio (saturado)	
0			4,003	6,982	7,534	9,460	10,321	1,666		
5			3,998	6,949	7,501	9,392	10,248	1,668		
10			3,996	6,921	7,472	9,331	10,181	1,670		
15			3,996	6,898	7,449	9,276	10,120	1,672		
20			3,999	6,878	7,430	9,227	10,064	1,675		
25	3,557	3,776	4,004	6,863	7,415	9,183	10,014	1,679	12,454	
30	3,552		4,011	6,851	7,403	9,143	9,968	1,683		
35	3,549		4,020	6,842	7,394	9,107	9,928	1,688		
37			4,024	6,839	7,392	9,093				
40	3,547		4,030	6,836	7,388	9,074	9,891	1,694		
45	3,547		4,042	6,832	7,385	9,044	9,859	1,700		
50	3,549		4,055	6,831	7,384	9,017	9,831	1,707		
55	3,554		4,070					1,715		
60	3,560		4,085					1,723		
70	3,580		4,12					1,743		
80	3,609		4,16					1,766		
90	3,650		4,19					1,792		
95	3,674		4,21					1,806		

el pH aceptado para soluciones tampón patrón a temperaturas distintas de 25 °C. En el trabajo rutinario, las soluciones tampón y las muestras deben conservarse en frascos de polietileno. Renuévense las soluciones tampón cada 4 semanas.

b) *Solución de tartrato ácido de potasio*: Agítese enérgicamente un exceso (5 a 10 g) de $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ finamente cristalizado, con 100 a 300 ml de agua destilada a 25 °C en un frasco con tapón de vidrio. Sepárese la solución transparente del material no disuelto por decantación o filtración. Consérvese durante 2 meses o más, añadiendo un cristal de timol (8 mm diámetro) por cada 200 ml de solución.

c) *Solución saturada de hidróxido de calcio*: Calcínese CaCO_3 de tipo bajo en álcali, bien lavado, en una cápsula de platino, por ignición durante 1 hora a 1.000 °C. Enfríese, hidrátase por adición lenta de agua destilada, con agitación, y caliéntese a ebullición. Enfríese, fíltrese y recójase $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sólido en un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Séquese a 110 °C, enfríese y pulverícese hasta gránulos finos uniformes. Agítese enérgicamente un exceso de gránulos finos con agua destilada en un frasco de polietileno con tapón. Déjese que la temperatura llegue a 25 °C tras la mezcla. Fíltrese el sobrenadante bajo succión, a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y utilícese el filtrado como solución tampón. Deséchese la solución tampón cuando el CO_2 atmosférico produzca turbidez.

d) *Soluciones auxiliares*: NaOH 0,1N, HCl 0,1N, HCl 5N (dilúyanse 5 volúmenes de HCl 6N con un volumen de agua destilada), y solución de fluoruro ácido de potasio (disuélvanse 2 g de KF en 2 ml de H_2SO_4 conc. y dilúyase a 100 ml con agua destilada).

4. Procedimiento

a) *Calibrado del aparato*: Síganse las instrucciones del fabricante, en cada

caso, para el medidor de pH y para conservación y preparación de los electrodos para su uso. Las soluciones recomendadas para conservación de los electrodos a corto plazo varían con el tipo de electrodo y el fabricante, pero generalmente tienen una conductividad superior a 4.000 $\mu\text{ohmios/cm}$. El agua del grifo es mejor sustituto que la destilada, pero lo mejor para el electrodo simple de vidrio es tampón pH 4, y es preferible KCl saturado para un electrodo de referencia de calomelanos y Ag/AgCl . La solución preferida para un electrodo combinado es KCl saturado. Manténganse los electrodos húmedos, devolviéndolos a la solución para almacenado siempre que no se utilice el medidor de pH.

Antes de su uso, extraiganse los electrodos de la solución de conservación, lávense y séquense con un paño suave, colóquense en la solución tampón inicial y ajústese el punto de isopotencial (apartado 2a anterior). Selecciónese un segundo tampón cuyo pH no se diferencie en más de 2 unidades del de la muestra y llévase la muestra y el patrón a la misma temperatura, que puede ser la de la habitación, una fija (por ejemplo, 25 °C), o la de una muestra reciente. Sáquense los electrodos del primer tampón, lávense bien con agua destilada, séquense y sumérjanse en el segundo tampón. Regístrese la temperatura medida y ajústese el mando de temperatura de forma que el aparato indique el valor de pH del tampón a la temperatura de la prueba (éste es un ajuste de pendiente).

Utilícese el valor de las tablas para el tampón usado a la temperatura de la prueba. Sáquense los electrodos del segundo tampón, lávense bien con agua destilada y séquense los electrodos como se indicó antes. Sumérjanse en un tercer tampón por debajo de pH 10, aproximadamente 3 unidades distinto del segundo; la lectura no debe diferir más de 0,1 unidad del pH del tercer tampón. Si el aparato muestra una respuesta distinta en

más de 0,1 unidad del pH esperado, compruébese si los electrodos o el potenciómetro tiene problemas (véanse apartados 5a y b más adelante).

El objetivo de la estandarización consiste en ajustar la respuesta del electrodo de vidrio al aparato. Cuando sólo se realicen determinaciones ocasionales del pH, se estandarizará el aparato antes de cada una de ellas. Cuando sean frecuentes y el aparato sea estable, estandarícese menos a menudo. Si el pH de las muestras varía mucho, estandarícese cada muestra con un tampón cuyo pH no difiera más de 1 o 2 unidades del de la muestra.

b) *Análisis de la muestra:* Establézcase el equilibrio entre electrodos y muestra agitando ésta para asegurar su homogeneidad; la agitación será suave para reducir al mínimo el arrastre de dióxido de carbono. Para muestras tamponadas o con gran fuerza iónica, acondiciónense los electrodos después de limpiarlos, introduciéndolos en la muestra durante 1 minuto. Séquense y sumérjense en otra porción nueva de la misma muestra, y léase el pH.

Con soluciones diluidas, mal tamponadas, equilibrense los electrodos por inmersión en tres o cuatro porciones sucesivas de la muestra. Tómese una muestra nueva para medir el pH.

5. Detección de problemas

a) *Potenciómetro:* Para detectar el origen de un problema, desconéctense los electrodos y conéctese, por medio de una correa de cortocircuito, la terminal del electrodo de referencia a la del vidrio. Obsérvese el cambio de pH cuando se ajusta el mando de calibrado del aparato. Si el potenciómetro funciona correctamente, responderá de forma rápida y uniforme a los cambios de calibrado en una zona amplia de la escala. Si falla, no responderá y reaccionará de modo errá-

tico o mostrará un cambio en el ajuste. Pásese a la escala de milivoltios sobre la cual la aguja debe señalar cero. No tratar de reparar el potenciómetro si se carece de experiencia, limitándose al mantenimiento descrito en el manual del aparato.

b) *Electrodos:* Si el potenciómetro funciona correctamente, búsquese el fallo en el par de electrodos. Sustitúyase uno cada vez, y compruébese de forma cruzada con dos tampones que se diferencien en 4 unidades de pH aproximadamente. Una desviación por encima de 0,1 unidades de pH indica un electrodo defectuoso. Los electrodos de vidrio fallan por arañazos, deterioro o cúmulo de restos sobre la superficie del vidrio. Renuévase el electrodo por inmersiones alternativas en HCl 0,1N y NaOH 0,1N. Si esto falla, sumérjase la punta en solución de KF durante 30 segundos. Tras renovarlos, déjense sumergidos una noche en tampón de pH 7,0. Lávense y consérvense en tampón de pH 7,0. Lávense de nuevo con agua destilada, antes de utilizarlos. Las capas de proteína se pueden eliminar mojando los electrodos de vidrio con solución de pepsina al 10 por 100, ajustada a pH 1 a 2.

Para comprobar el electrodo de referencia, enfréntese la fem de un electrodo de referencia dudoso, con otro del mismo tipo que se sepa que funciona bien. Usando un adaptador, conéctese el electrodo de referencia bueno a la clavija del electrodo de vidrio del potenciómetro, y el dudoso a la clavija del electrodo de referencia. Ajústese el aparato para que lea milivoltios y realícense lecturas con los dos electrodos sumergidos en la misma solución de electrolito (KCl) y luego en la misma solución tampón. Las lecturas en milivoltios deben ser 0 ± 5 mV para ambas soluciones. Si se utilizan electrodos diferentes, como plata:platacloruro frente a calomelanos o viceversa, la lectura será 44 ± 5 mV para un buen electrodo de referencia.

Los problemas del electrodo de referencia suelen deberse a una conexión obstruida. La interrupción del flujo continuo de electrolito a través de la junta produce un aumento del tiempo de respuesta y desviaciones en la lectura. Las juntas obstruidas se limpian aplicando succión a la punta o hirviendo ésta en agua destilada hasta que el electrolito fluya libremente al aplicar la succión en la punta o presión en el orificio de llenado. En el comercio existen juntas de re-
 puesto.

6. Precisión y sesgo

Utilizando bien un medidor de pH con buenos electrodos, se puede conseguir una precisión de $\pm 0,02$ unidades de pH y una precisión de $\pm 0,05$ unidades de pH. Sin embargo, en condiciones normales, el límite de precisión es $\pm 0,1$ unidades de pH, especialmente para determinaciones en el agua y soluciones mal tamponadas. Por esa razón, el pH se debe dar en los valores más próximos a 0,1 unidad de pH. Se analizó en 30 laboratorios una muestra sintética de solución tampón Clark y Lubs de pH 7,3, electrométicamente, con una desviación estándar de $\pm 0,13$ unidades de pH.

7. Referencias

1. BATES, R. G. 1978. Concept and determination of pH. En I. M. Kolthoff & P. J. Elving, eds. *Treatise on Analytical Chemistry*. Parte I, Vol. 1, pág. 821. Wiley-Interscience, Nueva York.
2. LICHT, T. S. & A. J. DE BETHUNE. 1957. Recent developments concerning the signs of electrode potentials. *J. Chem. Educ.* 34:433.
3. DURST, R. A. 1975. Standard Reference Ma-

terials: Standardization of pH Measurements. NBS Spec. Publ. 260-53, National Bur. Standards, Washington, D.C.

8. Bibliografía

- CLARK, W. M. 1928. *The Determination of Hydrogen Ions*, 3.^a ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland.
- DOLE, M. 1941. *The Glass Electrode*. John Wiley & Sons, Nueva York.
- BATES, R. G. & S. F. ACREE. 1945. pH of aqueous mixtures of potassium dihydrogen phosphate and disodium hydrogen phosphate at 0 to 60 °C. *J. Res. Nat. Bur. Standards* 34:373.
- LANGELIER, W. F. 1946. Effect of temperature on the pH of natural water. *J. Amer. Water Works Assoc.* 38:179.
- FELDMAN, I. 1956. Use and abuse of pH measurements. *Anal. Chem.* 28:1859.
- BRITTON, H. T. S. 1956. *Hydrogen Ions*, 4.^a ed. D. Van Nostrand Co., Princeton, Nueva Jersey.
- KOLTHOFF, I. M. & H. A. LAITINEN. 1958. *pH and Electrotitrations*. John Wiley & Sons, Nueva York.
- KOLTHOFF, I. M. & P. J. ELVING. 1959. *Treatise on Analytical Chemistry*. Parte I, Vol. 1, Capítulo 10. Wiley-Interscience, Nueva York.
- BATES, R. G. 1962. Revised standard values for pH measurements from 0 to 95 °C. *J. Res. Nat. Bur. Standards* 66A:179.
- AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. 1964. *Simplified Procedures for Water Examination*. Manual M12, American Water Works Assoc., Nueva York.
- WINSTEAD, M. 1967. *Reagent Grade Water: How, When and Why?* American Soc. Medical Technologists, The Steck Company, Austin, Texas.
- STAPLES, B. R. & R. G. BATES. 1969. Two new standards for the pH scale. *J. Res. Nat. Bur. Standards* 73A:37.
- BATES, R. G. 1973. *Determination of pH, Theory and Practice*, 2.^a ed. John Wiley & Sons, Nueva York.