

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



VALIDACION DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO PARA LA
DETERMINACION DE SILICE EN AGUA POTABLE EN EL LABORATORIO
CENTRAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE ACUEDUCTOS Y
ALCANTARILLADOS , ANDA.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR :

CARLOS ALONSO MELGAR MARTINEZ

KARLA CECILIA TORRES HERNANDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

AGOSTO 2008

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL:

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO:

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA:

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION.

COORDINADORA GENERAL:

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS

FARMACEUTICOS:

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

ASESORA DE AREA DE INDUSTRIA FARMACEUTICA, COSMETICA Y

VETERINARIA:

Lic. Mercedes Rossana Brito Mendoza

DOCENTES DIRECTORAS:

Lic. Ena Edith Herrera Salazar

Lic. Jazmina Margarita Turcios

AGRADECIMIENTOS

INDICE

	Pag.
Resumen	
Capitulo I	
1.0 Introducción	xix
Capitulo II	
2.0 Objetivos	
Capitulo III	
3.0 Marco Teórico	23
3.1 Química de la sílice	24
3.1.1 Carácter químico del enlace del átomo de silicio	26
3.1.2 Polimerización de la sílice en solución acuosa	27
3.2 Métodos para la determinación de sílice	28
3.3 Descripción del método del molibdosilicato	29
3.3.1 Fundamento	29
3.3.2 Interferencias	30
3.3.3 Concentración mínima detectable	30
3.4 Validación del método	30
3.4.1 Parámetros de rendimiento del método	33
3.4.1.1 Linealidad (Rango lineal)	33

3.4.1.2	Precisión	38
3.4.1.2.1	Repetibilidad	40
3.4.1.2.2	Precisión intermedia	42
3.4.1.3	Límite de detección	43
3.4.1.4	Límite de cuantificación	44
3.4.1.5	Exactitud	45
3.4.1.6	Incertidumbre de medición	46
Capítulo IV		
4.0	Diseño metodológico	49
4.1	Tipo de estudio	50
4.2	Investigación bibliográfica	50
4.3	Investigación de campo, universo y muestra	50
4.3.1	Universo	50
4.3.2	Muestra	50
4.4	Parte experimental	52
4.4.1	Procedimiento	52
4.4.2	Determinación de las propiedades analíticas del método	53
4.4.2.1	Linealidad	53
4.4.2.2	Precisión del método	54
4.4.2.3	Límite de detección	54

4.4.2.4 Límite de cuantificación	55
4.4.2.5 Exactitud	56
4.4.2.6 Incertidumbre de medición	56
Capítulo V	
5.0 Resultados	58
5.1 Determinación de la linealidad del método del molibdosilicato	59
5.2 Obtención de la precisión del método del molibdosilicato	67
5.3 Establecimiento de la exactitud del método del molibdosilicato	82
5.4 Determinación de el límite de detección y el límite de cuantificación del método del molibdosilicato	85
Capítulo VI	
6.0 Análisis de resultados	89
Capítulo VII	
7.0 Conclusiones	91
Capítulo VIII	
8.0 Recomendaciones	94
Bibliografía	
Anexos	

ABREVIATURAS

ANDA	Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados
AOAC	Association of Analytical Communities
CV	Coeficiente de variación
DER	Desviación estándar relativa
g/L	gramos sobre litros
HCl	Acido clorhídrico (1+1)
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
mg/L	miligramos sobre litros
ml	mililitros
MRC	Material de referencia certificado
δ	Desviación estándar relativa
U	Incertidumbre expandida

INDICE DE TABLAS

TABLA No.

1. Concentración de sílice en mg/L contra absorbancia a 410nm, datos obtenidos por el analista 1.
2. Valores obtenidos para el desarrollo de la fórmula para la obtención de la pendiente de la recta para el analista 1.
3. Concentración de sílice en mg/L contra absorbancia a 410nm, datos obtenidos por el analista 2
4. Ecuaciones de la recta obtenidas por el analista 1 y analista 2 respectivamente
5. Absorbancias obtenidas por el analista 1 a 410nm para la concentración 2.0 mg/L de sílice
6. Valores obtenidos para la obtención de la desviación estándar, el coeficiente de variación y la varianza para la concentración de 2.0mg/L
7. Absorbancias obtenidas por el analista 1 a 410nm para la concentración 6.0mg/L de sílice
8. Absorbancias obtenidas por el analista 1 a 410nm para la concentración 10.0mg/L de sílice
9. Absorbancias obtenidas por el analista 1 a 410nm para la muestra de agua potable

10. Absorbancias obtenidas por el analista 1 a 410nm para la muestra de agua potable. Tabla con los valores corregidos
11. Absorbancias obtenidas por el analista 2 a 410nm para la concentración 2.0mg/L de sílice
12. Absorbancias obtenidas por el analista 2 a 410nm para la concentración 6.0mg/L de sílice
13. Absorbancias obtenidas por el analista 2 a 410nm para la concentración 10.0mg/L de sílice
14. Absorbancias obtenidas por el analista 2 a 410nm para la muestra de agua potable
15. Desviación estándar por concentración de sílice (mg/L)
16. Contraste F para la comparación de desviaciones estándar
17. Resultados obtenidos de absorbancia y concentración a 410nm para las series fortificadas con 1.0mg/L, 2.0mg/L y 4.0mg/L de sílice respectivamente y la muestra sin fortificar
18. Resultados obtenidos de porcentaje de recuperación a 410nm para las series fortificadas con 1.0mg/L, 2.0mg/L y 4.0mg/L de sílice respectivamente
19. Absorbancias obtenidas del análisis del blanco fortificado a 1.0mg/L de sílice a 410nm

INDICE DE FIGURAS

Figura No.

1. Curva de calibración obtenida a 410 nm por el analista 1.
2. Curva de calibración obtenida a 410 nm por el analista 2.

INDICE DE ANEXOS

Anexo No.

1. Listado de material y equipo
2. Listado de reactivos
3. Preparación de reactivos
4. Tabla de recolección de datos para la elaboración de la curva de calibración.
5. Tabla de actualización de la evaluación de los parámetros de validación del método.
6. Tabla de actualizaciones
7. Tabla de revisiones
8. Protocolo de documentación de métodos

RESUMEN

RESUMEN

La certificación de los laboratorios analíticos incluyen la validación de los métodos utilizados en dichos laboratorios y la estimación de la incertidumbre de las mediciones realizadas.

La importancia de la validación de métodos radica en demostrar la confiabilidad del laboratorio analítico mediante la obtención de resultados correctos a través de la verificación de los parámetros de rendimiento.

Debido a que toda medición lleva implícita una incertidumbre, es casi imposible conocer con certeza el verdadero valor de una magnitud, por lo tanto, es indispensable la estimación de la incertidumbre para poder expresar la mejor estimación del valor del mensurando.

En el presente trabajo se realizó la validación del método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable en el laboratorio central de la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados, ANDA. Esto se logró estableciendo la linealidad del método a través de la obtención de la curva de calibración del mismo, sacando la precisión del método en términos de repetibilidad y precisión intermedia, estableciendo la exactitud del método y determinando el límite de detección y el límite de cuantificación del método en estudio. El trabajo se enfoca en la validación del método C recomendado por Standard Methods for the examination of water and waste water .Edición 18.En el capítulo 4500-Si D: Método del Molibdosilicato. Este comprendió soluciones

estándar de sílice de diferentes concentraciones, las cuales se encuentran dentro del rango de 0.1 a 20.0 mg/L de sílice, agua potable del sistema zona norte y agua destilada del laboratorio de control de calidad y control de contaminantes del agua potable de la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados, ANDA.

Los valores de los parámetros de validación son:

Linealidad o rango de trabajo	: 0.22 a 14.0 mg/L
Límite de detección	: 0.064 mg/L
Límite de cuantificación	: 0.22 mg/L
Precisión promedia del método	: 0.128 mg/L
Coefficiente de variación promedio	: 0.83%
Incertidumbre	: 0.03038

De los resultados anteriores se concluyó que el método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable es un método preciso, exacto y lineal en el intervalo de concentración estudiado.

Se recomienda la validación de los métodos utilizados en cada una de las áreas de los diferentes laboratorios de análisis químico y control de calidad para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos con dichos métodos y alcanzar los niveles de calidad requeridos.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

Para que los resultados analíticos sean idóneos deben ser lo suficientemente confiables para que cualquier decisión basada en ellos pueda tomarse con seguridad, de ahí, que los laboratorios químico-industriales , farmacéuticos y ambientales se vean en la necesidad de implantar sistemas de aseguramiento de la calidad establecidos bajo normas internacionales para alcanzar altos niveles de confiabilidad en los materiales, equipo, metodologías y en la calidad de los datos que se genera con ellos.

De acuerdo con lo anterior, uno de los elementos fundamentales de los sistemas de calidad en los laboratorios es el empleo de métodos analíticos validados. La validación de un método analítico consiste en la realización de una serie de pruebas útiles para establecer y documentar sus características de desarrollo y además demostrar que es apropiado para los propósitos analíticos requeridos. Las características de desarrollo de un método, se establecen mediante datos estadísticos obtenidos de la experimentación.

En el presente trabajo se ha realizado la validación del método del molibdosilicato para determinar y cuantificar sílice en agua potable en los laboratorios de control de calidad y control de contaminantes del agua de ANDA, durante el periodo comprendido entre los meses de octubre a diciembre de 2003 y enero a mayo de 2004. La norma salvadoreña obligatoria para la calidad del agua potable⁽³⁾, indica un valor recomendado de 60.0 mg/L y un

valor máximo admisible de 125.0 mg/L, para garantizar la confiabilidad y seguridad de los resultados el método por el cual se determina el sílice debe estar validado.

Los parámetros de validación utilizados para validar el método Molibdosilicato fueron linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación considerando también la incertidumbre.

La validación de este método analítico permitirá aumentar la confiabilidad del certificado de análisis de agua potable al incluir el análisis de sílice.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Validar el método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable en el laboratorio central de la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados, ANDA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

2.2.1 Establecer la linealidad del método del molibdosilicato para la

determinación de sílice en agua potable, a través de la obtención de la curva de calibración del método.

2.2.2 Obtener la precisión del método del molibdosilicato para la determinación

de sílice en agua potable en términos de repetibilidad y precisión intermedia.

2.2.3 Establecer la exactitud del método del molibdosilicato para la

determinación de sílice en agua potable.

2.2.4 Determinar el límite de detección y el límite de cuantificación del

método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 QUIMICA DE LA SÍLICE ⁽¹⁴⁾.

El Silicio es un elemento del grupo IV de la tabla periódica, es esencialmente no metálico, muestra cierto carácter anfotérico, con ácidos fuertes la sílice se comporta como un óxido básico y con óxidos metálicos reacciona como un anhídrido ácido, en general, el silicio es tetraédrico, aunque no exclusivamente. Mientras que el ácido monosilícico (H_4SiO_4) existe solo en soluciones acuosas diluidas, los ácidos polisilícicos $(\text{H}_2\text{SiO}_3)_n$ han sido sintetizados en forma cristalina.

La sílice en su forma normal es muy poco reactiva, resiste el ataque del cloro, Bromo, Hidrógeno y de la mayoría de los ácidos a temperatura ambiente o ligeramente superior a ella. Es atacada por HF y los álcalis.

Si se funden carbonatos de metales alcalinos con sílice (1300°C) se desprende CO_2 y se obtiene una mezcla compleja de silicatos alcalinos solubles en agua.

Las soluciones de silicato de sodio se hidrolizan para dar compuestos monoméricos y polímeros, lo cual depende de su concentración.

La mayoría de silicatos son sales neutras sin embargo existen sales básicas. El estado básico del silicio está relacionado con la existencia de SiO_6 octaédrico en dichos compuestos, las fases con silicio como un componente ácido contiene silicio en coordinación tetraédrica. Los tres silicatos más abundantes son el cuarzo, el feldespato y la mica.

La sílice o dióxido de silicio se encuentra en varias formas cristalográficas:

a) Estado cristalino:

1- Macrocristalino: cuarzo, tridimita, cristobalita.

2- Criptocristalino: calcedonia.

b) Estado amorfo:

Sin estructura definida, aquí se encuentra la sílice gel, con contenido de agua de 20 a 30%; sílice gelatinosa, que aparece en solución como agregado; sílice coloidal, que se encuentra disuelta en el agua con partículas de dimensiones entre 10^{-3} a 10^{-6} mm. ; ópalo, forma natural más común con menos de 12% de agua y sílice vítrea, preparada con su enfriamiento de sílice fundida.

c) Estado acuoso:

El ácido ortosilícico es la forma principal en soluciones saturadas con pH menor de 9.

En las formas de sílice, cuarzo, tridimita, cristobalita, el átomo de silicio se encuentra en el centro de un tetraedro regular con los átomos de oxígeno en los vértices, estando dispuestos en formas diferentes en las distintas modificaciones.

Todas las formas de sílice tienen en común que cada átomo de oxígeno está compartido por dos átomos de silicio por lo cual todo el cristal es una macromolécula.

3.1.1 CARÁCTER QUÍMICO DEL ENLACE DEL ATOMO DE SILICIO ⁽¹⁴⁾.

Debido al estado de valencia del silicio ($1S^2 2S^2 2P^6 3S^1 3P_x^1 3P_y^1 3P_z^1 3d^0$) estos átomos generalmente forman enlaces con cuatro átomos vecinos, X, en un orbital SP^3 híbrido tetraédrico. Si los ligandos X, contienen pares de electrones solos, estos pueden interactuar con los orbitales 3d vacíos del silicio dando como resultado la formación de un híbrido octaédrico SP^3d^2 .

El silicio tiene un número de coordinación de 4 con el oxígeno (SiO_4). Si no hay reemplazamiento isomórfico del silicio por otros átomos, las distancias principales dentro del tetraedro SiO_4 son:

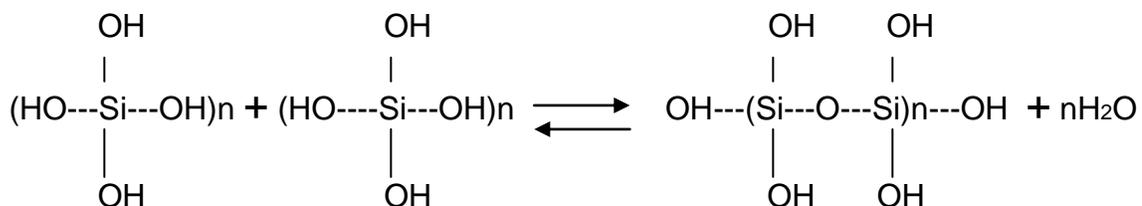
$Si\text{---}O = 1.62 \text{ \AA}$; $O\text{---}O = 2.64 \text{ \AA}$; valor del ángulo $O\text{---}Si\text{---}O = 109.5^\circ$.

Las propiedades químicas y estructurales del silicio con respecto al resto de elementos de su grupo son poco similares. Una de las diferencias con el carbono es que el silicio nunca forma enlaces π . Los dobles enlaces de las especies carbonato, nitrógeno y oxígeno comúnmente formados, son imposibles para el silicio.

Otra diferencia es que el silicio tiene 5 orbitales 3d vacantes disponibles para interacciones de enlace dativo, los cuales, son algo similar a enlaces ordinarios, lo cual influye sobre las propiedades de la sílice. Se forman enlaces parciales débiles por la entrada parcial de pares de electrones libres del oxígeno dentro de los orbitales 3d del silicio.

3.1.2. POLIMERIZACIÓN DE LA SÍLICE EN SOLUCION ACUOSA ⁽¹⁴⁾.

La sílice disuelta se polimeriza lentamente a una suspensión coloidal como lo describe la reacción:



En la polimerización se forman dímeros, trímeros, tetrámeros y polímeros de bajo peso molecular (oligómeros) los cuales aumentan de tamaño hasta formar micelas terminando el proceso al formar coloides que dependiendo de su abundancia y estabilidad pueden o no flocular y formar un precipitado de sílice por medio de un proceso de nucleación homogénea. Este proceso depende de factores como la temperatura, pH, tensión superficial, radio de la partícula, concentración de sílice reactiva y salinidad.

La máxima velocidad de polimerización ocurre entre un pH 6-9 y la mínima velocidad a un pH 2.

El contenido de sílice en aguas naturales varía comúnmente entre un rango de 1 a 30 mg/L, aunque no son raras concentraciones de 100 mg/L e incluso 1000 mg/L en algunas aguas salobres y piélagos.

El análisis de sílice en el agua es de gran importancia para poder evitar la formación de depósitos duros de sílice en los tubos de las calderas y en las aspas de las turbinas de vapor; de igual manera, para evitar las incrustaciones en las tuberías de agua potable lo que provocaría el deterioro de las mismas.

También proporciona un método sensitivo para el control de la operación de los desmineralizadores de agua.

La sílice se puede determinar como sílice total, sílice molibdo-reactiva, sílice disuelta y alguna dispersa coloidalmente; también es posible transformar otras formas de sílice en la forma molibdo-reactiva para su determinación como tal.

3.2 METODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SILICE.

Los métodos para determinar sílice según *“Standard methods for the examination of water and wastewater”* (7) son:

- a) Método espectrofotométrico de absorción atómica.
- b) Método gravimétrico.
- c) Método del molibdosilicato.
- d) Método del azul heteropoli.
- e) Método automatizado para sílice molibdato-reactiva.
- f) Método de plasma de acoplamiento inductivo.

El trabajo se enfoca en la validación del método C, Método del molibdosilicato el cual, es el método utilizado en los laboratorios de control de calidad y control de contaminantes del agua de ANDA .

3.3 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DEL MOLIBDOSILICATO.(ver anexo 9)

3.3.1 FUNDAMENTO.

Este método se basa en la reacción que se produce entre el molibdato amónico y la sílice, y cualquier fosfato, a pH aproximado de 1.2 para producir heteropoliácidos ; se adiciona ácido oxálico para destruir el ácido molibdofosfórico pero no el molibdosilícico, este paso es obligatorio incluso cuando se sepa que no hay fosfato presente. La intensidad del color amarillo formado es proporcional a la concentración de sílice <<molibdato – reactiva>> , al menos en una de sus formas, la sílice no reacciona con molibdato, aún cuando es capaz de atravesar el papel filtro y no se aprecie su turbidez. No se sabe el alcance de la presencia de sílice <<no reactiva>> en el agua. Se han utilizado términos como <<coloidal>> , <<crystaloide>> e <<iónica>> para distinguir entre varias formas de sílice, pero esta terminología no tiene mucho fundamento. La sílice <<molibdato-no reactiva>> se puede transformar en <<molibdato-reactiva>> por calentamiento o fusión con álcali. Molibdato reactiva o no reactiva no supone reactividad o falta de ella frente a otros reactivos o procesos (7).

3.3.2 INTERFERENCIAS.

Dado que, tanto los aparatos como los reactivos pueden aportar sílice, se debe evitar al máximo la utilización de vidrio, y se emplearán reactivos bajos en sílice. También se deben realizar pruebas en blanco para corregir la sílice introducida. En este método interfiere el tanino, las cantidades grandes de hierro, el color, turbidez, sulfuro y fosfato. El tratamiento con ácido oxálico elimina la interferencia del fosfato y reduce la del tanino. También se puede eliminar la turbidez y el color tratando la muestra con carbón activado (7).

3.3.3 CONCENTRACION MÍNIMA DETECTABLE.

La medición se realiza a 410 nm por medio de un espectrofotómetro; a esta longitud de onda, es posible cuantificar aproximadamente 1mg / L de SiO₂, se pueden analizar concentraciones mayores diluyendo proporcionalmente la muestra (7).

3.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO.

La validación es una de las prácticas que más fuerza ha tomado en los últimos años en los laboratorios de análisis y control de calidad, donde se está buscando un aseguramiento total de los procesos.

Según la International Organization for Standardization, ISO 9000 (2000), validación es : << Confirmación y aporte de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos particulares para un uso específico previsto>>.

El objetivo principal de la validación analítica es asegurar que un procedimiento analítico seleccionado dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

La validación de técnicas analíticas es la piedra angular de la fase de pruebas de la validación de procesos ya que suministra resultados analíticos altamente confiables , es el proceso que se sigue para definir un requisito analítico y confirmar que el método considerado tiene capacidades de rendimiento consistentes con las requeridas por la aplicación, por consiguiente, se hace necesario evaluar las capacidades de rendimiento del método o parámetros de rendimiento.

Los estudios para determinar los parámetros de rendimiento se llevan a cabo mediante equipos que cumplan con las especificaciones, funcionen correctamente y estén adecuadamente calibrados. Al mismo tiempo, el operador que realiza los estudios debe estar capacitado en el campo de trabajo en estudio.

La validación de métodos plantea los siguientes cuestionamientos ⁽⁵⁾:

1- ¿Por qué es necesario validar el método?

2- ¿Cuándo debe validarse el método?

3- ¿Cómo debe validarse el método?

En términos generales, el porqué de la validación se debe en primer lugar, a lo importante que es el determinar el resultado correcto de la medición analítica y poder demostrar que es correcto y, en segundo lugar, al deber profesional del

químico analista, debido a que el laboratorio y su personal tienen la clara responsabilidad de justificar la confianza del cliente suministrando la respuesta correcta del análisis.

El método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de rendimiento son adecuados en este caso, para hacer uso propio, bajo las condiciones del laboratorio, de un método ya validado por una organización a cargo de aspectos de normalización.

La forma en que debe validarse el método se efectúa mediante la utilización de la literatura especializada sobre validación de métodos, el presente trabajo está basado en la Guía de EURACHEM, “LA IDONEIDAD DE LOS METODOS ANALÍTICOS” ⁽⁵⁾, la cual está dirigida a laboratorios que necesiten validar métodos pero que trabajen de manera aislada, sin una posibilidad inmediata de participar en ensayos conjuntos.

El trabajar de manera aislada inevitablemente reduce la cantidad de datos que se pueden compilar para la validación de un método. Principalmente, restringe el tipo de información sobre comparabilidad entre laboratorios. Dicha información no siempre es necesaria, como en este caso, por lo que esto no constituye un problema. La medición de los materiales de referencia certificados o la comparación del método con otro que sí cuente con validación podría brindar cierta idea de la comparabilidad de los resultados de medición del método con los resultados obtenidos por otros laboratorios.

El laboratorio es quién dispone el grado de validación del método al decidir qué parámetros de rendimiento del método se deben caracterizar. El laboratorio toma en cuenta los requerimientos del cliente, la experiencia con el método y las necesidades de compatibilidad con otros métodos similares que estén siendo usados por el mismo laboratorio o por otros.

La validación del método esta constituido por el proceso de evaluación de criterios de rendimiento y de confirmación de que el método es adecuado, estos criterios o parámetros de rendimiento son (5):

1. Linealidad
2. Precisión
3. Límite de detección
4. Límite de cuantificación
5. Exactitud

3.4.1 PARAMETROS DE RENDIMIENTO DEL METODO.

3.4.1.1 LINEALIDAD (RANGO LINEAL).

La linealidad, según la Association of Analytical Communities, AOAC, “define la capacidad del método para obtener resultados de ensayos proporcionales a la concentración del analito”; por inferencia, el rango lineal es el rango de concentraciones del analito a lo largo del cual el método da, en el ensayo, resultados proporcionales a la concentración del analito.

Este concepto indica la necesidad de la determinación del rango de concentraciones del analito dentro del cual el método es aplicable haciendo referencia al rango de concentraciones en las soluciones efectivamente medidas y no en las muestras originales. Los factores limitantes de este rango de concentraciones son, en el extremo inferior, los valores de los límites de detección y/o cuantificación; en el extremo superior, diferentes efectos que dependen del sistema de respuesta de los instrumentos.

El rango lineal se establece al evaluar el rango de trabajo debido a que la señal (respuesta) debe tener una relación lineal con la concentración del analito.

La determinación de la linealidad se realiza preparando una serie de por lo menos seis concentraciones diferentes más el blanco, estas concentraciones deben encontrarse dentro del rango de trabajo del método; se miden en el instrumento en las mismas condiciones que las usadas para las muestras problema. Los resultados que se obtienen se utilizan para construir la gráfica de calibración mediante el método de los mínimos cuadrados, con la cual se puede obtener la concentración del analito en cualquier muestra problema por interpolación. La variable por predecir, la respuesta del instrumento, se representa en el eje vertical y la concentración estándar sobre el eje horizontal.

La obtención de la curva de calibración se basa en dos premisas importantes⁽⁵⁾ :

1. Existe relación lineal ($y=a+bx$) entre la concentración de analito (x) y la magnitud de la variable medida (y)_(ver anexo 10).

2. Cualquier desviación de los puntos individuales respecto a una línea recta es consecuencia del error indeterminado en la medida de (y).

Tomando la primera aseveración que supone la representación de una línea recta con expresión algebraica:

$$y=a+bx$$

donde :

a = ordenada en el origen

b = pendiente de la recta

Los puntos individuales sobre la línea se denotarán por (x_1, y_1) , lectura del blanco, (x_2, y_2) , , (x_n, y_n) , cuya media se denomina \bar{x} para los valores de x y \bar{y} para los valores de y , llamando “ centro de gravedad “ de todos los puntos a la posición (\bar{x}, \bar{y}) .

Los puntos obtenidos experimentalmente se evalúan a través del cálculo de el Coeficiente de Correlación momento – producto (r) para determinar si se ajustan bien o no a una línea recta (ver anexo 11).

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

El coeficiente de correlación (r) nos indica el grado de relación entre la señal del instrumento (absorbancia) y la concentración del analito.

El coeficiente de correlación (r) puede tomar valores en el intervalo de $-1 \leq r \leq +1$, siendo cero el índice de ausencia de relación lineal entre las variables; un valor de (r) de -1 una correlación negativa perfecta, es decir, todos los puntos experimentales están en la línea recta de pendiente negativa; y, cuando (r) = $+1$, indicaría una correlación positiva perfecta donde todos los puntos están exactamente en una línea recta de pendiente positiva.

En la práctica analítica, las gráficas de calibración proporcionan frecuentemente valores numéricos de (r) mayores que 0.99; los valores de (r) menores que 0.90 son relativamente poco comunes. La experiencia muestra que aún con gráficas de calibración bastante pobres a la vista, los valores correspondientes de (r) son altos, por lo tanto, siempre se debe representar físicamente la curva de calibración, de no ser así, del cálculo de (r) se puede deducir erróneamente una relación de carácter lineal.

Una vez determinada la relación lineal entre las variables, se procede a calcular la “mejor” línea recta a través de los puntos de la gráfica de calibración, cada uno de los cuales está sujeto a un error experimental lo cual provoca desviaciones en la dirección y entre los puntos experimentales y la línea calculada.

La línea recta buscada se calcula basándose en este principio: La línea debe pasar por el “ centro de gravedad “ de los puntos, (\bar{x}, \bar{y}) , aplicando el método de los mínimos cuadrados puede demostrarse que :

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

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

La línea calculada de esta forma se conoce como la RECTA DE REGRESIÓN DE y SOBRE x, es decir, la recta que indica cómo varía y cuando x se ajusta a los valores elegidos.

Un residuo de “ y ”, $y_i - \bar{y}_i$, representa la diferencia entre un valor experimental de y y el valor calculado de \bar{y} de la recta de regresión para el mismo valor de x. Si es apropiada una gráfica de calibración lineal, y si los errores aleatorios están distribuidos normalmente, los residuos en sí mismos deberían estar distribuidos normalmente en torno al valor cero. Si esto no ocurre en la práctica, entonces debemos sospechar que la recta de regresión ajustada no es la correcta.

3.4.1.2 PRECISION.

La International Organization for Standardization, ISO, define precisión como “ El grado de concordancia entre los resultados independientes de un ensayo obtenido bajo condiciones estipuladas “; la precisión depende sólo de la distribución de errores aleatorios y no se relaciona con el verdadero valor ni con el valor especificado.

La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea, siendo estas circunstancias específicas que en la práctica, normalmente, pueden ser muy variadas.

Existen diferentes formas para determinar la precisión de un método analítico, dependiendo de las condiciones de trabajo establecidas, siendo las más comunes la Repetibilidad y la Reproducibilidad.

La precisión en condiciones de repetibilidad dará una idea del tipo de variabilidad que se espera en condiciones en las que se obtienen resultados independientes aplicando el mismo método para ensayos idénticos, en el mismo laboratorio, a cargo del mismo operador, usando el mismo equipo, en intervalos cortos, es decir, cuando una muestra es analizada por duplicado.

La precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es una medida de precisión más significativa cuando los resultados de un ensayo se obtienen aplicando el mismo método a elementos de ensayo idénticos, en diferentes laboratorios, con

distintos operadores y usando equipos también diferentes. La reproducibilidad se determina con propósitos comparativos entre una serie de laboratorios especificando las condiciones diferentes.

Una medida intermedia entre Repetibilidad y Reproducibilidad es la Precisión Intermedia, la cual expresa la variación dentro de un mismo laboratorio : diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos, etc.

La determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad, por presentar dependencia a la concentración del analito, se realiza para una serie de concentraciones estableciendo la relación entre precisión y concentración.

La precisión se ve afectada por los errores aleatorios, los cuales provocan que los resultados individuales caigan a ambos lados del valor medio.

Los errores aleatorios o indeterminados, no se pueden eliminar, aunque con una técnica cuidadosa se pueden reducir al mínimo y en un nivel tolerable e insignificante. El más aceptado es el 5% de error, por esto el nivel de confianza más utilizado en los análisis químicos es el del 95%.

Con frecuencia, al efectuar una serie de réplicas de análisis, uno de los resultados obtenidos es muy distinto de los otros. Debido a que el análisis sobre la precisión de un método depende de los valores finales de la media y de la desviación estándar, y estos a su vez dependen del rechazo o aceptación de estos resultados anómalos, siempre tiene que quedar claro si estos son rechazados o no.

Se han sugerido muchas pruebas estadísticas para determinar si una observación debe rechazarse. La Prueba Q es una de las más correctas desde el punto de vista estadístico (10), para números pequeños de observaciones y se recomienda cuando es necesario efectuar una comprobación.

La prueba Q permite estudiar una medida sospechosa al comparar la diferencia entre ella y la medida más próxima en tamaño, con la diferencia entre las medidas más grande y más pequeña. El cociente de estas diferencias (prescindiendo del signo) se denomina Q de Dixon (ver anexo 12) :

$$Q = \frac{(\text{valor sospechoso} - \text{valor más cercano})}{(\text{valor más grande} - \text{valor más pequeño})}$$

Si el valor de Q calculado supera el valor crítico, valor tabulado (ver anexo 13), se rechaza el valor sospechoso.

3.4.1.2.1 REPETIBILIDAD.

Para una serie de datos independientes, se determina la variabilidad que existe entre ellos al aplicar el mismo método a través del Coeficiente de Variación (CV).

El Coeficiente de Variación (CV) , también conocido como la Desviación Estándar Relativa (DER), se define por⁽¹¹⁾:

$$CV = (\delta / \bar{x}) \times 100$$

donde:

CV = Coeficiente de variación

δ = Desviación estándar

\bar{x} = media de los valores de x

La desviación estándar , (δ) , se define por la fórmula:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

Para una población normal se cumple lo siguiente:

$\bar{x} \pm 1\delta$ Comprende aproximadamente el 69% de los términos de la serie.

$\bar{x} \pm 2\delta$ Comprende aproximadamente el 95% de los términos de la serie.

$\bar{x} \pm 3\delta$ Comprende aproximadamente el 100% de los términos de la serie.

El coeficiente de variación es un ejemplo de error relativo, es decir, una estimación del error dividida por una estimación del valor absoluto de la cantidad medida, el cual se utiliza en la comparación de las precisiones de los resultados que tienen diferentes unidades o magnitudes.

3.4.1.2.2 PRECISION INTERMEDIA.

La comparación de desviaciones estándar, es decir, de los errores aleatorios de dos conjuntos de datos, puede tener dos formas; probar si una serie de datos es más precisa que la otra (prueba de una cola) o si ambas series difieren en su precisión (prueba de dos colas). Por tanto, para probar si las desviaciones estándar de la serie de resultados de cada analista difieren significativamente es adecuado utilizar la prueba de dos colas, la cual cubre la posibilidad que la diferencia entre el valor experimental y el valor de referencia sea positiva o negativa.

La Prueba F considera la razón de las dos varianzas muestrales⁽¹⁰⁾, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Los valores S_1^2 y S_2^2 en la expresión anterior, se disponen de manera que

F sea siempre ≥ 1 .

La hipótesis nula adoptada es que las poblaciones de donde se toman las muestras sean normales, y que sean iguales las varianzas de las poblaciones. Si la hipótesis nula es verdadera, entonces la razón de varianzas debería estar próxima a 1. Las diferencias respecto de 1 se deben a variaciones aleatorias, pero si la diferencia es demasiado grande no se podrá atribuir a esta causa: si el valor calculado de F excede un cierto valor, obtenido de las tablas (ver anexo 13), entonces se rechaza la hipótesis nula. Este valor crítico de F depende del tamaño de las muestras, del nivel de significación y del tipo de prueba realizada.

3.4.1.3 LIMITE DE DETECCIÓN (LD).

La definición que proporciona la Association of Analytical Communities, AOAC, para límite de detección es “El mínimo contenido que puede medirse con razonable certeza estadística” o “El mínimo contenido de analito, de existir analito presente, que se detectará y se podrá identificar”.

La probabilidad de detección no cambia repentinamente de cero a la unidad cuando se cruza algún límite, de ahí la importancia de establecer el límite de detección, para lo cual, la indicación del nivel en el que la detección se torna problemática generalmente es suficiente:

$$LD = B + 3\delta$$

donde:

B = valor promedio de los blancos.

δ = desviación estándar de la media de los blancos.

Este método presupone que una señal mayor a 3δ por encima del valor del blanco solo podría haber surgido del blanco en mucho menos de 1% de las veces y, por lo tanto, es probable que haya surgido de alguna otra parte, como del mensurando.

3.4.1.4 LIMITE DE CUANTIFICACION (LC).

La definición de límite de cuantificación según la Association of Analytical Communities, AOAC, es “El contenido igual o mayor que el punto de mínima concentración en la curva de calibración”.

Es la mínima concentración del analito que se puede determinar con un nivel aceptable de precisión y exactitud.

El valor del límite de cuantificación es únicamente indicativo y normalmente no debe usarse para tomar decisiones.

Se puede definir también como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media de blancos:

$$LC = B + 10\delta$$

donde:

B = valor promedio de los blancos.

δ = desviación estándar de la media de los blancos.

3.4.1.5. EXACTITUD.

La International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC, define exactitud como “ Una cantidad que hace referencia a la diferencia entre la media de un conjunto de resultados o un resultado individual y el valor que es aceptado como verdadero o correcto para la cantidad medida“.

La evaluación de la exactitud se basa en la comparación de la medida de los resultados de un método con los valores conocidos, es decir, con respecto a un valor de referencia.

Existen tres técnicas básicas de obtención del valor de referencia. Estas posibilidades son:

1. Mediante una referencia externa. La cual puede ser un Material de Referencia Certificado (MRC), un Material de Referencia / Patrón Químico o una muestra obtenida a partir de un programa interlaboratorio.
2. Mediante comparación de métodos. Comparación Interna, mediante el estudio del comportamiento de un analito en una muestra analizada por diferentes métodos en el propio laboratorio o Comparación Externa, mediante la participación en un programa interlaboratorio.
3. Mediante el método de adiciones (Recuperación). Consiste en añadir una cantidad conocida de patrón a la muestra y comparar la diferencia entre los resultados que se obtienen de la muestra sin adicionar y la muestra adicionada, con el valor teórico de la adición que se toma como valor de referencia.

Todos los resultados se deben obtener de la aplicación completa del método, es decir, sin omitir ninguna de las etapas que lo integran.

En el presente trabajo, la exactitud del método se determina por Recuperación de los analitos añadidos a muestras reales aplicando el método a matrices de agua potable.

Según la Association of Analytical Communities, AOAC, recuperación es: “ La fracción del analito que se añade a una muestra de ensayo (muestra fortalecida o adicionada) antes del análisis “. La recuperación porcentual (%R) de muestras no fortificadas y fortificadas se calcula de la siguiente manera:

$$\%R = \left[\frac{(CF - CU)}{CA} \right] \times 100 \%$$

donde:

CF = concentración del analito medida en la muestra fortificada.

CU = concentración del analito medida en la muestra no fortificada.

CA = concentración del analito que se ha añadido a la muestra fortificada (valor medido, no determinado por el método).

3.4.1.6 INCERTIDUMBRE DE MEDICION₍₁₀₎.

La imperfección natural de la realización de las mediciones, hace imposible conocer con certeza absoluta el valor verdadero de una magnitud: Toda

medición lleva implícita una incertidumbre, que se define como un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando.

El propósito de una medición es determinar el valor de una magnitud, llamada el mensurando, que no es más que el atributo sujeto a medición de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente.

El resultado de una medición incluye la mejor estimación del valor del mensurando y una estimación de la incertidumbre sobre ese valor. La incertidumbre se compone de contribuciones de diversas fuentes, algunas de ellas descritas por las magnitudes de entrada respectivas. Algunas contribuciones son inevitables por la definición del propio mensurando, mientras otras pueden depender del principio de medición, del método y del procedimiento seleccionados para la medición.

También pueden influir en el resultado de la medición, y por lo tanto en la incertidumbre, algunos atributos no cuantificables en cuyo caso es siempre recomendable reducir en lo posible sus efectos, preferentemente haciendo uso de criterios de aceptación en las actividades tendientes a reducir tales efectos.

Para expresar la incertidumbre se emplean dos símbolos. La Incertidumbre Estándar expresa el concepto como una desviación estándar. La Incertidumbre expandida (U) define un intervalo que abarca una fracción grande de valores dentro de los cuales caerá la cantidad que se está midiendo.

Para minimizar la carga de trabajo en laboratorios que emplean una serie de procedimientos analíticos algunos organismos han propuesto métodos simples para proporcionar la estimación de la incertidumbre. En una de esas aproximaciones los principios básicos son:

- (1) Los errores sistemáticos no se incluyen en las estimaciones de la incertidumbre, pero se establecen empleando materiales de referencia como es habitual y así se corrigen o eliminan.
- (2) Se toman al menos diez medidas replicadas sobre muestras auténticas estables y bien caracterizadas o sobre materiales de referencia.
- (3) Las incertidumbres se calculan de las desviaciones estándar de las medidas realizadas en condiciones de reproducibilidad internas, es decir, con analistas diferentes o utilizando concentraciones diferentes.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO.

Es un estudio experimental, transversal y prospectivo.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Comprende la investigación teórica realizada en la biblioteca central de las universidades: Alberto Masferrer, Nueva San Salvador y Nacional de El Salvador y en Internet.

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO, UNIVERSO Y MUESTRA.

4.3.1 UNIVERSO.

Este comprende soluciones estándar de sílice de diferentes concentraciones, las cuales se encuentran dentro del rango de 0.1 a 20.0 mg/L , agua potable del sistema zona norte y agua destilada del laboratorio de control de calidad y control de contaminantes del agua potable de la administración nacional de acueductos y alcantarillados, ANDA.

4.3.2 MUESTRA.

El estudio incluye 396 muestras, cada una de 50 mL, divididas de la siguiente forma:

- Para la determinación del límite de detección y el límite de cuantificación:

Muestra A : Solución estándar de Sílice de 0.1 mg/L. (30 muestras)

Muestra B : Solución estándar de Sílice de 0.5 mg/L. (30 muestras)

- Para la determinación del límite de detección, límite de cuantificación y la elaboración de la curva de calibración:

Muestra C : Solución estándar de Sílice de 1 mg/L. (30 muestras)

-Para la elaboración de la curva de calibración y la determinación de la precisión:

Muestra D : Solución estándar de Sílice de 2mg/L. (64 muestras)

Muestra E : Solución estándar de Sílice de 4 mg/L. (4 muestras)

Muestra F : Solución estándar de Sílice de 6 mg/L. (64 muestras)

Muestra G : Solución estándar de Sílice de 10 mg/L. (64 muestras)

-Para la elaboración de la curva de calibración:

Muestra H : Solución estándar de Sílice de 12 mg/L (4 muestras)

Muestra I : Solución estándar de Sílice de 14 mg/L. (4 muestras)

Muestra J : Solución estándar de Sílice de 16 mg/L. (4 muestras)

Muestra K : Solución estándar de Sílice de 18 mg/L. (2 muestras)

Muestra L : Solución estándar de Sílice de 20 mg/L. (2 muestras)

-Muestras utilizadas como blanco:

Muestra M : Agua destilada del laboratorio de control de calidad y control de contaminantes del agua potable. (34 muestras)

-Para la determinación de la exactitud:

Muestra N : Agua potable del sistema zona norte. (60 muestras)

4.4 PARTE EXPERIMENTAL ⁽⁷⁾.

Los análisis serán realizados en el Laboratorio de Control de Calidad y Control de Contaminantes del agua potable localizado en el Laboratorio Central de la Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados ANDA, utilizando la metodología recomendada por *Standard Methods for the examination of water and waste water* .Edición 18.En el capítulo 4500-Si D: Método del Molibdosilicato.

4.4.1 PROCEDIMIENTO.

1. Preparar dos blancos de reactivo tomando dos alícuotas de 50mL de agua destilada y correr el análisis junto con las muestras.
2. Tomar 5mL de muestra o una porción menor, diluir a 50mL con agua destilada y transferir a un erlenmeyer plástico.
3. Añadir 1mL de HCl 1+1 y 2mL de molibdato amónico.

4. Mezclar y dejar en reposo durante 5 a 10 minutos. Tapar los recipientes para evitar respirar los gases formados.
5. Añadir 2mL de ácido oxálico y mezclar completamente.
6. Leer el color desarrollado al cabo de 2 minutos pero antes de 15 minutos, desde la adición del ácido oxálico.
7. Hacer las lecturas de los blancos y las muestras a 410nm

4.4.2 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANALÍTICAS DEL MÉTODO.

4.4.2.1 LINEALIDAD ⁽⁵⁾.

La linealidad del método se determinó analizando una serie de ocho soluciones estándar con concentraciones de sílice de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 ppm durante un día de trabajo, una serie por analista, elaborando la curva de calibración respectiva. El cálculo de la regresión lineal y del coeficiente de correlación se realizó por mínimos cuadrados, a partir de las lecturas de absorbancia promedio de dos réplicas para cada caso y de los valores de concentración respectivos (ver anexo 14).

4.4.2.2 PRECISION DEL MÉTODO ⁽⁵⁾.

-REPETIBILIDAD.

Un mismo analista evaluó 10 réplicas de tres concentraciones y 10 réplicas de muestra de agua potable en días diferentes. Se determinó el coeficiente de variación para establecer la precisión en términos de repetibilidad para cada concentración (ver anexo 15).

-PRECISION INTERMEDIA.

Se evaluaron tres concentraciones dentro del rango de trabajo, las mismas que se evaluaron en la repetibilidad, realizando 10 réplicas de cada concentración y 10 réplicas de muestra de agua potable por analista en días diferentes. Se determinó la precisión en términos de precisión intermedia aplicando la prueba F para comparar los cuadrados de la desviación estándar (ver anexo 15).

4.4.2.3 LIMITE DE DETECCIÓN⁽⁵⁾.

El límite de detección se determinó analizando diez blancos independientes fortificados en sus mínimas concentraciones aceptables y medidos una vez cada uno (ver anexo 16). Se calculó la desviación estándar de la media de los blancos y se evaluó utilizando la ecuación:

$$LD = B + 3\delta$$

Donde:

LD = Límite de detección.

B = Valor promedio de las absorbancias de los blancos.

δ = Desviación estándar de la media de los blancos.

4.4.2.4 LIMITE DE CUANTIFICACION⁽⁵⁾.

El límite de cuantificación se determinó utilizando el valor promedio del intercepto obtenido en las curvas de calibración como una aproximación del blanco para expresar el límite de cuantificación como la concentración de sílice correspondiente al valor del blanco + 10δ (ver anexo 17), a través de la formula:

$$LC = Yb + 10 sb$$

$$LC = B + 10 \delta$$

Donde:

Yb = Valor promedio del intercepto.

sb = Desviación estándar de la media de los blancos.

LC = Límite de cuantificación.

B = Valor promedio de las absorbancias de los blancos.

δ = Desviación estándar de la media de los blancos.

4.4.2.5 EXACTITUD⁽⁵⁾.

Se determinó la concentración de la muestra de agua potable y se fortificó en siete concentraciones diferentes dentro del rango de trabajo. Se calculó el porcentaje de recuperación (ver anexo 18) utilizando la fórmula:

$$\%R = \left[\frac{(CF - CU)}{CA} \right] \times 100$$

Donde:

CF = Concentración del analito medido en la muestra fortificada.

CU = Concentración del analito medido en la muestra no fortificada.

CA = Concentración del analito que se ha añadido a la muestra fortificada (valor medido, no determinado por el método).

4.4.2.6 INCERTIDUMBRE DE MEDICION⁽¹⁰⁾.

La incertidumbre se determinó por el análisis de 10 muestras de un estándar de sílice a una concentración de 2.0 ppm, con los datos obtenidos se calculó la desviación estándar (δ) y la desviación estándar relativa (RSD) (ver anexo 19), utilizando las fórmulas siguientes:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

$$\text{RSD} = \frac{\delta}{\bar{x}}$$

La incertidumbre se determinó de la siguiente forma:

$$U = k \cdot \text{RSD} \cdot c \text{ (ver anexo 20)}$$

Donde:

U = Incertidumbre

k = Factor de cobertura = 2

RSD = Desviación estándar relativa

c = Concentración del analito

Se ha utilizado un factor de cobertura de 2 (ver anexo 20), para determinar U al nivel del 95% (11).

Este valor de Incertidumbre (U) nos da un intervalo dentro del cual caerá la cantidad que se está midiendo, por lo tanto los resultados se expresan de la siguiente forma:

Valor (mg/L) \pm incerteza

Con 3 decimales después del punto decimal.

CAPITULO V
RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

5.1 DETERMINACION DE LA LINEALIDAD DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO.

La linealidad del método se realizó de la siguiente manera:

Cada analista tomó una serie de ocho soluciones estándares de sílice durante un día de trabajo a las cuales se les aplicó el método del molibdosilicato, las concentraciones analizadas fueron 0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0 ppm. Con los datos obtenidos se elaboró la curva de calibración para cada serie. La regresión lineal y el coeficiente de correlación de los resultados se determinaron por mínimos cuadrados a partir de la absorbancia promedio de dos réplicas para cada caso y de los valores de concentración respectivos utilizando las siguientes formulas:

Intercepto:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Ecuación de regresión de la curva de calibración:

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

Coeficiente de correlación:

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \sum (x_i - \bar{x})^2 \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

Las tablas 1 y 3 muestran el promedio de los resultados de las absorbancias obtenidas por cada analista medidas a 410 nm y la curva de calibración para los datos expuestos en las tablas 1 y 3 se muestran en las figuras 1 Y 2, respectivamente.

Tabla nº 1. Concentración de sílice en mg/L contra absorbancia (analista 1)

Concentración de sílice en mg/L	Absorbancia
0	0.0022
2	0.1056
4	0.2081
6	0.3134
8	0.4106
10	0.5066
12	0.6004
14	0.7329

A partir de estos datos se determinó la ecuación de regresión y el coeficiente de correlación utilizando la ecuación que representa una línea recta:

Estos resultados se obtuvieron utilizando la ecuación que representa una línea recta:

$$y=a+bx$$

donde :

a = ordenada en el origen

b = pendiente de la recta

Para los datos de la tabla 1 tenemos:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Tabla nº 2. Valores calculados para la obtención de la pendiente de la curva de calibración (analista 1).

x	y	$x_i - \bar{x}$	$y_i - \bar{y}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	
0	0.0022	-7	-0.357775	49	2.504425	0.128002
2	0.1056	-5	-0.254375	25	1.271875	0.064706
4	0.2081	-3	-0.151875	9	0.455625	0.023066
6	0.3134	-1	-0.046575	1	0.046575	0.002169
8	0.4106	1	0.050625	1	0.050625	0.002563
10	0.5066	3	0.146625	9	0.439875	0.021498
12	0.6004	5	0.240425	25	1.202125	0.057804
14	0.7329	7	0.372925	49	2.610475	0.139073
$\bar{x} = 7$	$\bar{y} = 0.359975$			$\Sigma = 168$	$\Sigma = 8.5816$	$\Sigma = 0.438881$

Sustituyendo los valores de la tabla en la fórmula anterior tenemos :

$$b = \frac{8.5816}{168}$$

$$b = 0.05108095$$

Este valor lo utilizamos para encontrar "a" en la fórmula $y=a+bx$, tenemos

que:

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

$$a = 0.359975 - (0.05108095) (7)$$

$$a = 0.00240835$$

Para encontrar el valor del coeficiente de correlación se utilizó la fórmula :

$$r = \frac{\sum \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \sum (x_i - \bar{x})^2 \left[\sum (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

Sustituyendo los datos en la fórmula tenemos :

$$r = 0.9994$$

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 1 se muestran a continuación:

Pendiente (b)	: 0.05108095
Intercepto (a)	: 0.00240833
Coeficiente de correlación (r)	: 0.9993988
Ecuación de regresión	: $Y = 0.0511X + 0.0024$
Error residual	: 0.009372

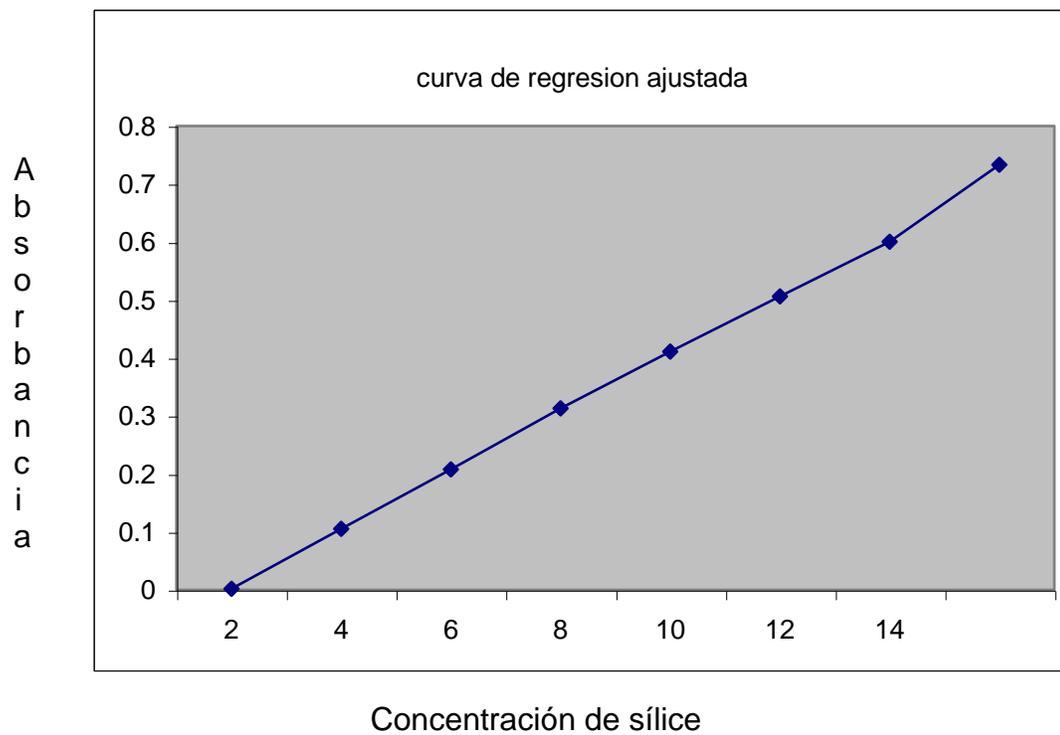


Figura nº 1. Curva de calibración concentración de sílice contra lecturas de absorbancia (analista 1).

Tabla nº 3. Concentración de sílice (mg/L) contra absorbancia (analista 2).

Concentración de sílice en mg/L	Absorbancia
0	0.0021
2	0.1106
4	0.2164
6	0.3202
8	0.4212
10	0.5173
12	0.6213
14	0.7076

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 3 se muestran a continuación:

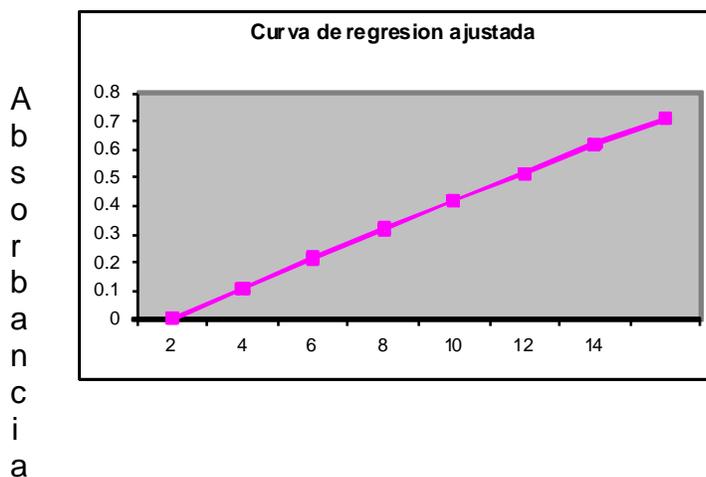
Pendiente : 0.0506

Intercepto : 0.0106

Coefficiente de correlación : 0.9997

Ecuación de regresión : $Y = 0.0506X + 0.0106$

Error residual : 0.007053



Concentración de sílice

Figura nº 2. Curva de calibración (analista 2).

Las curvas de calibración a 410 nm son lineales en el intervalo de 0.0 a 14.0 mg/L de sílice; al aplicar el método de los mínimos cuadrados a los resultados registrados se obtuvieron las ecuaciones de la recta que se muestran en el siguiente cuadro junto con la comparación de los otros valores obtenidos :

Tabla nº4. Valores de los parámetros para calcular las ecuaciones de la linealidad del método.

	Analista 1	Analista 2
Ecuación de regresión	$Y = 0.0511X + 0.0024$	$Y = 0.0506X + 0.0106$
Pendiente	0.05108095	0.0506
Intercepto	0.00240833	0.0106
Coefficiente de correlación	0.99993988	0.9997
Error residual	0.009372	0.007053

5.2 OBTENCION DE LA PRECISION DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO.

La precisión del método se estableció a través de la determinación de la repetibilidad y la precisión intermedia.

Para la evaluación de la repetibilidad un mismo analista realizó el análisis de 10 réplicas de tres concentraciones diferentes (2.0, 6.0 y 10.0 mg/L de sílice), que se encuentran dentro del rango lineal del método, y 10 réplicas de muestra de agua potable en días diferentes. Las tablas 5, 6, 7 ,8 y 9 muestran los resultados obtenidos por el analista 1 para determinar la repetibilidad, la desviación estándar (δ) y el coeficiente de variación (CV) para cada concentración analizada.

Desviación estándar:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

Coeficiente de Variación:

$$CV = (\delta / \bar{x}) x 100$$

Tabla nº 5. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 2.0mg/L de sílice analista 1).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$
1	0.1157	2.0771	0.0312	0.000975019
2	0.1150	2.0632	0.0174	0.000302457
3	0.1152	2.0672	0.0213	0.000455561
4	0.1141	2.0455	-0.0004	1.56228e-07
5	0.1129	2.0217	-0.0241	0.000581325
6	0.1122	2.0079	-0.0379	0.001439798
7	0.1134	2.0316	-0.0142	0.000202472
8	0.1145	2.0534	0.0075	5.63983e-05
9	0.1126	2.0158	-0.0300	0.000902373
10	0.1156	2.0751	0.0292	0.000855505
		$\bar{x} = 2.0458$		$\Sigma = 0.005771063$

Las concentraciones se determinaron a partir de las absorbancias obtenidas despejando x de la ecuación:

$$y=a+bx$$

Por ejemplo, para la lectura número 1:

$$x= (y-a) / b$$

donde $y= 0.1157$

$$x= (0.1157 - 0.0106) / 0.0506$$

$$x= 2.0771$$

A partir de estos datos de concentración obtenemos la desviación estándar, el coeficiente de variación y la varianza, de las diferentes concentraciones analizadas, de la siguiente manera:

Para la desviación estándar utilizamos la fórmula:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

$$\delta = 0.0251$$

Para el coeficiente de variación utilizamos la fórmula:

$$CV = (\delta / \bar{x}) \times 100$$

$$CV = (0.0251 / 2.0458) \times 100$$

$$CV = 1.24\%$$

Para la varianza, la cual es utilizada en la determinación de la precisión intermedia, utilizamos la ecuación:

$$s^2 = \delta^2$$

$$s^2 = (0.0251)^2$$

$$s^2 = 6.3121e-4$$

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 5 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0251

Coeficiente de variación : 1.24%

Varianza : 0.00625

Tabla nº 6. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 6.0mg/L de sílice analista 1).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.3348	6.4071
2	0.3376	6.4625
3	0.3353	6.4170
4	0.3366	6.4427
5	0.3355	6.4209
6	0.3339	6.3893
7	0.3341	6.3933
8	0.3348	6.4071
9	0.3319	6.3498
10	0.3327	6.3656
	Media	6.4055

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 6 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0335

Coeficiente de variación : 0.52%

Varianza : 0.0011229

Tabla nº 7. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 10.0mg/L de sílice analista 1).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.5535	10.7292
2	0.5554	10.7668
3	0.5556	10.7708
4	0.5486	10.6324
5	0.5501	10.6621
6	0.5517	10.6937
7	0.5556	10.7708
8	0.5485	10.6304
9	0.5490	10.6403
10	0.5563	10.7846
	Media	10.7081

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 7 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0634

Coeficiente de variación : 0.59%

Varianza : 0.00396775

Tabla nº 8. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (muestra de agua potable analista 1).

MUESTRA AGUA POTABLE (No de lectura)	Absorbancias
1	0.2068
2	0.2060
3	0.2055
4	0.2052
5	0.2036
6	0.2044
7	0.2042
8*	(0.2229*)
9	0.2040
10	0.2020

*valor anómalo, el cual es eliminado por medio de la Q de Dixon:

$$Q = \frac{(\text{valor sospechoso} - \text{valor más cercano})}{(\text{valor más grande} - \text{valor más pequeño})}$$

$$Q = \frac{(0.2229 - 0.2068)}{(0.2229 - 0.2020)}$$

$$Q = 0.7703$$

Tabla nº 9. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (muestra de agua potable analista 1). Tabla con los valores corregidos.

MUESTRA AGUA POTABLE (No de lectura)	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.2068	38.7747
2	0.2060	38.6166
3	0.2055	38.5178
4	0.2052	38.4585
5	0.2036	38.1423
6	0.2044	38.3004
7	0.2042	38.2609
8		
9	0.2040	38.2213
10	0.2020	37.8261
	Media	38.3465

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 9 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.2819

Coeficiente de variación : 0.73%

Varianza : 0.07823914

Para la evaluación de la precisión intermedia se analizaron 10 réplicas de tres concentraciones diferentes dentro del rango de trabajo (2.0, 6.0 y 10.0 mg/L de sílice) y 10 réplicas de muestras de agua potable por analista en días diferentes comparando los cuadrados de la desviación estándar (δ) aplicando la prueba F.

Las tablas 8, 9, 10 y 11, muestran los resultados obtenidos para la precisión intermedia determinados por el analista 2 en días diferentes con la desviación estándar (δ) y el coeficiente de variación (CV) respectivos⁽³⁾.

Desviación estándar:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}}$$

Coeficiente de Variación:

$$CV = (\delta / \bar{X}) \times 100$$

Tabla nº 10. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 2.0mg/L de sílice analista 2).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.1173	2.1087
2	0.1164	2.0909
3	0.1166	2.0949
4	0.1164	2.0909
5	0.1168	2.0988
6	0.1177	2.1166
7	0.1162	2.0870
8	0.1151	2.0652
9	0.1173	2.1087
10	0.1155	2.0731
	Media	2.0935

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 10 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0159

Coeficiente de variación : 0.76%

Varianza : 0.00025123

Tabla nº 11. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 6.0mg/L de sílice analista 2).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.3334	6.3794
2	0.3321	6.3538
3	0.3350	6.4111
4	0.3376	6.4625
5	0.3367	6.4447
6	0.3310	6.3320
7	0.3332	6.3755
8	0.3338	6.3874
9	0.3341	6.3933
10	0.3323	6.3577
	Media	6.3897

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 11 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0404

Coeficiente de variación : 0.63%

Varianza : 0.00161203

Tabla nº 12. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (estándar concentración 10.0mg/L de sílice analista 2).

No de lectura	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.5446	10.5534
2	0.5442	10.5455
3	0.5379	10.4209
4	0.5531	10.7213
5	0.5399	10.4605
6	0.5395	10.4526
7	0.5464	10.5889
8	0.5435	10.5316
9	0.5442	10.5455
10	0.5504	10.6680
	Media	10.5488

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 12 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.0938

Coeficiente de variación : 0.89%

Varianza : 0.00867705

Tabla nº 13. Absorbancias para calcular la repetibilidad, desviación estándar y coeficiente de variación (muestra de agua potable analista 2).

MUESTRA AGUA POTABLE (No de lectura)	Absorbancias	Concentración de sílice mg/L
1	0.2084	39.0909
2	0.2092	39.2490
3	0.2074	38.8933
4	0.2058	38.5771
5	0.2067	38.7549
6	0.2073	38.8735
7	0.2099	39.3874
8	0.2069	38.7945
9	0.2021	37.8458
10	0.2038	38.1818
	Media	38.7648

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 13 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.4687

Coeficiente de variación : 1.21%

Varianza : 0.21626298

Tabla nº 14. Desviación estándar por concentración de sílice (mg/L).

Desviación Estándar por concentración			
concentración mg/L	Analista A	Analista B	Media/concentración
2	0.02532251	0.01597548	0.021
6	0.03351018	0.04046748	0.037
10	0.06348800	0.09388704	0.079
Agua potable	0.28192377	0.46871704	0.375
		Promedio	0.128

Tabla nº 15. Contraste F para la comparación de desviaciones estándar.

[SiO ₂] mg/L	Analista	S ²	n	F _{exp}	F _{tabla}	Conclusión
2.0	1	0.02529000	10	1.532	4.026	F _{exp} <F _{tabla}
	2	0.01651000	10			
6.0	1	0.03351018	10	1.208	4.026	F _{exp} <F _{tabla}
	2	0.04046748	10			
10	1	0.06348800	10	1.489	4.026	F _{exp} <F _{tabla}
	2	0.09388704	10			
Agua potable	1	0.28192377	9	1.662	4.357	F _{exp} <F _{tabla}
	2	0.46871704	10			

La comparación de las desviaciones estándar obtenidas se hizo a través de la prueba F por medio de la siguiente ecuación:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Donde los valores de las varianzas se ubican de manera que F sea siempre mayor o igual a 1.

El valor de F experimental se compara con el de la tabla de valores F que corresponde.

Tomando como ejemplo los resultados para la concentración de 2.0 mg/L obtenidos por cada analista, tenemos:

$$F = \frac{0.02529}{0.01651}$$

$$F = 1.532$$

5.3 ESTABLECIMIENTO DE LA EXACTITUD DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO.

La exactitud se determinó por el método de recuperación preparando cada analista tres series de siete muestras, a cada serie se le adicionó una cantidad conocida (1.0, 2.0 Y 4.0 mg/L) de sílice para obtener tres concentraciones diferentes.

Mediante el cálculo del porcentaje de recuperación se estableció la exactitud utilizando la fórmula:

$$\%R = \left[\frac{(CF - CU)}{CA} \right] \times 100$$

Donde:

CF = Concentración del analito medido en la muestra fortificada.

CU = Concentración del analito medido en la muestra no fortificada.

CA = Concentración del analito que se ha añadido a la muestra fortificada (valor medido, no determinado por el método).

Los resultados obtenidos en el análisis de las tres series de muestras fortificadas y la muestra sin fortificar se presentan en la tabla 16.

Tabla nº 16. Absorbancias y concentraciones para series fortificadas con sílice y muestras sin fortificar.

n	Muestra sin fortificar		Adición 1 mg/L		Adición 2 mg/L		Adición 4mg/L	
	Abs	[SiO ₂]	Abs	[SiO ₂]	Abs	[SiO ₂]	Abs	[SiO ₂]
1	0.2115	4.1629	0.2667	5.2792	0.3217	6.3985	0.4244	8.5259
2	0.2098	4.1295	0.2648	5.2396	0.3148	6.2579	0.4211	8.4556
3	0.2122	4.1776	0.2699	5.3443	0.3160	6.2817	0.4271	8.5818
4	0.2143	4.2199	0.2647	5.2392	0.3202	6.3666	0.4201	8.4341
5	0.2094	4.1221	0.2621	5.1854	0.3200	6.3639	0.4187	8.4065
6	0.2074	4.0804	0.2654	5.2518	0.3186	6.3351	0.4143	8.3147
7	0.2091	4.1154	0.2624	5.1912	0.3187	6.3362	0.4181	8.3942
Media	0.2105	4.171	0.265	5.3100	0.3190	6.4220	0.4210	8.5460

Se evaluó el porcentaje de recuperación mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \left[\frac{(CF - CU)}{CA} \right] \times 100$$

Tabla nº 17. Porcentajes de recuperación para las series fortificadas con sílice.

C _F mg/L	C _U mg/L	C _A mg/L	% recuperación
5.310	4.171	1	114
6.422	4.171	2	113
8.546	4.171	4	109

Tomando como ejemplo la serie fortificada con 1.0 mg/L de sílice tenemos:

CF = 5.310 mg/L de sílice

CU = 4.171 mg/L de sílice

CA = 1.0 mg/L de sílice

$$\%R = [(5.310 - 4.171) / 1] \times 100$$

$$\%R = 114\%$$

5.4 DETERMINACION DE EL LIMITE DE DETECCION Y EL LIMITE DE CUANTIFICACION DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO.

El límite de detección se obtuvo analizando diez blancos independientes fortificados en su mínima concentración aceptable la cual, para este caso, es de 1.0mg / L, medidos una vez cada uno.

Con los resultados obtenidos se determinó el límite de detección a través de la ecuación :

$$LD = B + 3\delta$$

Donde:

LD = Límite de detección.

B = Valor promedio de las absorbancias de los blancos.

δ = Desviación estándar de la media de los blancos.

De esta manera:

$$LD = 0.064 \text{ mg/L}$$

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 18.

Tabla nº 18. Absorbancias del blanco fortificado a 1.0mg / L de sílice.

Nº Lectura	Abs	[SiO ₂]
1	0.0330	1.0029
2	0.0340	1.0155
3	0.0330	0.9721
4	0.0330	0.9732
5	0.0320	0.9530
6	0.0320	0.9612
7	0.0330	0.9825
8	0.0320	0.9545
9	0.0330	0.9706
10	0.0320	0.9521
Promedio=>		0.9738

Los resultados obtenidos a través de los datos de la tabla 18 se muestran a continuación:

Desviación estándar : 0.02136884

Límite de detección LDM: 0.06410651

El límite de cuantificación se determinó utilizando el valor promedio del intercepto obtenido en las curvas de calibración como una aproximación del blanco a través de la fórmula:

$$LC = Y_b + 10 s_b$$

$$LC = B + 10 \delta$$

Donde:

Y_b = Valor promedio del intercepto.

s_b = Desviación estándar de la media de los blancos.

LC = Límite de cuantificación.

B = Valor promedio de las absorbancias de los blancos.

δ = Desviación estándar de la media de los blancos.

$$LC = B + 10 \delta$$

$$LC = 0.0065 + 10 (0.02136884)$$

$$LC = 0.220 \text{ mg/L}$$

5.5 DETERMINACION DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDICION DEL METODO DEL MOLIBDOSILICATO.

Para la determinación de la incertidumbre se utilizaron los datos de la tabla nº10 los cuales corresponden al estándar de concentración igual a 2.0 mg/L de sílice, y cuya desviación estándar es 0.0159, la cual utilizamos para determinar la desviación estándar relativa de la siguiente forma:

$$RSD = \frac{\delta}{\bar{x}}$$

$$RSD = \frac{0.0159}{2.0935}$$

$$RSD = 0.00759494$$

A partir de este valor se determinó la incertidumbre con la fórmula siguiente:

$$U = k \cdot RSD \cdot c$$

$$U = (2) (0.00759494) (2)$$

$$U = 0.03038$$

CAPITULO VI
ANALISIS DE RESULTADOS

6.0 ANALISIS DE RESULTADOS

1. En la determinación de la linealidad del método, el cálculo del intervalo de confianza del intercepto demostró que pasa por cero; no existe desviación significativa con respecto a la regresión; exhibe una distribución aleatoria de los residuos, y los coeficientes de correlación de la regresión lineal se encontraron arriba de 0.996.
2. El valor de la desviación estándar relativa resultó adecuado si se tiene en cuenta que el valor aceptable debe ser menor o igual a 2%, así mismo los interceptos de las curvas no fueron significativos.
3. Al evaluar la precisión de repetibilidad, los coeficientes de variación resultaron ser menores que 1.5 %, lo cual demuestra la buena repetibilidad del método de cuantificación. No se observaron diferencias significativas entre las medias de ambos analistas. El método analítico fue reproducible en distintos días por un mismo analista. El coeficiente de variación total menor que 2% demostró que el método presenta buena reproducibilidad.
4. La curva de recuperación mostró un comportamiento lineal obteniéndose un coeficiente de correlación cercano a la unidad (0.9998), una pendiente de 1.0091 siendo el intercepto igual a cero, además la recuperación media cumplió con el criterio de aceptación para este tipo de análisis (80-120%).

CAPITULO VII
CONCLUSIONES

7.0 CONCLUSIONES

1. El método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable es un método preciso, exacto y lineal en el intervalo de concentración estudiado.
2. La recuperación media de sílice en agua potable utilizando el método del Molibdosilicato fue de 112 %, valor que se encuentra dentro del rango del criterio de aceptación para este tipo de análisis (80 – 120)%.
3. El límite de detección del método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable es de 0.064 mg/L .
4. El límite de cuantificación del método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable es de 0.22 mg/L.
5. La incertidumbre del método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable es de ± 0.03038 , este parámetro brinda una mayor confiabilidad a los resultados obtenidos en la aplicación del método en estudio.
6. Con los ensayos realizados se ha demostrado que el método descrito es adecuado para cuantificar la sílice presente en agua potable en forma de óxido de silicio (SiO_2).

En resumen los valores de los parámetros de validación son:

Linealidad o rango de trabajo : 0.22 a 14.0 mg/L

Límite de detección : 0.064 mg/L

Límite de cuantificación : 0.22 mg/L

Precisión promedia del método : 0.128 mg/L

Coefficiente de variación promedio : 0.83 %

Recuperación media de sílice : 112 %

Incertidumbre : 0.03038

CAPITULO VIII
RECOMENDACIONES

8.0 RECOMENDACIONES.

1. Respetar los tiempos de reposo y agitación indicados en la técnica de análisis del método del molibdosilicato para la determinación de sílice en agua potable y así evitar error en las lecturas.
2. Lavar minuciosamente la cristalería a utilizar es imprescindible para eliminar cualquier tipo de interferencia.
3. Trabajar con material de referencia certificado y equipo analítico calibrado para minimizar la incertidumbre en los resultados.
4. Acreditar los laboratorios analíticos para alcanzar el nivel que requieren los estándares de calidad; por lo tanto, es indispensable la validación de los métodos utilizados en dichos laboratorios.
5. Determinar la incertidumbre de la medición, debido a que es un parámetro exigido actualmente para la validación de métodos; su valor radica en que contribuye tanto para obtener el intervalo de valores dentro del cual cae la concentración verdadera del analito como para demostrar que un laboratorio tiene la capacidad para realizar análisis de significación legal.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Castro, R. V. El agua potable de la capital. San Salvador, ES. Consultado 22 oct. 2003. Disponible en :
<http://www.ues.sv/historia/agua.html-7k>
2. COPANT (Comisión panamericana de normas técnicas). 2000. Norma ISO/IEC 17025-2000 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
3. COSUDE, CONACYT. 1999. Norma salvadoreña obligatoria para la calidad del agua potable. San Salvador, El Salvador.
4. Determinación de sílice (en línea). Consultado 15 oct. 2003. Disponible en :
<http://www.members.tripod.com/arturobola/index.html>
5. Guía Eurachem, Reino Unido. 1998. La idoneidad de los métodos analíticos. Teddington, Middlesex, Reino Unido. Trad. CEPIS / OPS. 74p.
6. Gómez Navarrete, M. Validaciones (en línea). Consultado 15 oct. 2003. Disponible en:
<http://www.ciencias.univalle.edu.co/extension/scalidad04/mgabstrat.doc>
7. Greenberg, A. E. y otros. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. Washington, EUA. American public health association.
8. ISO 5725:1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results, Part 1, General principles and definitions.

9. Martínez, D. y otros. Geoquímica de la sílice disuelta en el acuífero pampeano en la vertiente sudoriental de Tandilia. Mar del Plata, Argentina. CONICET. Consultado 15 oct. 2003. Disponible en :
<http://www.unesco.org.uy/phi/libros/congreso/26martinez.pds>
10. Miller, J.C. y otros. 1993. Estadística para química analítica. 2ª ed. Wilmington, Delaware, E.U.A. Addison-Wesley Iberoamerican, S.A. 211p.
11. Miller, N.J. y Miller, J.C. 2002. Estadística y quimiometría para química analítica. Madrid, España. Pearson Educación, S.A.
12. Ramírez Martínez, J. D. 1999. Conceptos estadísticos básicos para el análisis, interpretación e inferencia en resultados cuantitativos en ciencias químicas. Trabajo de Graduación de la carrera . San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. 197p.
13. Romero Rojas, J. A. 1999. Calidad del agua. 2ª ed. México D.F. , México. Alfa Omega grupo editor.
14. Seminario sobre validación de métodos analíticos y validación de procesos de producción. (1, 2003, San Salvador, ES) 2003.
15. Tenorio Mejía, J. y otros. 1987. Evaluación de las técnicas de muestreo y de los métodos de análisis de sílice en aguas geotérmicas. Trabajo de Graduación. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador. 95p.

ANEXOS

ANEXO No. 1

LISTADO DE MATERIAL Y EQUIPO

LISTADO DE MATERIAL Y EQUIPO.

Material:

- Dispensadores de líquidos “ repipet ”.
- Pipetas volumétricas de 5.0 mL, 2.0 mL, 1.0 mL.
- Erlenmeyer de 250mL.
- Un par de celdas de 1cm de paso de luz.
- Pizeta.
- Bureta.
- Balones volumétricos de 50.0 mL, 100.0 mL, 1000.0 mL.

Equipo:

- Espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo Lambda 2.
- Balanza analítica Mettler modelo DE-50.
- Cronómetro.

ANEXO No. 2

LISTADO DE REACTIVOS

LISTADO DE REACTIVOS

1. Ácido Clorhídrico, HCl 1+1.
2. Reactivo de Molibdato amónico.
3. Solución de Ácido oxálico.
4. Solución Madre de Sílice (1000 mg / L).
5. Solución patrón de sílice (100 mg / L).
6. Soluciones estándares de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 y 14.0mg/mL.

ANEXO No. 3

PREPARACION DE REACTIVOS

PREPARACION DE REACTIVOS⁽⁷⁾.

-REACTIVO DE MOLIBDATO AMÓNICO.

Disolver 10.0g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada con agitación y calentamiento suavemente, diluir a 100 mL. Filtrar si fuese necesario. Ajustar el pH a 7.8 con NH_4OH ó NaOH exentos de sílice, conservar en un frasco de polietileno para estabilizar la solución (Si no se ha ajustado el pH, aparecerá gradualmente un precipitado. Si la solución se conserva en vidrio puede lixiviarse sílice y los blancos serán elevados).

-SOLUCIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO.

Disolver 7.5g de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y diluir a 100 mL.

-SOLUCIÓN MADRE DE SÍLICE (1000 mg/L).

Solución estándar certificada preparada a partir de Hexafluorosilicato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ en agua destilada. (Conservar en frasco de plástico herméticamente cerrado).

-SOLUCIÓN PATRÓN DE SÍLICE (100 mg/L).

Diluir 10.0 mL de solución madre de sílice a 100 mL con agua destilada. 1.00 mL = 1.0 μ g SiO₂ / L . (Conservar en frascos de plástico herméticamente cerrados).

ANEXO No. 4

**TABLA DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA ELABORACION DE
LA CURVA DE CALIBRACION**

Cuadro No.1 Recolección de datos para la elaboración de la curva
de calibración.

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA		
	A1	A2	A3
2			
4			
6			
8			
10			
12			
14			

ANEXO No. 5

**TABLA DE RECOLECCION DE DATOS PARA LA DETERMINACION
DE SILICE EN AGUA POTABLE**

ANEXO No. 6

**TABLA DE ACTUALIZACIONES DE LA EVALUACION DE LOS
PARAMETROS DE VALIDACION DEL METODO**

ANEXO No. 7

TABLA DE REVISION DE LA CALIBRACION DEL EQUIPO ANALITICO

ANEXO No. 8

PROTOCOLO DE DOCUMENTACION DE METODOS

PROTOCOLO DE DOCUMENTACIÓN DE METODOS⁽⁵⁾.

DETERMINACIÓN DE SÍLICE EN AGUA POTABLE POR EL MÉTODO DEL MOLIBDATO DE AMONIO

1. CAMPO DE ACCIÓN.

- ANALITO A DETERMINAR CON EL MÉTODO.
- FORMA EN QUE SE DETERMINA EL ANALITO.
- MATRIZ DE MUESTRA DEL ANALITO.
- RANGO DE CONCENTRACIÓN DEL ANALITO EN EL QUE SE PUEDE USAR EL MÉTODO.
- INTERFERENCIAS CONOCIDAS QUE LIMITEN EL TRABAJO DEL MÉTODO.
- TÉCNICA USADA POR EL MÉTODO.
- TAMAÑO MÍNIMO DE LA MUESTRA.

2. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.

3. DEFINICIONES.

4. PRINCIPIO.

5. REACTIVOS Y MATERIALES.

6. APARATOS Y EQUIPOS.

7. MUESTREO Y MUESTRAS.

8. CALIBRACIÓN.

9. CONTROL DE CALIDAD.

10. PROCEDIMIENTO.

11. CALCULO.

12. REPORTE DE PROCEDIMIENTOS, INCLUIDA LA EXPRESIÓN DE RESULTADOS.

13. REFERENCIAS NORMATIVAS.

14. (Apéndice sobre) VALIDACIÓN DE METODOS.

15. (Apéndice sobre) INCERTIDUMBRE DE MEDICION.

ANEXO No. 9

METODO DEL MOLIBDOSILICATO

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

4500-SiO₂, C. Molybdosilicate Method

1. General Discussion

a. Principle: Ammonium molybdate at pH approximately 1.2 reacts with silica and any phosphate present to produce heteropoly acids. Oxalic acid is added to destroy the molybdophosphoric acid but not the molybdosilicic acid. Even if phosphate is known to be absent, the addition of oxalic acid is highly desirable and is a mandatory step in both this method and Method D. The intensity of the yellow color is proportional to the concentration of "molybdate-reactive" silica. In at least one of its forms, silica does not react with molybdate even though it is capable of passing through filter paper and is not noticeably turbid. It is not known to what extent such "unreactive" silica occurs in waters. Terms such as "colloidal," "crystalloidal," and "ionic" have been used to distinguish among various forms of silica but such terminology cannot be substantiated. "Molybdate-unreactive" silica can be converted to the "molybdate-reactive" form by heating or fusing with alkali. Molybdate-reactive or unreactive does not imply reactivity, or lack of it, toward *other* reagents or processes.

b. Interference: Because both apparatus and reagents may contribute silica, avoid using glassware as much as possible and use reagents low in silica. Also, make a blank determination to correct for silica so introduced. In both this method and Method D, tannin, large amounts of iron, color, turbidity, sulfide, and phosphate interfere. Treatment with oxalic acid eliminates interference from phosphate and decreases interference from tannin. If necessary, use photometric compensation to cancel interference from color or turbidity.

c. Minimum detectable concentration: Approximately 1 mg SiO₂/L can be detected in 50-mL nessler tubes.

2. Apparatus

a. Platinum dishes, 100-mL.

b. Colorimetric equipment: One of the following is required:

1) *Spectrophotometer,* for use at 410 nm, providing a light path of 1 cm or longer. See Table 4500-SiO₂:I for light path selection.

2) *Filter photometer,* providing a light path of 1 cm or longer and equipped with a violet filter having maximum transmittance near 410 nm.

3) *Nessler tubes,* matched, 50-mL, tall form.

3. Reagents

For best results, set aside and use batches of chemicals low in silica. Use distilled reagent water in making reagents and dilutions. Store all reagents in plastic containers to guard against high blanks.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

- a. *Sodium bicarbonate*, NaHCO_3 , powder.
- b. *Sulfuric acid*, H_2SO_4 , 1N.
- c. *Hydrochloric acid*, HCl, 1 + 1.
- d. *Ammonium molybdate reagent*: Dissolve 10 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in water, with stirring and gentle warming, and dilute to 100 mL. Filter if necessary. Adjust to pH 7 to 8 with silica-free NH_4OH or NaOH and store in a polyethylene bottle to stabilize. (If the pH is not adjusted, a precipitate gradually forms. If the solution is stored in glass, silica may leach out and cause high blanks.) If necessary, prepare silica-free NH_4OH by passing gaseous NH_3 into distilled water contained in a plastic bottle.
- e. *Oxalic acid solution*: Dissolve 7.5 g $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ in water and dilute.
- f. *Stock silica solution*: Dissolve 4.73 g sodium metasilicate nonahydrate, $\text{Na}_2\text{SiO}_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, in water and dilute to 1000 mL. For work of highest accuracy, analyze 100.0-mL portions by the gravimetric method.¹ Store in a tightly stoppered plastic bottle.
- g. *Standard silica solution*: Dilute 10.00 mL stock solution to 1000 mL with water; 1.00 mL = 10.0 μg SiO_2 . Calculate exact concentration from concentration of stock silica solution. Store in a tightly stoppered plastic bottle.
- h. *Permanent color solutions*:
 - 1) *Potassium chromate solution*: Dissolve 630 mg K_2CrO_4 in water and dilute to 1 L.
 - 2) *Borax solution*: Dissolve 10 g sodium borate decahydrate, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$, in water and dilute to 1 L.

4. Procedure

a. *Color development*: To 50.0 mL sample add in rapid succession 1.0 mL 1 + 1 HCl and 2.0 mL ammonium molybdate reagent. Mix by inverting at least six times and let stand for 5 to 10 min. Add 2.0 mL oxalic acid solution and mix thoroughly. Read color after 2 min but before 15 min, measuring time from addition of oxalic acid. Because the yellow color obeys Beer's law, measure photometrically or visually.

b. To detect the presence of molybdate-unreactive silica, digest sample with NaHCO_3 before color development. This digestion is not necessarily sufficient to convert all molybdate-unreactive silica to the molybdate-reactive form. Complex silicates and higher silica polymers may require extended fusion with alkali at high temperatures or digestion under pressure for complete conversion. Omit digestion if all the silica is known to react with molybdate.

Prepare a clear sample by filtration if necessary. Place 50.0 mL, or a smaller portion diluted to 50 mL, in a 100-mL platinum dish. Add 200 mg silica-free NaHCO_3 and digest on a steam bath for 1 h. Cool and add slowly, with stirring, 2.4 mL 1N H_2SO_4 . Do not interrupt analysis but

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

proceed *at once* with remaining steps. Transfer quantitatively to a 50-mL nessler tube and make up to mark with water. (Tall-form 50-mL nessler tubes are convenient for mixing even if the solution subsequently is transferred to an absorption cell for photometric measurement.)

c. Preparation of standards: If NaHCO_3 pretreatment is used, add to the standards (approximately 45 mL total volume) 200 mg NaHCO_3 and 2.4 mL 1N H_2SO_4 , to compensate both for the slight amount of silica introduced by the reagents and for the effect of the salt on color intensity. Dilute to 50.0 mL.

d. Correction for color or turbidity: Prepare a special blank for every sample that needs such correction. Carry two identical portions of each such sample through the procedure, including NaHCO_3 treatment if this is used. To one portion add all reagents as directed in ¶ 4a preceding. To the other portion add HCl and oxalic acid but no molybdate. Adjust photometer to zero absorbance with the blank containing no molybdate before reading absorbance of molybdate-treated sample.

e. Photometric measurement: Prepare a calibration curve from a series of approximately six standards to cover the optimum ranges cited in Table 4500-SiO₂:I. Follow direction of ¶ 4a above on suitable portions of standard silica solution diluted to 50.0 mL in nessler tubes. Set photometer at zero absorbance with water and read all standards, including a reagent blank, against water. Plot micrograms silica in the final (55 mL) developed solution against photometer readings. Run a reagent blank and at least one standard with each group of samples to confirm that the calibration curve previously established has not shifted.

f. Visual comparison: Make a set of permanent artificial color standards, using K_2CrO_4 and borax solutions. Mix liquid volumes specified in Table 4500-SiO₂:II and place them in well-stoppered, appropriately labeled 50-mL nessler tubes. Verify correctness of these permanent artificial standards by comparing them visually against standards prepared by analyzing portions of the standard silica solution. Use permanent artificial color standards only for visual comparison.

5. Calculation

$$\text{mg SiO}_2/\text{L} = \frac{\mu\text{g SiO}_2 \text{ (in 55 mL final volume)}}{\text{mL sample}}$$

Report whether NaHCO_3 digestion was used.

ANEXO No. 10

LA RECTA DE REGRESION DE Y SOBRE X

5.4. La recta de regresión de y sobre x

En esta sección se supone que existe una relación lineal entre la señal analítica (y) y la concentración (x), y se muestra cómo calcular la «mejor» línea recta a través de los puntos de la gráfica de calibrado, cada uno de los cuales está sujeto a un error experimental. Ya que se ha supuesto que todos los errores se encuentran en y (véase la Sección 5.2), ahora se trata de buscar la recta que minimice las desviaciones en la dirección y , entre los puntos experimentales y los calculados por la línea. Ya que algunas de estas desviaciones serán positivas y algunas negativas (conocidas técnicamente como los *residuos* de y ; ver más adelante), es razonable intentar minimizar **la suma de los cuadrados de los residuos**, debido a que estos cuadrados serán todos positivos. Esto explica el uso frecuente del término **método de los mínimos cuadrados** para este procedimiento. La línea recta buscada se calcula basándose en este principio: como resultado se encuentra que la línea debe pasar por el «centro de gravedad» de los puntos (\bar{x}, \bar{y}) .

Se puede demostrar que la recta de mínimos cuadrados viene dada por:

Pendiente de la recta de mínimos cuadrados:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.4)$$

Ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (5.5)$$

Nótese que la Ecuación (5.4) contiene algunos de los términos utilizados en la Ecuación (5.2), utilizada previamente para calcular r : esto facilita las operaciones de la calculadora o computadora. La línea determinada por las Ecuaciones (5.4) y (5.5) se conoce como **recta de regresión de y sobre x** , es decir, la recta que indica cómo varía y cuando x se ajusta a los valores elegidos. Es muy importante hacer constar que la recta de regresión de x sobre y *no es la misma recta* (excepto en el caso muy improbable en que todos los puntos caigan sobre una línea recta, exactamente cuando $r = 1$ ó $r = -1$). La recta de regresión de x sobre y (que también pasa por el centro de gravedad de todos los puntos) supone que todos los errores ocurren en la dirección de x . Si se mantiene rigurosamente el convenio que la señal analítica se representa siempre sobre el eje y y la concentración sobre el eje x , la recta de regresión de y sobre x es la que se debe usar siempre en los experimentos de calibración.

EJEMPLO 5.4.1

Calcular la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión para los datos expuestos en el ejemplo anterior (véase la Sección 5.3).

ANEXO No. 11

EL COEFICIENTE DE CORRELACION MOMENTO-PRODUCTO

En las siguientes secciones, se supondrá que la recta de calibrado toma la forma algebraica:

$$y = a + bx \quad (5.1)$$

donde b es la pendiente de la recta y a su ordenada en el origen. Los puntos individuales sobre la línea se denotarán por (x_1, y_1) , normalmente la lectura del blanco, (x_2, y_2) , (x_3, y_3) ... (x_i, y_i) ... (x_n, y_n) , es decir, hay n puntos como es habitual. La media de los valores de x se designa por \bar{x} y la media de los valores de y por \bar{y} : la posición (\bar{x}, \bar{y}) se conoce como el «centro de gravedad» de todos los puntos.

5.3. El coeficiente de correlación momento-producto

En esta sección se analiza el primer problema planteado en la sección anterior: ¿es la representación gráfica del calibrado lineal? Para estimar la bondad con que se ajustan los puntos experimentales a una línea recta, se calcula el **coeficiente de correlación momento-producto**, r . Para simplificar, a este dato estadístico se le denomina «coeficiente de correlación» debido a que en las ciencias cuantitativas es con mucho el tipo de coeficiente de correlación más usado. No obstante, en el Capítulo 6 se encontrarán otros tipos de coeficientes de correlación. El valor de r viene dado por:

El coeficiente de correlación momento-producto,

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad (5.2)$$

Puede demostrarse que r puede tomar valores en el intervalo $-1 \leq r \leq +1$. Como se indica en la Figura 5.2, un valor de r de -1 describe una correla-

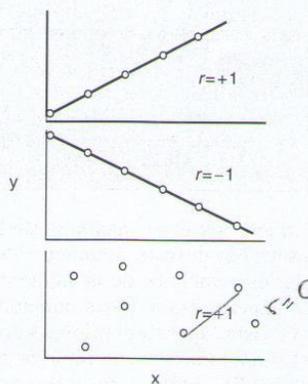


Figura 5.2. El coeficiente de correlación momento-producto, r .

ANEXO No. 12
CONTRASTE DE DIXON
(Q DE DIXON)

7)
grande que la del método
tivamente mayor que la del

cola, ya que sólo nos interesa
En la Tabla A.3 el número
mna de la izquierda y el nú-
Las dos muestras contienen
en cada caso. El valor crítico
el número de grados de liber-
el valor calculado de $F(4,8)$
ente mayor que la del método
do propuesto es más preciso.

métodos para determinar como
esto se puede contrastar aho-
tenida de cinco medidas de un
que sea mayor que 1, se tiene:

razón para esperar que la va-
ndo por ello adecuado un con-
Tabla A.3 son los valores que
nen que ser mayores que 1. En
podría ser mayor o menor que
que 1, entonces la probabilidad
el doble. Por ello, estos valores
en su lugar se emplea la Tabla
de libertad de numerador y de-
do es menor que éste, por tanto
nivel del 5%.

lear otros niveles de signifi-
se encuentran en las tablas
. Hay que tener cuidado en
si es un contraste de una o
se utilizan los 2% puntos
cola, mientras que para un
. Si se utiliza una computa-
ue tener presente que Excel

sólo lleva a cabo contraste F de una cola, siendo necesario introducir la muestra con la varianza más grande como primera muestra. Minitab no proporciona un contraste F para comparar las varianzas de dos muestras.

3.7. Datos anómalos

Es muy frecuente encontrarse con la situación en que uno (o posiblemente más) de los resultados que se obtienen de un conjunto de medidas difiera del resto de forma inexplicable. Por esta razón estas medidas se denominan resultados anómalos («outliers»). En algunos casos, un resultado anómalo puede atribuirse a un error humano. Por ejemplo, si se obtienen los siguientes resultados en una valoración:

12.12, 12.15, 12.13, ^{12.}13.14, 12.12 ml

entonces es casi seguro que el cuarto valor corresponda a un error en la escritura y que debería leerse 12.14. Sin embargo, incluso cuando los datos que son obviamente erróneos hayan sido eliminados o corregidos, todavía quedan datos que pudieran ser anómalos. ¿Deberíamos conservarlos, o deberíamos buscar algún procedimiento para comprobar estadísticamente si deben ser rechazados o no? Obviamente, los valores finales de la media y la desviación estándar dependerán de si los datos anómalos han sido rechazados o no. Puesto que la discusión sobre la precisión y la exactitud de un método depende de estos valores finales, tiene que quedar claro siempre si los datos anómalos han sido rechazados y, si es así, por qué.

El **contraste de Dixon** (a veces llamado **contraste Q**) es un contraste popular para datos anómalos debido a que el cálculo es simple. Para pequeñas muestras (tamaños de 3 a 7) el contraste evalúa una medida sospechosa comparando la diferencia entre ella y la medida más próxima en tamaño, con el intervalo de las medidas. (Para muestras más grandes la forma del contraste se modifica ligeramente. Al final del capítulo se proporciona una referencia que contiene detalles adicionales.)

Para usar el contraste de Dixon para un valor anómalo, esto es, para probar H_0 : todas las medidas proceden de la misma población, se calcula el estadístico Q :

$$Q = \frac{|\text{valor sospechoso} - \text{valor más cercano}|}{(\text{valor más grande} - \text{valor más pequeño})} \quad (3.8)$$

Este contraste es válido para tamaños de muestra de 3 a 7 y supone que la población es normal.

Los valores críticos de Q para $P = 0.05$ se encuentran en la Tabla A.5. Si el valor de Q calculado supera el valor crítico, se rechaza el valor sospechoso. Los valores dados son para un contraste de dos colas, el cual es apropiado cuando no se conoce de antemano el extremo al que puede darse el valor anómalo.

ANEXO No. 13

TABLA DE VALORES CRITICOS DE F

TABLA DE VALORES CRITICOS DE Q

cola ($P = 0.05$).

Tabla A.4. Valores críticos de F para un contraste de dos colas ($P = 0.05$).

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.

Tabla A.5. Valores críticos de Q ($P = 0.05$) para un contraste de dos colas.

Tamaño de muestra	Valor crítico
4	0.831
5	0.717
6	0.621
7	0.570

Tomados de King, E. P. 1958. *J. Am. Statist. Assoc.*, 48:531.

ANEXO No. 14
RANGO DE TRABAJO Y RANGO LINEAL
CUADRO RESUMEN

Rango de trabajo y rango lineal. Cuadro resumen			
Analizar	Repeti- ciones	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
1. Blanco más materiales de referencia o blancos fortificados a diferentes concentraciones.	1	Graficar la respuesta de medición (eje y) versus la concentración del analito (eje x). Examinar visualmente para identificar el rango lineal aproximado y los límites superior e inferior del rango de trabajo.	Lo ideal es preparar las diferentes concentraciones independientemente y no a partir de alícuotas de la misma solución madre.
Se necesita por lo menos seis concentraciones más el blanco.		Luego pasar a 2.	Esto dará una confirmación visual de si el rango de trabajo es lineal o no.
2. Blancos con materiales de referencia o blancos fortificados a por lo menos seis concentraciones diferentes dentro del rango lineal.	3	Graficar la respuesta de medición (eje y) versus la concentración del analito (eje x). Examinar visualmente para ubicar puntos fuera del rango que puedan no estar reflejados en la regresión. Calcular el coeficiente de regresión apropiado. Calcular y graficar los valores residuales (diferencia entre el valor y real y el valor y pronosticado por la línea recta para cada valor x). Una distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad. Las tendencias sistemáticas indican una no linealidad.	Esta etapa es necesaria para probar un rango de trabajo que, según se piensa, es lineal y donde se pretende usar una calibración en un solo punto. No es adecuado eliminar los puntos fuera del rango sin realizar primero un control mediante otras determinaciones en concentraciones cercanas.
		Luego, pasar a 3.	Si la varianza de las réplicas es proporcional a la concentración, debe usarse un cálculo de regresión ponderada en lugar de una regresión no ponderada.
3. En cuanto a LC (b)		En cuanto a LC El LC constituye de hecho el extremo inferior del rango de trabajo.	En ciertas circunstancias, puede ser mejor tratar de ajustar una curva no lineal para los datos. Por lo general, no es aconsejable usar funciones mayores a las cuadráticas. Trabajar con concentraciones sucesivamente menores hasta que la exactitud y la precisión sean inaceptables.

Exactitud (para una definición, véase el Anexo A)

6.30 La "exactitud" expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero (en esta guía se ha asumido la definición ISO 3534-1). La validación de métodos busca cuantificar la exactitud probable de los resultados mediante la evaluación de los efectos sistemáticos y aleatorios en

ANEXO No. 15

PRECISION DE REPETIBILIDAD Y PRECISION DE

REPRODUCIBILIDAD

CUADRO RESUMEN

especificar las condiciones exactas. La precisión generalmente se define en términos de desviación estándar o desviación estándar relativa. La repetibilidad y la reproducibilidad generalmente dependen de la concentración del analito y por lo tanto se deben determinar para una serie de concentraciones y, de ser relevante, debe establecerse la relación entre precisión y concentración del analito. La desviación estándar relativa puede ser más útil en este caso porque la concentración ha sido factorizada y de esa manera permanece en gran medida constante en todo el rango de interés, siempre que este no sea muy amplio.

- 6.38 Nótese que estas definiciones de precisión se refieren a un análisis cuantitativo. El análisis cualitativo puede tratarse de una manera ligeramente distinta. El análisis cualitativo es, en realidad, una medición sí/no en un límite específico de concentración del analito. En el caso de métodos cualitativos, la precisión no puede expresarse como desviación estándar ni como desviación estándar relativa sino como calificaciones positivas (y negativas) verdaderas y falsas. Estas calificaciones deben determinarse en una serie de concentraciones en el nivel límite, así como por debajo y por encima de él. Deben usarse los datos de una comparación mediante un método confirmatorio, de contarse con un método confirmatorio apropiado. De no ser así, es posible, en lugar de ello, analizar blancos fortificados y no fortificados.

$$\% \text{ de positivos falsos} = \text{positivos falsos} \times 100 / \text{total de negativos conocidos}$$

$$\% \text{ de negativos falsos} = \text{negativos falsos} \times 100 / \text{total de positivos conocidos}$$

Nótese que los químicos analíticos biólogos y los microbiólogos tratan los positivos falsos y los negativos falsos de manera ligeramente diferente porque usan los términos *selectividad* y *especificidad* de una manera que no concuerda con el uso químico.

Precisión de repetibilidad y precisión de reproducibilidad. Cuadro resumen

Analizar	Repeticiones (independientes)	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
Normas, materiales de referencia o blancos fortificados a diferentes concentraciones del rango de trabajo.			

a) El mismo analista, equipo y laboratorio, periodo corto.	10	Determinar la desviación estándar (s) en cada concentración.	Determina la desviación estándar de la repetibilidad en cada concentración.
b) Diferentes analistas y equipos, el mismo laboratorio, periodo prolongado.	10	Determinar la desviación estándar (s) en cada concentración.	Determina la desviación estándar de la reproducibilidad dentro de un laboratorio en cada concentración.
c) Diferentes analistas, equipos y laboratorio; periodo prolongado	10	Determinar la desviación estándar (s) en cada concentración.	Determina la desviación estándar de la reproducibilidad entre laboratorios en cada concentración.
			Requiere estudio en colaboración.

Repetibilidad (para una definición, véase el Anexo A)

- 6.39 A partir de la desviación estándar de repetibilidad σ_r o s_r , resulta útil calcular el "límite de repetibilidad" r , que permite al analista decidir si es significativa la diferencia entre los análisis duplicados de una muestra, determinados bajo condiciones de repetibilidad.

Reproducibilidad (para una definición, véase el Anexo A)

- 6.40 A partir de la desviación estándar de reproducibilidad σ_R o s_R , resulta útil calcular el "límite de reproducibilidad" R , que permite al analista decidir si es significativa la diferencia entre los análisis duplicados de una muestra, determinados bajo condiciones de reproducibilidad.

Incertidumbre de medición (para una definición, véase el Anexo A)

- 6.41 Una discusión profunda sobre la incertidumbre de medición escapa a los alcances de esta guía; se puede encontrar una exposición detallada en otras fuentes.^[18-20] La incertidumbre de medición es un parámetro simple (generalmente una desviación estándar o un intervalo de confianza) que expresa el rango de valores posibles sobre la base del resultado de la medición. Un estimado de la incertidumbre de medición toma en cuenta *todos los efectos reconocidos* que operan sobre el resultado; las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan al seguir procedimientos adecuadamente establecidos.

La estimación de la incertidumbre para la química analítica debe tomar en cuenta:

ANEXO No. 16
LIMITE DE DETECCION
CUADRO RESUMEN

Límite de detección (LD). Cuadro resumen

Qué analizar	Qué calcular a partir de los datos
a) Diez blancos independientes medidos una vez cada uno.	<i>Desviación estándar de la muestra 's'</i> de a) los valores de los blancos o b) los valores de los blancos fortificados.
b) Diez blancos independientes fortificados en su mínima concentración aceptable y medidos una vez cada uno.	Expresar el LD como la concentración del analito correspondiente a a) el valor promedio de los blancos + 3s o b) 0 + 3s.
Este método presupone que una señal mayor a 3s por encima del valor del blanco solo podría haber surgido del blanco en mucho menos de 1% de las veces y, por lo tanto, es probable que haya surgido de alguna otra parte, como del mensurando. El método a) es útil solo cuando el blanco da una desviación estándar distinta de cero. El obtener un blanco verdadero puede resultar difícil.	
c) Diez blancos independientes fortificados en su mínima concentración aceptable, medidos una vez cada uno.	<i>Desviación estándar de la muestra 's'</i> de los valores de los blancos fortificados. Expresar el LD como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco + 4,65s (se deriva de los ensayos de hipótesis).
La "mínima concentración aceptable" es la mínima concentración para la que se puede lograr un grado de incertidumbre aceptable.	
Se presupone una práctica normal de evaluar la muestra y el blanco de manera separada y realizar las correcciones en relación con el blanco al substrar la concentración del analito correspondiente a la señal del blanco de la concentración correspondiente a la señal de la muestra.	
Si las mediciones se realizan en condiciones de repetibilidad, esto también da una medida de la precisión de repetibilidad (Anexo A, A20).	

6.22 Nótese que tanto la media como la desviación estándar de los blancos probablemente sean dependientes de la matriz de los blancos. Por lo tanto, el límite de detección será dependiente de la matriz. De manera similar, cuando se usan dichos criterios para decisiones críticas, los valores de precisión relevantes deberán ser nuevamente determinados regularmente en concordancia con el rendimiento de operación real.

6.23 En el caso de mediciones cualitativas, es probable que exista un límite de concentración debajo del cual la especificidad ya no sea confiable. El límite puede variar si el experimento se repite en otro momento con diferentes reactivos, fortalecimiento, adición de materiales, etcétera. En el

ANEXO No. 17
LIMITE DE CUANTIFICACION
CUADRO RESUMEN

Límite de cuantificación (LC). Cuadro resumen

Qué analizar	Qué calcular a partir de los datos
a) Diez blancos independientes medidos una vez cada uno.	Desviación estándar de la muestra 's' del valor del blanco Expresar el LC como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco más: i) 5s, ii) 6s, iii) 10s.
Obtener un blanco verdadero puede ser difícil.	
b) Fortalecer las alícuotas de un blanco a diferentes concentraciones del analito cercanas al LD.	Calcular la desviación estándar 's' del valor del analito en cada concentración. Graficar s versus concentración y asignar un valor al LC mediante inspección.
Medir, una vez cada una, 10 réplicas independientes a cada nivel de concentración.	Expresar el LC como la mínima concentración del analito que se puede determinar con un nivel de incertidumbre aceptable.
Normalmente, el LC forma parte del estudio para determinar el rango de trabajo. No se debe determinar mediante extrapolación por debajo del blanco fortificado con la concentración mínima.	
Si las mediciones se hacen bajo condiciones de repetibilidad, también se obtiene una medida de la precisión de repetibilidad a esta concentración.	

Rango de trabajo y rango lineal (para una definición, véase el Anexo A)

- 6.26 Para todo método cuantitativo, es necesario determinar el rango de concentraciones del analito o de valores de la propiedad dentro del cual se puede aplicar el método. Nótese que esto hace referencia al rango de concentraciones o valores en las soluciones efectivamente medidas y no en las muestras originales. En el extremo inferior del rango de concentraciones, los factores limitantes son los valores de los límites de detección y/o cuantificación. En el extremo superior del rango de concentraciones las limitaciones provendrán de diferentes efectos, lo cual dependerá del sistema de respuesta de los instrumentos.
- 6.27 Dentro del rango de trabajo puede existir un rango de respuesta lineal. Dentro del rango lineal, la señal (respuesta) tendrá una relación lineal con la concentración del analito o con el valor de la propiedad. Se puede establecer la magnitud de este rango durante la evaluación del rango de trabajo. Nótese que los cálculos de regresión por sí solos son insuficientes para establecer la linealidad. Para hacerlo, puede ser suficiente una inspección visual de la línea y los residuos;

ANEXO No. 18
RECUPERACIONES
CUADRO RESUMEN

Alternativamente, puede ser posible realizar estudios de recuperación en materiales de referencia si se cuenta con materiales adecuados. Si estos han sido producidos mediante la caracterización de materiales naturales y no mediante la caracterización de materiales sintéticos a los que se les ha agregado el analito, el estudio de recuperación debe representar con precisión la extracción de las porciones de ensayo reales.

Recuperaciones. Cuadro resumen			
Analizar	Repeti- ciones	Qué se debe calcular a partir de los datos	Comentarios
Blancos de matriz o muestras no fortificadas y fortificadas con el analito de interés en un rango de concentraciones.	6	Determinar la recuperación del analito en las diferentes concentraciones. Recuperación (%) = $(C1 - C2) / C3 \times 100$ donde C1 = concentración determinada en la muestra fortificada C2 = concentración determinada en la muestra no fortificada C3 = concentración de fortalecimiento	Las muestras fortificadas deben compararse con las mismas muestras no fortificadas para determinar la recuperación neta del fortalecimiento. La recuperación de las muestras fortificadas o de los blancos de matriz generalmente será mejor que la de las muestras reales, a las cuales el analito está enlazado más firmemente.
Materiales de referencia certificados (MRC).		Determinar la recuperación del analito con respecto al valor certificado.	Dependiendo de cómo se produjo y caracterizó el MRC, puede ser posible obtener una recuperación >100%.

(f) Las herramientas de validación

- 6.48 **Blancos:** el uso de diferentes tipos de blancos permite determinar cuánto de la señal medida es atribuible al analito y cuánto a otras causas. Existen diferentes tipos de blancos disponibles para el usuario.
- 6.48.1 **Blancos con reactivos:** los reactivos usados durante el proceso analítico (incluidos los solventes usados para la extracción o disolución) se analizan de manera aislada para ver si contribuyen a la señal de medición. De esa manera, se puede corregir apropiadamente la señal de medición que surge del analito.
- 6.48.2 **Blancos de matriz:** son en esencia matrices sin analito. Son difíciles de obtener pero dichos materiales son necesarios para dar un estimado realista de las interferencias que se podrían encontrar en el análisis de muestra de ensayos.

ANEXO No. 19

**PROCEDIMIENTO RECOMENDADO PARA LA ESTIMACION DEL
INTERVALO DE INCERTIDUMBRE DE LA MEDICION BASADO EN LA
DESVIACION TIPICA DE REPRODUCIBILIDAD INTERNA**

1.2.1 Procedimiento recomendado para la estimación del intervalo de incertidumbre de la medición basado en la desviación típica de reproducibilidad interna.

Para determinar la desviación típica de la reproducibilidad interna relativa, RSD, se llevan a cabo determinaciones replicadas de una muestra auténtica, de un material de control interno o un material de referencia certificado. Un material para el control interno debe ser estable y debe estar disponible en cantidad suficiente para que pueda ser utilizado por un largo periodo de tiempo. Si se utiliza un material de referencia certificado, los datos obtenidos también pueden ser utilizados para investigar la presencia de errores sistemáticos. Los materiales de referencia certificados, como regla, no deben ser utilizados solo para la estimación de los errores aleatorios.

Efectúe al menos 10 determinaciones a diferentes tiempos, si es importante, utilizando diferentes analistas. Si es necesario, la RSD, debe ser estimada a diferentes niveles del analito, por ejemplo, a niveles bajo, medio y elevado. Si la determinación está asociada con una norma legal, el nivel de la norma es adecuado para la estimación de la RSD. En el trabajo experimental, deben ser incluidas todas las matrices importantes.

Calcule s y RSD a partir de:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} ; RSD = \frac{s}{\bar{x}}$$

donde:

s = desviación típica de la reproducibilidad interna

\bar{x} = valor medio

$i = 1, 2, \dots, n$

n = número de determinaciones

NOTA: Se considera en todo el texto del documento que la sumatoria Σ queda acotada como sigue: $\sum_{i=1}^n$.

Más adelante se expone un ejemplo del cálculo de s a partir de resultados de determinaciones simples de un analito cualquiera. Un total de 10 determinaciones, 1-10, fueron llevadas a cabo por diferentes analistas, en diferentes días. Los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1— Datos originales para el cálculo de s y RSD.

No. de análisis	Fecha	$x = (\text{mg/kg})$	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	04.06.96	100,0	-2,4	5,76
2	05.06.96	103,9	+1,5	2,25
3	06.06.96	104,8	+2,4	5,76
4	07.06.96	104,0	+1,6	2,56
5	10.06.96	101,9	-0,5	0,25
6	11.06.96	103,0	+0,6	0,36
7	13.06.96	103,8	+1,4	1,96
8	14.06.96	99,5	-2,9	8,41
9	17.06.96	100,2	-2,2	4,84
10	18.06.96	102,9	+0,5	0,25

No. de análisis	Fecha	x = (mg/kg)	x - \bar{x}	(x - \bar{x}) ²
Número de análisis n = 10		Suma = 1024 Promedio: $\bar{x} = 102,4$		$\sum (x - \bar{x})^2 = 32,4$

Los valores obtenidos son colocados en la fórmula para la desviación típica:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{32,4}{10-1}} = 1,897$$

La desviación típica relativa de la reproducibilidad interna es:

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} = \frac{1,897}{102,4} = 0,0185$$

La magnitud de la desviación típica de la reproducibilidad interna obtenida, debe ser evaluada con relación al campo de aplicación del método (idoneidad para el fin).

De igual forma, la medición de la incertidumbre puede ser estimada utilizando resultados de determinaciones replicadas llevadas a cabo con materiales de referencia, o de estudios donde el método bajo estudio fue utilizado en paralelo con otro bien definido, establecido como método de referencia. Los cálculos se llevan a cabo como se indica arriba, utilizando el valor de referencia en vez de la media.

1.2.2 Si no puede seguirse la Recomendación: estimación basada en la repetibilidad.

Para determinar la repetibilidad, calcular la desviación típica relativa de la repetibilidad, RSD_r , bajo condiciones que, sin embargo, no están totalmente de acuerdo con la definición de repetibilidad. Realice determinaciones por duplicado en muestras conteniendo aproximadamente el mismo nivel de analito. Lleve a cabo por lo menos 10 determinaciones por duplicado, a diferentes tiempos, si es importante utilice diferentes analistas. Si es apropiado, determine la RSD_r a diferentes niveles del analito, por ejemplo a niveles bajo, medio y elevado. Si la determinación está asociada con una norma legal, el nivel de la norma es un nivel adecuado para la estimación de la RSD_r . En el trabajo experimental deben ser incluidas todas las matrices importantes.

Calcule RSD_r a partir de:

$$RSD_r = \sqrt{\frac{\sum [(a_i - b_i) / \bar{x}_i]^2}{2d_i \text{ de duplicados}}}$$

donde:

$(a_i - b_i) / \bar{x}_i$ = diferencia relativa entre resultados duplicados

i = 1, 2, ... n

n = número de determinaciones duplicadas

ANEXO No. 20

EXPRESION DE LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICION

encima del límite de cuantificación. Por otra parte, a menudo, los métodos gravimétricos y titrimétricos tienen errores absolutos, en tales casos, es adecuado cartas de control con límites absolutos.

La magnitud de la repetibilidad obtenida debe ser evaluada con relación al campo de aplicación del método (idoneidad para el fin).

2. EXPRESION DE LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICION

La incertidumbre de la medición es un parámetro que describe de manera cuantitativa la variación que ocasiona el analito presente en la muestra. Para que el estimado de la incertidumbre tenga valor, ésta debe ser estimada y expresada de manera normalizada.

La incertidumbre de la medición puede ser expresada de cualquier forma, como una incertidumbre típica de la medición, definida como "incertidumbre de la medición del resultado considerando una desviación típica" o como una incertidumbre de la medición expandida, definida como "una cantidad que define el intervalo sobre el resultado, que incluye una amplia porción de la variación en la que es probable que se encuentre el analito presente en la muestra, y la cual es obtenida multiplicando la incertidumbre típica de la medición por el factor de cobertura". Usualmente este factor de cobertura es igual a 2, en algunos casos puede utilizarse un factor igual a 3. La utilización de un factor de cobertura igual a 2 corresponde a un nivel de confianza de 95 % y un factor de cobertura igual a 3, a un nivel de confianza de más del 99 %.

La incertidumbre de la medición expandida U está dada por:

$$U = k \times RSD \times c \quad \text{o} \quad U = k \times RSD_r \times c$$

donde:

k = factor de cobertura.

RSD o RSD_r = desviación típica relativa hallada según se describió anteriormente.

c = concentración del analito.

Se recomienda que el factor de cobertura utilizado sea 2.

La incertidumbre de la medición expandida, U , calculada representa la mitad del intervalo de incertidumbre de la medición. Usualmente, para expresar el intervalo completo de incertidumbre de la medición se utiliza el formato siguiente: "resultado de la medición $\pm U$ ".

Ejemplo 1 (reproducibilidad interna):

Utilizando el valor de RSD obtenido a partir del resultado descrito en la tabla 1 y el resultado de la medición de 99,4 mg/kg se obtuvo la incertidumbre de la medición expandida siguiente:

$$U = k \times RSD \times c = 2 \times 0,0185 \times 99,4 \text{ mg/kg} = 3,7 \text{ mg/kg}$$

El resultado de la medición 99,4 mg/kg, acompañado de su incertidumbre de la medición expandida puede ser dado como 99,4 \pm 3,7 mg/kg.



