

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



TRABAJO DE GRADO

“IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SULFATOS, SÍLICE MONOMÉRICA Y SÍLICE DE AZUL DE HETEROPOLY EN AGUA GEOTÉRMICA Y VAPOR CONDENSADO DE ORIGEN GEOTÉRMICO UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS”

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

ELABORADO POR

JENNIFER STEPHANIE MIRANDA ÁLVAREZ

ASESORES

LICENCIADO EDWIN EDGARDO MELARA ESCAMILLA

LICENCIADO HUGO ALEXANDER ESTRADA PÉREZ

JULIO, 2022

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
GOBIERNO UNIVERSITARIO



M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO
RECTOR

DR. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ
VICE-RECTOR ACADÉMICO

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL
SECRETARIO GENERAL

LICDO. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN
FISCAL GENERAL

LICDO. LUIS ANTONIO MEJÍA LIPE
DEFENSOR DE LOS DERECHOS UNIVERSITARIOS

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
AUTORIDADES



LICDO. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA
DECANO

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA
VICE-DECANA

LICDO. JAIME HUMBERTO SALINAS ESPINOZA
SECRETARIO

LICDO. NELSON MAURICIO COTO MENDOZA.
DIRECTOR DE ESCUELA DE QUÍMICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
JURADO EVALUADOR



LICDO. HUGO ALEXANDER ESTRADA PÉREZ
JURADO EVALUADOR 1

LICDO. RENÉ ALEXANDER ARÉVALO
JURADO EVALUADOR 2

LICDO. JOSÉ ALFREDO DÍAZ
JURADO EVALUADOR 3

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A **Dios Todopoderoso** por permitirme culminar esta etapa de mi vida, por ser mi guía y la fuerza que me ayuda a superar los diferentes obstáculos en mi vida.

A mis padres, en particular a mi madre **Ana María Álvarez de Miranda** por su espectacular ejemplo, por todos sus esfuerzos y sacrificios realizados, su hija le estará eternamente agradecida.

A mi novio, por su inmenso amor, compañía, comprensión y sobre todo por ser un apoyo fundamental en mi vida.

A mis asesores **Licdo. Edwin Edgardo Melara Escamilla** y **Licdo. Hugo Alexander Estrada Pérez** por su esfuerzo, apoyo y dedicación para este trabajo con su gran calidad humana, por transmitirme sus excelentes conocimientos que han incidido en mi formación académica y profesional.

A todas las personas que de alguna u otra manera me han brindado su apoyo durante el desarrollo de la tesis.

A **LaGeo S.A de C.V.**, por permitirme realizar la parte experimental del presente trabajo en sus instalaciones y a las personas que me orientaron y colaboraron dentro de la institución durante el desarrollo de mi tesis.

Índice

Contenido	Página
Introducción.....	xvii
Objetivos	xix
Capitulo I. Marco teórico	20
1.1 Laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V.	20
1.1.1 Generalidades del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.....	22
1.2 Validación de métodos analíticos.....	25
1.2.1 Parámetros de validación de un método analítico	26
1.2.1.1 Limite de detección y límite de cuantificación.....	27
1.2.1.2 Linealidad.....	28
1.2.1.3 Exactitud	31
1.2.1.4 Precisión.....	34
1.3. Estimación de la incertidumbre.....	37
1.3.1 Especificación del mensurando	39
1.3.2 Identificación de fuentes de incertidumbre	40
1.3.3 Cuantificación de la incertidumbre	42
1.3.3.1 Estimación de componentes de incertidumbre de fuentes individuales.....	42
1.3.4 Estimación de la incertidumbre expandida	46
1.4 Implementación de métodos analíticos	47
1.4.1 Contraste t para datos emparejados	47
1.5 Importancia del análisis de sulfato en agua geotérmica	48
1.6 Importancia del análisis de sílice en agua y vapor geotérmico.....	50
1.7 Métodos analíticos para la determinación de sulfato y sílice en agua y vapor condensado de origen geotérmico.....	55
1.7.1 Descripción del método de análisis de sulfatos.....	55
1.7.2 Descripción del método de molibdosilicato.....	55
1.7.3 Descripción del método azul de heteropoly.....	56
Capitulo II. Diseño metodológico.....	58
2.1 Uso del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454	58

2.2	Análisis de sulfatos por método colorimétrico	58
2.2.1	Estándares de trabajo	58
2.2.2	Desarrollo del análisis.....	59
2.2.2.1	Lectura del blanco.....	60
2.2.2.2	Lectura de la curva de calibración	60
2.2.2.3	Lectura de la muestra	60
2.3	Análisis de sílice monomérica por molibdosilicato	60
2.3.1	Estándares de trabajo	61
2.3.2	Desarrollo del análisis.....	61
2.3.2.1	Lectura del blanco.....	62
2.3.2.2	Lectura de la curva de calibración	62
2.3.2.3	Lectura de la muestra	62
2.4	Análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly	62
2.4.1	Estándares de trabajo	63
2.4.2	Desarrollo del análisis.....	64
2.4.2.1	Lectura del blanco.....	64
2.4.2.2	Lectura de la curva de calibración	64
2.4.2.3	Lectura de la muestra	64
2.5	Determinación de los parámetros de validación de los métodos analíticos	65
2.5.1	Análisis de sulfatos por método colorimétrico.....	65
2.5.1.1	Límite de detección y límite de cuantificación.....	65
2.5.1.2	Linealidad.....	65
2.5.1.3	Veracidad	65
2.5.1.4	Precisión.....	65
2.5.1.5	Incertidumbre	66
2.5.2	Análisis de sílice monomérica por molibdosilicato.....	66
2.5.2.1	Límite de detección y límite de cuantificación.....	66
2.5.2.2	Linealidad.....	66
2.5.2.3	Veracidad	67
2.5.2.4	Precisión.....	67
2.5.2.5	Incertidumbre	67

2.5.3	Análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly	68
2.5.3.1	Límite de detección y límite de cuantificación.....	68
2.5.3.2	Linealidad.....	68
2.5.3.3	Veracidad	68
2.5.3.4	Precisión.....	68
2.5.3.5	Incertidumbre	69
2.6	Implementación de los métodos analíticos en estudio	69
Capítulo III. Análisis de resultados.....		70
3.1	Validación de análisis de sulfatos por método colorimétrico	70
3.1.1	Límite de detección y límite de cuantificación	70
3.1.2	Linealidad.....	71
3.1.2.1	Intervalo lineal.....	71
3.1.2.2	Intervalo de trabajo	74
3.1.3	Veracidad	78
3.1.4	Precisión.....	80
3.2	Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sulfatos por método colorimétrico	83
3.2.1	Especificación del mensurando	83
3.2.2	Modelo matemático	83
3.2.3	Fuentes de incertidumbre.....	83
3.2.4	Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]	83
3.2.4.1	Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]	83
3.2.4.2	Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}].....	87
3.2.5	Estimación de la incertidumbre expandida	87
3.2.5	Porcentaje de contribución de las variables	88
3.3	Implementación del análisis de sulfatos por método colorimétrico.....	88
3.4	Validación de análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato.....	89
3.4.1	Límite de detección y límite de cuantificación	89
3.4.2	Linealidad.....	91
3.4.2.1	Intervalo lineal.....	91
3.4.2.2	Intervalo de trabajo	93

3.4.3 Veracidad	98
3.4.4 Precisión.....	100
3.5 Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sílice monomérica por método colorimétrico	103
3.5.1 Especificación del mensurando	103
3.5.2 Modelo matemático	103
3.5.3 Fuentes de incertidumbre	103
3.5.4 Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]	103
3.5.4.1 Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]	103
3.5.4.2 Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}].....	107
3.5.4.3 Incertidumbre debida al factor de dilución de la muestra [U_{FD}]	107
3.5.5 Estimación de la incertidumbre expandida	107
3.5.7 Porcentaje de contribución de las variables	108
3.6 Implementación del análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato	108
3.7 Validación de análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly ...	110
3.7.1 Limite de detección y límite de cuantificación	110
3.7.2 Linealidad.....	111
3.7.2.1 Intervalo lineal.....	111
3.7.2.2 Intervalo de trabajo	114
3.7.3 Veracidad	118
3.7.4 Precisión.....	120
3.8 Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico	121
3.8.1 Especificación del mensurando	121
3.8.2 Modelo matemático	121
3.8.3 Fuentes de incertidumbre	121
3.8.4 Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]	122
3.8.4.1 Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]	122
3.8.4.2 Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}].....	125
3.8.5 Estimación de la incertidumbre expandida	125
3.8.6 Porcentaje de contribución de las variables	126

3.9 Implementación del análisis de sílice por método de azul de heteropoly	126
3.10 Resumen de los resultados	128
Conclusiones	132
Recomendaciones	132
Referencias	134
Anexos.....	137
Anexo 1. Materiales, equipos y preparación de reactivos para análisis de sulfatos	137
Anexo 2. Materiales, equipos y preparación de reactivos para análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato	138
Anexo 3. Materiales, equipos y preparación de reactivos para el análisis de sílice azul de heteropoly	139
Anexo 4. Fotografías durante la realización del análisis de sulfatos por método colorimétrico	140
Anexo 5. Fotografías durante la realización del análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato	142
Anexo 6. Fotografías durante la realización del análisis de sílice por el método de azul de heteropoly	144

Índice de tablas

Tabla 1. Porcentaje de recobro aceptable dependiendo del nivel de concentración del analito	33
Tabla 2. Porcentaje de coeficiente de variación aceptable dependiendo del nivel de concentración del analito.....	35
Tabla 3. Volúmenes utilizados del estándar certificado de Sulfatos para la preparación de las cinco disoluciones estándar de trabajo.	59
Tabla 4. Volúmenes utilizados del estándar certificado de Silicio para la preparación de las seis disoluciones estándar de trabajo y un estándar de verificación	61
Tabla 5. Volúmenes utilizados del estándar de trabajo de Sílice para la preparación de las 7 disoluciones estándar de trabajo y un estándar de verificación.....	63
Tabla 6. Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC y LDD	70
Tabla 7. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de la linealidad del análisis de sulfatos	71
Tabla 8. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación de la linealidad del análisis de sulfatos.....	72
Tabla 9. Determinación del valor de la muestra 2021-1306 para evaluación del intervalo de trabajo	74
Tabla 10. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1306 en cinco niveles por triplicado.....	75
Tabla 11. Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1306 en cinco niveles por triplicado.	75
Tabla 12. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación del intervalo de trabajo para análisis de sulfatos.	76
Tabla 13. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación del intervalo de trabajo para análisis de sulfatos.....	76
Tabla 14. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1306 en tres niveles de concentración.....	78
Tabla 15. Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1306 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto.....	79

Tabla 16. Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV	80
Tabla 17. Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto realizados por el analista suplente.	81
Tabla 18. Resultados del %CV para la evaluación de la precisión intermedia.	82
Tabla 19. Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre para el análisis de sulfatos.	84
Tabla 20. Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1306	84
Tabla 21. Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.....	88
Tabla 22. Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC y LDD.....	90
Tabla 23. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de linealidad del análisis de sílice monomérica	91
Tabla 24. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación de linealidad del análisis de sílice monomérica	92
Tabla 25. Determinación del valor de la muestra 2021-1312 para evaluación del intervalo de trabajo	94
Tabla 26. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1312 en cinco niveles por triplicado.....	94
Tabla 27. Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1312 en cinco niveles por triplicado	95
Tabla 28. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación del intervalo de trabajo del análisis de sílice monomérica	95
Tabla 29. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice monomérica	96
Tabla 30. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1312 en tres niveles de concentración.....	98
Tabla 31. Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1312 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto	99
Tabla 32. Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV.	100
Tabla 33. Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto realizados por el analista suplente	101

Tabla 34. Resultados del %CV para la evaluación de la precisión intermedia	102
Tabla 35. Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre para el análisis de sílice azul.....	104
Tabla 36. Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1312.	104
Tabla 37. Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.....	109
Tabla 38. Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC y LDD.....	110
Tabla 39. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de linealidad del análisis de sílice azul de heteropoly	111
Tabla 40. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice azul de heteropoly	112
Tabla 41. Determinación del valor de la muestra 2021-1502 para evaluación del intervalo de trabajo.	114
Tabla 42. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1502 en cinco niveles por triplicado.....	115
Tabla 43. Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1502 en cinco niveles por triplicado.	115
Tabla 44. Resultados de regresión por mínimos cuadrados para el análisis de sílice azul de heteropoly.....	116
Tabla 45. Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice azul de heteropoly	116
Tabla 46. Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1502 en tres niveles de concentración.....	118
Tabla 47. Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1502 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto.	119
Tabla 48. Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV	120
Tabla 49. Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre. ...	122
Tabla 50. Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1502.	123
Tabla 51. Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.....	127

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica de LaGeo S.A. de C.V., en Santa Tecla, La Libertad	20
Figura 2. Diseño y sistema óptico del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454	24
Figura 3. Parámetros de validación de un método analítico	26
Figura 4. Proceso general para el cálculo de incertidumbre	39
Figura 5. Tipos de métodos de evaluación de la incertidumbre	41
Figura 6. Diagrama causa-efecto de las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica.	44
Figura 7. Tubería con incrustaciones de sílice	53
Figura 8. Procedimiento general del uso del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.....	58
Figura 9. Procedimiento general del desarrollo del análisis de sulfatos por método colorimétrico.....	59
Figura 10. Procedimiento general del desarrollo del análisis de sílice monomérica por molibdosilicato.	62
Figura 11. Procedimiento general del desarrollo del análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly.....	64
Figura 12. Curva de calibración promedio para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. De agosto a septiembre 2021	73
Figura 13. Gráfico de residuales para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. De agosto a septiembre 2021.....	73
Figura 14. Gráfica de concentración promedio recuperada contra fortificación para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Septiembre 2021	77
Figura 15. Gráfico de residuales para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Septiembre 2021	77
Figura 16. Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sulfatos por método colorimétrico	88
Figura 17. Curva de calibración promedio para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021	92
Figura 18. Gráfico de residuales para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021	93

Figura 19. Gráfica promedio de concentración recuperada contra fortificación para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021.....	97
Figura 20. Gráfico de residuales para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021	97
Figura 21. Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice monomérica por método colorimétrico.....	108
Figura 22. Curva de calibración promedio para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021	113
Figura 23. Gráfico de residuales para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.	113
Figura 24. Gráfica de concentración recuperada promedio contra fortificación para el análisis de sílice por método azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021	117
Figura 25. Gráfico de residuales para el análisis de sílice por método azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.....	117
Figura 26. Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico.....	126

Índice de cuadros

Cuadro 1. Métodos y especies químicas cuantificables por LaGeo S.A. de C.V.....	22
Cuadro 2. Partes del sistema óptico del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454	22
Cuadro 3. Objetivos de la validación según el tipo de procedimiento de ensayos.....	25
Cuadro 4. Lista de potenciales fuentes de incertidumbre en los análisis.....	40
Cuadro 5. Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sulfatos por método colorimétrico.....	128
Cuadro 6. Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato	129
Cuadro 7. Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly	130
Cuadro 8. Materiales y equipos utilizados para el análisis de sulfatos por método colorimétrico.....	137
Cuadro 9. Materiales y equipos que se utilizaron para el análisis de sílice monomérica...	138
Cuadro 10. Materiales y equipos que se utilizaron para el análisis de sílice de azul de heteropoly	139
Cuadro 11. Fotografías del procedimiento de análisis de sulfatos	140
Cuadro 12. Fotografías del procedimiento de análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato	142
Cuadro 13. Fotografías del procedimiento de análisis de sílice por método de azul de heteropoly.	144

Introducción

La energía geotérmica es un importante recurso energético cuya explotación ha demostrado tener un impacto ambiental relativamente insignificante. El uso de la energía geotérmica ha funcionado en muchos países donde las condiciones geológicas, hidrológicas y geofísicas son favorables para la formación de sistemas geotérmicos.

LaGeo S.A. de C.V., es una empresa dedicada a la producción de energía eléctrica utilizando los recursos geotérmicos de El Salvador, su laboratorio químico es el encargado de brindar resultados oportunos y confiables que serán utilizados para el desarrollo y explotación de los campos geotérmicos actualmente disponibles en el país, así como en la exploración de nuevas áreas de interés.

Para ello, el laboratorio cuenta actualmente con 31 técnicas analíticas acreditadas por el Organismo Salvadoreño de Acreditación, otorgada conforme a los requisitos de la Norma NTS ISO/IEC 17025:2017, con las cuales se encargan de realizar análisis rutinarios y sistemáticos en diferentes matrices como: agua geotérmica, agua superficial, agua potable, vapor condensado de origen geotérmico, entre otros.

Por tanto, el presente trabajo se realiza en cooperación con la Licenciatura en Ciencias Químicas de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador, en el área de trabajo de graduación. Este trabajo se enfoca en la validación de tres métodos analíticos, así como la estimación de la incertidumbre de los resultados obtenidos durante el proceso de validación utilizando como base los lineamientos indicados en la guía del Organismo Salvadoreño de Acreditación, las guías de Eurachem, así como los procedimientos internos del laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V.

Este documento está estructurado de la siguiente manera. En el Capítulo I – Marco Teórico, contiene los aspectos más importantes en esta investigación, comenzando por conocer los diferentes determinación que realiza el laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V., los parámetros que se deben tomar en cuenta para la validación de los métodos analíticos en estudio, el proceso de estimación de la incertidumbre de los resultados por método colorimétrico, la importancia de realizar los análisis en las aguas y vapores de origen

geotérmico, así como la descripción de los métodos colorimétricos utilizados en el presente estudio.

En el Capítulo II – Diseño metodológico, se describe la utilización del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454, así como el desarrollo de la metodología experimental utilizada para la validación de los tres métodos analíticos en estudio y la implementación de estos métodos.

En el Capítulo III – Análisis de los Resultados, se muestra el desarrollo de los parámetros determinados para la validación de los tres métodos analíticos, la determinación de las incertidumbres y los resultados de la implementación; acompañados de la interpretación de todos estos datos conforme a los criterios de aceptación institucional, analítico o estadístico que corresponda.

Posteriormente, se desarrollan las conclusiones que retoman de forma sintética la descripción y análisis de los resultados y que mantienen relación directa con los objetivos de investigación.

Finalmente, se agregan las referencias utilizadas en la construcción teórica de esta investigación, así como los anexos que se componen de la descripción de la preparación de las sustancias utilizadas en proceso experimental y las evidencias fotográficas que fortalecen la descripción de la metodología.

En otro orden de ideas, el trabajo fortaleció los aspectos relacionados a los procesos de validación de métodos analíticos para la Escuela de Química y el trabajo ordinario en el laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V., en beneficio del país.

Objetivos

Objetivo general

Validar e implementar los métodos para la determinación de la concentración de sulfatos, sílice monomérica y sílice de azul de heteropoly en agua geotérmica y vapor condensado de origen geotérmico utilizando espectrofotometría UV-Vis.

Objetivos específicos

1. Determinar límite de detección y límite de cuantificación, linealidad, veracidad y precisión como parámetros de validación en los análisis de sulfatos, sílice monomérica y sílice de azul de heteropoly utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.
2. Estimar la incertidumbre en la medición de sulfatos, sílice monomérica y sílice de azul de heteropoly en aguas geotérmicas y vapores condensados de origen geotérmico.
3. Implementar los métodos analíticos para la determinación de la concentración de sulfatos, sílice monomérica y sílice de azul de heteropoly en muestras de agua y vapor condensado de origen geotérmico provenientes de Ahuachapán en el laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V.

Capítulo I. Marco teórico

1.1 Laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V.

LaGeo S.A. de C.V., es una empresa dedicada a la producción de energía eléctrica utilizando los recursos geotérmicos de El Salvador, cuenta con dos campos y centrales en operación: la Central Geotérmica Ahuachapán y la Central Geotérmica Berlín en Alegría, departamento de Usulután, sus oficinas centrales están ubicadas en Santa Tecla, La Libertad, en esta sede se encuentran las oficinas administrativas y laboratorios.

Figura 1

Ubicación geográfica de LaGeo S.A. de C.V., en Santa Tecla, La Libertad.



Nota: la figura encerrada en rojo es la empresa, el rectángulo amarillo ubica al laboratorio químico de LaGeo, el círculo verde es el redondel Utila como punto de referencia en Santa Tecla, camino al Puerto de La Libertad.
Direccion: Final 15 Av. Sur y Boulevard Sur. Colonia Utila, Santa Tecla, La Libertad, La Libertad.

Fuente: elaboración propia a partir de Google Maps.

La contribución de la geoquímica en las diferentes etapas del desarrollo geotérmico es indiscutible, la interpretación de esta depende de los resultados del laboratorio, por tanto, estos resultados deben tener dos características importantes: deben ser confiables y oportunos. La confiabilidad de los resultados químicos se logra mediante la implementación de un sistema de gestión de la calidad que incluye: monitoreo del balance iónico, validación y estimación de la incertidumbre de la metodología utilizada, participación recurrente en

ensayos interlaboratorios, implementación de controles de calidad directamente relacionados con veracidad y precisión, entre otros (Melara, 2021).

El laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V., desde su fundación en 1974, como unidad de apoyo para la ejecución de estudios geocientíficos desarrollados en el campo de la energía geotérmica, brinda resultados oportunos y confiables utilizados en el desarrollo y explotación de los campos geotérmicos actualmente disponibles para el país, así como en la exploración de nuevas áreas de interés geotérmico (Melara, 2021).

En 1999, para mejorar la calidad en el trabajo analítico, se inició el proceso de implementación de un sistema de gestión de la calidad, que resultó en la obtención de la acreditación de el laboratorio químico el 30 de julio de 2003. La primera acreditación fue de 10 técnicas analíticas, bajo la norma ISO/IEC 17025:1999 con el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [CONACYT], ahora conocido como Organismo Salvadoreño de Acreditación [OSA] (Melara, 2021).

El laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V., ha mantenido un proceso constante de mejora continua, esto ha permitido incrementar la acreditación a 31 técnicas analíticas para el 2020, en diferentes matrices como: agua geotérmica, agua superficial, agua potable, vapor condensado de origen geotérmico y gases condensables de origen geotérmico o volcánico (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2020).

El laboratorio ofrece servicios de exploración geoquímica y servicios de geoquímica durante las etapas de Desarrollo y Producción; los métodos geoquímicos de exploración geotérmica han cumplido y siguen cumpliendo un papel importante ya que a través de análisis químicos se puede determinar el origen y dirección del fluido, delimitar las áreas de recarga y descarga de un sistema geotérmico, estimar las temperaturas del yacimiento mediante geotermómetros, estimar las tasas de saturación mineral y los posibles problemas asociados a la corrosión, determinar las características químicas de las áreas de producción, monitorear la evolución de los campos, evaluar los efectos de la reinyección, entre otros (Melara, 2021).

Se utilizan diferentes técnicas durante el análisis de muestras provenientes de las diferentes etapas de exploración y explotación geotérmicas. Cada uno proporciona información diferente que se utiliza para la interpretación geoquímica, por ejemplo, Melara (2021) especifica los siguientes métodos:

Cuadro 1

Métodos y especies químicas cuantificables por LaGeo S.A. de C.V.

Métodos	Especies químicas cuantificables
Potenciométricos	HCO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻ , Cl ⁻ , C.E ¹ , F, NH ₃ , H ₂ S, CO ₂
Colorimétricos	B, SO ₄ ²⁻ , SiO ₂
Cromatografía iónica	Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , F ⁻ , Br ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ²⁻
Cromatografía de gases	H ₂ , He, Ar, O, N ₂ , CH ₄ , CO
Isótopos estables	Deuterio, ¹⁸ O
Espectroscopía de absorción atómica	Na, K, Ca, Mg, Li, B, SiO ₂ , Fe, Al, Pb, As

Fuente: elaboración propia a partir de Melara (2021).

En definitiva, los resultados químicos confiables y oportunos permiten que la interpretación de la geoquímica contribuya a la toma de decisiones relacionadas con la exploración, desarrollo, explotación y sustentabilidad de los recursos geotérmicos del país.

1.1.1 Generalidades del espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454.

En este estudio para la determinación de sulfatos, sílice y sílice monomérica por métodos colorimétricos se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454. En el siguiente cuadro se muestra una breve descripción de las partes que conforma el sistema óptico del espectrofotómetro.

Cuadro 2

Partes del sistema óptico del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.

Característica	Descripción
Lámparas	Lámpara de descarga de deuterio para el rango de longitud de onda ultravioleta [UV] comprendido entre 190 y aproximadamente 800 nm y una lámpara de tungsteno para el rango de longitud de onda visible y de onda corta del infrarrojo cercano [SWNIR], comprendido entre 370 y 1,100 nm.
Lente de la fuente	Recibe la luz de ambas lámparas y forma un único haz de luz colimado.

¹ C.E: Conductividad eléctrica

Característica	Descripción
Obturador	Se abre para permitir el paso de la luz a través de la muestra con el fin de realizar medidas, y se cierra entre las medidas de la muestra para limitar la exposición de la muestra a la luz.
Filtro de corrección de luz difusa	Es un filtro de bloqueo del 50% a 420 nm, con este filtro instalado, cualquier luz que se mida por debajo de 400 nm es luz difusa. La intensidad de la luz difusa se resta del primer espectro para obtener un espectro con corrección de luz difusa.
Compartimento de la muestra	Compartimento de la muestra abierto que facilita el acceso a las celdas de muestra. Gracias al diseño óptico, no es necesaria una cubierta para la superficie de la muestra. Se suministra con un soporte para celdas individual ya instalado en el compartimento de la muestra.
Lente del espectrógrafo	La lente es la primera de las piezas que, en su conjunto, se denominan espectrógrafo, este lente vuelve a enfocar el haz de luz colimado una vez que ha pasado a través de la muestra.
Rendija	Es una abertura estrecha en una placa situada en el foco de la lente del espectrógrafo. Tiene exactamente el mismo tamaño que uno de los diodos de la matriz de fotodiodos. Al limitar el tamaño del haz de luz entrante, la rendija asegura que cada banda de las longitudes de onda solo se proyecte sobre el fotodiodo adecuado.
Red de difracción	La combinación de la dispersión y la imagen espectral se consigue utilizando una red de difracción holográfica cóncava. Dicha red dispersa la luz sobre la matriz de diodos con un ángulo lineal proporcional a la longitud de onda.
Matriz de diodos	La matriz de fotodiodos es el núcleo del espectrógrafo. Se trata de una serie de 1,024 fotodiodos y circuitos de control individuales grabados sobre un chip semiconductor. Con un rango de longitud de onda comprendido entre 190 y 1,100 nm, el intervalo de muestreo es de alrededor de 0.9 nm.

Característica	Descripción
Celda	Para poder utilizar todo el rango de longitud de onda del espectrofotómetro, comprendido entre 190 y 1.100 nm, es necesario usar celdas de muestra de cuarzo o celdas de muestra con placas de cuarzo. Si se trabaja únicamente en el rango visible y/o en el rango del infrarrojo cercano, entre 350 y 1,100 nm, pueden utilizarse celdas de vidrio de alta calidad.

Fuente: elaboración propia a partir de Technologies (2016).

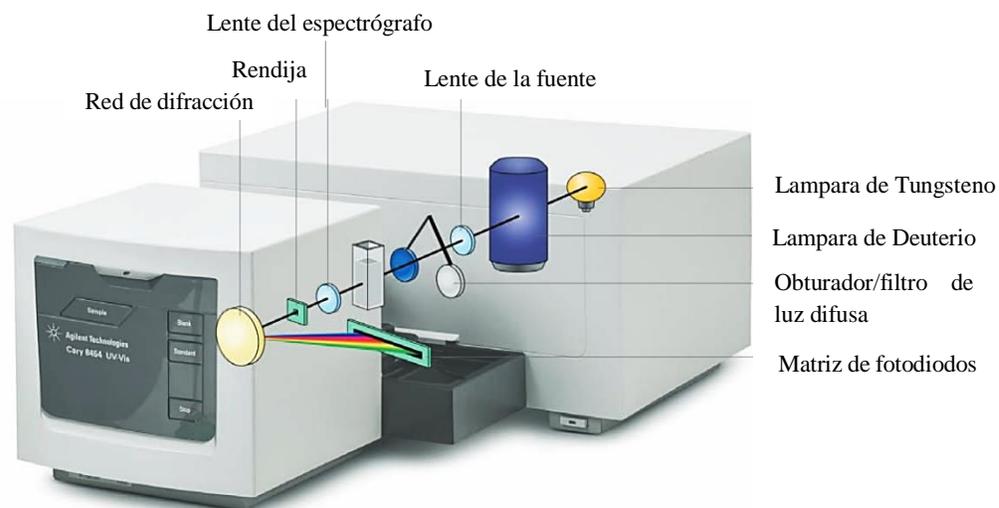
Algunas de las ventajas que Technologies (2014) menciona sobre el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454 son las siguientes:

- Rendimiento rápido y fiable
- Diseño óptico superior
- Compartimiento de muestras abierto
- Adquisición de datos más rápida

En la figura 2 se representa de manera esquemática las partes del sistema óptico y el diseño del espectrofotómetro que se utilizó en esta investigación.

Figura 2

Diseño y sistema óptico del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454



Fuente: tomado de Technologies (2014).

1.2 Validación de métodos analíticos

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. Según Morillas et al (2016) define la validación de acuerdo a la norma ISO 9000 de la siguiente manera: “Confirmación mediante la aportación de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos especificados” (p. 8).

Si el resultado de un análisis no genera confianza, entonces tiene poco valor y el análisis podría no llevarse a cabo. Por tanto, el objetivo principal de la validación es asegurar que un procedimiento analítico seleccionado dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

En la práctica, la adecuación de los métodos analíticos aplicados a ensayos de rutina se evalúa habitualmente mediante estudios de validación de métodos. Eurachem (2005) define la validación de un método como “el proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito, o sea, para resolver un problema analítico particular” (p. 60).

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros de desempeño se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están trabajando correctamente y que están calibrados adecuadamente. Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico.

En términos generales, el alcance de una validación se define según OSA (2017), dependiendo de la referencia del método a validar, las cuales, de manera global, pueden ser: método normalizado, método normalizado modificado y método no normalizado. El procedimiento de validación está en función del tipo de método por lo cual el alcance de las pruebas es particular en cada uno de los casos como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3

Objetivos de la validación según el tipo de procedimiento de ensayos

Método de ensayo	Objetivo de la validación
Caso 1: Método normalizado	Comprobación de que el laboratorio domina el ensayo y lo utiliza correctamente.

Método de ensayo	Objetivo de la validación
Caso 2: Método normalizado modificado	Comprobación de que la modificación introducida en el método original no afecta la capacidad del laboratorio para proporcionar resultados confiables.
Caso 3: Método no normalizado	Comprobación de que el método cumple con las características necesarias para dar resultados confiables para el fin propuesto.

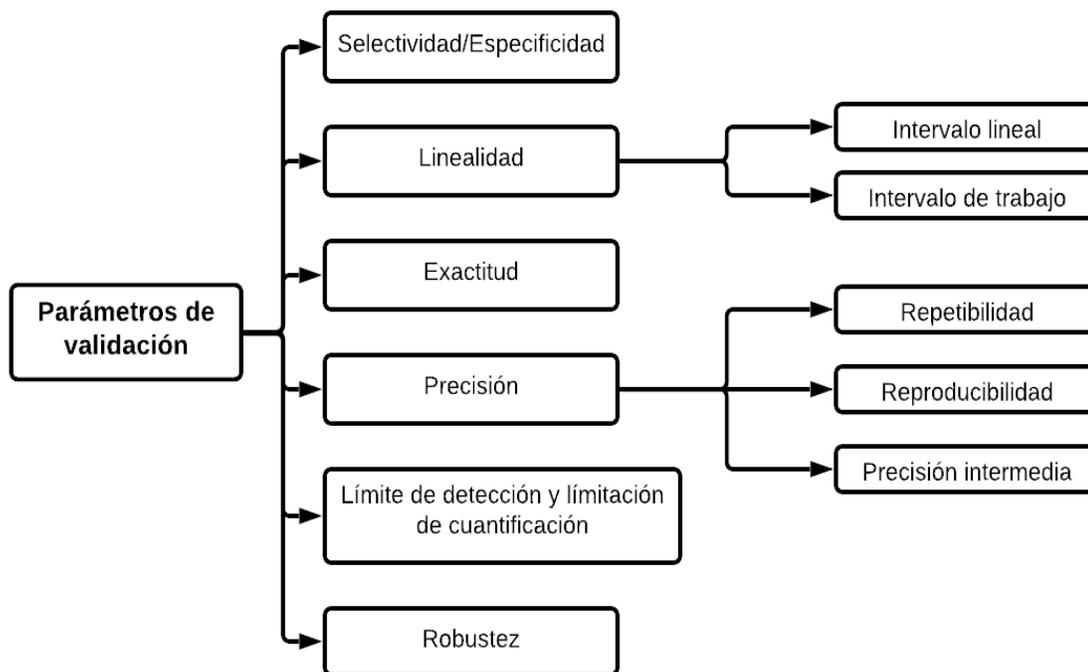
Fuente: tomado del Organismo Salvadoreño de Acreditación (2017).

1.2.1 Parámetros de validación de un método analítico

La validación del método está constituida por el proceso de evaluación de criterios de rendimiento y de confirmación que el método es adecuado, estos criterios o parámetros de rendimiento se muestran en la figura 3:

Figura 3

Parámetros de validación de un método analítico



Fuente: Elaboración propia.

Los métodos analíticos en el presente estudio corresponden a métodos normalizados, por tanto, los parámetros evaluados durante el proyecto de investigación se describen a continuación:

1.2.1.1 Límite de detección y límite de cuantificación

Cuando las mediciones se realizan a concentraciones bajas, se deben considerar tres conceptos. En primer lugar, es necesario establecer un valor de resultado que es significativamente diferente de cero. Regularmente, alguna acción es requerida a este nivel, tal como declarar un material contaminado. Este nivel es conocido como “valor crítico”, “límite de decisión” (Morillas et al., 2016).

En segundo lugar, es importante conocer la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado. Es decir, ¿a qué concentración real se excederá con seguridad el valor crítico descrito anteriormente? Los términos como “límite de detección” [LOD], “valor mínimo detectable”, son utilizados para este concepto (Morillas et al., 2016).

Y, en tercer lugar, es adicionalmente importante establecer el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica. Este tercer concepto usualmente es referido como el límite de cuantificación [LOQ] (Morillas et al., 2016).

Eurachem mediante la guía de Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito (2005) define el límite de detección y cuantificación de la siguiente forma:

- a) Límite de detección [LDD]: El menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable o la menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba.
- b) Límite de cuantificación [LDC]: La menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión [repetibilidad] y una exactitud aceptable bajo las condiciones establecidas de la prueba.

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. El límite de cuantificación es un término cuantitativo [menor cantidad medible] mientras que el límite de detección es cualitativo [menor cantidad detectable].

“Numéricamente es mayor el límite de Cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un % de Coeficiente de Variación y de Recuperación

aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse, pero no cuantificarse” (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2017, p. 18).

En el procedimiento de selección, verificación y validación de métodos del Laboratorio Químico (2020) indica dos formas de evaluación de los límites de detección y cuantificación, como se muestra a continuación:

1. A partir de la curva de calibración generada durante la validación del método, se estiman los valores de a y $s_{y/x}$ [errores aleatorios en intercepto]. Las ecuaciones que se utilizan son:

$$LDD = a + 3S_{y/x} \quad \text{Ec. 1}$$

$$LDC = a + 10S_{y/x} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde: a = intercepto

$S_{y/x}$ = desviación estándar del intercepto

2. A partir de 10 blancos de muestras independientes medidos una vez cada uno o 10 blancos de muestras independientes fortificadas a la menor concentración aceptable medidos una vez cada uno. Los cálculos que se realizan son los siguientes:
 - a) Desviación estándar de los blancos de muestras o de los blancos de muestras fortificadas.
 - b) Para el límite de detección se expresa como la concentración del analito correspondiente al valor promedio de los blancos más tres veces la desviación estándar.

$$LDD = \bar{B} + 3S$$

- c) En el caso del límite de cuantificación se expresa como la concentración del analito correspondiente al valor promedio de los blancos más diez veces la desviación estándar.

$$LDC = \bar{B} + 10S$$

1.2.1.2 Linealidad

La linealidad “define la capacidad del método para obtener resultados de ensayos proporcionales a la concentración del analito” (Eurachem, 2005, p. 52).

En otras palabras, es una propiedad importante de los métodos que se utiliza para medir en un rango de concentraciones. Se puede determinar la linealidad de la respuesta a patrones puros y a muestras reales. En general, la linealidad no se cuantifica, pero se comprueba mediante examen o utilizando pruebas de significación para ausencia de linealidad. Una ausencia de linealidad significativa se corrige habitualmente mediante el uso de funciones de calibración no lineales o se elimina al elegir un rango de trabajo más restringido.

Esta característica se evalúa con la determinación de intervalo lineal e intervalo de trabajo, OSA (2017) en su guía de validación de métodos analíticos físicos químicos, definen estos términos de la siguiente manera:

- a) Intervalo lineal: es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.
- b) Intervalo de trabajo: es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, [LOQ]. El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica.

Esta guía de validación explica la forma de evaluación del intervalo lineal y de trabajo como se indica a continuación:

- 1. **Intervalo lineal:** Para el intervalo lineal se utilizan como muestra un blanco y estándares de referencia esparcido uniformemente en el rango de interés. Se grafica la respuesta [eje “y”] en función de la concentración [eje “x”],

Para el cálculo del intervalo lineal se deben tomar en cuenta las siguientes formulas:

- a) Estadísticos de regresión apropiados:

Coefficiente de correlación: es una medida de dependencia lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas, es la estimación de cómo se ajustan los puntos experimentales a una línea recta.

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}} \quad \text{Ec. 3}$$

Pendiente: medida de la inclinación de una recta cuando la ubicamos en un par de ejes coordenados [x-y].

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Ec. 4}$$

Intercepto: es el valor en el eje vertical cuando el valor del eje horizontal es cero en una línea recta en un plano [x-y].

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Ec. 5}$$

b) Intervalo de confianza del intercepto: es el intervalo dentro del cual se puede suponer de manera razonable que se encuentra el valor verdadero.

$$a \pm t_{(n-2)}s_a \quad \text{Ec. 6}$$

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}{n-2}}$$

Donde:

- a = intercepto
- s_a = desviación estándar del intercepto
- $s_{y/x}$ = desviación estándar de regresión
- n = niveles de concentración de estándar
- t = valor de distribución t de Student

c) Gráfico de residuales: es la diferencia entre el valor observado de “y” con el valor calculado de “y” pronosticado a partir de la función del método para cada valor de “x”.

Los criterios de aceptación establecido por el Organismo Salvadoreño de Acreditación (2017) para el intervalo lineal son los siguientes:

- Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica.
- Datos aleatorios en el gráfico de residuales.
- El intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero [cuando se incluyan concentraciones bajas en la curva].

2. **Intervalo de trabajo:** Se puede utilizar como muestra un blanco más material de referencia o blancos de muestras adicionados esparcidos uniformemente en el rango de interés. Se grafica la respuesta [eje “y”] en función de la concentración [eje “x”].

Para el cálculo del intervalo de trabajo se deberá tomar en cuenta las siguientes formulas:

a) Estadísticos de regresión apropiados:

El coeficiente de correlación, la pendiente y el intercepto se calculan como se muestra en las ecuaciones 3, 4 y 5 del intervalo lineal.

b) Intervalo de confianza de la pendiente:

$$b \pm t_{(n-2)}s_b \quad \text{Ec. 7}$$

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i(x_i - \bar{x})^2}} \quad s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i(y_i - \hat{y})^2}{n-2}}$$

Donde:

b = pendiente

s_b = desviación estándar de la pendiente

$s_{y/x}$ = desviación estándar de regresión

n = niveles de concentración de estándar

t = valor de distribución t de Student

c) Gráfico de residuales.

Los criterios de aceptación establecidos por OSA (2017) para el intervalo de trabajo se mencionan a continuación:

- Coeficiente de correlación (r) ≥ 0.98 .
- Datos aleatorios en el gráfico de residuales.
- El intervalo de confianza de la pendiente debe incluir la unidad.

1.2.1.3 Exactitud

La guía de Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito define la exactitud como “la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado” (Eurachem, 2005, p. 48).

La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre los resultados. Normalmente la exactitud se estudia en dos componentes: la “veracidad” y la “precisión”. La veracidad es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados respecto del valor real. Normalmente, la veracidad se expresa en términos de sesgo (Eurachem, 2005).

La evaluación práctica de la veracidad se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia. Se dispone de dos técnicas básicas: a) Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y b) comparación con otro método caracterizado.

Para verificar la veracidad utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2017).

Eurachem (2005) menciona que los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- a) Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada.
- b) Materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

El Organismo Salvadoreño de Acreditación (2017) menciona que para la evaluación de la veracidad utilizando Material de Referencia, se deben tomar en cuenta las siguientes formulas:

- a) Sesgo, error relativo porcentual o recuperación.

$$Sesgo(b) = x_{referencia} - \bar{x}$$

$$\%Error\ relativo\ (\%b) = \frac{x_{referencia} - \bar{x}}{x_{referencia}} \times 100$$

$$\%Recuperacion\ aparente = \frac{\bar{x}}{x_{referencia}} \times 100$$

Donde: \bar{x} = valor obtenido

Cuando se utiliza matriz adicionada, se toma en cuenta la siguiente ecuación:

$$\%Recobro = \frac{\bar{x}_{muestra+adición} - x_{muestra}}{x_{adición}} \times 100 \quad \text{Ec. 8}$$

Los criterios de aceptación establecidos por el Laboratorio Químico (2020) para la evaluación de la veracidad son los siguientes:

- Para el sesgo y porcentaje de error relativo se toma en cuenta lo especificado en cada método de referencia.
- El % de recobro aceptable durante la validación, si no es indicado por el método de referencia, se debe tomar en cuenta lo especificado en la tabla 1.

Tabla 1

Porcentaje de recobro aceptable dependiendo del nivel de concentración del analito

Concentración	Límites de recobro
100% [1×10^6 ppm]	98-102%
10% [1×10^5 ppm]	98-102%
1% [1×10^4 ppm]	97-103%
0.1% [1000 ppm]	95-105%
0.01% [100 ppm]	90-107%
10 ppm [1×10^4 ppb]	80-110%
1 ppm [1000 ppb]	80-110%
0.1 ppm [100 ppb]	80-110%
0.01 ppm [10 ppb]	60-115%

Fuente: tomado de AOAC International² (2016).

² Asociación de Colaboración Analítica Oficial Internacional conocida por sus siglas en inglés como AOAC International.

1.2.1.4 Precisión

La guía de Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito define la precisión como “la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas” (Eurachem, 2005, p. 52).

Es decir, la precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero. Es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto a los otros y por lo general se expresa mediante medidas tal como la desviación estándar la cual describe la dispersión de los resultados.

Dentro de la precisión se encuentra la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia. El Organismo Salvadoreño de Acreditación mediante su guía de validación de métodos analíticos físico químicos (2017) define estos términos de la siguiente manera:

- a) Repetibilidad: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas [un mismo analista, mismos aparatos y reactivos, en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto, entre otros].
- b) Reproducibilidad³: supone dar la mayor variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados entre laboratorios, es decir, se refiere a la variación entre laboratorios utilizando el mismo método. Este término también puede referirse a la variación observada entre laboratorios utilizando diferentes métodos, pero con la intención de medir la misma magnitud (Morillas et al., 2016).
- c) Precisión intermedia: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes [diferentes analistas, aparatos, días, entre otros] y en un mismo laboratorio.

En el procedimiento de selección, verificación y validación de métodos del Laboratorio Químico (2020) se describe la forma de evaluación de los términos anteriormente mencionados, como se explica a continuación:

1. **Repetibilidad:** se puede utilizar como muestra: Material de referencia certificado, Blanco adicionado, Material de referencia, Matriz adicionada o Muestra natural con

³ En el contexto de esta investigación no se requirió la evaluación del parámetro de reproducibilidad.

contenido de analito dentro del rango a validar. La muestra debe ser analizada en al menos tres niveles de concentración [bajo, medio y alto] y realizar al menos 6 repeticiones en cada nivel bajo condiciones de repetibilidad.

Para calcular el coeficiente de variación porcentual [%CV] de los resultados se utiliza la siguiente formula:

$$\%CV = \frac{s}{\bar{x}}(100) \quad \text{Ec. 9}$$

Donde: s = desviación estándar

\bar{x} = media aritmética

Criterio de aceptación para la repetibilidad: establecer el porcentaje de coeficiente de variación aceptable durante la validación, si no es especificado por el método de referencia, debe tomarse en cuenta lo especificado en la tabla 2.

Tabla 2

Porcentaje de coeficiente de variación aceptable dependiendo del nivel de concentración del analito

Concentración	%CV
100% [1×10^6 ppm]	1.3
10% [1×10^5 ppm]	1.9
1% [1×10^4 ppm]	2.7
0.1% [1000 ppm]	3.7
0.01% [100 ppm]	5.3
10 ppm [1×10^4 ppb]	7.3
1 ppm [1000 ppb]	11
0.1 ppm [100 ppb]	15
0.01ppm [10 ppb]	21

Fuente: tomado de AOAC Internacional (2016).

2. **Reproducibilidad:** en caso de requerirse estudios de reproducibilidad, éste debe plantearse por el laboratorio y ser aprobado por el Organismo Salvadoreño de Acreditación.
3. **Precisión intermedia:** para la evaluación de la precisión intermedia se puede utilizar como muestra: Material de referencia certificado, Blanco adicionado, Material de

referencia, Matriz adicionada o Muestra natural con contenido de analito dentro del rango a validar. La muestra debe ser analizada en al menos tres niveles de concentración [bajo, medio y alto] y realizar al menos 10 repeticiones en cada nivel bajo condiciones de precisión intermedia.

Los cálculos para determinar la precisión intermedia son los siguientes:

- a) Se calcula el coeficiente de variación porcentual de los resultados [%CV] como se mostró en la ecuación 9.
- b) Se determina la precisión intermedia utilizando ANOVA.

El cálculo de ANOVA involucra la determinación de varianza entre grupos [S_b] y dentro de los grupos [S_w], donde la estimación de S_w representa la contribución de la medida de la repetibilidad.

Para el cálculo de S_w utilizar la siguiente ecuación:

$$s_w = s_{pool} = \sqrt{\frac{(n_1-1)*s_1^2 + (n_2-1)*s_2^2}{(n_1+n_2)-k}} \quad \text{Ec. 10}$$

Donde: $k = 2$, cuando se trabaja con dos series de datos.

s_w = varianza dentro de los grupos

s = desviación estándar de cada grupo

Para el cálculo de %CV a partir del ANOVA se utiliza la siguiente ecuación.

$$\%CV_{pool} = \sqrt{\frac{\frac{(n_1-1)*s_1^2}{\bar{x}_1^2} + \frac{(n_2-1)*s_2^2}{\bar{x}_2^2}}{(n_1+n_2)-k}} \times 100 \quad \text{Ec. 11}$$

El criterio de aceptación para la precisión intermedia es el siguiente:

Para establecer el porcentaje de coeficiente de variación aceptable durante la validación, si no es indicado por el método de referencia, debe tomarse en cuenta lo especificado en la tabla 2.

Las ecuaciones enumeradas anteriormente serán las utilizadas en el presente estudio para la evaluación de los diferentes parámetros de validación.

Para finalizar, existen otros parámetros como especificidad/selectividad y robustez que se evalúan durante el procedimiento de validación de métodos normalizados modificados estos métodos hacen referencia a métodos analíticos desarrollados por un organismo de normalización con ciertas modificaciones y en métodos no normalizados que son los métodos desarrollados por el laboratorio o métodos usados fuera del alcance para el cual están aprobados. Por tanto, estos parámetros no se describen en este capítulo.

1.3. Estimación de la incertidumbre.

Eurachem/Citac (2012) define el término incertidumbre como el “parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando” (p. 2). También define la incertidumbre de medida como “parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza” (p. 4).

En algunos casos en los análisis químicos, el mensurando⁴ será la concentración del analito. De forma general, la palabra incertidumbre está relacionada con el concepto general de duda, la incertidumbre de medida no implica duda sobre la validez de una medida; al contrario, el conocimiento de la incertidumbre implica un aumento de la confianza en la validez del resultado de una medición.

La incertidumbre se compone de diversas fuentes como la definición incompleta del mensurando, el muestreo, efectos de matriz e interferencias, condiciones ambientales, incertidumbres de equipos másicos o volumétricos, valores de referencia, entre otras.

En muchas ocasiones suele confundirse el termino error e incertidumbre por eso es importante distinguir la diferencia entre estos términos. Eurachem/Citac (2012), define error como “la diferencia entre un resultado individual y el valor verdadero del mensurando” (p. 3), el error de una medida observada es la diferencia entre el valor observado y el valor de referencia, el error como tal ya sea teórico u observado es un solo valor y puede aplicarse como la corrección al resultado.

Por otra parte, la incertidumbre toma la forma de un rango o un intervalo, y si se estima para un procedimiento y tipo de muestra definida, puede aplicar a todas las determinaciones

⁴ Mensurando: descripción de la cantidad específica que se intenta medir.

realizadas del mismo modo. En general, el valor de la incertidumbre no se puede utilizar para corregir un resultado de medida.

La incertidumbre del resultado de una medida no debería interpretarse nunca como el error en sí mismo, ni como el error tras la corrección. Se considera que un error tiene dos componentes, uno llamado componente aleatorio y el otro sistemático.

El error aleatorio aparece de las variaciones impredecibles de las magnitudes de influencia. Estos efectos aleatorios producen variaciones en observaciones repetidas del mensurando. El error aleatorio de un resultado analítico no puede ser compensado, pero puede reducirse aumentando el número de observaciones (Eurachem/Citac, 2012).

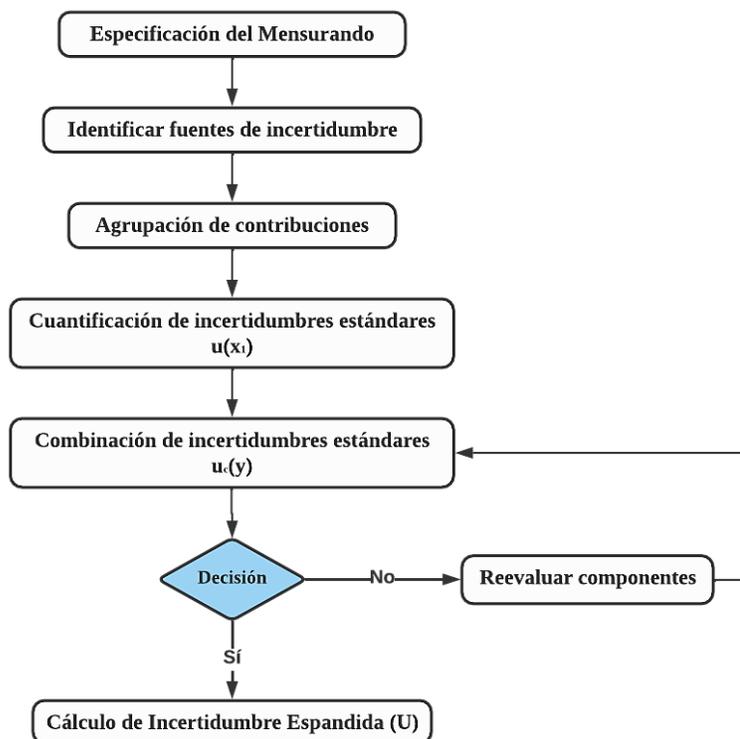
Eurachem/Citac (2012), define el error sistemático como “la componente del error que, en el transcurso de una cantidad de análisis del mismo mensurando, permanece constante o varía de forma predecible” (p. 3), no depende del número de medidas realizadas y no se puede reducir al aumentar el número de análisis bajo condiciones de medida constantes.

Los errores sistemáticos pueden ser constantes como un fallo al preparar una cantidad de blanco en un ensayo, o inexactitudes en la calibración de un instrumento multipunto que son constantes para un nivel dado del valor de medida, pero pueden variar con el nivel del valor de medida. Los efectos que cambian sistemáticamente en magnitud durante series de análisis, son causadas algunas veces por un control inadecuado de las condiciones experimentales, dan lugar a errores sistemáticos que no son constantes (Eurachem/Citac, 2012).

De manera general, la estimación de la incertidumbre se resume en una serie de etapas mostradas en la figura 4:

Figura 4

Proceso general para el cálculo de incertidumbre.



Fuente: elaboración propia a partir de Laboratorio Químico (2020a)

Las etapas principales se especifican a continuación:

1.3.1 Especificación del mensurando

Debe incluir una definición clara del analito, del principio de medición, del método de análisis y del procedimiento utilizado. En los métodos de análisis cuantitativos, el mensurando es la concentración del analito o especie química sujeta a medición, por ejemplo: [B] en mg/L, [CO₂] en % molar, [HCO₃⁻] en ppm, etc. Adicionalmente, el mensurando puede ser establecido por otros tipos de medidas como pH, conductividad eléctrica, entre otros.

También es necesario especificar el modelo matemático que relaciona las diferentes variables de entrada del proceso de medición con el mensurando [por ejemplo: magnitudes medidas, constantes, valores de patrones de calibración, entre otros.], en esta etapa, es indispensable identificar claramente cada una de las variables del modelo matemático. Un conocimiento insuficiente de alguno de estos elementos muy probablemente conducirá a una

estimación equivocada, o incompleta en el mejor de los casos, de la incertidumbre de la medición (Laboratorio Químico, 2020a).

1.3.2 Identificación de fuentes de incertidumbre

Una vez especificado el mesurando se procede a la identificación de las posibles fuentes de incertidumbre. Éstas provienen de los diversos factores involucrados en la medición, algunas de las técnicas más utilizadas para identificar las principales fuentes de incertidumbre se describen a continuación:

1. Elaborar una lista de las diferentes etapas y subetapas que forman parte del proceso de medición analítica, en el cuadro 4 se muestra un ejemplo detallado:

Cuadro 4

Lista de potenciales fuentes de incertidumbre en los análisis

Pasos del procedimiento de análisis	Fuente de incertidumbre
Preparación de la muestra	a) Variabilidad por efecto de la preparación de la muestra. Ej.: dispersión de resultados por la influencia de procesos de pesado, dilución, secado, extracción, entre otros.
Preparación de los materiales de referencia	a) Incertidumbre de los materiales de referencia según certificado y b) variabilidad por efecto de la preparación de estándares de trabajo a partir de dichos materiales [dispersión de resultados por la influencia de procesos de pesado, dilución, secado, extracción, entre otros].
Calibración de los instrumentos	a) Errores [sesgo] identificados durante el proceso de calibración del instrumento, b) incertidumbre del instrumento de acuerdo con el certificado de calibración, c) precisión del instrumento, otros.
Análisis	a) Variabilidad del método de análisis. Ej.: dispersión de resultados evaluado como repetibilidad o precisión intermedia, b) efectos sistemáticos [sesgo] evaluado como error absoluto a partir del uso de patrones, materiales de referencia o participación en pruebas de aptitud.

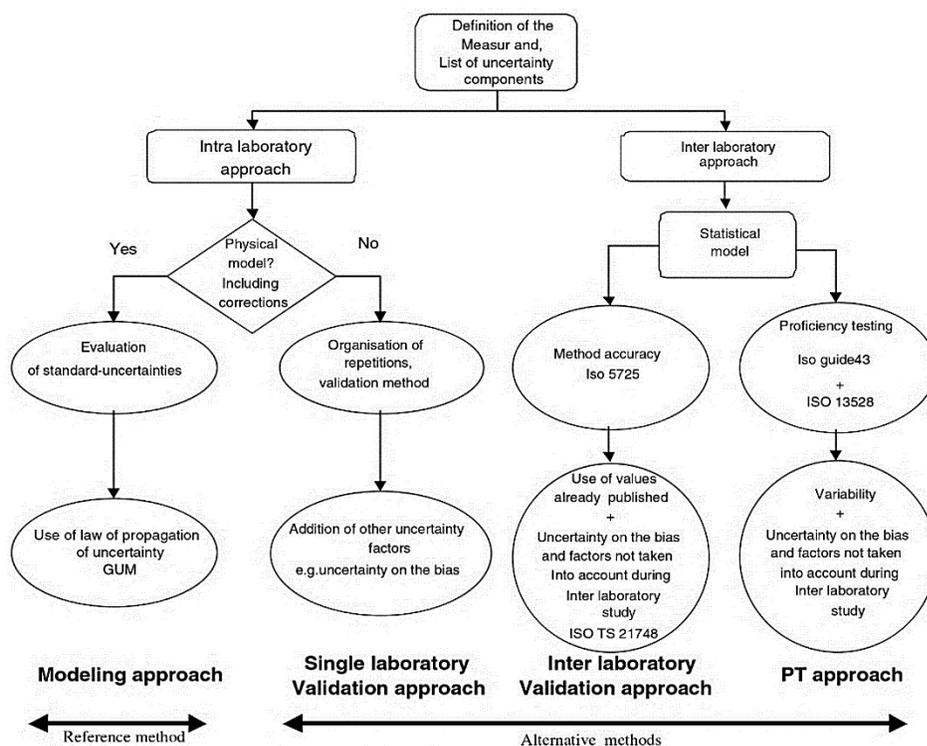
Pasos del procedimiento de análisis	Fuente de incertidumbre
Procesamiento de datos	a) Ajustes al modelo matemático. Ej.: errores aleatorios o sistemáticos productos del ajuste de datos al modelo de una línea recta, c) incertidumbre de constantes, d) redondeo de datos, otros.

Fuente: tomado de Laboratorio Químico (2020a).

2. A partir del modelo matemático utilizado para la cuantificación de un analito y definir cada variable del modelo como una fuente de incertidumbre.
3. Utilizar una herramienta gráfica como un flujograma o un diagrama de causa y efecto.
4. Considerar las principales fuentes de incertidumbre como aquellas debidas a efectos aleatorios y sistemáticos por el propio laboratorio [enfoque intralaboratorio] y la evaluación de la incertidumbre basada en estudios colaborativos [enfoque interlaboratorio/ [PT] enfoque prueba de aptitud]. [figura 5].

Figura 5

Tipos de métodos de evaluación de la incertidumbre.



Fuente: tomado de Priel & Désenfant (2006).

5. Realizar una mezcla de todas las técnicas descritas anteriormente.

Priel & Désenfant (2006), subdividen los enfoques de la siguiente manera:

- Los enfoques intralaboratorio, en la modelización del proceso de medición con el uso de la ley de propagación de la incertidumbre; y el enfoque de validación de laboratorio único.
- Los enfoques entre laboratorios, en el uso de datos de rendimiento de métodos [ISO 5725] y de datos de ensayos de aptitud [Guía ISO 43].

1.3.3 Cuantificación de la incertidumbre

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre, el siguiente paso es cuantificar la incertidumbre asociada a esas fuentes. Eurachem/Citac (2012), propone los siguientes métodos:

- La evaluación de la incertidumbre asociada a cada fuente individual, para posteriormente combinarlas.
- La determinación directa de la contribución combinada a la incertidumbre de los resultados de algunas o todas estas fuentes, usando datos del desempeño del método.

1.3.3.1 Estimación de componentes de incertidumbre de fuentes individuales

A continuación, se detallan los pasos propuestos para esta estimación:

- a) Obtención de datos: la incertidumbre de las fuentes individuales puede obtenerse de certificados de materiales, registros de calibración, especificaciones del fabricante de un instrumento de medición, datos experimentales, entre otros.
- b) Expresar todas las contribuciones de las diferentes fuentes de incertidumbre como una incertidumbre estándar.
- c) Combinación de las incertidumbres estándares: una vez las contribuciones individuales han sido expresadas como una incertidumbre estándar, se deben combinar para ser expresados como una incertidumbre estándar combinada. Si una fuente de incertidumbre “y” está a su vez definida por una serie de contribuciones individuales $[x_1, x_2, \dots, x_n]$, entonces el valor de incertidumbre de la fuente “y” se calcula a partir de la combinación de las incertidumbres estándares de cada

contribución [$u_c [y [x_1, x_2 \dots]]$]. En este caso, la incertidumbre de la fuente “y” es expresada como una incertidumbre estándar combinada $u_c[y]$. La relación general entre la incertidumbre estándar combinada $u_c[y]$ de un valor “y” y la incertidumbre de los parámetros independientes [$x_1, x_2, \dots x_n$] de los que depende, se representa por la siguiente ecuación:

$$U_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1,n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1,n} u(y, x_i)^2}$$

Donde $y[x_1, x_2 \dots]$ es una función de varios parámetros $x_1, x_2 \dots x_n$, y c_i es un coeficiente o factor de sensibilidad evaluado como la diferencia parcial de “y” con respecto a “ x_i ”. Esta ecuación es una aproximación de la ley de propagación de la incertidumbre y es aplicable cuando nuestro modelo posee contribuciones x_i que no se encuentran correlacionadas entre sí.

En muchos casos, las expresiones para combinar incertidumbres se reducen a formas mucho más sencillas, el Laboratorio Químico (2020a) describe los pasos para la estimación de la incertidumbre de un método colorimétrico a validar de la siguiente manera:

1. A partir del modelo matemático

$$C_{(ppm)} = \frac{A-b_0}{b_1} \quad \text{Ec. 12}$$

Donde: C = Concentración en la muestra.

A = Absorbancia medida de la muestra.

b_0 = Intercepto de la curva de calibración.

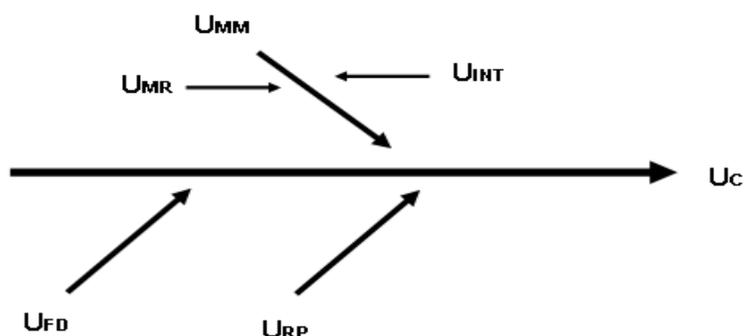
b_1 = Pendiente de la curva de calibración.

2. Diagrama causa-efecto

El diagrama de causa y efecto es utilizado para establecer las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica, a continuación, se detallan las que han sido consideradas en el presente estudio [figura 6].

Figura 6

Diagrama causa-efecto de las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica.



Fuente: tomado de Laboratorio Químico (2020a)

Donde: U_C = Incertidumbre en la concentración de la muestra.

U_{MM} = Incertidumbre debido al modelo matemático.

U_{MR} = Incertidumbre debido al modelo regresión lineal por mínimos cuadrados.

U_{INT} = Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración.

U_{RP} = Incertidumbre debido a la repetibilidad de una muestra.

U_{FD} = Incertidumbre debida al factor de dilución [cuando aplique].

3. Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]:

A partir de la definición de los factores que influyen en la incertidumbre del método, se establece que la incertidumbre combinada [U_{CO}] viene dada por:

$$U_{CO} = \sqrt{(U_{MM})^2 + (U_{RP})^2} \quad \text{Ec. 13}$$

A continuación, se detalla el cálculo de cada una de las incertidumbres estándar consideradas en la incertidumbre combinada.

a) Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]:

La estimación de la incertidumbre debida al modelo matemático se divide en dos componentes:

U_{INT} : Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración.

U_{MR} : Incertidumbre debida al modelo regresión lineal por mínimos cuadrados.

La incertidumbre debida al modelo matemático viene dada por:

$$U_{MM} = \sqrt{(U_{INT})^2 + (U_{MR})^2} \quad \text{Ec. 14}$$

El cálculo de cada uno de los componentes se detalla a continuación:

- Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}]

La incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración es calculada utilizando la siguiente formula:

$$U_{INT} = \sqrt{(U_A^2 * cA^2) + (U_{b_0}^2 * cb_0^2) + (U_{b_1}^2 * cb_1^2)} \quad \text{Ec. 15}$$

Los coeficientes de sensibilidad planteados en la fórmula anterior son obtenidos a partir de la derivación parcial del modelo matemático:

Los coeficientes de sensibilidad son:

$$cA = \frac{1}{b_1} \quad cb_0 = -\frac{1}{b_1} \quad cb_1 = \frac{A-b_0}{b_1^2} \quad \text{Ec. 16}$$

El valor de los coeficientes de sensibilidad b_0 y b_1 , así como las incertidumbres de b_0 y b_1 son obtenidos a partir de las curvas de calibración, elaboradas durante la validación.

La incertidumbre de la absorbancia [U_A], es la combinación de las incertidumbres del ruido fotométrico, precisión fotométrica y repetibilidad de %T.

$$U_A = \sqrt{(U_R)^2 + (U_P)^2 + (U_{RT})^2} \quad \text{Ec. 17}$$

Los valores de incertidumbre del ruido fotométrico [U_R] y precisión fotométrica [U_P] son obtenidos a partir del certificado de calibración del equipo. La incertidumbre debida a la repetibilidad de %T [U_{RT}], es calculada a partir de la ecuación:

$$U_{RT} = 0.434294 \frac{U_T}{10^{(2-A)}} \quad \text{Ec. 18}$$

Donde U_T es calculada mediante la fórmula:

$$U_T = \frac{ST}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 19}$$

Donde: ST = desviación estándar del porcentaje de transmitancia

- Incertidumbre debida al modelo de regresión lineal [U_{MR}]

La incertidumbre debida al modelo de regresión lineal es calculada utilizando el promedio de las curvas de calibración, así también, se hace uso del promedio de la absorbancia obtenida de la muestra de origen geotérmico, ambos a partir de los ensayos efectuados durante el proceso de validación.

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right) + \frac{(Y_i - \hat{y})^2}{b^2 * \sum (X_i - X_{prom})^2}} \quad \text{Ec. 20}$$

$$U_{MR} = \frac{S_{x_0}}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 21}$$

Donde: S_{x_0} = Incertidumbre estándar debida al modelo de regresión lineal

m = Niveles de concentración

n = Número de curvas

b) Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}]:

La incertidumbre debida a la repetibilidad de la muestra es calculada a partir de la desviación estándar del valor promedio.

$$U_{RP} = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 22}$$

1.3.4 Estimación de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida [U] o incertidumbre global del mensurando, se obtiene al multiplicar la incertidumbre estándar combinada $u_c[y]$ por un factor de cobertura [k] escogido con base a la selección de un nivel de confianza requerido.

$$U = k \cdot U_c \quad \text{Ec. 23}$$

En la mayoría de los casos se recomienda usar un valor de $k = 2$ para un nivel de significancia del 95%.

La incertidumbre expandida proporciona un intervalo que se espera que comprenda una gran fracción de la distribución de valores, los cuales podrían ser atribuidos razonablemente al mensurando.

Para finalizar, las ecuaciones enumeradas son las que se utilizaron en el presente estudio para la determinación de los parámetros de validación y la estimación de incertidumbre.

1.4 Implementación de métodos analíticos

Una de las propiedades más importante de un método analítico es que debería de estar libre de errores sistemáticos, es decir el valor dado para la cantidad de analito debería ser el valor verdadero. Esta propiedad de un método analítico se puede contrastar al aplicar el método a una muestra de ensayo estándar que contenga una cantidad conocida de analito. Pero, aunque no existan errores sistemáticos, los errores aleatorios hace poco probable que la cantidad medida sea exactamente igual que la cantidad patrón conocida.

Para decidir si la diferencia entre la cantidad medida y la cantidad conocida es significativa y se pueda atribuir a errores aleatorios, se aplica una prueba estadística llamada contraste de significancia. Esta aproximación contrasta si son significativas las diferencias entre los dos resultados, o si se puede justificar solo por variaciones aleatorias (Miller & Miller, 2002).

1.4.1 Contraste *t* para datos emparejados

Con frecuencia se comparan dos métodos de análisis estudiando muestras de ensayo que contienen sustancialmente diferentes cantidades de analito. Al comparar dos métodos siempre existe variación entre las medidas debida al error aleatorio de la medida, ya sea por la diferencia de la cantidad de analito o por los métodos utilizados con los que se obtiene el analito. El contraste para comparar dos promedios no es apropiado en métodos diferentes porque no separa la variación debida al método. Esto se evita observando la diferencia, d , entre cada par de resultados dados por los dos métodos, si no existe diferencia entre los dos métodos, entonces estas diferencias se obtienen de una población con media $\mu_d=0$. Para probar si \bar{d} difiere significativamente de cero se utiliza el estadístico t (Miller & Miller, 2002).

Para contrastar si n resultados emparejados se extraen de la misma población, se calcula el estadístico t :

$$t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d} \quad \text{Ec. 23}$$

Donde: \bar{d} = promedio de la diferencia de dos métodos
 s_d = desviación estándar de la diferencia

Los contrastes por parejas no requieren que las precisiones de los dos métodos sean iguales, sino que suponen que las diferencias, d , están distribuidas normalmente. En efecto esto exige que cada conjunto de medidas se distribuya normalmente, que la precisión y el sesgo [si acaso] de cada método sean constantes en el intervalo de valores en el que se realizaron las medidas. Los datos pueden constar de medidas individuales o de medias de medidas repetidas, sin embargo, es necesario que se realice el mismo número de medidas sobre cada muestra por el primer método y análogamente por el segundo método (Miller & Miller, 2002).

Si al evaluar el contraste de los resultados de dos métodos se obtiene un estadístico t menor al reportado en la literatura para un nivel de confianza del 95%, los métodos no mostraran diferencia significativa y se pueden implementar satisfactoriamente.

1.5 Importancia del análisis de sulfato en agua geotérmica

La composición química de las aguas y vapores geotérmicos proporcionan una variada y útil información acerca del reservorio. El sulfato es un parámetro muy importante en la geotermia ya que es uno de los que determina la acidez de los fluidos y por ende es importante en la determinación del diseño de la planta y tipo de material a usar en las tuberías, además que nos proporciona información importante acerca del comportamiento del reservorio, por medio de la utilización de geotermómetros (Anderson et al., 2015).

El sulfato es el que evidencia un tipo de agua geotérmica llamada aguas sulfatadas, las que en el diagrama comparativo de Giggenbach⁵ determina su origen profundo, o producto de erosión de rocas, este anión sulfato en altas concentraciones evidencia el contenido de aguas profundas en áreas de manantiales (Anderson et al., 2015).

Los fluidos sulfato-ácido profundo han sido encontrados en muchos sistemas geotérmicos volcánicos. La acidez es causada por el ácido clorhídrico [HCl], por el ion bisulfato [HSO_4^-] y en algunos casos por ambos, evidencias indican que éstos son formados principalmente por la transferencia de ácido clorhídrico [HCl] y dióxido de azufre [SO_2] desde la fuente de calor magmático al fluido de circulación. Al medir el pH [a 25 °C] en un agua sulfato-ácida colectada en el cabezal del pozo se pueden tener pH tan bajos como 2. Sin

⁵ Es un diagrama triangular utilizado, para caracterizar las aguas de acuerdo al contenido químico, estos diagramas pueden ser realizados en una hoja de Excel.

embargo, el pH del agua es casi neutro a altas temperaturas en el acuífero. La acidez producida en el enfriamiento está relacionada con el incremento de la fuerza ácida del ion HSO_4^- y con la disminución de la temperatura (Altamirano, 2014)

El ion sulfato procede del lavado de materiales sedimentarios salinos, de la oxidación de sulfuros, de la descomposición de sustancias orgánicas, entre otros. La disolución de yeso [y anhidrita] representa la mayor cantidad aportada de este ion a las aguas subterráneas. Su comportamiento está condicionado por su tendencia a formar iones complejos con Na^+ y Ca^+ y a incorporarse a procesos biológicos. El ion sulfato está sujeto a procesos de reducción, especialmente en presencia de bacterias y materia orgánica. En ambientes reductores [$\text{pH} < 7$] la forma reducida estable es H_2S , mientras que en disoluciones alcalinas predomina HS^- (Cruz & Narváez, 2018).

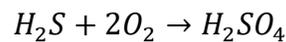
En el agua geotérmica los excesos de sulfato asociados con un catión divalente, como el calcio o magnesio, podrían crearle muchos problemas de incrustación, formando sulfatos de calcio [anhidrita], es un tipo de depósitos [incrustación] que se van adhiriendo a la superficie de las tuberías y ranuras de la tubería de producción ocasionando pérdidas cuantiosas por la disminución de fluidos productivos y puede llegar a cerrarse por incrustación (Anderson et al., 2015).

Con respecto al sulfato de calcio, la mayor parte de las aguas geotérmicas con temperaturas comprendidas entre los 200 y los 300°C, a un pH próximo a la neutralidad, y una salinidad moderada poseen concentraciones del orden de los 10 a los 100 ppm. Dado que la solubilidad del sulfato cálcico [anhidrita] en aguas de alta temperatura es muy baja, se espera una correlación inversa entre el calcio y las concentraciones de sulfato, excepto cuando el pH es bajo en cuyo caso hay una apreciable proporción de sulfatos presentes, tales como HSO_4^- . Los sistemas con temperaturas muy elevadas o salinidades muy altas, pueden tener concentraciones extremadamente bajas (Instituto Geológico y Minero de España, 1985).

En un pozo productor sí el fluido geotérmico es ácido, neutro o alcalino; puede ser producto del contenido de sulfato en diferentes concentraciones, esto también asociados al estudio de saturación de algunos compuestos del azufre y otros minerales, deben de ser tomados en cuenta durante la exploración, y la explotación del recurso geotérmico.

El sulfato en un reservorio ácido: formará una concentración de ácido sulfúrico, aunque el flujo de agua geotérmica posea una concentración baja deberá tratarse químicamente con soda cáustica, de lo contrario la tubería de producción se perderá por oxidación, y en la turbina al ingresar el vapor con pH muy ácido debido al incremento de sulfato como ácido sulfhídrico [H₂S], tendrá oxidación en el metal constituido de la turbina lo cual le crea mucho daño estructural y muchas pérdidas en reparación (Anderson et al., 2015).

La oxidación de H₂S produce ácido sulfúrico el cual causa que esta agua sea ácida.



Los gases incrementados [sulfhídricos] en la producción-generación de una turbina, son asociados al diseño de la producción del equipo, ya que son causantes de pérdidas en el proceso de extracción de estos gases no condensables. El azufre está presente en toda la cadena de producción relacionada a la geotermia, es abundante en las rocas magmáticas. Así que se presenta en estado gas, como sulfuro de hidrógeno⁶, y es un gas no condensable presente en el vapor que ingresa a la turbina. En líquido salmuera se encuentra como una oxisal: sulfato, cuando reacciona con otra especie química, como la anhidrita que es una de las mayores reacciones que experimenta y es objeto de incrustación en los tubos de conducción (Anderson et al., 2015).

Una vez que el vapor realiza su trabajo en la turbina pasa al sistema de enfriamiento, convirtiéndose en agua, puede poseer altos contenidos de sulfato orgánico, que es alimento y procreador de vida microscópica tales como; algas, bacterias, protozoos, líquenes, entre otros. Los cuales pueden provocar grandes problemas en las torres de enfriamiento.

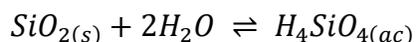
1.6 Importancia del análisis de sílice en agua y vapor geotérmico

En áreas hidrotermales la sílice se encuentra a diferentes profundidades en varias fases: cuarzo, calcedonia, cristobalita y la sílice amorfa [la sílice gelatinosa, el sinter, el ópalo]. El cuarzo es la forma estable de sílice y tiene la solubilidad más baja (Castro, 2006).

Las rocas circundantes de la mayoría de los reservorios geotérmicos contienen cuarzo, que se disuelve en el agua caliente por encima de los 230°C aproximadamente, generalmente

⁶ Es normal que, en el área de la geotermia, al sulfuro de hidrógeno se le llame ácido sulfhídrico y otras veces simplemente sulfhídrico.

se considera que el cuarzo está en equilibrio entre la especie sólida y disuelta, como se muestra en la siguiente reacción:



Los cambios de presión en el sistema geotérmico tienen menos efecto que los cambios de temperatura en la saturación de minerales. La solubilidad del cuarzo ha sido bien establecida experimentalmente sobre un intervalo amplio de temperaturas y presiones (Castro, 2006).

Los reservorios geotérmicos de aguas cloruradas sódicas que fluyen a superficies [ya sea como descargas de pozos o como manantiales termales] están invariablemente supersaturados con respecto al cuarzo, ambos debido al aumento en la concentración de SiO_2 a través de la pérdida de vapor y caída de temperatura. Sin embargo, la sílice en el agua descargada no se precipita como cuarzo porque su cinética no es favorecida a temperaturas más bajas (Castro, 2006).

Si las aguas de la descarga se derivan de un reservorio profundo con temperatura mayor de aproximadamente 230°C , ellas estarán también supersaturadas con respecto a las fases de sílice más solubles, incluyendo sílice amorfa, calcedonia y cristobalita. La sílice amorfa es el precipitado más común en fuentes y descargas geotérmicas. Esta es la fase más estable en temperaturas aproximadas por debajo de los 150°C y forma la mayoría de los depósitos de sílice de granos muy finos [sílice sinterizada] vistos alrededor de los manantiales termales clorurados de caudales altos. Si el reservorio emerge a la superficie lentamente, con enfriamiento conductivo o se mezcla a lo largo del camino, muchas de estas deposiciones ocurrirán en el subsuelo y no habrá ningún depósito de sílice de grano muy fino, alrededor del manantial clorurado (Castro, 2006).

Ninguna o pocas deposiciones de sílice ocurren en la matriz crítica de los pozos geotérmicos debido a la corta residencia de los fluidos en dicha zona [a excepción de pozos de alta entalpía donde la fase de agua se evapora rápidamente]. La deposición generalmente ocurrirá en la salida de pozos que descargan a la atmósfera o en las tuberías superficiales si ahí se excede la saturación de sílice amorfa. El reequilibrio cinético para la sílice amorfa es considerablemente más rápido que para el cuarzo, así cuando la salmuera se vuelve supersaturada, empieza a depositar sílice amorfa en un esfuerzo por alcanzar nuevamente

concentraciones de equilibrio de la sílice disuelta, a la temperatura prevaleciente (Castro, 2006).

El agua separada del sistema de separación agua-vapor está supersaturada con respecto a la sílice. Sin embargo, se ha observado que, en el campo geotérmico de Berlín, la precipitación de la sílice no ocurre inmediatamente y que tarda algún tiempo antes de que inicie la precipitación. La razón de este fenómeno es que la cinética de precipitación de la sílice involucra la formación de polímeros de sílice y ellos no se unen y precipitan hasta que alcanzan un tamaño crítico (Castro, 2006).

Sin embargo, el problema de polimerización y deposición de sílice en los medios fracturados es probablemente más complejo. Rothbaum y Rohde (1979) estudiaron la cinética de polimerización de sílice y deposición. Ellos encontraron que cuando la temperatura aumenta de 5 a 180 °C, el peso promedio molecular de los polímeros aumenta de 10^5 a 10^9 debido a pocos, pero grandes polímeros formados a altas temperaturas. La inducción de la sílice [periodo de tiempo antes que la sílice comience a polimerizarse] a una temperatura dada disminuye con la supersaturación.

Castro (2006), sugiere que el problema de deposición de sílice dentro de los pozos reinyectores involucra los siguientes pasos:

1. Luego del rápido enfriamiento de los fluidos geotérmicos al pasar por los sistemas de separación agua-vapor, el agua se conduce a los pozos reinyectores por el sistema de acarreo superficial, entra al pozo y finalmente se mueve dentro del reservorio. Durante este proceso, la precipitación no ocurre porque el tiempo de inducción de la polimerización de la sílice aún no ha terminado.
2. Una vez que el agua entra al reservorio, ésta viaja una corta distancia antes de que la sílice empiece a precipitarse. La distancia recorrida depende de la velocidad del agua en el reservorio y del tiempo de la inducción, después de iniciado el viaje a lo largo del sistema de acarreo.
3. El fluido se mueve y precipita la sílice hasta que se alcanza la saturación, con respecto a la solubilidad del mineral de sílice [cuarzo en el caso de Berlín]. El tiempo necesario para precipitar y alcanzar la saturación, así como información acerca de la velocidad del agua dentro del reservorio, puede ser utilizado para estimar la distancia viajada

durante esta travesía. La distancia total o radio del reservorio afectado por la incrustación de la sílice estarán dados por la suma de la distancia encontrada en el numeral 2 más la distancia encontrada en el numeral 3.

El concepto de tiempo de polimerización de la sílice es muy importante porque la deposición de sílice no puede ocurrir a menos que la salmuera esté sobresaturada en sílice a una temperatura particular y luego la deposición procede solo después de que la sílice monomérica comienza a polimerizar porque son las partículas polimerizadas las que dan lugar a la deposición.

A temperaturas por encima de 280°C el agua admite concentraciones de calcedonia, opal o sílice amorfa por encima de 500 ppm. En cambio, a medida la temperatura disminuye, la solubilidad se reduce paulatinamente, y es evidente que para una temperatura de 130-140°C, la concentración favorable debería variar entre 100 y 500 ppm. Sin embargo, muchas veces se encuentran una sobresaturación con un rango de 750-825 ppm (Handal, 2014).

A continuación, se muestra en la figura 7 como se observan las tuberías con incrustaciones de sílice.

Figura 7

Tubería con incrustaciones de sílice.



Fuente: tomado de J. Hernández (comunicación personal, 29 de noviembre, 2021).

Si no se previenen los depósitos, éstos formarían severas incrustaciones que pueden llegar a obturar completamente los conductos por los que circula el agua. Por otro lado, aunque no se produzca la obturación completa de las tuberías, los depósitos de sílice sobre la pared de este generarían una capa aislante térmica que reduciría el intercambio de calor, la

eficiencia térmica y en última instancia a la eficiencia global, también puede traer varios inconvenientes tales como: corrosión, erosión, desbalance, entre otros.

Por lo anterior, LaGeo S. A. de C. V. [compañía que opera el Campo Geotérmico de Berlín] hace análisis rutinario y sistemático tanto de las aguas y gases de producción, como de los fluidos residuales reinyectados. Castro (2006), muestra ejemplos de estos análisis químicos como: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , SiO_2 , B^{3+} , Li^+ , conductividad eléctrica, pH, temperatura, presión de cabezal de pozo, presión de separación, presión de muestreo, gases y elementos trazas, en distintas muestras de origen geotérmicos de diferentes pozos que son utilizados para simular el comportamiento de la sílice en el reservorio.

Es de suma importancia mantener un control constante con los análisis mencionados anteriormente, para el vapor condensado de origen geotérmico se debe determinar la concentración de sílice presente para verificar que la calidad del vapor que entra por la turbina sea el adecuado y así evitar incrustaciones en la turbina.

En el caso del agua geotérmica la concentración de sílice indica si su forma presente en el agua que circula por la tubería se mantiene como sílice monomérica, también proporciona información sobre el tipo de tratamiento que se debe utilizar para retardar su polimerización y así evitar incrustaciones en la tubería. Además, nos indica en que tiempo se debe realizar una limpieza en la tubería.

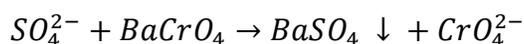
Existen varios métodos para controlar o mitigar las incrustaciones de sílice, que incluyen: controlar la presión del separador para mantener la temperatura de la salmuera por encima de la temperatura de sobresaturación de la sílice, modificar el pH, ya sea mediante la adición de ácidos minerales para reducir el pH [para reducir la velocidad de las reacciones de polimerización de la sílice que sirve para aumentar el tiempo de inducción de la polimerización de la sílice] o la adición de álcali, como la sosa cáustica, para aumentar el pH [que aumenta la solubilidad de la sílice], una serie de antiincrustantes químicos que pretenden prevenir o reducir la formación de incrustaciones de sílice en los fluidos geotérmicos, la dilución de salmuera y la recuperación de sílice antes de la inyección (Padilla et al., 2005).

1.7 Métodos analíticos para la determinación de sulfato y sílice en agua y vapor condensado de origen geotérmico

1.7.1 Descripción del método de análisis de sulfatos

El método se basa en la reacción del ion sulfato $[SO_4^{2-}]$ con cromato de bario, formándose a partir de ellos el complejo insoluble sulfato de bario y produciéndose la liberación del ion cromato, el cual es determinado a una longitud de onda de 400 nm.

La reacción química producida se presenta a continuación:



La cuantificación de sulfato se realiza indirectamente, a partir de la concentración de ion cromato liberado en la reacción.

Los sulfuros, carbonatos y bicarbonatos presentes pueden interferir si no se tiene un adecuado control de pH, la presencia de turbidez o color también pueden causar interferencia en el análisis. El Laboratorio Químico (2019) recomienda que las muestras⁷ turbias o coloreadas sean tratadas como se indica a continuación:

- Las muestras que presentan turbidez se deben centrifugar y filtrar con papel Whatman N° 42 para remover las partículas.
- Las muestras coloreadas se les debe remover el color antes del análisis de la siguiente manera: medir 40 mL de muestra y transferir a un tubo de ensayo de capacidad igual a 50 mL. Adicionar una pequeña cantidad de carbón activado, agitar y dejar reposar hasta decoloración. Filtrar la muestra a través de filtro 0.45 micras para retener las partículas de carbón.

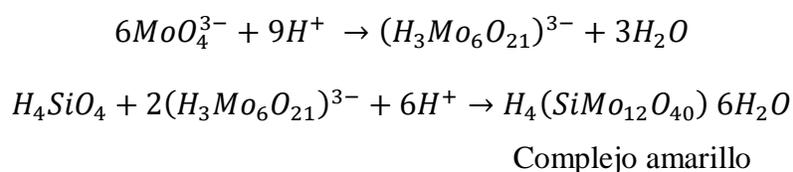
1.7.2 Descripción del método de molibdosilicato

Este método se basa en la reacción que se produce entre el molibdato de amonio 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 y es un paso obligatorio incluso cuando se conozca que no hay fosfato presente. La intensidad

⁷Las técnicas, ubicación y datos de muestreo no son de especial interés para este trabajo de investigación.

del color amarillo formado es proporcional a la concentración de sílice, al menos en una de sus formas, la sílice no reacciona con molibdato, aun 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, cristaloides e iónica para distinguir entre varias formas de sílice, pero esta terminología no tiene mucho fundamento. La sílice "no reactiva con molibdato" se puede convertir en la forma "reactiva con molibdato" calentando o fusionando con álcali. Molibdato reactivo o no reactivo no implica reactividad, o falta de ella, hacia otros reactivos o procesos (American Public Health Association, 2018).

Las semis reacciones químicas se representa a continuación:



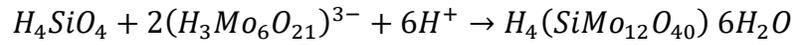
La concentración de sílice monomérica es determinada a partir de la intensidad del color amarillo a una longitud de onda de 410nm.

Uno de los principales interferentes es el fosfato, el cuál reacciona también con el molibdato de amonio formando ácido molibdofosfórico, debido a ello se adiciona el ácido tartárico para eliminar el ácido molibdofosfórico formado. Durante el análisis se debe evitar el uso en la medida de lo posible de material de vidrio. La presencia de turbidez o color pueden ser interferencia para el análisis por lo que se recomienda que las muestras turbias o coloreadas sean tratadas como se explicó anteriormente (American Public Health Association, 2018).

1.7.3 Descripción del método azul de heteropoly

La descripción del método de molibdosilicato también aplica para este método. El molibdato de amonio a pH aproximado de 1.2 reacciona con la sílice presente formando ácido molibdosilícico, el cual posee un color amarillo característico, este color es reducido por el 1-amino-2-naftol-4-sulfónico a un color azul heteropoly, debido a que el azul es más intenso que el amarillo, por tanto, permite una mayor sensibilidad del método.

Las semis reacciones químicas se representan a continuación:



La concentración de sílice es determinada a partir de la intensidad del color azul a una longitud de onda de 820nm.

Uno de los principales interferentes es el fosfato, el cuál reacciona también con el molibdato de amonio formando ácido molibdofosfórico, debido a ello se adiciona el ácido oxálico para eliminar el ácido molibdofosfórico formado. Otros interferentes son: el hierro en altas concentraciones y los taninos que son eliminados por el ácido oxálico (Laboratorio Químico, 2017).

La presencia de turbidez o color pueden ser interferencia y se tratan de la misma manera que se menciona en los métodos anteriores.

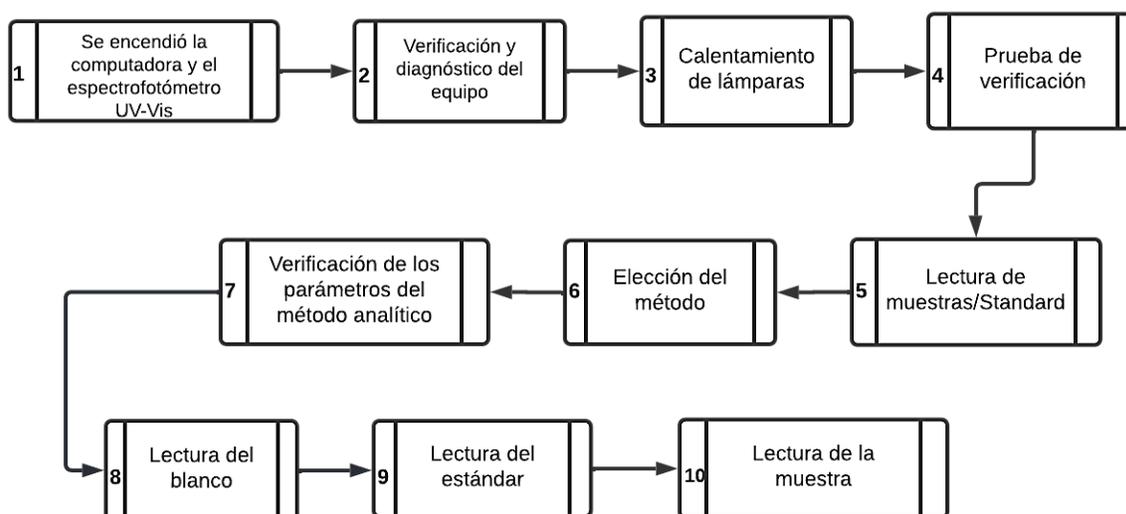
Capítulo II. Diseño metodológico

2.1 Uso del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454

El siguiente esquema [figura 8] representa de forma general como se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454 durante el estudio.

Figura 8

Procedimiento general del uso del espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454



Fuente: elaboración propia

2.2 Análisis de sulfatos por método colorimétrico

A continuación, se describe la preparación de los estándares de trabajo utilizados y el desarrollo del análisis para la determinación de sulfatos por método colorimétrico. Los materiales y equipos, así como la preparación de reactivos utilizados se detallan en el anexo 1.

2.2.1 Estándares de trabajo

Se utilizó una disolución estándar certificada de Sulfatos de 1000 ppm. Se prepararon 5 disoluciones estándar de trabajo para elaborar la curva de calibración, se usó estándar de Sulfato de 1000 ppm para preparar las concentraciones de 10.00, 25.00, 50.00, 100.00, 125.00 ppm. todos los estándares de trabajo se llevaron a un volumen de 100 mL con agua

desionizada excepto el de 125.00 ppm el cual se realizó en un volumen de 50 mL⁸. Para el estándar de verificación se utilizó la concentración de 25.00 ppm.

A continuación, se muestra en la tabla 3 donde se indica el volumen adicionado de estándar certificado para cada solución de trabajo a preparar.

Tabla 3

Volúmenes utilizados del estándar certificado de Sulfatos para la preparación de las cinco disoluciones estándar de trabajo.

Concentración de disolución estándar de trabajo [ppm]	Volumen de estándar certificado [mL]
10.00	1.00
25.00*	2.50
50.00	5.00
100.00	10.00
125.00	6.25

*Estándar de verificación.

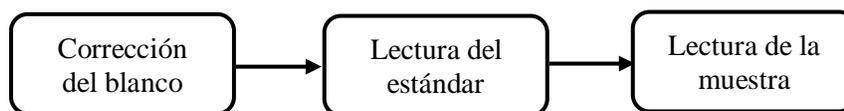
Fuente: elaboración propia.

2.2.2 Desarrollo del análisis

Se siguió el procedimiento que se muestra en la figura 8. Se abrió el método de sulfato, se verificó que la longitud de onda de medición [λ] fuera de 400 nm y se usó como portamuestras celdas de cuarzo o de vidrio de 1 cm de paso de luz. En la figura 9 se muestra el procedimiento del desarrollo del análisis.

Figura 9

Procedimiento general del desarrollo del análisis de sulfatos por método colorimétrico.



Fuente: elaboración propia

⁸ Se realizó en un balón de 50 mL porque la micropipeta que se utilizó para la preparación de los estándares es de 10 mL, si se realizara en un balón de 100 mL el volumen adicionado sería mayor a la capacidad de la micropipeta.

2.2.2.1 Lectura del blanco

Para el análisis se utilizó como blanco agua desionizada, en el cual se obtuvo una lectura asociada al blanco, su preparación se muestra a continuación:

1. Se transfirió 5.0 mL de blanco a un frasco Erlenmeyer de vidrio de 50 mL.
2. Se agregó una gota de azul de bromofenol y se mezcló.
3. Luego se ajustó el pH de la siguiente forma:
 - a) Las muestras alcalinas, se acidificaron con HCl 0.1N a pH ligeramente ácido hasta lograr un color amarillo débil. Se neutralizaron con NaOH 0.1N, hasta que el color de la disolución cambio de amarillo a violeta.
 - b) Las muestras ácidas, se neutralizaron con NaOH a 0.1N hasta que el color de la disolución cambio de amarillo a violeta.
4. Se agregó 2.0 mL de suspensión de cromato de bario y se agitó.
5. Posteriormente se adicionaron 0.5 mL de disolución de amonio más calcio y se agitó.
6. Se agregó 5.0 mL de alcohol etílico grado industrial y se agitó.
7. Luego se colocó en un baño de maría [previamente calentado] a ebullición, se calentó el Erlenmeyer por 3 minutos y se dejó enfriar.
8. Se pasó la disolución del paso anterior a tubos de Nalgene y posteriormente se centrifugó.
9. Después el sobrenadante se leyó directamente en el equipo.

2.2.2.2 Lectura de la curva de calibración

Se utilizaron los 5 niveles de concentración de estándar de trabajo y se prepararon como se indicó en el numeral 2.2.2.1., en el cual se obtuvo la relación proporcional entre la concentración de los estándares de trabajo y una determinada señal analítica.

2.2.2.3 Lectura de la muestra

Se utilizaron muestras de agua geotérmica y se prepararon como se indicó en el numeral 2.2.2.1., en el cual se obtuvieron las lecturas de concentración y absorbancia.

2.3 Análisis de sílice monomérica por molibdosilicato

Los materiales y equipos, así como la preparación de reactivos utilizados se muestran en el anexo 2. La preparación de los estándares de trabajo utilizados y el desarrollo del análisis para la determinación de sílice monomérica por molibdosilicato se muestra a continuación.

2.3.1 Estándares de trabajo

Se utilizó una disolución estándar certificada de Silicio de 1000 ppm. Las disoluciones estándar de trabajo para elaborar la curva de calibración se construyeron con 5 estándares de sílice de 21.40, 42.80, 107.00, 160.50 y 214.00 ppm, a partir de la disolución estándar certificada de silicio⁹ de 1000.0 ppm, todos los estándares de trabajo se llevaron a un volumen de 100 mL con agua desionizada. Para el estándar de verificación se preparó una disolución estándar de trabajo de 128.4 ppm.

En la tabla 4 se muestra el volumen adicionado de estándar certificado para cada disolución de trabajo.

Tabla 4

Volúmenes utilizados del estándar certificado de Silicio para la preparación de las cinco disoluciones estándar de trabajo y un estándar de verificación.

Concentración de disolución estándar de trabajo [ppm]	Volumen de estándar certificado [mL]
21.40	1.00
42.80	2.00
107.00	5.00
160.5	7.50
214.00	10.0
128.40*	6.00

*Estándar de verificación.

Fuente: elaboración propia.

2.3.2 Desarrollo del análisis

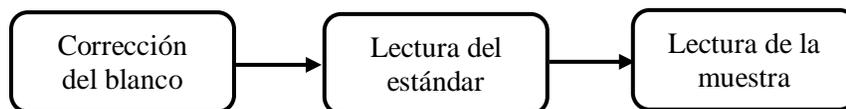
Como parte del procedimiento que se muestra en la figura 8, se abrió el método de sílice monomérica y se verificó que la longitud de onda de medición [λ] fuera de 410 nm. Se usó como porta-muestras celdas de cuarzo o de vidrio de 1 cm de paso de luz.

A continuación, en la figura 10 se presenta el procedimiento del desarrollo del análisis.

⁹ Para convertir las concentraciones de silicio a concentraciones de sílice que es el analito de interés se multiplica por el factor 2.14.

Figura 10

Procedimiento general del desarrollo del análisis de sílice monomérica por molibdosilicato.



Fuente: elaboración propia.

2.3.2.1 Lectura del blanco

Para el análisis se utilizó como blanco agua desionizada, en el cual se obtuvo una lectura asociada al blanco, su preparación se muestra a continuación:

1. En balones de nalgene de 50.0 mL se colocaron 40.0 mL de disolución C¹⁰.
2. Luego se adicionó 5.00 mL de blanco se dejó reposar por 5 minutos.
3. Se agregaron 2.00 mL de ácido tartárico y llevó a volumen de 50.0 mL con agua desionizada. Se dejó reposar por 5 minutos y se leyó en un intervalo de tiempo de 2 a 15 minutos.

2.3.2.2 Lectura de la curva de calibración

Se utilizaron los 5 niveles de concentración de estándar de trabajo y se prepararon como se indicó en el numeral 2.3.2.1., en el cual se obtuvo la relación proporcional entre la concentración de los estándares de trabajo y una determinada señal analítica.

2.3.2.3 Lectura de la muestra

Se utilizaron muestras de agua geotérmica y se prepararon como se indicó en el numeral 2.3.2.1., en las que se obtuvieron las lecturas de concentración y absorbancia.

2.4 Análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly

A continuación, se presenta la preparación de los estándares de trabajo utilizados y el desarrollo del análisis para la determinación de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly. Los materiales y equipos, así como la preparación de reactivos utilizados se presentan en el anexo 3.

¹⁰ La preparación de la disolución C se muestra en el anexo 2

2.4.1 Estándares de trabajo

Se utilizó una disolución estándar certificada de Silicio de 1000 ppm. A partir de la disolución estándar certificada de silicio de 1000.0 ppm se transfirió 1.0 mL a un balón de 100 mL para preparar el estándar de 21.40 ppm de esta se partió para la preparación de los estándares de trabajo, la curva de calibración se construyó con 6 estándares de sílice de 0.214, 0.535, 1.070, 2.140, 3.120 y 4.280 ppm, todos se llevaron a un volumen de 100 mL con agua desionizada excepto los estándares de 3.120 y 4.280 ppm los cuales se realizaron en un volumen de 50 mL¹¹. Para el estándar de verificación se preparó una disolución estándar de trabajo de 0.428 ppm.

En la tabla 5 se muestra el volumen adicionado del estándar de trabajo de 21.40 ppm para cada disolución de trabajo que se preparó.

Tabla 5

Volúmenes utilizados del estándar de trabajo de Sílice para la preparación de las seis disoluciones estándar de trabajo y un estándar de verificación.

Concentración de disolución estándar de trabajo [ppm]	Volumen de estándar de sílice de 21.4 ppm [mL]
0.214	1.00
0.535	2.50
1.070	5.00
2.140	10.00
3.210	7.50
4.280	10.00
0.428*	2.00

*Estándar de verificación.

Fuente: elaboración propia.

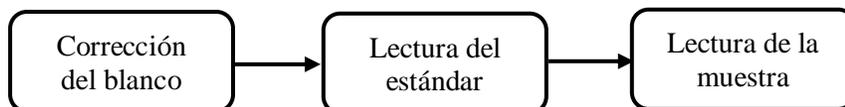
¹¹ Se realizó en un balón de 50 mL porque la micropipeta que se utilizó para la preparación de los estándares es de 10 mL, si se realizara en un balón de 100 mL el volumen adicionado sería mayor a la capacidad de la micropipeta.

2.4.2 Desarrollo del análisis

Se abrió el método de sílice azul y se verificó que la longitud de onda de medición [λ] fuera de 820 nm. Se usó como porta-muestras celdas de cuarzo o de vidrio de 1 cm de paso de luz. A continuación, en la figura 11 se muestra el procedimiento del desarrollo del análisis.

Figura 11

Procedimiento general del desarrollo del análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly.



Fuente: elaboración propia

2.4.2.1 Lectura del blanco

Para el análisis se utilizó como blanco agua desionizada, en el cual se obtuvo una lectura asociada al blanco, su preparación se muestra a continuación:

1. En tubos de ensayo de polietileno de 10.0 mL se colocaron 5.0 mL de blanco.
2. Se agregaron en rápida secuencia 100 μ L [2 gotas] de ácido clorhídrico 1+1, y 200 μ L de reactivo de molibdato de amonio, se mezcló bien y se dejó reposar por 6 minutos.
3. Luego se agregaron 200 μ L de disolución de ácido oxálico 10%, se mezcló cuidadosamente y se dejó reposar por 5 minutos.
4. Posteriormente se agregaron 200 μ L del agente reductor, se mezcló suavemente y se dejó reposar por 5 minutos.
5. Después se leyó directamente en el equipo.

2.4.2.2 Lectura de la curva de calibración

Se utilizaron los 6 niveles de concentración de estándar de trabajo y se prepararon como se indicó en el numeral 2.4.2.1., en el cual se obtuvo la relación proporcional entre la concentración de los estándares de trabajo y una determinada señal analítica.

2.4.2.3 Lectura de la muestra

Se utilizaron muestras de vapor condensado de origen geotérmico y se prepararon como se indicó en el numeral 2.4.2.1., en las que se obtuvieron las lecturas de concentración y absorbancia.

2.5 Determinación de los parámetros de validación de los métodos analíticos

A continuación, se describe el procedimiento que se realizó para determinar cada parámetro que se evaluó durante la validación de cada método analítico

2.5.1 Análisis de sulfatos por método colorimétrico

2.5.1.1 Limite de detección y límite de cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se determinan a partir de la regresión lineal de los promedios de 5 curvas de calibración utilizadas para la evaluación del intervalo lineal.

2.5.1.2 Linealidad

La linealidad del método se evaluó mediante el intervalo lineal y el intervalo de trabajo.

- El intervalo lineal se determinó elaborando cinco curvas de calibración a partir de preparaciones independientes de blanco y los 5 estándares de trabajo con concentración de 10, 25, 50, 100 y 125 ppm de Sulfatos.
- El intervalo de trabajo se evaluó utilizando una muestra de agua geotérmica a la cual se le determinó su valor, promediando 10 lecturas de este y luego se fortificó en cinco niveles de concentración por triplicado [10, 30, 50, 60 y 80 ppm].

Cada fortificación se preparó en balones de 100 mL, para la concentración de 10 ppm se agregó 1 mL de estándar certificado de sulfatos y se llevó a un volumen de 100 mL con la muestra de agua geotérmica, para las concentraciones de 30, 50, 60 y 80 ppm se utilizaron volúmenes de 3.0, 5.0, 6.0 y 8.0 mL de estándar certificado.

2.5.1.3 Veracidad

La evaluación de veracidad se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra de agua geotérmica en tres niveles, bajo, medio y alto. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado. Nivel bajo=10 ppm; nivel medio= 50 ppm; nivel alto= 80 ppm. Estas disoluciones fortificadas son las mismas que se prepararon para el intervalo de trabajo.

2.5.1.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

- Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 réplicas de cada uno, para nivel bajo se preparó estándar de 10 ppm de SO_4^{2-} , para nivel medio 60 ppm de SO_4^{2-} y para nivel alto 100 ppm de SO_4^{2-} .
- Para la precisión intermedia se efectuaron 10 réplicas de los 3 niveles de concentración mencionados anteriormente y realizado por un analista suplente que forma parte de la institución, pero es ajeno al proceso de validación, es requisito que el analista titular no realice esta determinación. El analista titular orienta al suplente en esta etapa.

2.5.1.5 Incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre se utilizaron los datos obtenidos durante el proceso de validación para proceder a calcular las etapas que involucran la estimación de incertidumbre como la especificación del mensurando, la agrupación de contribuciones, cuantificación de incertidumbres estándares, combinación de incertidumbres estándares y el cálculo de la incertidumbre expandida

2.5.2 Análisis de sílice monomérica por molibdosilicato

2.5.2.1 Limite de detección y límite de cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se determinan a partir de la regresión lineal de los promedios de 5 curvas de calibración utilizadas para la evaluación del intervalo lineal.

2.5.2.2 Linealidad

La linealidad del método se evaluó mediante el intervalo lineal y el intervalo de trabajo.

- El intervalo lineal se determinó elaborando cinco curvas de calibración a partir de preparaciones independientes de blanco y los 5 estándares de trabajo con concentración de 21.4, 42.8, 85.6, 107.0, 160.5 y 214.0 ppm de Sílice.
- El intervalo de trabajo se evaluó utilizando una muestra de agua geotérmica a la cual se le determinó su valor, promediando 10 lecturas de este y luego se fortificó en cinco niveles de concentración por triplicado [21.4, 42.8, 85.6, 107.0, 160.5 ppm].

Cada fortificación se preparó en balones de 100 mL, para la concentración de 21.4 ppm de sílice se agregó 1 mL de estándar certificado de silicio y se llevó a un volumen

de 100 mL con la muestra de agua geotérmica, para las concentraciones de 42.8, 85.6, 107.0 y 160.5 ppm se utilizaron volúmenes de 2.0, 4.0, 5.0 y 7.5 mL de estándar certificado.

2.5.2.3 Veracidad

La evaluación de veracidad se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra de agua geotérmica en tres niveles, bajo, medio y alto. Estas disoluciones fortificadas son las mismas que se prepararon para el intervalo de trabajo. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado. Nivel bajo=21.4 ppm; nivel medio= 85.6 ppm; nivel alto= 160.5 ppm.

2.5.2.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

- Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 réplicas de cada uno, para nivel bajo se preparó estándar de 21.4 ppm de SiO₂, para nivel medio 107 ppm de SiO₂ y para nivel alto 214 ppm de SiO₂.
- Para la precisión intermedia se efectuaron 10 réplicas de los 3 niveles de concentración mencionados anteriormente y realizado por un analista suplente que forma parte de la institución, pero es ajeno al proceso de validación, es requisito que el analista titular no realice esta determinación. El analista titular orienta al suplente en esta etapa.

2.5.2.5 Incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre se utilizaron los datos obtenidos durante el proceso de validación para proceder a calcular las etapas que involucran la estimación de incertidumbre como la especificación del mensurando, la agrupación de contribuciones, cuantificación de incertidumbres estándares, combinación de incertidumbres estándares y el cálculo de la incertidumbre expandida.

2.5.3 Análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly

2.5.3.1 Limite de detección y límite de cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se determinan a partir de la regresión lineal de los promedios de 5 curvas de calibración utilizadas para la evaluación del intervalo lineal.

2.5.3.2 Linealidad

La linealidad del método se evaluó mediante el intervalo lineal y el intervalo de trabajo.

- El intervalo lineal se determinó elaborando cinco curvas de calibración a partir de preparaciones independientes de blanco y los 6 estándares de trabajo con concentración de 0.214, 0.535, 1.070, 2.140, 3.210, 4.280 ppm de Sílice.
- El intervalo de trabajo se evaluó utilizando una muestra de vapor condensado de origen geotérmico a la cual se le determinó su valor, promediando 10 lecturas de este y luego se fortificó en cinco niveles de concentración por triplicado [0.214, 0.535, 1.07, 2.14 y 3.21 ppm].

Cada fortificación se preparó en balones de 100 mL, para la concentración de 0.214 ppm de sílice se agregó 1 mL de estándar de trabajo de sílice de 21.4 ppm, luego se llevó a un volumen de 100 mL con la muestra de vapor condensado de origen geotérmico, para las concentraciones de 0.535, 1.07, 2.14 y 3.21 ppm se utilizaron volúmenes de 2.5, 5.0, 10.0 y 7.5 mL de estándar certificado. La fortificación de 3.21 ppm se preparó en un balón de 50 mL.

2.5.3.3 Veracidad

La evaluación de veracidad se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra de vapor condensado de origen geotérmico en tres niveles, bajo, medio y alto. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado. Nivel bajo= 0.214 ppm; nivel medio= 2.14 ppm; nivel alto= 3.21 ppm. Estas disoluciones fortificadas son las mismas que se prepararon para el intervalo de trabajo.

2.5.3.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

- Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 réplicas de cada uno, para nivel bajo se preparó estándar de 0.214 ppm de SiO₂, para nivel medio 2.14 ppm de SiO₂ y para nivel alto 4.28 ppm de SiO₂.
- Para la precisión intermedia se efectuaron 10 réplicas de los 3 niveles de concentración mencionados anteriormente y realizado por un analista suplente que forma parte de la institución, pero es ajeno al proceso de validación, es requisito que el analista titular no realice esta determinación. El analista titular orienta al suplente en esta etapa.

2.5.3.5 Incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre se utilizaron los datos obtenidos durante el proceso de validación para proceder a calcular las etapas que involucran la estimación de incertidumbre como la especificación del mensurando, la agrupación de contribuciones, cuantificación de incertidumbres estándares, combinación de incertidumbres estándares y el cálculo de la incertidumbre expandida.

2.6 Implementación de los métodos analíticos en estudio

Para la implementación de los métodos analíticos a validar se realizaron 10 lecturas de muestras independientes de agua geotérmica y vapor condensado de origen geotérmico para cada determinación.

Para el análisis de sulfatos se hicieron 10 lecturas de 10 muestras independientes utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454, equipo en el cual se realizó la validación de los tres métodos analíticos en estudio, los resultados se compararon con los resultados obtenidos leyendo las mismas muestras en el espectrofotómetro UV-Vis Agilent 8453 equipo que posee los métodos analíticos validados.

La comparación de los resultados obtenidos en ambos equipos se realizó con el contraste t para datos emparejados calculando el estadístico t como se muestra en la ecuación 23, para la comparación del estadístico t se utilizó un nivel de confianza del 95%.

Este mismo procedimiento se ejecutó para la implementación del análisis de sílice monomérica y sílice de azul de heteropoly.

Capítulo III. Análisis de resultados

3.1 Validación de análisis de sulfatos por método colorimétrico

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de validación evaluados.

3.1.1 Límite de detección y límite de cuantificación

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación, de acuerdo a lo establecido en la metodología, se obtuvieron para los 5 estándares de trabajo¹² los resultados se muestran en la tabla 6:

Tabla 6

Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC y LDD.

Nivel de concentración [ppm]	Curvas de calibración [Absorbancia]					Promedio de curvas [ABS]
	1	2	3	4	5	
10	0.060	0.084	0.081	0.078	0.076	0.0758
25	0.168	0.188	0.180	0.199	0.177	0.1823
50	0.359	0.369	0.383	0.392	0.375	0.3754
100	0.741	0.725	0.773	0.761	0.749	0.7497
125	0.935	0.911	0.973	0.978	0.921	0.9436

Fuente: elaboración propia.

El límite de detección y el límite de cuantificación se calcula a partir de la curva de calibración promedio generada durante la validación del método, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, utilizando el valor de distribución t para dos colas de 3.18 valor correspondiente para un nivel de confianza del 95%, obteniendo los siguientes resultados:

$$y = bx + a \quad \text{Ec. 24}$$

$$\text{Pendiente (b): } 0.0076 \frac{\text{abs}}{\text{ppm}} \quad S_{y/x} = 0.0035 \text{ abs}$$

$$\text{Intercepto (a): } -0.0030 \text{ abs} \quad S_a = 0.0027 \text{ abs}$$

¹² Para la preparación de estándares de trabajo se utilizó el estándar certificado de sulfatos trazable a NIST 1000 mg/L en agua marca MERCK Lote: HC90775013

Luego utilizando las ecuaciones 1 y 2 se calcula el LDD y LDC de la siguiente forma:

$$LDD = a + 3S_{y/x} = -0.0030 + 3(0.0035) = 0.007504 \text{ abs}$$

$$LDC = a + 10S_{y/x} = -0.0030 + 10(0.0035) = 0.032033 \text{ abs}$$

A partir de los resultados calculados para el LDD y LDC, se procede a calcular la concentración para los límites a partir de la ecuación 24.

Para el límite de detección: $x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.007504 - (-0.0030)}{0.0076} = 1.39 \text{ ppm}$

Para el límite de cuantificación: $x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.032033 - (-0.0030)}{0.0076} = 4.64 \text{ ppm}$

Según los resultados anteriores se estableció que el límite de cuantificación del método colorimétrico de sulfatos es de 4.64 ppm y el límite de detección es 1.39 ppm.

3.1.2 Linealidad

La linealidad del método de análisis de sulfatos por método colorimétrico se determinó mediante la evaluación del intervalo lineal y el intervalo de trabajo como se detalla a continuación:

3.1.2.1 Intervalo lineal

El intervalo lineal se calcula a partir de los promedios de las 5 curvas de calibración generadas durante la validación del método mostrados en la tabla 6.

Según estos resultados se determina el valor promedio de absorbancia para cada nivel representado por “Yi” el cual se grafica en función de la concentración “Xi”, luego se utiliza el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión, como se muestra en la tabla 7:

Tabla 7

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de la linealidad del análisis de sulfatos.

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i [ppm]	10.0	25.0	50.0	100.0	125.0	62.00	310.00
Y_i [abs]	0.0758	0.1823	0.3754	0.7497	0.9436	0.47	2.30
$X_i - \bar{X}$	-52.00	-37.00	-12.00	38.00	63.00	0.00	0.00

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
$Y_i - \bar{Y}$	-0.3896	-0.2831	-0.0899	0.2843	0.4783	0.00	0.00
$(X_i - \bar{X})^2$	2704.00	1369.00	144.00	1444.00	3969.00	1926.00	9630.00
$(Y_i - \bar{Y})^2$	0.1518	0.0801	0.0081	0.0808	0.2287	0.11	0.50
\hat{y}	0.0758	0.1823	0.3754	0.7497	0.9436	0.47	2.30
$Y_i - \hat{y}$	0.0032	-0.0036	0.0007	-0.0027	0.0023	0.00	0.00
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.0000105	0.0000129	0.0000005	0.0000075	0.0000055	0.0000074	0.0000368
X^2	100	625	2500	10000	15625	5770.00	28850.00

Fuente: elaboración propia.

De los resultados obtenidos en la tabla anterior del método de regresión de mínimos cuadrados se calcula el coeficiente de correlación r , pendiente b , e intercepto a , a través de los cuales se calcula el intervalo de confianza del intercepto a a un nivel de 95%. En la tabla 8 se presentan estos cálculos.

Tabla 8

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación de la linealidad del análisis de sulfatos.

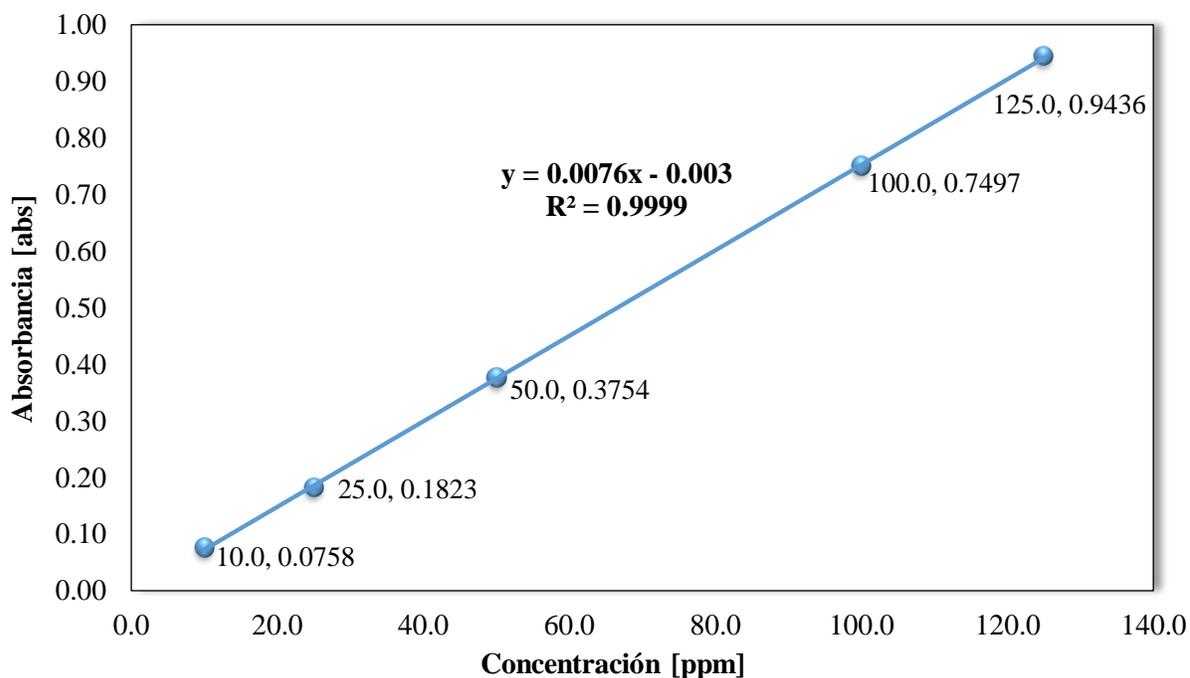
Variable	Ecuación	Resultado
Coeficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	0.9999
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	0.0076 abs/ppm
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	-0.0030 abs
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$s_{y/x} = \sqrt{\frac{(0.0000368)^2}{3}}$	0.0035 abs
Desviación estándar del intercepto [S_a]	$s_a = 0.0035 \sqrt{\frac{28850}{5(9630)}}$	0.0027 abs
Intervalo de confianza del intercepto	$-0.0030 \pm (3.18)(0.0027)$	-0.01164 abs [inferior] 0.00562 abs [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica promedio de absorbancia contra concentración se muestra en la figura 12.

Figura 12

Curva de calibración promedio para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. De agosto a septiembre 2021.

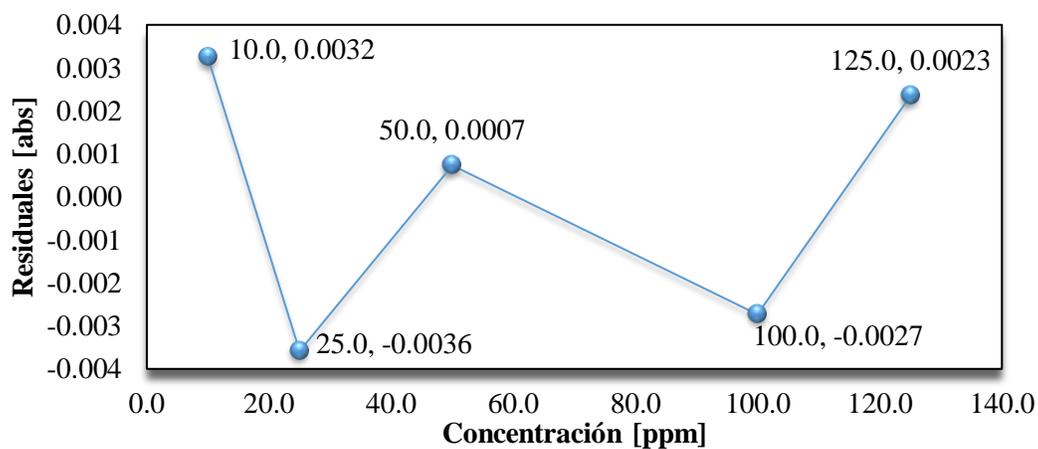


Fuente: elaboración propia

Con base a los datos mostrados en la tabla 7 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales.

Figura 13

Gráfico de residuales para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. De agosto a septiembre 2021.



Fuente: elaboración propia.

Del gráfico de residuales anterior cabe resaltar que los valores en la diferencia obtenida por $y_i - \hat{y}$ son pequeños, incluso son valores menores que el LDD y LDC, por tanto, las curvas de calibración con las que se obtiene la curva promedio son muy parecidas.

De acuerdo a los criterios de aceptación establecidos por la OSA para el intervalo lineal se concluye lo siguiente:

- Comportamiento lineal en la gráfica de absorbancia vs concentración.
- El intervalo de confianza del intercepto tiene un valor de -0.01164 abs a 0.00562 abs el cual incluye el cero.
- En el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

3.1.2.2 Intervalo de trabajo

Para la evaluación del intervalo de trabajo se utilizó una muestra de agua geotérmica nombrada con el código 2021-1306 a la cual se le determinó su valor, promediando 10 lecturas de preparaciones independientes, el resultado se muestra en la tabla 9:

Tabla 9

Determinación del valor de la muestra 2021-1306 para evaluación del intervalo de trabajo.

Código de muestra	Lecturas/concentración [ppm]										Promedio [ppm]
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2021-1306	43.09	43.17	43.66	43.63	43.66	43.66	44.44	42.79	42.76	44.07	43.49

Fuente: elaboración propia.

Para establecer el rango de interés para la fortificación de la muestra, se establece como valor inferior la menor concentración de los estándares de trabajo utilizados, y para el valor superior se resta el nivel más alto de concentración de la disolución estándar de trabajo [125 ppm] menos el promedio de la muestra de agua geotérmica mostrado en la tabla 9, de la siguiente forma:

$$\text{nivel alto de estándar de trabajo} - \text{valor promedio de la muestra}$$

$$125 \text{ ppm} - 43.49 \text{ ppm} = 81.51 \text{ ppm}$$

El rango de interés logrado es de 10 ppm hasta 81.51 ppm, por tanto, los 5 niveles de concentración establecidos son de 10, 30, 50, 60 y 80 ppm, estas disoluciones fortificadas se leyeron por triplicado en preparaciones independientes [tabla 10].

Tabla 10

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1306 en cinco niveles por triplicado.

Lecturas	Lecturas de las muestras fortificadas [ppm]				
	Disolución fortificada de 10.0 ppm	Disolución fortificada de 30.0 ppm	Disolución fortificada de 50.0 ppm	Disolución fortificada de 60.0 ppm	Disolución fortificada de 80.0 ppm
	1	52.62	72.91	91.23	105.87
2	53.23	73.83	94.52	105.95	119.96
3	53.15	71.92	88.99	107.04	116.40

Nota: el valor de concentración de la muestra promedio fue 43.49 ppm.

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados anteriores se calculó la concentración recuperada de cada una de las muestras fortificadas de la siguiente manera:

$$\text{muestra fortificada} - \text{valor promedio de la muestra}$$

Los resultados de las concentraciones recuperadas se muestran en la tabla 11:

Tabla 11

Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1306 en cinco niveles por triplicado.

Disoluciones fortificadas [ppm]	Concentración recuperada [ppm]/lecturas			
	1	2	3	Promedio
10	9.13	9.74	9.66	9.51
30	29.42	30.34	28.43	29.40
50	57.74	51.03	45.50	48.10
60	62.38	62.46	63.55	62.80
80	78.69	76.47	72.91	76.02

Fuente: elaboración propia.

Según los resultados de la concentración recuperada se determina el valor promedio de cada nivel representado por “Yi” el cual se grafica en función de la concentración de cada fortificación “Xi”, luego se utiliza el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión, como se presenta en la tabla 12:

Tabla 12

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación del intervalo de trabajo para análisis de sulfatos

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i [ppm]	10.0	30.0	50.0	60.0	80.0	46.0000	230.0000
Y_i [ppm]	9.5070	29.4000	48.0883	62.7967	76.0233	45.1631	225.8253
$X_i - \bar{X}$	-36.0000	-16.0000	4.0000	14.0000	34.0000	0.0000	0.0000
$Y_i - \bar{Y}$	-35.6561	-15.7631	2.9253	17.6336	30.8603	0.0000	0.0000
$(X_i - \bar{X})^2$	1296.00	256.00	16.00	196.00	1156.00	584.0000	2920.0000
$(Y_i - \bar{Y})^2$	1271.3551	248.4743	8.5572	310.9438	952.3561	558.3373	2791.6865
\hat{y}	10.1044	29.5814	49.0585	58.7970	78.2740	45.1631	225.8153
$Y_i - \hat{y}$	-0.5974	-0.1814	-0.9701	3.9997	-2.2507	0.0000	0.0000
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.3569	0.0329	0.9412	15.9974	5.0657	4.4788	22.3940
X^2	100	900	2500	3600	6400	2700	13500

Fuente: elaboración propia.

A partir de los resultados anteriores obtenidos del método de regresión de mínimos cuadrados, se calcula el coeficiente de correlación r , pendiente b , e intercepto a , a través de los cuales se calcula el intervalo de confianza de la pendiente a un nivel de 95%. En la tabla 13, se presentan estos cálculos.

Tabla 13

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación del intervalo de trabajo para análisis de sulfatos.

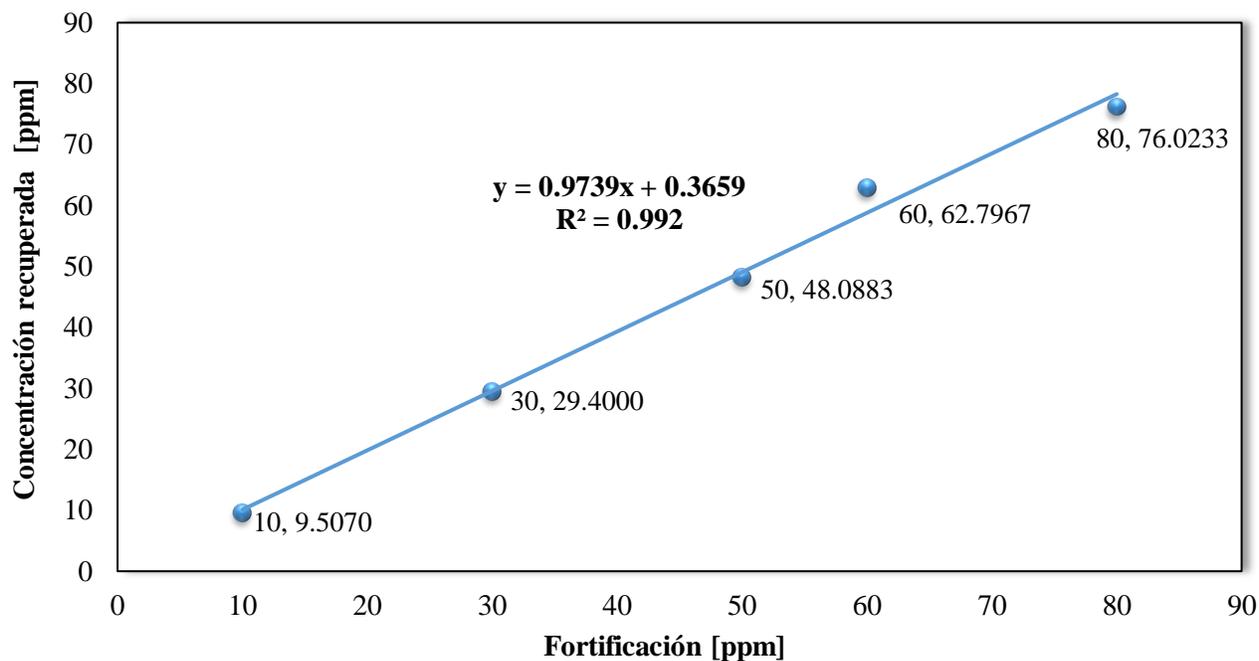
Variable	Ecuación	Resultado
Coeficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	0.99598
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	0.9739
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	0.3659 ppm
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$s_{y/x} = \sqrt{\frac{(22.3940)^2}{3}}$	2.7322 ppm
Desviación estándar de la pendiente [S_b]	$s_b = \frac{2.7322}{\sqrt{2920}}$	0.0506
Intervalo de confianza de la pendiente	$0.9739 \pm (3.18)(0.0506)$	0.8129 [inferior] 1.1348 [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica promedio de concentración recuperada contra fortificación de muestra en la figura 14:

Figura 14

Gráfica de concentración promedio recuperada contra fortificación para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Septiembre 2021.

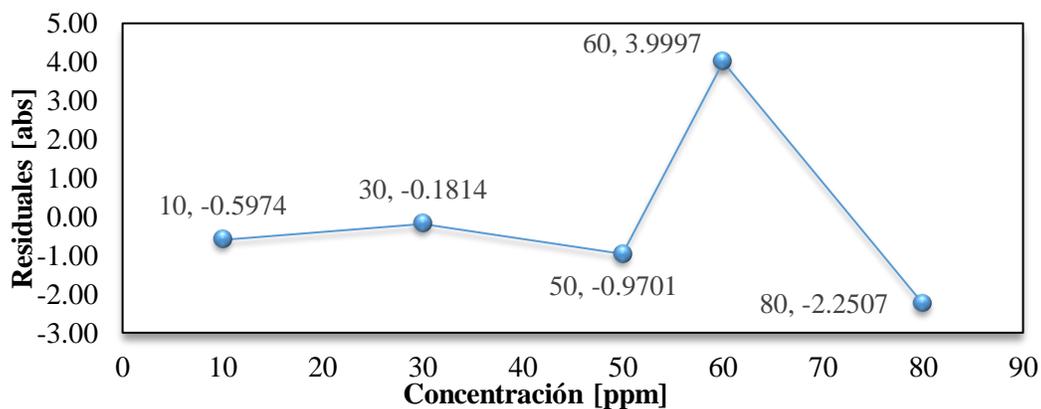


Fuente: elaboración propia.

Con base a los datos mostrados en la tabla 12 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales.

Figura 15

Gráfico de residuales para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Septiembre 2021.



Fuente: elaboración propia

Del gráfico de residuales podemos observar que para el nivel de concentración de 60 y 80 ppm, los valores se alejan más de la recta obtenida por el método de regresión, esta diferencia se ve reflejada en el gráfico de la curva de calibración promedio ya que las absorbancias correspondientes a esas concentraciones no pasan sobre la línea recta.

Resumiendo, los resultados planteados anteriormente y de acuerdo a los criterios de aceptación establecido por la OSA para el intervalo de trabajo se concluye lo siguiente:

- Mediante los resultados mostrados se observa que el coeficiente de correlación tiene un valor de 0.99598 el cual es mayor al criterio de 0.98.
- El intervalo de confianza de la pendiente tiene un valor de 0.8129 a 1.1348 el cual incluye la unidad; y el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

Por tanto, para el parámetro de linealidad la evaluación del intervalo de trabajo cumple con los criterios de aceptación y la matriz de trabajo se comporta de manera lineal.

3.1.3 Veracidad

La evaluación de veracidad se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra 2021-1306 en tres niveles, bajo: 10 ppm, medio: 50 ppm y alto: 80 ppm. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado, los resultados se presentan en la tabla 14:

Tabla 14

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1306 en tres niveles de concentración.

Lecturas	Nivel bajo [ppm]	Nivel medio [ppm]	Nivel alto [ppm]
	Disolución fortificada de 10 ppm	Disolución fortificada de 50 ppm	Disolución fortificada de 80 ppm
1	52.62	91.23	122.18
2	53.23	94.52	119.96
3	53.15	88.99	116.40
4	-	97.49	-
5	-	97.57	-
6	-	97.31	-

- Ausencia de dato

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados anteriores se calcula el porcentaje de recobro de cada lectura para los tres niveles de concentración utilizando la ecuación 8 con un valor promedio de muestra previamente establecido de 43.49 ppm.

$$\%Recobro = \frac{52.62 \text{ ppm} - 43.39 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100 = 91.3 \%$$

En la tabla 15, se presentan los resultados de los porcentajes de recobro obtenidos para las diferentes concentraciones:

Tabla 15

Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1306 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto.

Nivel de concentración [ppm]	Resultado [ppm]	Recobrado [ppm]	%[R]	%[R] Aceptable	Aceptable
10	52.62	9.13	91.3		Sí
10	53.23	9.74	97.4		Sí
10	53.15	9.66	96.6		Sí
Promedio nivel bajo			95.1		Sí
50	91.23	47.74	95.5		Sí
50	94.52	51.03	102.1	80-110	Sí
50	88.99	45.50	91.0		Sí
50	97.49	54.00	108.0		Sí
50	97.57	54.08	108.2		Sí
50	97.31	53.82	107.6		Sí
Promedio nivel medio			102.1		Sí
80	122.18	78.69	98.4		Sí
80	119.96	76.47	95.6	90-107	Sí
80	116.40	72.91	91.1		Sí
Promedio nivel alto			95.0		Sí

Fuente: elaboración propia.

Es importante percatarse del resultado anterior que en cuanto a los porcentajes de recobros existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

De acuerdo con el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el % de recobro aceptable durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta

lo especificado en la tabla 1. Por ende, los porcentajes de recobro evaluados están entre 91.0 a 108.2 %, por tanto, están dentro de los límites aceptables y cumplen la prueba de veracidad.

3.1.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

1. Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 lecturas de cada uno, para nivel bajo se usó el estándar de 10 ppm de SO_4^{2-} , para nivel medio 60 ppm de SO_4^{2-} y para nivel alto 100 ppm de SO_4^{2-} [tabla 16]. Para calcular el %CV de las diferentes concentraciones se emplea la ecuación 10.

Tabla 16

Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV.

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 10 ppm	Estándar 60 ppm	Estándar de 100 ppm
1	9.920	59.655	99.082
2	9.803	59.755	99.243
3	9.993	59.808	100.880
4	10.103	59.759	100.480
5	10.081	60.175	101.340
6	10.001	60.099	99.783
7	10.052	60.561	98.179
8	9.947	60.684	99.437
9	9.961	60.492	99.184
10	9.960	60.698	100.290
Promedio	9.982	60.169	99.790
S₁	0.087	0.414	0.955
%CV	0.9	0.7	1.0

Fuente: elaboración propia.

Del resultado anterior en cuanto a los valores de concentración para cada estándar se puede observar que existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

Con base en el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el %CV durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado en la tabla 2. Por tanto, el criterio de precisión utilizado es el siguiente: el %CV no debe ser mayor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto. Con esto se concluye que debido a que en ninguno de los niveles sobrepasa el criterio de %CV, se acepta que existe precisión como repetibilidad entre los resultados.

2. Para la precisión intermedia el analista suplente efectúa 10 lecturas de cada uno de los estándares mencionados anteriormente en condiciones operativas diferentes.

La evaluación de la precisión intermedia se realiza mediante ANOVA, los resultados obtenidos correspondientes a la investigadora se presentan en la tabla 16. Los análisis se repitieron para el analista suplente y los resultados se muestran en la tabla 17:

Tabla 17

Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto realizados por el analista suplente.

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 10 ppm	Estándar 60 ppm	Estándar de 100 ppm
1	10.234	60.642	97.139
2	10.138	60.559	97.211
3	10.172	60.504	98.058
4	10.203	60.495	97.877
5	10.272	60.515	97.976
6	10.269	60.559	97.941
7	10.378	60.654	97.875
8	10.350	60.558	97.794
9	10.059	60.841	97.815
10	10.430	60.887	97.991
Promedio	10.25	60.62	97.77
S₂	0.11	0.14	0.32
%CV	1.11	0.23	0.33

Fuente: elaboración propia.

Llama la atención que a diferencia de los resultados de la tabla 16, se puede definir que los resultados del analista suplente presentan menor aleatoriedad, lo que podría relacionarse con un error sistemático en las lecturas.

El cálculo de ANOVA involucra la determinación de varianza entre grupos [S_b] y dentro de los grupos [S_w], donde la estimación de S_w representa la contribución de la medida de la repetibilidad.

Con los resultados anteriores se ejemplifica el cálculo de la ecuación 10 para determinar la varianza dentro de los grupos [S_w] en nivel bajo como se muestra a continuación:

$$S_w = S_{pool} = \sqrt{\frac{(9)*0.09^2 + (9)*0.11^2}{(10+10)-2}} = 0.101$$

Luego se calcula el %CV a partir del ANOVA empleando la ecuación 11 de la siguiente forma:

$$\%CV_{pool} = \sqrt{\frac{\frac{(9)*0.09^2}{9.98^2} + \frac{(9)*0.11^2}{10.25^2}}{(10 + 10)-2}} \times 100 = 1.00$$

El %CV_{pool} calculado a partir de ANOVA para los diferentes niveles de concentración se indican en la tabla 18:

Tabla 18

Resultados del %CV para la evaluación de la precisión intermedia.

Variable	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 10 ppm	Estándar 60 ppm	Estándar de 100 ppm
$S_w=S_{pool}$	0.101	0.309	0.713
%CV _{pool}	1.0	0.5	0.7

Fuente: elaboración propia.

Basándose en el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el % CV_{pool} durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado en la tabla 2. Por tanto, el criterio de precisión que se utiliza es el siguiente: el %CV_{pool} no debe ser mayor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.

Con lo expuesto anteriormente se concluye que debido a que en ninguno de los niveles se sobrepasa el criterio de %CV_{pool}, se acepta que existe precisión intermedia entre los resultados.

Con esto se concluye la determinación de los parámetros de validación para el análisis de sulfatos por método colorimétrico. A continuación, se presenta la estimación de su incertidumbre.

3.2 Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sulfatos por método colorimétrico

Para la estimación de la incertidumbre se siguieron una serie de etapas que se detallan a continuación:

3.2.1 Especificación del mensurando

En primer lugar, se especificó el mensurando como la concentración de sulfatos en muestras de agua de origen geotérmico.

3.2.2 Modelo matemático

El modelo matemático a utilizar para la determinación de la concentración de sulfatos, se muestra en la ecuación 12.

3.2.3 Fuentes de incertidumbre

Se establecen las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica, utilizando el diagrama causa-efecto mostrado en la figura 6.

3.2.4 Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]

A partir de la definición de los factores que influyen en la incertidumbre del método, se establece que la incertidumbre combinada [U_{CO}] se calcula con la ecuación 13. A continuación, se detalla el cálculo de cada una de las incertidumbres estándar consideradas en la incertidumbre combinada:

3.2.4.1 Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]

La estimación de la incertidumbre debida al modelo matemático se divide en dos componentes:

U_{INT} : Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración.

U_{MR} : Incertidumbre debida al modelo regresión lineal por mínimos cuadrados.

La incertidumbre debida al modelo matemático viene dada por la ecuación 14, el cálculo de cada uno de los componentes se detalla a continuación:

1. Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}].

Para este cálculo se determinan los coeficientes de sensibilidad considerados en la ecuación 15, el valor del intercepto de la curva de calibración b_0 y la pendiente de la curva de calibración b_1 , así como sus incertidumbres U_{b_0} y U_{b_1} , se obtienen a partir de las curvas de calibración, elaboradas durante la validación [tabla 6]; el cálculo de dichas incertidumbres se realiza de la siguiente forma:

$$U = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 25}$$

En la tabla 19, se muestran los resultados obtenidos:

Tabla 19

Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre para el análisis de sulfatos.

Variables	Curvas de calibración					Promedio	Desviación estándar	U
	1	2	3	4	5			
b_0	-0.02028	0.00983	-0.00632	0.00271	-0.00099	-0.00301	0.00823	0.003681
b_1	0.00763	0.00719	0.00781	0.00772	0.00742	0.00755	0.00020	0.000089

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que:

$$b_0 = -0.00301 \quad y \quad U_{b_0} = 0.003681 \quad b_1 = 0.00755 \quad y \quad U_{b_1} = 0.000089$$

El valor de la absorbancia [A] se obtiene a partir del promedio de absorbancia de las 10 lecturas de la muestra de agua geotérmica utilizada, durante la validación del método de sulfatos por método colorimétrico. El porcentaje de transmitancia [%T] para cada lectura se calcula con la siguiente ecuación:

$$\%T = \frac{1}{10^{ABS}} \quad \text{Ec. 26}$$

En la tabla 20 se presentan los resultados para las 10 lecturas de la muestra:

Tabla 20

Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1306.

Lecturas	Muestra 2021-1306		
	Concentración [ppm]	Absorbancia	%T
1	43.09	0.29846	50.29676
2	43.17	0.29903	50.23079
3	43.66	0.3027	40.80810

Lecturas	Muestra 2021-1306		
	Concentración [ppm]	Absorbancia	%T
4	43.63	0.30243	49.83908
5	43.66	0.30272	49.80581
6	43.66	0.30268	49.81040
7	44.44	0.30841	49.15752
8	42.79	0.29624	50.55452
9	42.76	0.29606	50.57548
10	44.07	0.30574	49.46067
Promedio	43.49	0.30145	49.95391
Desviación estándar	0.54	0.00399	0.45896

Fuente: elaboración propia.

El valor de la incertidumbre de la absorbancia [U_A], es la combinación de las incertidumbres del ruido fotométrico, precisión fotométrica y repetibilidad del %T [ecuación 17].

$$U_A = \sqrt{(U_R)^2 + (U_P)^2 + (U_{RT})^2}$$

El valor de incertidumbre del ruido fotométrico [U_R] es de 0.000333333 y precisión fotométrica [U_P] es de $U_P = 0.000333333$, estos valores son obtenidos a partir del certificado de calibración del Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454, que fue efectuado el 27 de septiembre de 2021.

La incertidumbre debida a la repetibilidad del %T [U_{RT}], es calculada a partir de la ecuación 18. Donde la incertidumbre debida a la transmitancia [U_T] es calculada mediante la ecuación 19. Sustituyendo los valores en las ecuaciones 19 y 18 se tiene que:

$$U_T = \frac{0.45896}{\sqrt{10}} = 0.14514 \quad \text{y} \quad U_{RT} = 0.434294 \frac{0.14514}{10^{(2-0.30145)}} = 0.001261838$$

Por tanto, se conoce que:

$$U_{RT} = 0.001261838$$

$$U_R = 0.000333333$$

$$U_P = 0.000333333$$

Luego se calcula la incertidumbre debida a la absorbancia [U_A] de la siguiente forma:

$$U_A = \sqrt{(0.000333333)^2 + (0.000333333)^2 + (0.001261838)^2} = 0.001347018$$

A partir de los datos anteriores se calculan los coeficientes de sensibilidad:

$$cA = \frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.00755} = 132.3732978$$

$$cb_0 = -\frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.00755} = -132.3732978$$

$$cb_1 = \frac{A-b_0}{b_1^2} = \frac{0.30145 - (-0.00301)}{0.00755^2} = 5334.886103$$

Conociendo los coeficientes de sensibilidad se sustituyen en la ecuación 15 para la estimación de la incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}].

$$U_{INT} = \sqrt{(U_A^2 * cA^2) + (U_{b_0}^2 * cb_0^2) + (U_{b_1}^2 * cb_1^2)}$$

$$U_{INT} = \sqrt{(0.031794164) + (0.237393526) + (0.227405161)} = 0.704693445$$

2. Incertidumbre debida al modelo de regresión lineal [U_{MR}]

La incertidumbre debida al modelo de regresión lineal es calculada utilizando el promedio de las curvas de calibración [tabla 7], así también, se hace uso del promedio de la absorbancia obtenida de la muestra de origen geotérmico, ambos a partir de los ensayos efectuados durante el proceso de validación del procedimiento de análisis de sulfatos.

De la tabla 8 se conocen los datos de $b=0.0076$, $S_{y/x}=0.0035$ y se sabe que $n=5$ [niveles de concentración] y $m=5$ [número de curvas], con estos datos se procede a calcular el valor de la incertidumbre estándar debida al modelo de regresión lineal [S_{xo}], como se ejemplifica a continuación:

$$S_{xo} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right) + \frac{(Y_i - \hat{y})^2}{b^2 * \sum(X_i - X_{prom})^2}}$$

$$S_{xo} = 0.4638 \sqrt{\left(\frac{1}{5} + \frac{1}{5}\right) + \frac{0.0000074}{0.0076^2 * 9630}} = 0.2934$$

A partir del valor de $S_{xo} = 0.2934$, se puede estimar la incertidumbre debida al modelo de regresión lineal usando la ecuación 21.

$$U_{MR} = \frac{S_{xo}}{\sqrt{n}} = \frac{0.2934}{\sqrt{5}} = 0.1312$$

Conociendo los valores de U_{INT} y U_{MR}, se puede calcular la incertidumbre debida al modelo matemático, sustituyendo lo valores encontrados en la ecuación 14.

$$U_{MM} = \sqrt{(U_{INT})^2 + (U_{MR})^2}$$

$$U_{MM} = \sqrt{(0.704693445)^2 + (0.131200453)^2} = 0.71680$$

3.2.4.2 Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}]

La incertidumbre debida a la repetibilidad de la muestra es calculada a partir de la desviación estándar del valor promedio de sulfatos presentes en la muestra 2021-1306 [tabla 20] analizada durante el proceso de validación del método. El cálculo se describe a continuación:

$$U_{RP} = \frac{0.54077}{\sqrt{10}} = 0.17101$$

Con los cálculos mostrados anteriormente se procede a estimar la incertidumbre combinada utilizando la ecuación 13, el resultado que se obtiene se muestra a continuación:

$$U_{CO} = \sqrt{(U_{MM})^2 + (U_{RP})^2}$$

$$U_{CO} = \sqrt{(0.71680)^2 + (0.17101)^2} = 0.73692$$

3.2.5 Estimación de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida [U_E] se obtiene de multiplicar la incertidumbre combinada [U_{CO}] por el factor de cobertura $K=2$, obteniendo así una expresión de incertidumbre del 95% de confianza.

$$U_E = 0.73692 * 2 = 1.47384$$

La concentración de sulfatos en la muestra de agua geotérmica analizada durante el proceso de validación estaría expresada como:

$$\mathbf{43.492 \pm 1.474 \text{ ppm}}$$

Debido a la interpretación más lógica de la incertidumbre el resultado final debe expresarse de la siguiente manera:

$$\mathbf{43.5 \pm 1.5 \text{ ppm}}$$

La incertidumbre expandida relativa o precisión de la determinación es:

$$\%p = \frac{1.5}{43.5} \times 100\% = 3.45\%$$

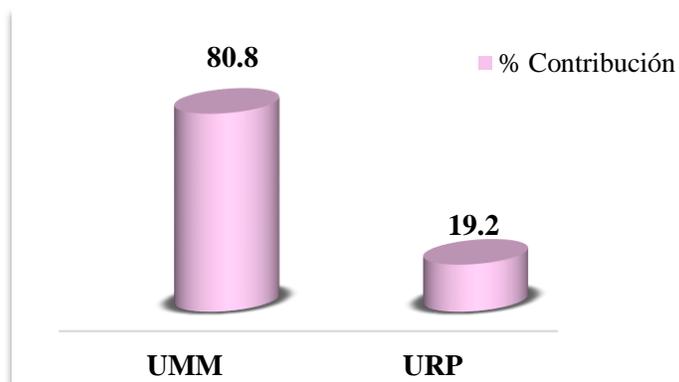
$$\%p = 3.45\%$$

3.2.5 Porcentaje de contribución de las variables

La contribución de las incertidumbres para el análisis de sulfatos por método colorimétrico se observa en la figura 16:

Figura 16

Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sulfatos por método colorimétrico.



Fuente: elaboración propia.

3.3 Implementación del análisis de sulfatos por método colorimétrico

Para la implementación del análisis de sulfatos por método colorimétrico se realizaron 10 lecturas de muestras independiente de agua geotérmica provenientes de Ahuachapán, utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454, también se leyeron las mismas muestras usando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent 8453 ambos resultados se compararon mediante el contraste t de datos emparejados para un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 21 se muestran los resultados obtenidos en ambos equipos, así como la diferencia entre cada par de datos:

Tabla 21

Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.

Muestra	Espectrofotómetro UV-Vis 8454	Espectrofotómetro UV-Vis 8453	Diferencia [d]
1	13.537	13.560	-0.023
2	21.351	25.089	-3.738
3	16.272	15.573	0.699
4	25.455	24.220	1.235

5	15.548	16.363	-0.815
6	25.702	24.056	1.646
7	13.664	13.552	0.112
8	23.202	20.875	2.327
9	23.265	22.280	0.985
10	24.227	23.512	0.715
Promedio			0.314
Desviación estándar			1.676

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que la diferencia promedio $[\bar{d}]$ es de 0.314 y la desviación estándar de la diferencia $[s_d]$ es de 1.676, estos valores se sustituyen en la ecuación 23 para calcular el valor del estadístico t.

$$|t_{calculada}| = \frac{0.314\sqrt{10}}{1.676} = 0.593$$

El valor del estadístico t calculado se compara con el valor crítico de $|t|$ para un nivel de confianza del 95% el cual es de $t_g = 2.26$

Debido a que el valor calculado de $|t|$ es menor que el reportado en tablas, se puede concluir que los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sulfatos en muestras de agua geotérmica al nivel de 95%.

3.4 Validación de análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato

Los resultados obtenidos de los diferentes parámetros de validación se detallan a continuación:

3.4.1 Limite de detección y límite de cuantificación

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación, con base a lo establecido en la metodología, se obtuvieron para los 5 estándares de trabajo¹³ los resultados que se presentan en la tabla 22:

¹³ Para la preparación de los estándares de trabajo se utilizó el estándar certificado de silicio trazable a NIST 1000 mg/L en agua marca MERCK Lote: HC01345036.

Tabla 22

Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC y LDD.

Nivel de concentración [ppm]	Curvas de calibración [Absorbancia]					Promedio de curvas [Abs]
	1	2	3	4	5	
21.4	0.061	0.057	0.056	0.059	0.057	0.0579
42.8	0.117	0.118	0.114	0.119	0.117	0.1171
107.0	0.293	0.288	0.290	0.294	0.291	0.2910
160.5	0.435	0.440	0.439	0.446	0.437	0.4396
214.0	0.589	0.584	0.582	0.601	0.581	0.5872

Fuente: elaboración propia.

El límite de detección y el límite de cuantificación se calcula a partir de la curva de calibración promedio generada durante la validación del método, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, utilizando el valor de distribución t para dos colas de 3.18 valor correspondiente a nivel de confianza del 95%, obteniendo los siguientes resultados:

$$y = bx + a$$

$$\text{Pendiente (b): } 0.0027 \frac{\text{abs}}{\text{ppm}}$$

$$S_{y/x} = 0.0012 \text{ abs}$$

$$\text{Intercepto (a): } -0.0012 \text{ abs}$$

$$S_a = 0.0010 \text{ abs}$$

Luego utilizando las ecuaciones 1 y 2 se calcula el LDD y LDC de la siguiente forma:

$$LDD = a + 3S_{y/x} = -0.0012 + 3(0.0012) = 0.002333 \text{ abs}$$

$$LDC = a + 10S_{y/x} = -0.0012 + 10(0.0012) = 0.010511 \text{ abs}$$

A partir de los resultados calculados para el LDD y LDC, se procede a calcular la concentración para los límites a partir de la ecuación 24.

$$\text{Para el límite de detección: } x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.002333 - (-0.0012)}{0.0027} = 1.28 \text{ ppm}$$

$$\text{Para el límite de cuantificación: } x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.010511 - (-0.0012)}{0.0027} = 4.25 \text{ ppm}$$

Según los resultados anteriores se estableció que el límite de cuantificación del método colorimétrico de sílice monomérica es de 4.25 ppm y el límite de detección es 1.28 ppm.

3.4.2 Linealidad

La linealidad del método de análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato se determinó mediante la evaluación del intervalo lineal y el intervalo de trabajo como se explica a continuación:

3.4.2.1 Intervalo lineal

El intervalo lineal se calcula a partir de los promedios de las 5 curvas de calibración generadas durante la validación del método mostrados en la tabla 22.

Según estos resultados se determina el valor promedio de absorbancia para cada nivel representado por “Yi” el cual se grafica en función de la concentración “Xi”, luego se utiliza el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión [tabla 23].

Tabla 23

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de linealidad del análisis de sílice monomérica.

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i (ppm)	21.4	42.8	107.0	160.5	214.0	109.14	545.7
Y_i (abs)	0.0579	0.1171	0.2910	0.4396	0.5872	0.30	1.50
$X_i - \bar{X}$	-87.74	-66.34	-2.14	51.36	104.86	0.00	0.00
$Y_i - \bar{Y}$	-0.2406	-0.1815	-0.0076	0.1410	0.2887	0.00	0.00
$(X_i - \bar{X})^2$	7698.31	4401.00	4.58	2637.85	10995.62	5147.47	25737.40
$(Y_i - \bar{Y})^2$	0.0579	0.0329	0.0001	0.0199	0.0833	0.04	0.20
\hat{y}	0.0576	0.1164	0.2927	0.4396	0.5865	0.30	1.50
$Y_i - \hat{y}$	0.0003	0.0007	-0.0017	0.0000	0.0007	0.00	0.00
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.0000001	0.0000005	0.0000030	0.0000000	0.0000005	0.0000008	0.0000041
X^2	458	1832	11449	25760	45796	17059.01	85295.10

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados obtenidos en la tabla anterior del método de regresión de mínimos cuadrados se procede a calcular el intervalo de confianza del intercepto a un nivel de 95%, los resultados se muestran en la tabla 24:

Tabla 24

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio para evaluación de linealidad del análisis de sílice monomérica.

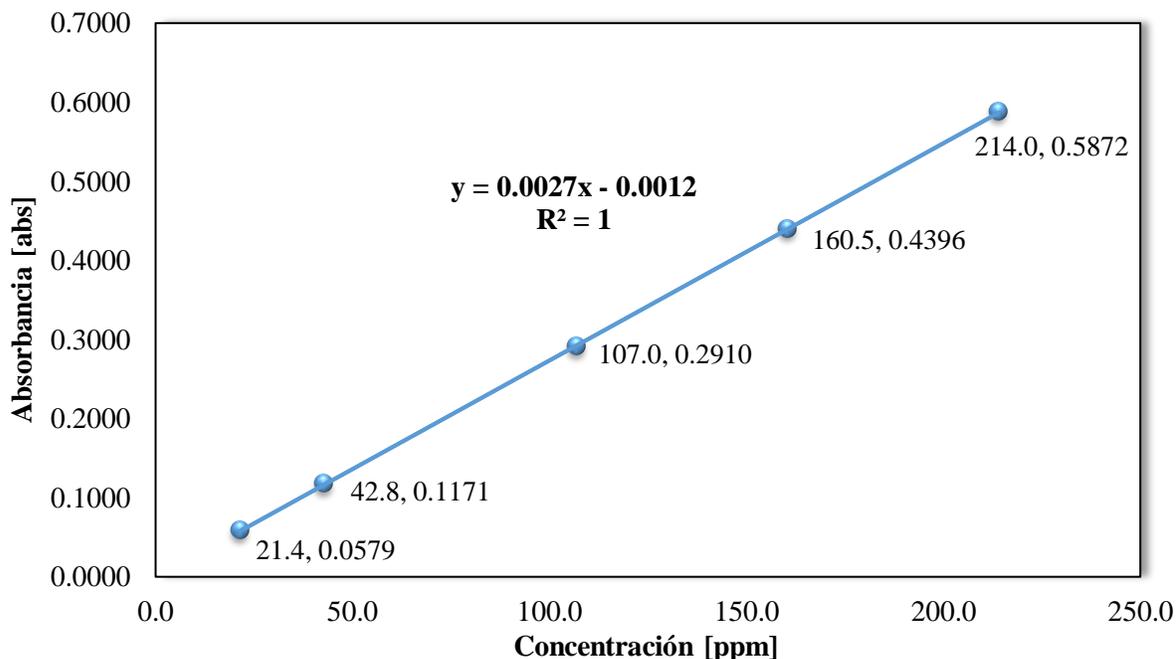
Variable	Ecuación	Resultado
Coefficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	1.0000
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	0.0027 abs/ppm
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	-0.0012 abs
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$s_{y/x} = \sqrt{\frac{(0.0000041)^2}{3}}$	0.0012 abs
Desviación estándar del intercepto [S_a]	$s_a = 0.0012 \sqrt{\frac{85295.10}{5(25737.4)}}$	0.0010 abs
Intervalo de confianza del intercepto	$-0.0012 \pm (3.18)(0.0010)$	-0.00420 abs [inferior] 0.00186 abs [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica promedio de absorbancia contra concentración se observa en la figura 17.

Figura 17

Curva de calibración promedio para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021.

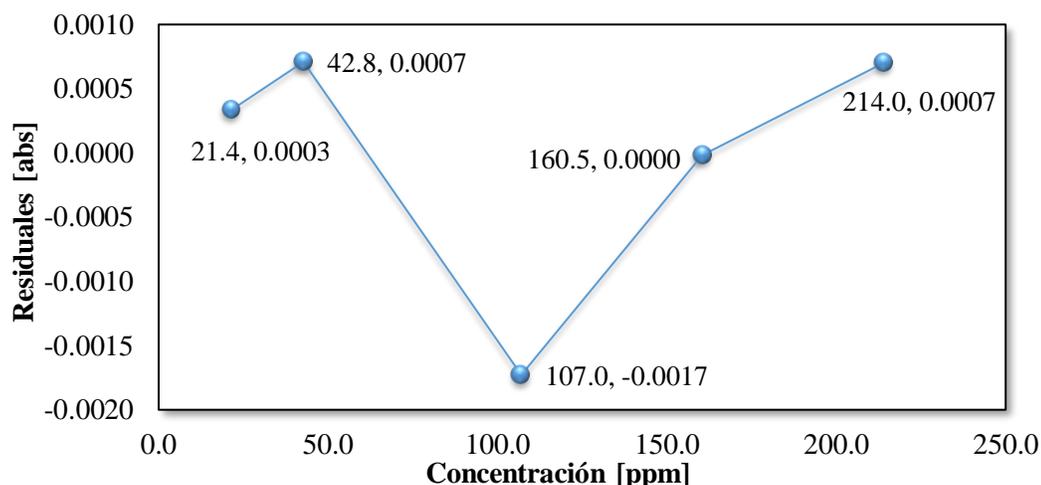


Fuente: elaboración propia.

Con base a los datos mostrados en la tabla 23 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales.

Figura 18

Gráfico de residuales para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021.



Fuente: elaboración propia.

De la gráfica de residuales anterior se puede observar que los valores en la diferencia obtenida por $y_i - \hat{y}$ son pequeños, incluso son valores menores que el LDD y LDC, por tanto, las curvas de calibración con las que se obtiene la curva promedio son muy parecidas, lo que se refleja en la gráfica mostrada en la figura 17.

De acuerdo a los criterios de aceptación establecidos por la OSA para el intervalo lineal se concluye lo siguiente:

- Comportamiento lineal en la gráfica de absorbancia vs concentración.
- El intervalo de confianza del intercepto tiene un valor de -0.00420 abs a 0.00186 abs el cual incluye el cero.
- En el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

3.4.2.2 Intervalo de trabajo

Para la evaluación del intervalo de trabajo se utilizó una muestra de agua geotérmica nombrada con el código 2021-1312, a la cual se le determinó su valor tomando en cuenta el

factor de dilución¹⁴ de la muestra, promediando las 10 lecturas de preparaciones independientes, el resultado se observa en la tabla 25:

Tabla 25

Determinación del valor de la muestra 2021-1312 para evaluación del intervalo de trabajo.

Código de muestra	Lecturas/concentración [ppm]										Promedio [ppm]
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2021-1312	53.72	53.27	52.98	52.73	54.71	52.32	52.54	52.25	52.77	52.83	53.01

Fuente: elaboración propia.

Para establecer el rango de interés para la fortificación de la muestra, se establece como valor inferior la menor concentración de los estándares de trabajo utilizados, y para el valor superior se resta el nivel más alto de concentración de la disolución estándar de trabajo [214 ppm] menos el promedio de la muestra de agua geotérmica mostrado en la tabla 25.

$$214 \text{ ppm} - 53.01 \text{ ppm} = 160.99 \text{ ppm}$$

El rango de interés logrado es de 21.40 ppm hasta 160.99 ppm, por tanto, los 5 niveles de concentración establecidos son de 21.4, 42.8, 85.6, 107.0 y 160.5 ppm, estas disoluciones fortificadas se leyeron por triplicado en preparaciones independientes [tabla 26].

Tabla 26

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1312 en cinco niveles por triplicado.

Lecturas	Lecturas de las muestras fortificadas [ppm]				
	Disolución fortificada de 21.4 ppm	Disolución fortificada de 42.8 ppm	Disolución fortificada de 85.6 ppm	Disolución fortificada de 107.0 ppm	Disolución fortificada de 160.5 ppm
	1	73.41	94.23	136.89	156.65
2	73.13	94.96	136.85	156.39	210.64
3	72.90	93.42	136.77	156.34	209.70

Nota: el valor de concentración de la muestra promedio fue 53.01 ppm.

Fuente: elaboración propia.

¹⁴ Para los valores reportados institucionalmente se multiplica la concentración obtenida en la lectura por el factor de dilución [10.00], sin embargo, en la determinación de los parámetros de validación no se realiza esta multiplicación ya que se utilizan los datos medidos directamente por el equipo.

Con los resultados anteriores se calculó la concentración recuperada de cada una de las muestras fortificadas de la siguiente manera:

$$\text{muestra fortificada} - \text{valor promedio de la muestra}$$

Los resultados de las concentraciones recuperadas se presentan en la tabla 27:

Tabla 27

Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1312 en cinco niveles por triplicado.

Disoluciones fortificadas [ppm]	Concentración recuperada [ppm]/lecturas			
	1	2	3	Promedio
21.4	20.40	20.12	19.89	20.14
42.8	41.22	41.95	40.41	41.19
85.6	83.88	83.84	83.76	83.83
107.0	103.64	103.38	103.33	103.45
160.5	156.92	157.63	156.69	157.08

Fuente: elaboración propia.

Según los resultados de la concentración recuperada se determina el valor promedio de cada nivel representado por “Yi” el cual se grafica en función de la concentración de cada fortificación “Xi”, luego se utiliza el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión, como se muestra en la tabla 28:

Tabla 28

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación del intervalo de trabajo del análisis de sílice monomérica.

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i [ppm]	21.4	42.8	85.6	107.0	160.5	83.46	417.30
Y_i [ppm]	20.1387	41.1903	83.8267	103.4500	157.0800	81.1371	405.6857
$X_i - \bar{X}$	-62.0600	-40.6600	2.1400	23.5400	77.0400	0.0000	0.0000
$Y_i - \bar{Y}$	-60.9985	-39.9468	2.6895	22.3129	75.9429	0.0000	0.0000
$(X_i - \bar{X})^2$	3851.44	1653.24	4.58	554.13	5935.16	2399.7104	11998.5520
$(Y_i - \bar{Y})^2$	3720.8129	1595.7468	7.2336	497.8640	5767.3190	2317.7953	11588.9764
\hat{y}	20.1484	41.1790	83.2402	104.2708	156.8473	81.1371	405.6857
$Y_i - \hat{y}$	-0.0097	0.0114	0.5865	-0.8208	0.2327	0.0000	0.0000
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.0001	0.0001	0.3440	0.6737	0.0541	0.2144	1.0720

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i^2	458	1832	7327	11449	25760	9365	46826

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados anteriores obtenidos del método de regresión de mínimos cuadrados, se calcula el coeficiente de correlación r , pendiente b , e intercepto a , a través de los cuales se calcula el intervalo de confianza de la pendiente a un nivel de 95%. En la tabla 29, se presentan estos cálculos.

Tabla 29

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice monomérica.

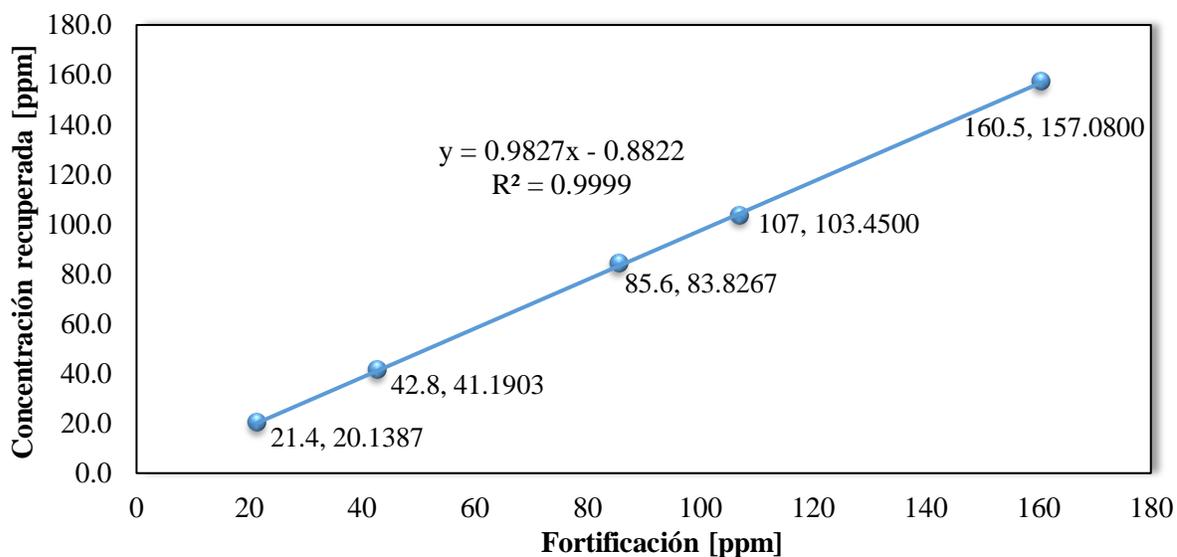
Variable	Ecuación	Resultado
Coficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	0.99995
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	0.9827
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	-0.8822 ppm
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(1.0720)^2}{3}}$	0.5978 ppm
Desviación estándar de la pendiente [S_b]	$S_b = \frac{0.5978}{\sqrt{11998.5520}}$	0.00546
Intervalo de confianza de la pendiente	$0.9827 \pm (3.18)(0.00546)$	0.96537 [inferior] 1.00011 [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica promedio de concentración recuperada contra fortificación se muestra en la figura 19.

Figura 19

Gráfica promedio de concentración recuperada contra fortificación para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021.

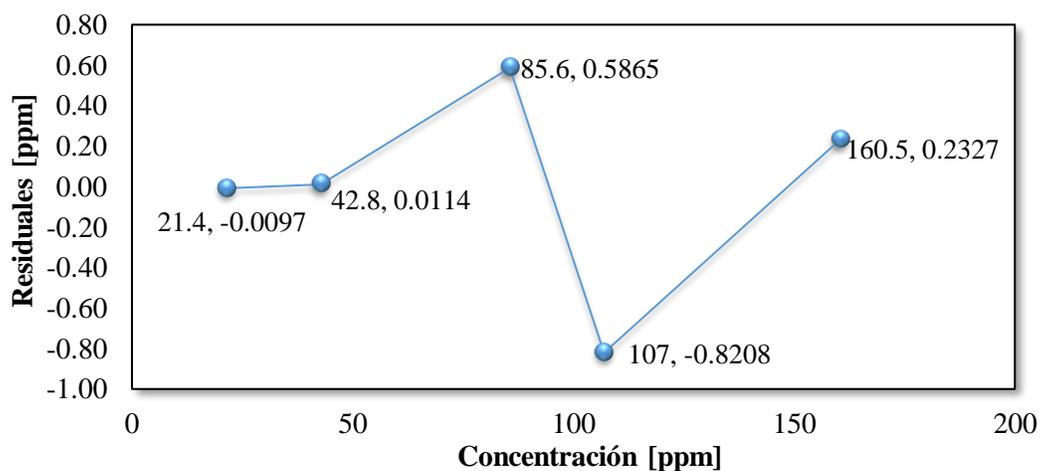


Fuente: elaboración propia.

Con base a los datos mostrados en la tabla 28 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales. Este gráfico se presenta en la figura 20:

Figura 20

Gráfico de residuales para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Octubre 2021.



Fuente: elaboración propia.

De la gráfica de residuales anterior se puede observar que los valores en la diferencia obtenida por $y_i - \hat{y}$ son pequeños, incluso son valores menores que el LDD y LDC, por tanto, las curvas de calibración con las que se obtiene la curva promedio son muy parecidas, presentando muy buena linealidad en el intervalo de trabajo lo que se refleja en la gráfica mostrada en la figura 19.

Sintetizando, los resultados planteados anteriormente y de acuerdo a los criterios de aceptación establecido por la OSA para el intervalo de trabajo se concluye lo siguiente:

- Mediante los resultados mostrados se observa que el coeficiente de correlación tiene un valor de 0.99995 el cual es mayor al criterio de 0.98.
- El intervalo de confianza de la pendiente tiene un valor de 0.96537 a 1.0011 el cual incluye la unidad.
- En el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

Por tanto, para el parámetro de linealidad la evaluación del intervalo de trabajo cumple con los criterios de aceptación y la matriz de trabajo se comporta de manera lineal.

3.4.3 Veracidad

La evaluación de veracidad se realizó mediante la fortificación de la muestra 2021-1312 en tres niveles, bajo: 21.4 ppm, medio: 85.6 ppm y alto: 160.5 ppm. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado. En la tabla 30 se indican los resultados:

Tabla 30

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1312 en tres niveles de concentración.

Lecturas	Nivel bajo [ppm]	Nivel medio [ppm]	Nivel alto [ppm]
	Disolución fortificada de 21.4 ppm	Disolución fortificada de 85.6 ppm	Disolución fortificada de 160.5 ppm
1	73.41	136.89	209.93
2	73.13	136.85	210.64
3	72.90	136.77	209.70
4	-	135.36	-
5	-	135.26	-
6	-	134.88	-

Fuente: elaboración propia

Con los resultados anteriores se calcula el porcentaje de recobro de cada lectura para los tres niveles de concentración utilizando la ecuación 8 con un valor promedio de muestra previamente establecido de 53.01 ppm.

$$\%Recobro = \frac{73.41 \text{ ppm} - 53.01 \text{ ppm}}{21.4 \text{ ppm}} \times 100 = 95.35 \%$$

En la tabla 31 se presentan los resultados de los porcentajes de recobro obtenidos para las diferentes concentraciones:

Tabla 31

Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1312 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto

Nivel de concentración [ppm]	Resultado	Recobrado	%[R]	%[R] Aceptable	Acceptable
21.4	73.41	20.40	95.35		Si
21.4	73.13	20.12	94.01		Si
21.4	72.90	19.89	92.96		Si
Promedio nivel bajo			94.11		Si
85.6	136.89	83.88	97.99		Si
85.6	136.85	83.84	97.94	80-110	Si
85.6	136.77	83.76	97.85		Si
85.6	135.36	82.35	96.20		Si
85.6	135.26	82.25	96.09		Si
85.6	134.88	81.87	95.64		Si
Promedio nivel medio			96.95		Si
160.5	209.93	78.69	97.77		Si
160.5	210.64	76.47	98.21	90-107	Si
160.5	209.70	72.91	97.63		Si
Promedio nivel alto			97.87		Si

Fuente: elaboración propia.

Del resultado anterior en cuanto a los porcentajes de recobros no se observa mucha aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados pueden estar asociados a errores sistemáticos o aleatorios.

Según el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el % de recobro aceptable durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado en la tabla 1.

Por ende, los porcentajes de recobro evaluados están entre 92.96 a 97.99 % para nivel bajo y medio y entre 97.63 a 98.21 % para nivel alto, por tanto, están dentro de los límites aceptables y cumplen la prueba de veracidad.

3.4.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

1. Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 lecturas de cada uno, para nivel bajo se usó el estándar de 21.4 ppm de SiO₂, para nivel medio 107.0 ppm de SiO₂ y para nivel alto 214.0 ppm de SiO₂ [tabla 32]. Para calcular el %CV de las diferentes concentraciones se emplea la ecuación 10.

Tabla 32

Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV.

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 21.4 ppm	Estándar 107 ppm	Estándar de 214 ppm
1	22.05	107.02	214.22
2	22.14	107.04	214.10
3	21.94	107.11	213.93
4	22.04	106.95	214.22
5	22.00	107.10	213.80
6	21.63	107.17	213.67
7	21.86	107.07	213.73
8	21.98	107.17	213.91
9	22.00	106.92	214.04
10	22.05	106.83	214.10
Promedio	21.97	107.04	213.97
S₁	0.14	0.11	0.20
%CV	0.6	0.1	0.1

Fuente: elaboración propia.

Del resultado anterior en cuanto a los valores de concentración para cada estándar se puede observar que existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

Basándose en el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el %CV durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado en la tabla 2.

Por tanto, el criterio de precisión utilizado es el siguiente: el %CV no debe ser mayor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto. Con esto se concluye que debido a que en ninguno de los niveles se sobrepasa el criterio de %CV, se acepta que existe precisión como repetibilidad entre los resultados.

2. Para la precisión intermedia el analista suplente efectúa 10 lecturas de cada uno de los estándares mencionados anteriormente en condiciones operativas diferentes.

La evaluación de la precisión intermedia se realiza mediante ANOVA, los resultados obtenidos correspondientes a la investigadora se presentan en la tabla 32.

Los análisis se repitieron para el analista suplente y los resultados se muestran en la tabla 33:

Tabla 33

Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto realizados por el analista suplente.

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 21.4 ppm	Estándar 107 ppm	Estándar de 214 ppm
1	21.36	106.03	215.74
2	20.44	106.07	214.81
3	21.11	107.21	214.81
4	21.23	107.25	218.23
5	20.83	107.72	215.01
6	21.01	108.33	215.07
7	20.58	107.09	215.80
8	20.52	107.08	215.87
9	21.15	107.01	215.20
10	21.15	107.79	215.34
Promedio	20.94	107.16	215.59
S₂	0.32	0.71	1.01

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 21.4 ppm	Estándar 107 ppm	Estándar de 214 ppm
%CV	1.55	0.67	0.47

Fuente: elaboración propia.

De los resultados mostrados en la tabla anterior en cuanto a los valores de concentración para cada estándar se muestra que existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

El cálculo de ANOVA involucra la determinación de varianza entre grupos [S_b] y dentro de los grupos [S_w], donde la estimación de S_w representa la contribución de la medida de la repetibilidad.

Basándose en los resultados de las tablas 32 y 33, se muestra el cálculo de la ecuación 10 para determinar la varianza dentro de los grupos [S_w] en nivel bajo, como se muestra a continuación:

$$S_w = S_{pool} = \sqrt{\frac{(9)*0.14^2 + (9)*0.32^2}{(10+10)-2}} = 0.2496$$

Luego se calcula el %CV a partir del ANOVA empleando la ecuación 11 de la siguiente forma:

$$\%CV_{pool} = \sqrt{\frac{\frac{(9)*0.14^2}{21.97^2} + \frac{(9)*0.32^2}{20.94^2}}{(10 + 10)-2}} \times 100 = 1.1837$$

El %CV_{pool} calculado a partir de ANOVA para los diferentes niveles de concentración se indican en la tabla 34:

Tabla 34

Resultados del %CV para la evaluación de la precisión intermedia.

Variable	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 21.4 ppm	Estándar 107 ppm	Estándar de 214 ppm
$S_w=S_{pool}$	0.2496	0.5109	0.7264
%CV _{pool}	1.2	0.5	0.3

Fuente: elaboración propia.

De acuerdo con el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el %CV_{pool} durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado

en la tabla 2. Por tanto, el criterio de precisión que se utiliza es el siguiente: el $\%CV_{pool}$ no debe ser mayor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.

Con lo expuesto anteriormente se concluye que debido a que en ninguno de los niveles se sobrepasa el criterio de $\% CV_{pool}$, se acepta que existe precisión intermedia entre los resultados.

3.5 Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sílice monomérica por método colorimétrico

Para la estimación de la incertidumbre se siguieron una serie de etapas que se describen a continuación:

3.5.1 Especificación del mensurando

Se especificó el mensurando como la concentración de sílice monomérica en muestras de agua de origen geotérmico.

3.5.2 Modelo matemático

El modelo matemático utilizado para la determinación de la concentración de sílice monomérica, se indica en la ecuación 12.

3.5.3 Fuentes de incertidumbre

Se establecen las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica, utilizando el diagrama causa-efecto mostrado en la figura 6, tomando en cuenta la incertidumbre debida al factor de dilución.

3.5.4 Estimación de la incertidumbre combinada $[U_{CO}]$

A partir de la definición de los factores que influyen en la incertidumbre del método, se establece que la incertidumbre combinada $[U_{CO}]$ se calcula con la ecuación 13. A continuación, se detalla el cálculo de cada una de las incertidumbres estándar consideradas en la incertidumbre combinada:

3.5.4.1 Incertidumbre debida al modelo matemático $[U_{MM}]$

La estimación de la incertidumbre debida al modelo matemático se divide en dos componentes:

U_{INT} : Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración.

U_{MR} : Incertidumbre debida al modelo regresión lineal por mínimos cuadrados.

La incertidumbre debida al modelo matemático viene dada por la ecuación 14, el cálculo de cada uno de los componentes se indica a continuación:

1. Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}].

Para este cálculo se determinan los coeficientes de sensibilidad considerados en la ecuación 15, el valor del intercepto de la curva de calibración b_0 y la pendiente de la curva de calibración b_1 , así como las incertidumbres [U_{b_0} y U_{b_1}] son obtenidos a partir de las curvas de calibración, elaboradas durante la validación [tabla 22], el cálculo de dichas incertidumbres se realiza con la ecuación 25, los resultados se muestran en la tabla 35:

Tabla 35

Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre para el análisis de sílice monomérica.

Variables	Curvas de calibración					Promedio	Desviación estándar	U
	1	2	3	4	5			
b_0	0.00053	-0.00116	-0.00259	-0.00281	0.00018	-0.00117	0.00122	0.000546
b_1	0.00273	0.00273	0.00274	0.00281	0.00272	0.00275	0.00002	0.000011

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que:

$$b_0 = -0.00117 \quad y \quad U_{b_0} = 0.000546 \qquad b_1 = 0.00275 \quad y \quad U_{b_1} = 0.000011$$

El valor de absorbancia [A] se obtiene a partir del promedio de absorbancia de las 10 lecturas de la muestra de agua geotérmica utilizada durante la validación del método de sílice monomérica por método colorimétrico. Para calcular el %T de cada lectura se utiliza la ecuación 26, los resultados se muestran en la tabla 36:

Tabla 36

Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1312.

Lecturas	Muestra 2021-1312		
	Concentración	Absorbancia	%T
	[ppm]		
1	53.72	0.14474	71.65723
2	53.27	0.14352	71.85881

3	52.98	0.14274	71.98632
4	52.73	0.14207	72.09913
5	54.71	0.14743	71.21476
6	52.32	0.14064	72.33692
7	52.54	0.14126	72.23372
8	52.25	0.14046	72.36691
9	52.77	0.14187	72.13234
10	52.83	0.14204	72.10411
Promedio	53.01	0.14268	71.99902
Desviación estándar	0.73774	0.00211	0.34883

Fuente: elaboración propia.

El valor de la incertidumbre de la absorbancia [U_A], es la combinación de las incertidumbres del ruido fotométrico, precisión fotométrica y repetibilidad del %T [ecuación 17].

$$U_A = \sqrt{(U_R)^2 + (U_P)^2 + (U_{RT})^2}$$

El valor de incertidumbre del ruido fotométrico [U_R] es de 0.000333333 y precisión fotométrica [U_P] es de $U_P = 0.000333333$, estos valores son obtenidos a partir del certificado de calibración del Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454.

La incertidumbre debida a la repetibilidad del %T [U_{RT}], es calculada a partir de la ecuación 18. Donde U_T es calculada mediante la ecuación 19. Sustituyendo los valores en las ecuaciones 19 y 18 se tiene que:

$$U_T = \frac{0.34883}{\sqrt{10}} = 0.11031 \quad \text{y} \quad U_{RT} = 0.434294 \frac{0.11031}{10^{(2-0.14268)}} = 0.000665391$$

Por tanto, se conoce que:

$$U_{RT} = 0.000665391$$

$$U_R = 0.000333333$$

$$U_P = 0.000333333$$

Luego se calcula la incertidumbre debida a la absorbancia [U_A] de la siguiente forma:

$$U_A = \sqrt{(0.000333333)^2 + (0.000333333)^2 + (0.000665391)^2} = 0.000815455$$

A partir de los datos anteriores se calculan los coeficientes de sensibilidad:

$$c_A = \frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.00275} = 364.1287313$$

$$cb_0 = -\frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.00275} = -364.1287313$$

$$cb_1 = \frac{A-b_0}{b_1^2} = \frac{0.14268 - (-0.00117)}{0.00275^2} = 19072.9858$$

Conociendo los coeficientes de sensibilidad se sustituyen en la ecuación 15 para la estimación de la incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración $[U_{INT}]$.

$$U_{INT} = \sqrt{(U_A^2 * cA^2) + (U_{b_0}^2 * cb_0^2) + (U_{b_1}^2 * cb_1^2)}$$

$$U_{INT} = \sqrt{(0.088167863) + (0.039592612) + (0.042846316)} = 0.41304575$$

2. Incertidumbre debida al modelo de regresión lineal $[U_{MR}]$

La incertidumbre debida al modelo de regresión lineal es calculada utilizando el promedio de las curvas de calibración [tabla 23], también, se hace uso del promedio de la absorbancia obtenida de la muestra de origen geotérmico, ambos a partir de los ensayos efectuados durante el proceso de validación del procedimiento de análisis de sílice monomérica.

De la tabla 24 se conocen los datos de $b= 0.0027$, $a= -0.0012$, $S_{y/x}= 0.0012$ y se sabe que $n= 5$ [niveles de concentración] y $m= 5$ [número de curvas], con estos datos se procede a calcular el valor de la incertidumbre estándar debida al modelo de regresión lineal $[S_{x_0}]$, como se ejemplifica a continuación:

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right) + \frac{(Y_i - \hat{y})^2}{b^2 * \sum(X_i - X_{prom})^2}}$$

$$S_{x_0} = 0.42539 \sqrt{\left(\frac{1}{5} + \frac{1}{5}\right) + \frac{0.0000008}{0.0027^2 * 25737.4}} = 0.2690$$

A partir del valor de $S_{x_0} = 0.2690$, se puede estimar la incertidumbre debida al modelo de regresión lineal usando la ecuación 21.

$$U_{MR} = \frac{S_{x_0}}{\sqrt{n}} = \frac{0.2690}{\sqrt{5}} = 0.1203192$$

Conociendo los valores de U_{INT} y U_{MR} , se puede calcular la incertidumbre debida al modelo matemático, sustituyendo los valores encontrados en la ecuación 14.

$$U_{MM} = \sqrt{(U_{INT})^2 + (U_{MR})^2}$$

$$U_{MM} = \sqrt{(0.41304575)^2 + (0.12031920)^2} = 0.43021$$

3.5.4.2 Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}]

La incertidumbre debida a la repetibilidad de la muestra es calculada a partir de la desviación estándar del valor promedio de sílice monomérica presentes en la muestra 2021-1316 [tabla 36] analizada durante el proceso de validación del método. El cálculo se muestra a continuación:

$$U_{RP} = \frac{0.73774}{\sqrt{10}} = 0.23329$$

3.5.4.3 Incertidumbre debida al factor de dilución de la muestra [U_{FD}]

La incertidumbre debida al factor de dilución de la muestra es dependiente de la incertidumbre debida a la micropipeta utilizada para toma de la muestra y el balón volumétrico utilizado para la dilución.

Material utilizado:

- a) Micropipeta Nichipet EX 10 mL, serie: K08900151, error promedio 0.02

$$U_{micropipeta} = \frac{0.02}{\sqrt{3}} = 0.01155$$

- b) Balón volumétrico de 100.0 mL Nalgene®Labware, error promedio: 0.60

$$U_{balón} = \frac{0.60}{\sqrt{3}} = 0.34641$$

Entonces:

$$U_{FD} = \sqrt{(U_{micropipeta})^2 + (U_{balón})^2} \quad \text{Ec. 27}$$

$$U_{FD} = \sqrt{(0.01155)^2 + (0.34641)^2} = 0.34660$$

Con los cálculos mostrados anteriormente se procede a estimar la incertidumbre combinada utilizando la siguiente ecuación, el resultado que se obtiene se presenta a continuación:

$$U_{CO} = \sqrt{(U_{MM})^2 + (U_{RP})^2 + (U_{FD})^2}$$
$$U_{CO} = \sqrt{(0.43021)^2 + (0.23329)^2 + (0.34660)^2} = 0.59970$$

3.5.5 Estimación de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida [U_E] se obtiene de multiplicar la incertidumbre combinada [U_{CO}] por el factor de cobertura $K=2$, obteniendo así una expresión de incertidumbre del 95% de confianza.

$$U_E = 0.59970 * 2 = 1.1994$$

La concentración de sílice monomérica en la muestra de agua geotérmica analizada durante el proceso de validación estaría expresada como:

$$53.011 \pm 1.199 \text{ ppm}$$

Debido a la interpretación más lógica de la incertidumbre el resultado final debe expresarse de la siguiente manera:

$$53.01 \pm 1.20 \text{ ppm}$$

La incertidumbre expandida relativa o precisión de la determinación es:

$$\%p = \frac{1.20}{53.01} \times 100 = 2.26\%$$

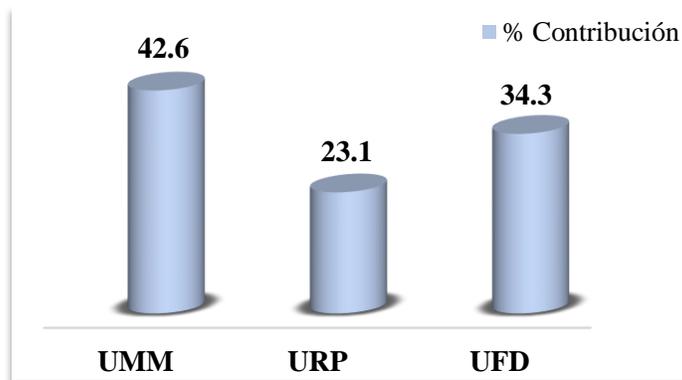
$$\%p = 2.26\%$$

3.5.7 Porcentaje de contribución de las variables

La contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice monomérica por método colorimétrico se observa en la figura 21:

Figura 21

Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice monomérica por método colorimétrico.



Fuente: elaboración propia.

3.6 Implementación del análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato

Para la implementación del análisis de sílice monomérica por método colorimétrico se realizaron 10 lecturas de muestras independientes de agua geotérmica provenientes de

Ahuachapán, utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454, también se leyeron las mismas muestras de preparaciones independientes usando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent 8453 ambos resultados se compararon mediante el contraste t de datos emparejados a un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 37, se muestran los resultados obtenidos en ambos equipos, así como la diferencia entre cada par de datos:

Tabla 37

Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.

Muestra	Espectrofotómetro UV-Vis 8454	Espectrofotómetro UV-Vis 8453	Diferencia [d]
1	629.820	630.120	-0.300
2	657.070	653.280	3.790
3	719.480	719.500	-0.020
4	721.590	723.640	-2.050
5	722.850	718.010	4.840
6	732.290	713.660	18.630
7	718.160	722.580	-4.420
8	725.730	717.260	8.470
9	451.500	446.600	4.900
10	722.360	722.280	0.080
Promedio			3.392
Desviación estándar			6.578

Nota: los valores de concentración reportados han sido multiplicados por el factor de dilución [10.00].

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que la diferencia promedio $[\bar{d}]$ es de 3.392 y la desviación estándar de la diferencia $[s_d]$ es de 6.578, estos valores se sustituyen en la ecuación 23 para calcular el valor del estadístico t.

$$|t_{calculada}| = \frac{3.392\sqrt{10}}{6.578} = 1.631$$

El valor del estadístico t calculado se compara con el valor crítico de $|t|$ para un nivel de confianza del 95% el cual es de $t_g = 2.26$

Debido a que el valor calculado de $|t|$ es menor que el reportado en tablas, se puede concluir que los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sílice monomérica en muestras de agua geotérmica al nivel de 95%.

3.7 Validación de análisis de sílice por método colorimétrico de azul de heteropoly

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de validación evaluados.

3.7.1 Limite de detección y límite de cuantificación

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación, de acuerdo a lo establecido en la metodología, se obtuvieron para los 6 estándares de trabajo¹⁵ los resultados que se observan en la tabla 38:

Tabla 38

Promedios de absorbancias de 5 curvas de calibración para determinar LDC.

Nivel de concentración [ppm]	Curvas de calibración [Absorbancia]					Promedio de curvas [Abs]
	1	2	3	4	5	
0.214	0.070	0.066	0.072	0.078	0.065	0.0704
0.535	0.170	0.174	0.163	0.174	0.154	0.1667
1.070	0.331	0.331	0.333	0.341	0.308	0.3288
2.140	0.681	0.666	0.654	0.690	0.618	0.6615
3.210	0.996	1.009	0.981	1.025	0.934	0.9889
4.280	1.313	1.315	1.296	1.393	1.212	1.3058

Fuente: elaboración propia.

Los límites de detección y cuantificación se calculan a partir de la curva de calibración promedio generada durante la validación del método, mediante regresión lineal por mínimos cuadrados, utilizando el valor de distribución t para dos colas de 2.78 [4 grados de libertad] valor correspondiente a un nivel de confianza del 95%, obteniendo los siguientes resultados:

$$y = bx + a$$

$$\text{Pendiente (b): } 0.3050 \frac{\text{abs}}{\text{ppm}}$$

$$S_{y/x} = 0.0041 \text{ abs}$$

¹⁵ Para la preparación de estándares de trabajo se utilizó el estándar certificado de sílice trazable a NIST 1000 mg/L en agua marca MERCK Lote: HC01345036

Intercepto (a): 0.0050 abs

$S_a = 0.0028$ abs

Luego usando las ecuaciones 1 y 2 se calcula el LDD y LDC de la siguiente forma:

$$LDD = a + 3S_{y/x} = 0.0050 + 3(0.0041) = 0.017433 \text{ abs}$$

$$LDC = a + 10S_{y/x} = 0.0050 + 10(0.0041) = 0.046407 \text{ abs}$$

Con los resultados calculados para el LDD y LDC, se procede a calcular la concentración para los límites a partir de la ecuación 24.

Para el límite de detección: $x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.017433-(0.0050)}{0.3050} = 0.04 \text{ ppm}$

Para el límite de cuantificación: $x = \frac{y-a}{b} = \frac{0.046407-(0.0050)}{0.3050} = 0.14 \text{ ppm}$

Según los resultados anteriores se estableció que el límite de cuantificación del método colorimétrico de sílice azul de heteropoly es de 0.14 ppm y el límite de detección es 0.04 ppm.

3.7.2 Linealidad

La linealidad del método de análisis de sílice de azul de heteropoly se determinó mediante la evaluación del intervalo lineal y el intervalo de trabajo como se detalla a continuación:

3.7.2.1 Intervalo lineal

El intervalo lineal se calcula a partir de los promedios de las 6 curvas de calibración generadas durante la validación del método mostrados en la tabla 38.

Según estos resultados se determina el valor promedio de absorbancia para cada nivel [Yi] el cual se grafica en función de la concentración [Xi], luego se emplea el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión [tabla 39].

Tabla 39

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para evaluación de linealidad del análisis de sílice azul de heteropoly.

Variables	Disoluciones estándar de trabajo						Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5	6		
X_i [ppm]	0.214	0.535	1.070	2.140	3.210	4.280	1.91	11.4

Variables	Disoluciones estándar de trabajo						Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5	6		
Y_i [abs]	0.0704	0.1667	0.3288	0.6615	0.9889	1.3058	0.59	3.5
$X_i - \bar{X}$	-1.6942	-1.3732	-0.8382	0.2318	1.3018	2.3718	0.00	0.00
$Y_i - \bar{Y}$	-0.5166	-0.4203	-0.2583	0.0745	0.4019	0.7188	0.00	0.00
$(X_i - \bar{X})^2$	2.87	1.89	0.70	0.05	1.69	5.63	2.14	12.8
$(Y_i - \bar{Y})^2$	0.2669	0.1766	0.0667	0.0056	0.1615	0.5166	0.20	1.2
\hat{y}	0.0703	0.1682	0.3314	0.6577	0.9841	1.3105	0.59	3.5
$Y_i - \hat{y}$	0.0001	-0.0015	-0.0026	0.0038	0.0048	-0.0047	0.00	0.00
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000114	0.0000685
	0002	021	068	145	232	219		
X^2	0	0	1	5	10	18	5.78	34.7

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados obtenidos en la tabla anterior se calcula el coeficiente de correlación r , pendiente b , e intercepto a , a través de los cuales se calcula el intervalo de confianza del intercepto a un nivel de 95%. En la tabla 40, se presentan los resultados de estos cálculos:

Tabla 40

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice azul de heteropoly.

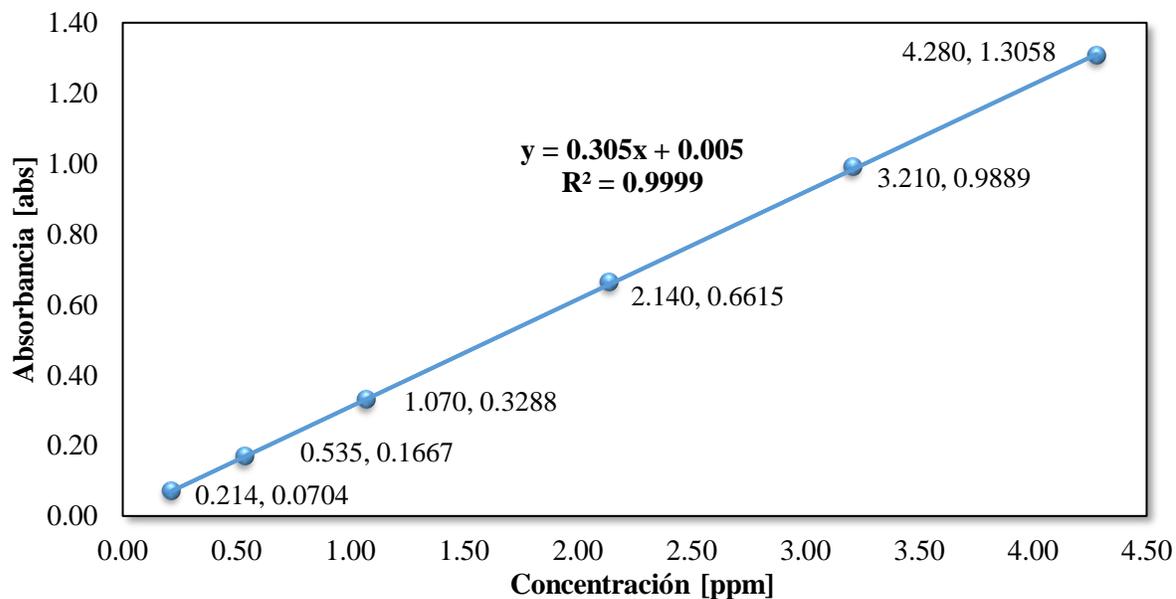
Variable	Ecuación	Resultado
Coefficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	0.9999
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	0.3050 abs/ppm
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	0.0050 abs
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(0.0000685)^2}{4}}$	0.0041 abs
Desviación estándar del intercepto [S_a]	$S_a = 0.0041 \sqrt{\frac{34.7}{6(12.8)}}$	0.0028 abs
Intervalo de confianza del intercepto	$0.0050 \pm (2.78)(0.0028)$	-0.00270 abs [inferior] 0.001273 abs [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica de absorbancia promedio contra concentración se muestra en la figura 22:

Figura 22

Curva de calibración promedio para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.

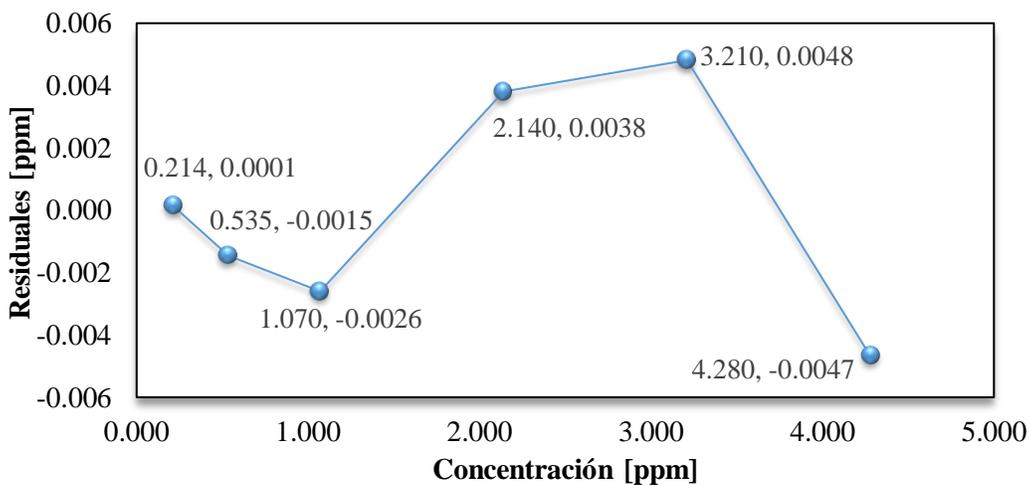


Fuente: elaboración propia.

Según los datos mostrados en la tabla 39 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales.

Figura 23

Gráfico de residuales para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.



Fuente: elaboración propia.

De la gráfica de residuales anterior se puede observar que los valores en la diferencia obtenida por $y_i - \hat{y}$ son pequeños, incluso son valores menores que el LDD y LDC, por tanto, las curvas de calibración con las que se obtiene la curva promedio son muy parecidas, lo que se refleja en la gráfica mostrada en la figura 22.

Según los criterios de aceptación establecidos por la OSA para el intervalo lineal se concluye lo siguiente:

- Comportamiento lineal en la gráfica de absorbancia vs concentración.
- El intervalo de confianza del intercepto tiene un valor de -0.00270 abs a 0.01273 abs el cual incluye el cero, en el marco de concentraciones bajas.
- En el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

3.7.2.2 Intervalo de trabajo

Para la evaluación del intervalo de trabajo se utilizó una muestra de vapor condensado de origen geotérmico nombrada con el código 2021-1502 a la cual se le determinó su valor, promediando 10 lecturas de preparaciones independientes [tabla 41].

Tabla 41

Determinación del valor de la muestra 2021-1502 para evaluación del intervalo de trabajo.

Código de muestra	Lecturas/concentración [ppm]										Promedio [ppm]
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2021-1502	0.109	0.109	0.105	0.106	0.105	0.107	0.107	0.101	0.108	0.104	0.106

Fuente: elaboración propia.

Para establecer el rango de interés para la fortificación de la muestra, se establece como valor inferior la menor concentración de los estándares de trabajo utilizados, y para el valor superior se resta el nivel más alto de concentración de la disolución estándar de trabajo [4.280 ppm] menos el promedio de la muestra de vapor condensado de origen geotérmico mostrado en la tabla 41, de la siguiente manera:

$$4.280 \text{ ppm} - 0.106 \text{ ppm} = 4.174 \text{ ppm}$$

El rango de interés logrado es de 0.214 ppm hasta 4.174 ppm, por tanto, los 5 niveles de concentración establecidos son de 0.214, 0.535, 1.07, 2.14 y 3.21 ppm, estas disoluciones

fortificadas se leyeron por triplicado en preparaciones independientes, en la tabla 42, se observan los resultados:

Tabla 42

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1502 en cinco niveles por triplicado.

Lecturas	Lecturas de las muestras fortificadas [ppm]				
	Disolución fortificada de 0.214 ppm	Disolución fortificada de 0.535 ppm	Disolución fortificada de 1.07 ppm	Disolución fortificada de 2.14 ppm	Disolución fortificada de 3.21 ppm
	1	0.31	0.64	1.17	2.23
2	0.31	0.66	1.19	2.23	3.31
3	0.32	0.65	1.19	2.29	3.34

Nota: el valor de concentración de la muestra promedio fue 0.1061 ppm.

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados anteriores se calculó la concentración recuperada de cada una de las muestras fortificadas de la siguiente manera:

$$\text{muestra fortificada} - \text{valor promedio de la muestra}$$

Los resultados de las concentraciones recuperadas se muestran en la tabla 43:

Tabla 43

Concentración recuperada de la fortificación de la muestra 2021-1502 en cinco niveles por triplicado.

Disoluciones fortificadas [ppm]	Concentración recuperada [ppm]/lecturas			
	1	2	3	Promedio
0.214	0.21	0.21	0.21	0.21
0.535	0.54	0.56	0.55	0.55
1.070	1.06	1.08	1.08	1.08
2.140	2.12	2.13	2.18	2.14
3.210	3.21	3.20	3.23	3.21

Fuente: elaboración propia.

Según los resultados de la concentración recuperada se determina el valor promedio de cada nivel representado por “Yi” el cual se grafica en función de la concentración de cada fortificación [Xi], luego se utiliza el método de regresión de mínimos cuadrados para el cálculo de los estadísticos de regresión, como se presenta en la tabla 44:

Tabla 44

Resultados de regresión por mínimos cuadrados para el análisis de sílice azul de heteropoly.

Variables	Disoluciones estándar de trabajo					Promedio	Sumatoria
	1	2	3	4	5		
X_i [ppm]	0.214	0.535	1.070	2.140	3.210	1.43	7.169
Y_i [ppm]	0.2080	0.5470	1.0754	2.1444	3.2149	1.4380	7.1902
$X_i - \bar{X}$	-1.2198	-0.8988	-0.3638	0.7062	1.7762	0.0000	0.0000
$Y_i - \bar{Y}$	-1.2296	-0.8910	-0.3627	0.7064	1.7769	0.0000	0.0000
$(X_i - \bar{X})^2$	1.49	0.81	0.13	0.50	3.15	1.2163	6.0817
$(Y_i - \bar{Y})^2$	1.5120	0.7939	0.1315	0.4990	3.1574	1.2188	6.0938
\hat{y}	0.2170	0.5383	1.0739	2.1449	3.2160	1.4380	7.1902
$Y_i - \hat{y}$	-0.0086	0.0087	0.0015	-0.0005	-0.0010	0.0000	0.0000
$(Y_i - \hat{y})^2$	0.000075	0.000075	0.000002	0.0000002	0.000001	0.00003	0.00015
X^2	0	0	1	5	10	3	16

Fuente: elaboración propia.

A partir de los resultados anteriores obtenidos del método de regresión de mínimos cuadrados, se calcula el coeficiente de correlación r , pendiente b , e intercepto a , a través de los cuales se calcula el intervalo de confianza de la pendiente a un nivel de 95% [tabla 45].

Tabla 45

Estadísticos de regresión para la curva de calibración promedio del análisis de sílice azul de heteropoly.

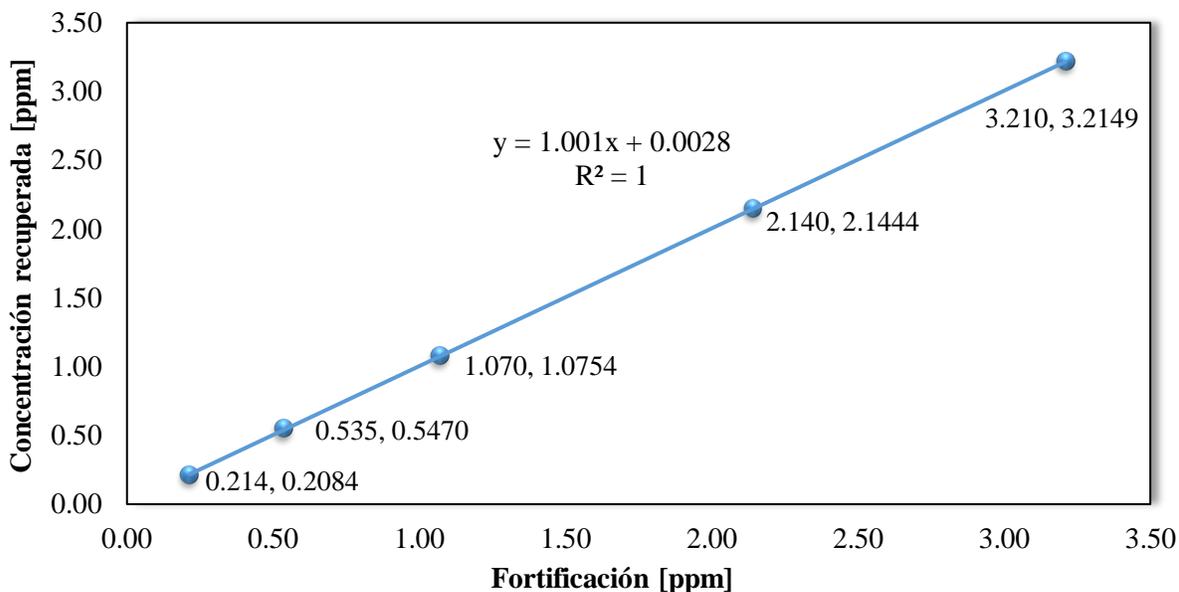
Variable	Ecuación	Resultado
Coeficiente de correlación	$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}}$	0.99999
Pendiente [b]	$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$	1.0010
Intercepto [a]	$a = \bar{y} - b\bar{x}$	0.0028 ppm
Desviación estándar de regresión [$S_{y/x}$]	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{(0.00015)^2}{3}}$	0.0072 ppm
Desviación estándar de la pendiente [S_b]	$S_b = \frac{0.0072}{\sqrt{6.0817}}$	0.00292
Intervalo de confianza de la pendiente	$1.0010 \pm (3.18)(0.00292)$	0.9918 [inferior] 1.0102 [superior]

Fuente: elaboración propia.

La gráfica promedio de concentración recuperada contra fortificación se presenta en la figura 24:

Figura 24

Gráfica de concentración recuperada promedio contra fortificación para el análisis de sílice por método azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.

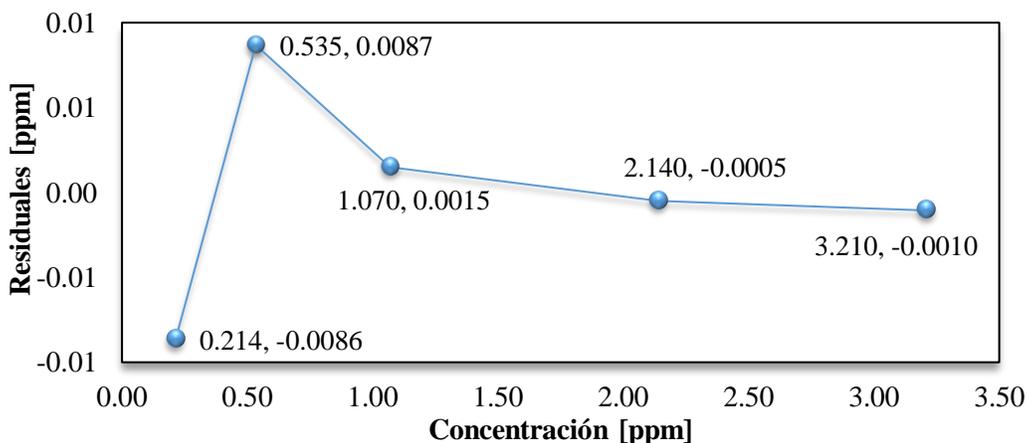


Fuente: elaboración propia.

Con base a los datos mostrados en la tabla 44 se obtiene el gráfico de concentración $[x_i]$ en función de los residuales $[y_i - \hat{y}]$, también llamado gráfico de residuales.

Figura 25

Gráfico de residuales para el análisis de sílice por método azul de heteropoly. Espectrofotómetro Agilent Cary 8454. Noviembre 2021.



Fuente: elaboración propia

De la gráfica de residuales anterior se puede observar que los valores en la diferencia obtenida por $y_i - \hat{y}$ son pequeños, incluso son valores menores que el LDD y LDC, por

tanto, las curvas de calibración con las que se obtiene la curva promedio son muy parecidas, lo que se refleja en la gráfica mostrada en la figura 24.

Resumiendo, los resultados planteados anteriormente y de acuerdo a los criterios de aceptación establecido por la OSA para el intervalo de trabajo se concluye lo siguiente:

- Mediante los resultados mostrados se observa que el coeficiente de correlación tiene un valor de 0.99999 el cual es mayor al criterio de 0.98.
- El intervalo de confianza de la pendiente tiene un valor de 0.9918 a 1.0102 el cual incluye la unidad.
- En el gráfico de residuales se observa una tendencia aleatoria.

Por tanto, para el parámetro de linealidad la evaluación del intervalo de trabajo cumple con los criterios de aceptación y la matriz de trabajo se comporta de manera lineal.

3.7.3 Veracidad

Para la evaluación de veracidad se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra 2021-1502 en tres niveles, bajo: 0.214 ppm, medio: 2.14 ppm y alto: 3.21 ppm. Los niveles bajo y alto se evaluaron por triplicado y el nivel intermedio se evaluó por sextuplicado, los resultados se presentan en la tabla 46:

Tabla 46

Resultados de la fortificación de la muestra 2021-1502 en tres niveles de concentración.

Lecturas	Nivel bajo [ppm]	Nivel medio [ppm]	Nivel alto [ppm]
	Disolución fortificada de 0.214 ppm	Disolución fortificada de 2.14 ppm	Disolución fortificada de 3.21 ppm
1	0.3113	2.2269	3.3177
2	0.3132	2.2344	3.3066
3	0.3190	2.2903	3.3388
4	-	2.3170	-
5	-	2.3020	-
6	-	2.3131	-

-Ausencia de dato

Fuente: elaboración propia

Con los resultados anteriores se calcula el porcentaje de recobro de cada lectura para los tres niveles de concentración utilizando la ecuación 8 con un valor promedio de muestra previamente establecido de 0.1061 ppm.

$$\%Recobro = \frac{0.3113 \text{ ppm} - 0.1061 \text{ ppm}}{0.214 \text{ ppm}} \times 100 = 95.9 \%$$

En la tabla 47, se presentan los resultados de los porcentajes de recobro obtenidos para las diferentes concentraciones:

Tabla 47

Resultados en porcentaje de recobro de la muestra 2021-1502 fortificada en 3 niveles bajo, medio y alto.

Nivel de concentración [ppm]	Resultado	Recobrado	%[R]	%[R] Aceptable	Acceptable
0.214	0.3113	0.21	95.9		Si
0.214	0.3132	0.21	96.8		Si
0.214	0.3190	0.21	99.5		Si
Promedio nivel bajo			97.4		Si
2.140	2.2269	2.12	99.1		Si
2.140	2.2344	2.13	99.5		Si
2.140	2.2903	2.18	102.1		Si
2.140	2.3170	2.21	103.3	80-110	Si
2.140	2.3020	2.20	102.6		Si
2.140	2.3131	2.21	103.1		Si
Promedio nivel medio			101.6		Si
3.210	3.3177	3.21	100.0		Si
3.210	3.3066	3.20	99.7		Si
3.210	3.3388	3.23	100.7		Si
Promedio nivel alto			100.2		Si

Fuente: elaboración propia.

Es importante percatarse del resultado anterior que en cuanto a los porcentajes de recobros existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

De acuerdo con el criterio de aceptación de la OSA y debido a que el % de recobro aceptable durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta

lo especificado en la tabla 1. Por ende, los porcentajes de recobro evaluados están entre 95.9 a 103.3 % para nivel bajo, medio y alto, por tanto, están dentro de los límites aceptables y cumplen la prueba de veracidad.

3.7.4 Precisión

La precisión del método se evaluó como una medida de precisión intermedia y de repetibilidad.

1. Para la repetibilidad se evaluaron 3 niveles utilizando concentraciones diferentes de estándares de trabajo y se efectuaron 10 lecturas de cada uno, para nivel bajo se usó el estándar de 0.214 ppm de SiO₂, para nivel medio 2.140 ppm de SiO₂ y para nivel alto 4.280 ppm de SiO₂ [tabla 48]. Para calcular el %CV de las diferentes concentraciones se emplea la ecuación 10, a continuación, se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 48

Resultados de lecturas del estándar de trabajo en nivel bajo, medio y alto para la determinación del %CV.

Lecturas	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
	Estándar 0.214 ppm	Estándar 2.14 ppm	Estándar de 4.28 ppm
1	0.200	2.094	4.160
2	0.190	2.115	4.145
3	0.191	2.128	4.259
4	0.193	2.144	4.170
5	0.192	2.130	4.139
6	0.195	2.131	4.183
7	0.194	2.128	4.186
8	0.190	2.128	4.198
9	0.191	2.130	4.188
10	0.191	2.130	4.188
Promedio	0.193	2.126	4.182
S₁	0.003	0.013	0.033
%CV	1.6	0.6	0.8

Fuente: elaboración propia.

Del resultado anterior en cuanto a los valores de concentración para cada estándar se puede observar que existe aleatoriedad, esto da lugar a interpretar que los resultados están asociados a errores aleatorios.

De acuerdo al criterio de aceptación de la OSA y debido a que el %CV durante la validación no es indicado por el método de referencia, se toma en cuenta lo especificado en la tabla 2. Por tanto, el criterio de precisión utilizado es el siguiente: el %CV no debe ser mayor a 15% en nivel bajo y no mayor a 11% en nivel medio y alto. Con esto se concluye que debido a que en ninguno de los niveles se sobrepasa el criterio de %CV, se acepta que existe precisión como repetibilidad entre los resultados.

2. Para la precisión intermedia el analista suplente efectúa 10 lecturas de cada uno de los estándares mencionados anteriormente en condiciones operativas diferentes.

Por motivos ajenos a la investigadora no se pudieron completar los resultados de precisión intermedia en el presente estudio, pero se completarán dentro de la institución para la finalización del proceso de validación del método.

3.8 Estimación de la incertidumbre del procedimiento de análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico

Para la estimación de la incertidumbre se siguieron una serie de etapas que se detallan a continuación:

3.8.1 Especificación del mensurando

En primer lugar, se especificó el mensurando como la concentración de sílice en muestras de vapor condensado de origen geotérmico.

3.8.2 Modelo matemático

El modelo matemático utilizado para la determinación de la concentración de sílice en vapor condensado de origen geotérmico, se indica en la ecuación 12.

3.8.3 Fuentes de incertidumbre

Se establecen las principales fuentes de incertidumbre de la metodología analítica, utilizando el diagrama causa-efecto mostrado en la figura 6.

3.8.4 Estimación de la incertidumbre combinada [U_{CO}]

A partir de la definición de los factores que influyen en la incertidumbre del método, se establece que la incertidumbre combinada [U_{CO}] se calcula con la ecuación 13. A continuación, se detalla el cálculo de cada una de las incertidumbres estándar consideradas en la incertidumbre combinada:

3.8.4.1 Incertidumbre debida al modelo matemático [U_{MM}]

La estimación de la incertidumbre debida al modelo matemático se divide en dos componentes:

U_{INT}: Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración.

U_{MR}: Incertidumbre debida al modelo regresión lineal por mínimos cuadrados.

La incertidumbre debida al modelo matemático viene dada por la ecuación 14, el cálculo de cada uno de los componentes se detalla a continuación:

1. Incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}].

Para este cálculo se determinan los coeficientes de sensibilidad considerados en la ecuación 15, el valor del intercepto de la curva de calibración b_0 y la pendiente de la curva de calibración b_1 , así como sus incertidumbres [U_{b₀} y U_{b₁}] son obtenidos a partir de las curvas de calibración, elaboradas durante la validación [tabla 38]; el cálculo de las incertidumbres se realiza con la ecuación 25, en la tabla 49 se muestran los resultados.

Tabla 49

Resultados de la determinación de b_0 y b_1 con su respectiva incertidumbre para el análisis de sílice azul de heteropoly.

Variables	Curvas de calibración					Promedio	Desviación estándar	U
	1	2	3	4	5			
b_0	0.00784	0.00483	0.00658	0.00106	0.00477	0.00501	0.00175	0.000784
b_1	0.30686	0.30853	0.30211	0.32270	0.28486	0.30501	0.00922	0.004124

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que:

$$b_0 = 0.00501 \quad \text{y} \quad U_{b_0} = 0.000784$$

$$b_1 = 0.30501 \quad \text{y} \quad U_{b_1} = 0.004124$$

El valor de A se obtiene a partir del promedio de absorbancia de las 10 lecturas de la muestra de vapor condensado de origen geotérmico, utilizada durante la validación del método de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico, el %T se calcula mediante la ecuación 26, en la tabla 50, se muestran los resultados para cada lectura.

Tabla 50

Determinación del valor del %T para la muestra 2021-1502.

Lecturas	Muestra 2021-1502		
	Concentración [ppm]	Absorbancia	%T
1	0.1093	0.039547	91.29626
2	0.1093	0.039551	91.29542
3	0.1047	0.038152	91.58999
4	0.1061	0.038604	91.49471
5	0.1050	0.038251	91.56911
6	0.1065	0.038723	91.46965
7	0.1067	0.038762	91.46143
8	0.1010	0.037055	91.82163
9	0.1081	0.039182	91.37302
10	0.1044	0.038078	91.60560
Promedio	0.1061	0.03859	91.49768
Desviación estándar	0.00251	0.00076	0.15963

Fuente: elaboración propia.

El valor de la incertidumbre de la absorbancia [U_A], es la combinación de las incertidumbres del ruido fotométrico, precisión fotométrica y repetibilidad del %T [ecuación 17].

$$U_A = \sqrt{(U_R)^2 + (U_P)^2 + (U_{RT})^2}$$

El valor de incertidumbre del ruido fotométrico [U_R] es de 0.0003333333 y precisión fotométrica [U_P] es de $U_P = 0.0003333333$, estos valores son obtenidos a partir del certificado de calibración del Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454.

La incertidumbre debida a la repetibilidad del %T [U_{RT}], es calculada a partir de la ecuación 18. Donde U_T es calculada mediante la ecuación 19. Sustituyendo los valores en las ecuaciones 19 y 18 se tiene que:

$$U_T = \frac{0.15963}{\sqrt{10}} = 0.05048 \quad \text{y} \quad U_{RT} = 0.434294 \frac{0.05048}{10^{(2-0.03859)}} = 0.000239602$$

Por tanto, se conoce que: $U_{RT} = 0.000239602$

$$U_R = 0.000333333$$

$$U_P = 0.000333333$$

Luego se calcula la incertidumbre debida a la absorbancia [U_A] de la siguiente forma:

$$U_A = \sqrt{(0.000333333)^2 + (0.000333333)^2 + (0.000239602)^2} = 0.000528802$$

A partir de los datos anteriores se calculan los coeficientes de sensibilidad:

$$cA = \frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.30501} = 3.2785654$$

$$cb_0 = -\frac{1}{b_1} = \frac{1}{0.30501} = -3.2785654$$

$$cb_1 = \frac{A-b_0}{b_1^2} = \frac{0.03859-(0.00501)}{0.30501^2} = 0.36090379$$

Conociendo los coeficientes de sensibilidad se sustituyen en la ecuación 15 para la estimación de la incertidumbre debida a la interpolación en la curva de calibración [U_{INT}].

$$U_{INT} = \sqrt{(U_A^2 * cA^2) + (U_{b_0}^2 * cb_0^2) + (U_{b_1}^2 * cb_1^2)}$$

$$U_{INT} = \sqrt{(3.01 \times 10^{-6}) + (6.61 \times 10^{-6}) + (2.21 \times 10^{-6})} = 0.00343928$$

2. Incertidumbre debida al modelo de regresión lineal [U_{MR}]

La incertidumbre debida al modelo de regresión lineal es calculada utilizando el promedio de las curvas de calibración [tabla 39], así también, se hace uso del promedio de la absorbancia obtenida de la muestra de origen geotérmico, ambos a partir de los ensayos efectuados durante el proceso de validación del procedimiento de análisis de sílice azul de heteropoly.

De la tabla 40 se conocen los datos de $b = 0.3050$, $S_{y/x} = 0.0041$ y se sabe que $n = 6$ [niveles de concentración] y $m = 5$ [número de curvas], con estos datos se procede a calcular el valor

de la incertidumbre estándar debida al modelo de regresión lineal [S_{x_0}], como se ejemplifica a continuación:

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right) + \frac{(Y_i - \hat{y})^2}{b^2 * \sum(X_i - X_{prom})^2}}$$

$$S_{x_0} = 0.013571 \sqrt{\left(\frac{1}{5} + \frac{1}{6}\right) + \frac{0.0000114}{0.3050^2 * 12.8}} = 0.0082$$

A partir del valor de $S_{x_0} = 0.0082$, se puede estimar la incertidumbre debida al modelo de regresión lineal usando la ecuación 21.

$$U_{MR} = \frac{S_{x_0}}{\sqrt{n}} = \frac{0.0082}{\sqrt{6}} = 0.0034$$

Conociendo los valores de U_{INT} y U_{MR} , se puede calcular la incertidumbre debida al modelo matemático, sustituyendo los valores encontrados en la ecuación 14.

$$U_{MM} = \sqrt{(U_{INT})^2 + (U_{MR})^2}$$

$$U_{MM} = \sqrt{(0.00343928)^2 + (0.00335482)^2} = 0.00480$$

3.8.4.2 Incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [U_{RP}]

La incertidumbre debida a la repetibilidad de la muestra es calculada a partir de la desviación estándar del valor promedio de sílice presente en la muestra 2021-1502 [tabla 50] analizada durante el proceso de validación del método. El cálculo se describe a continuación:

$$U_{RP} = \frac{0.00251}{\sqrt{10}} = 0.00079$$

Con los cálculos mostrados anteriormente se procede a estimar la incertidumbre combinada utilizando la ecuación 13, el resultado que se obtiene se muestra a continuación:

$$U_{CO} = \sqrt{(U_{MM})^2 + (U_{RP})^2}$$

$$U_{CO} = \sqrt{(0.00480)^2 + (0.00079)^2} = 0.00487$$

3.8.5 Estimación de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida [U_E] se obtiene de multiplicar la incertidumbre combinada [U_{CO}] por el factor de cobertura $K=2$, obteniendo así una expresión de incertidumbre del 95% de confianza.

$$U_E = 0.00487 * 2 = 0.00974$$

La concentración de sílice en la muestra de vapor condensado de origen geotérmico analizada durante el proceso de validación estaría expresada como:

$$0.1061 \pm 0.0097 \text{ ppm}$$

La incertidumbre expandida relativa o precisión de la determinación es:

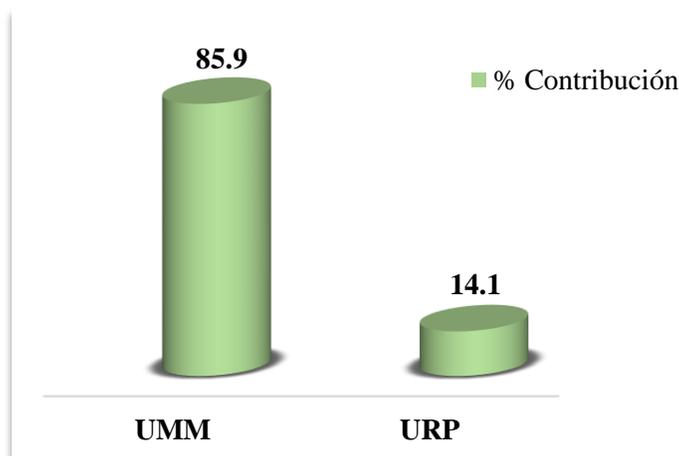
$$\%p = \frac{0.0097}{0.1061} \times 100 = 9.14 \% \qquad \%p = 9.14 \%$$

3.8.6 Porcentaje de contribución de las variables

La contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico se presentan en la figura 26:

Figura 26

Porcentaje de contribución de las incertidumbres para el análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico.



Fuente: elaboración propia.

3.9 Implementación del análisis de sílice por método de azul de heteropoly

Para la implementación del análisis de sílice azul de heteropoly por método colorimétrico se realizaron 10 lecturas de muestras independientes de vapor condensado de origen geotérmico provenientes de Ahuachapán, utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454, también se leyeron las mismas muestras de preparaciones independientes usando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent 8453 ambos resultados se compararon mediante el contraste t de datos emparejados a un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 51, se muestran los resultados obtenidos en ambos equipos, así como la diferencia entre cada par de datos:

Tabla 51

Lecturas de muestras independientes en el espectrofotómetro Agilent Cary 8454 y espectrofotómetro Agilent 8453.

Muestra	Espectrofotómetro	Espectrofotómetro	Diferencia [d]
	UV-Vis 8454	UV-Vis 8453	
1	0.245	0.214	0.031
2	0.710	0.697	0.013
3	1.126	1.099	0.027
4	2.743	2.838	-0.095
5	0.580	0.560	0.019
6	0.442	0.445	-0.003
7	0.492	0.527	-0.035
8	0.299	0.313	-0.015
9	0.670	0.694	-0.023
10	0.472	0.480	-0.008
Promedio			-0.009
Desviación estándar			0.037

Fuente: elaboración propia.

De la tabla anterior se conoce que la diferencia promedio $[\bar{d}]$ es de -0.009 y la desviación estándar de la diferencia $[s_d]$ es de 0.037, estos valores se sustituyen en la ecuación 23 para calcular el valor del estadístico t.

$$|t_{calculada}| = \frac{-0.009\sqrt{10}}{0.037} = 0.744$$

El valor del estadístico $|t|$ calculado, se compara con el valor crítico de t para un nivel de confianza del 95% el cual es de $t_g = 2.26$

Debido a que el valor calculado de $|t|$ es menor que el reportado en tablas, se puede concluir que los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sílice azul de heteropoly en muestras de vapor condensado de origen geotérmico al nivel de 95%.

3.10 Resumen de los resultados

En el cuadro 5 se muestra el resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sulfatos por método colorímetro.

Cuadro 5

Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sulfatos por método colorimétrico.

Parámetro	Resultado	Descripción
Validación del método		
Límites de detección y cuantificación	LDD: 1.39 ppm LDC: 4.64 ppm	LDD: concentración mínima detectable. LDC: concentración mínima cuantificable
Linealidad	Intervalo lineal: Respuesta lineal IC a: de -0.01164 a 0.00562 Datos aleatorios	- Grafica con comportamiento lineal. -El intervalo de confianza del intercepto incluye el cero. Gráfico de residuales aleatorio
	Intervalo de trabajo: r: 0.99598 IC b: 0.8129 a 1.1348 Datos aleatorios	-r: 0.99598 el cual es mayor al criterio de 0.98. - Intervalo de confianza de la pendiente incluye la unidad. -Gráfico de residuales aleatorio.
Veracidad	Nivel bajo: %R:91.3-97.4 Nivel medio: %R: 91.0-108.2 Nivel alto: %R: 91.1-98.4	Según lo especificado en la tabla 1, los límites de recobro están dentro de los límites aceptables. [nivel bajo y medio: 80 -110%, nivel alto 90-107%]
Precisión	Repetibilidad Std. 10.0 ppm %CV: 0.9 Std. 60.0 ppm %CV: 0.7 Std. 100.0 ppm %CV: 1.0	Cumple con lo especificado en la tabla 2, el criterio de precisión el %CV debe ser menor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.
	Precisión intermedia Std. 10.0 ppm %CV _{pool} : 1.0 Std. 60.0 ppm %CV _{pool} : 0.5 Std. 100.0 ppm %CV _{pool} : 0.7	Para el criterio de precisión el %CV _{pool} debe ser menor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.
Estimación de Incertidumbre		
Incertidumbre	43.5 ± 1.5 ppm	La mayor fuente de incertidumbre se debe al modelo matemático [80.8%] y el 19.2% se debe a la incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra.
Implementación		

Parámetro	Resultado	Descripción
Contraste t para datos emparejados	$ t = 0.593 < t_g = 2.16$	Los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sulfatos en muestras de agua geotérmica al nivel de 95%.

Fuente: elaboración propia.

En el cuadro 6, se presenta un resumen de los resultados obtenidos durante el estudio para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato.

Cuadro 6

Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato.

Parámetro	Resultado	Descripción
Validación del método		
Límites de detección y cuantificación	LDD: 1.28 ppm LDC: 4.25 ppm	LDD: concentración mínima detectable. LDC: concentración mínima cuantificable
Linealidad	Intervalo lineal: Respuesta lineal IC a: -0.00420 a 0.00186 Datos aleatorios	- Grafica con comportamiento lineal. -El intervalo de confianza del intercepto incluye el cero. Gráfico de residuales aleatorio
	Intervalo de trabajo: r: 0.99995 IC b: 0.96537 a 1.00011 Datos aleatorios	-r: 0.99995 el cual es mayor al criterio de 0.98. - Intervalo de confianza de la pendiente incluye la unidad. -Gráfico de residuales aleatorio.
Veracidad	Nivel bajo: %R: 92.96 - 95.35 Nivel medio: %R: 95.64 - 97.99 Nivel alto: %R: 97.63 - 98.21	Según lo especificado en la tabla 1, los límites de recobro están dentro de los límites aceptables. [nivel bajo y medio: 80 -110%, nivel alto 90-107%]
Precisión	Repetibilidad Std. 21.4 ppm %CV: 0.6 Std. 107.0 ppm %CV: 0.1 Std. 214.0 ppm %CV: 0.1	Cumple con lo especificado en la tabla 2, el criterio de precisión el %CV debe ser menor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.
	Precisión intermedia Std. 21.4 ppm %CV _{pool} : 1.2 Std. 107.0 ppm %CV _{pool} : 0.5 Std. 214.0 ppm %CV _{pool} : 0.3	Para el criterio de precisión el %CV _{pool} debe ser menor a 7.3% en nivel bajo y medio y no mayor a 5.3% en nivel alto.
Estimación de Incertidumbre		

Parámetro	Resultado	Descripción
Incertidumbre	53.01 ± 1.20 ppm	Las fuentes de incertidumbre que contribuyen en mayor porcentaje al análisis de sílice monomérica son las incertidumbres debidas al modelo matemático [42.6%] y al factor de dilución con 34.3%, en menor porcentaje contribuye la incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [23.1%].
Implementación		
Contraste t para datos emparejados	$ t = 1.63 < t_g = 2.16$	Los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sílice monomérica en muestras de agua geotérmica al nivel de 95%.

Fuente: elaboración propia.

En el cuadro 7 se indican los resultados obtenidos para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly.

Cuadro 7

Resumen de los resultados obtenidos para el análisis de sílice por método de azul de heteropoly.

Parámetro	Resultado	Descripción
Validación del método		
Límites de detección y cuantificación	LDD: 0.04 ppm LDC: 0.14 ppm	LDD: concentración mínima detectable. LDC: concentración mínima cuantificable
Linealidad	Intervalo lineal: Respuesta lineal IC a: -0.00270 a 0.01273 Datos aleatorios	- Grafica con comportamiento lineal. -El intervalo de confianza del intercepto incluye el cero. Gráfico de residuales aleatorio
	Intervalo de trabajo: r: 0.99999 IC b: 0.9918 a 1.0102 Datos aleatorios	-r: 0.99999 el cual es mayor al criterio de 0.98. - Intervalo de confianza de la pendiente incluye la unidad. -Gráfico de residuales aleatorio.
Veracidad	Nivel bajo: %R: 95.9 – 99.5 Nivel medio: %R: 99.1 – 103.3 Nivel alto: %R: 99.7 – 100.7	Según lo especificado en la tabla 1, los límites de recobro están dentro de los límites aceptables. [nivel bajo, medio y alto: 80 -110%]

Parámetro	Resultado	Descripción
Precisión	Repetibilidad Std. 0.214 ppm %CV: 1.6 Std. 2.14 ppm %CV: 0.6 Std. 4.28 ppm %CV: 0.8	Cumple con lo especificado en la tabla 2, el criterio de precisión el %CV debe ser menor a 15% en nivel bajo y no mayor a 11% en nivel medio y alto.
	Precisión intermedia Std. 0.214 ppm %CV _{pool} : Std. 2.14 ppm %CV _{pool} : Std. 4.28 ppm %CV _{pool} :	No se pudo completar los cálculos por aspectos procedimentales aún pendientes de desarrollo en LaGeo S.A de C.V.
Estimación de Incertidumbre		
Incertidumbre	0.1061 ± 0.0097 ppm	La mayor fuente de incertidumbre se debe al modelo matemático [85.9%] y en menor porcentaje contribuye la incertidumbre debida a la repetibilidad de una muestra [14.1%].
Implementación		
Contraste t para datos emparejados	$ t = 0.744 < t_g = 2.16$	Los equipos no proporcionan resultados significativamente diferentes, para la concentración de sílice en muestras de vapor condensado de origen geotérmico al nivel de 95%.

Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

1. Según los resultados de los parámetros de validación evaluados, cumplen satisfactoriamente los criterios de aceptación establecidos por el Organismo Salvadoreño de Acreditación en la evaluación de límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, veracidad y precisión para el análisis de sulfatos, sílice monomérica y sílice azul de heteropoly¹⁶ en muestras de agua y vapor condensado de origen geotérmico, utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.
2. Conforme a los resultados de la determinación de la incertidumbre se muestra que el modelo matemático es la mayor fuente de incertidumbre y en menor porcentaje contribuye la debida a la repetibilidad de una muestra. En el caso del análisis de sílice monomérica otra fuente que contribuye significativamente es el factor de dilución. Por tanto, el manejo de la muestra durante el proceso experimental ha sido realizado adecuadamente.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos en la implementación de los métodos por medio del contraste t para datos emparejados, los valores del estadístico $|t|$ son menores a los valores críticos de t_g en los tres métodos analíticos validados, por tanto, pueden implementarse los métodos para la determinación de sulfatos, sílice monomérica y sílice azul de heteropoly en muestras de agua y vapor condensado de origen geotérmico, en el laboratorio químico de LaGeo S.A. de C.V., mediante el espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 8454.

¹⁶ Hace falta completar la determinación de la precisión intermedia por el analista suplente para finalizar el proceso de validación de este método.

Recomendaciones

A la Universidad de El Salvador:

Fortalecer la formación de los estudiantes de la Escuela de Química en el área de validación de métodos y control de calidad, especialmente en los temas relacionados a las actividades prácticas e interpretación de los resultados de validaciones de métodos analíticos, ya que es un área de mucha importancia para el químico salvadoreño en el sector profesional, dando mejor cumplimiento a una de las áreas de formación importante del químico según el Plan de Estudio de la Licenciatura en Ciencias Químicas.

A LaGeo S.A de C.V.:

Concluir la evaluación de precisión intermedia para finalizar el proceso de validación en el análisis de sílice por método de azul de heteropoly.

Permitir el acceso constante para que los y las estudiantes de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática puedan participar en las actividades de la institución, realizando sus trabajos de investigación, pasantías y proyectos de formación, apoyando en los procesos que sean de interés para la institución y generando el vínculo de los estudiantes con las actividades del sector profesional con relación a las actividades productivas del país.

Referencias

- Altamirano, Y. (2014). *Requerimientos técnicos y económicos necesarios para efectuar la implementación de un laboratorio geoquímico en Ecuador*. Universidad de El Salvador.
- American Public Health Association. (2018). Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater. In E. W. Baird, Rodger B., Eaton, Andrew D., Rice (Ed.), *American Public Health Association* (23°). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Anderson, E., Ramos, L., & Centeno, A. (2015). *Comparación de los resultados de dos equipos de medición, uno de campo con uno de laboratorio, empleando el metodo turbidimétrico, para la determinación de sulfatos en muestras de aguas geotérmicas*. Universidad Nacional Autonoma de Nicaragua.
- AOAC International. (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *AOAC Official Methods of Analysis, Appendix F*, 16. http://www.eoma.aoc.org/app_f.pdf
- Castro, M. (2006). *Simulación de la incrustación por sílice en la zona de reinyección del campo geotérmico de Berlín, El Salvador, Centro America*. Universidad Autonoma de Baja California.
- Cruz, C., & Narváez, F. (2018). *Geoquímica preliminar de dos zonas de interés geotérmico en Nicaragua*. Universidad de El Salvador.
- Eurachem/Citac. (2012). Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas, Guía CG 4. In U. S L R Ellison (LGC & A. W. (UK) (Eds.), *Eurachem/Citac: Vol. 3rd Editio* (3°). Eurolab España.
- Eurachem. (2005). Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito- Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. In *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito* (2°).
- Gunnlaugsson, E. (2008). Importance of Chemistry in Geothermal Exploration and

- Utilization. *Workshop for Decision Makers on Direct Heating Use of Geothermal Resources in Asia*, 11–18. <http://www.os.is/gogn/flytja/JHS-Skjol/China 2008/15-Einar Gunnlaugsson.pdf>
- Handal, J. S. (2014). *Influencia de la composición química de agua geotérmica en la eficiencia global de un concentrador solar parabólico*. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Instituto Geológico y Minero de España. (1985). *Análisis metodológico de las técnicas geoquímicas empleadas en prospección geotérmica* (pp. 80–82). Ministerio de Industria y Energía.
- Laboratorio Químico, L. (2017). *Procedimiento de Análisis de Sílice Heteropolý*.
- Laboratorio Químico, L. (2018). *Protocolo de validación procedimiento de análisis de sulfatos por método colorimétrico*.
- Laboratorio Químico, L. (2019). *Procedimiento de análisis de sulfatos por método colorimétrico*.
- Laboratorio Químico, L. (2020a). *Procedimiento de Evaluación de la Incertidumbre de Medición*.
- Laboratorio Químico, L. (2020b). *Procedimiento de selección, verificación y validación de métodos*.
- LaGeo. (2013a). *¿Qué es la Geotermia?* LaGeo. http://www.lageo.com.sv/index.html_cat=9&title=Que es la Geotermia_&lang=es.html
- LaGeo. (2013b). *¿Quiénes somos?* LaGeo. http://www.lageo.com.sv/index.html_cat=3&title=Quiénes somos_&lang=es.html
- Melara, E. (2021). *El rol de la acreditación en el desarrollo geotérmico de El Salvador* (pp. 1–3). Primer taller de EAGE sobre geotermia en América Latina.
- Miller, J., & Miller, J. (2002). Contraste de significación. In *Estadística y Quimiometría para*

Química Analítica (4º, pp. 43–50). Pearson Education.

Morillas, P. P., Bertil, M., & Ulf, Ö. (2016). Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. In *Eurolab España* (1º, Issue 6). Eurolab España. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961117>

Organismo Salvadoreño de Acreditación. (2017). *G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos* (Vol. 2, pp. 1–28). <http://www.osa.gob.sv/?s=Validacion+de+metodos+analiticos>

Organismo Salvadoreño de Acreditación. (2020). *Alcance de la Acreditación* (pp. 1–6). <http://www.osa.gob.sv/descarga/lageo/>

Padilla, S. R., Barnett, P., Castro, M., Guerra, E., & Henríquez, J. L. (2005). *Silica Polymerization and Deposition Trials at the Berlin Geothermal Field , El Salvador. April*, 1–2.

Priel, M., & Désenfant, M. (2006). Road map for measurement uncertainty evaluation ` . *Elsevier*, 39, 841–848. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2006.04.008>

Santoyo, E., & Barragan, R. (2010). Energía Geotérmica.pdf.pdf. *Ciencia*, 40–51. https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/61_2/PDF/EnergiaGeotermica.pdf

Technologies, A. (2014). *Espectrofotómetro Agilent Cary Lo último en rendimiento, fiabilidad y conformidad* (pp. 1–12). https://grupobiomaster.com/wp-content/uploads/2015/05/5991-4304EN_Cary8454_Brochure.pdf

Technologies, A. (2016). *Sistema de espectroscopía UV-visible Agilent Cary 8454*. Alemania. https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G1115-90002_OperatorManual_ES.pdf

Anexos

Anexo 1. Materiales, equipos y preparación de reactivos para análisis de sulfatos

Cuadro 8

Materiales y equipos utilizados para el análisis de sulfatos por método colorimétrico.

Materiales		Equipo
Micropipeta volumen variable 1-5 mL	Micropipeta volumen variable 100-1000 μ L	Balanza analítica
Micropipeta volumen variable 1-10 mL	Balones volumétricos de 100 mL	Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454
Balones volumétricos de 50 mL	Beakers de vidrio [10 mL y 100 mL]	Centrifuga
Tubos de nalgene capacidad 10.0 mL	Bureta de 100.0 mL y 10.0 mL	Baño de María

Fuente: elaboración propia

Preparación de reactivos

- **Disolución de ácido clorhídrico 1N:** se adicionaron 9.85 mL de ácido clorhídrico concentrado en 50 mL de agua desionizada en un balón volumétrico de 100 mL y luego se aforo.
- **Suspensión de cromato de bario:** se diluyeron 10 mL de ácido clorhídrico 1N y 3.0 mL de ácido acético glacial en un balón de 100 mL, luego se aforo con agua desionizada, se agregaron 2.5 gramos de cromato de bario purificado en un recipiente de vidrio y luego se transfirió la disolución del balón al recipiente.
- **Disolución de amonio más calcio:** en un beaker se disolvieron 0.25 gramos de carbonato de calcio en aproximadamente 6 gotas de ácido clorhídrico concentrado, luego se hirvió para expeler el anhídrido carbónico, se dejó enfriar, en otro beaker se adicionaron 45 mL de hidróxido de amonio posteriormente se agregó el carbonato de calcio y se transfirió la disolución a un balón de 100 mL luego se aforo con agua desionizada.

- **Azul de bromofenol:** se adicionaron 20 mL de alcohol etílico grado industrial en un balón volumétrico de 100 mL y luego se aforó con agua desionizada, posteriormente se disolvieron 0.05 gramos de azul de bromofenol en la disolución anterior.

Además, se utilizaron otros reactivos que no necesitan preparación que se mencionan a continuación:

- **Alcohol etílico grado industrial**
- **Ácido clorhídrico concentrado**
- **Hidróxido de amonio (28%-30%)**
- **HCl 0.1N (Titrisol)**
- **NaOH 0.1N (Titrisol)**
- **Agua grado reactivo**

Anexo 2. Materiales, equipos y preparación de reactivos para análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato

Cuadro 9

Materiales y equipos que se utilizaron para el análisis de sílice monomérica.

Materiales		Equipo
Micropipeta volumen variable 1-5 mL	Micropipeta volumen variable 100-1000 μ L	Balanza analítica
Micropipeta volumen variable 1-10 mL	Balones volumétricos de nalgene 100 mL y 50 mL	Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454
Bureta de 100.0 mL	Beakers de nalgene [10 mL y 100 mL]	

Fuente: elaboración propia

Preparación de reactivos

- **Ácido sulfúrico 1.5 N [disolución A]:** se diluyeron 41 mL de ácido sulfúrico concentrado en aproximadamente 300 mL de agua desionizada en un balón volumétrico de 1000 mL, luego se aforo.

- **Disolución de molibdato de amonio [disolución B]:** se pesaron 50.0 g de heptamolibdato de amonio tetrahidratado y se disolvieron en 350.0 mL de agua desionizada en un beaker, luego se adicionaron 24.4 mL de hidróxido de amonio y se agitó hasta completa disolución, la disolución se transfirió a un balón de 500 mL y se aforó.
- **Ácido tartárico 20%:** se disolvieron 50.0 g de ácido tartárico en agua desionizada en un beaker, luego se transfirió la disolución en un balón de 500.0 mL y se aforó.
- **Disolución C:** se transfirieron 125.0 mL de solución B en un balón volumétrico de nalgene de 1000 mL, se adicionaron 250.0 mL de disolución A y se aforó con agua desionizada. Luego se dejó reposar la disolución durante una hora.
- **Agua grado reactivo**

Anexo 3. Materiales, equipos y preparación de reactivos para el análisis de sílice azul de heteropoly

Cuadro 10

Materiales y equipos que se utilizaron para el análisis de sílice de azul de heteropoly.

Materiales		Equipo
Micropipeta volumen variable 1-5 mL	Micropipeta volumen variable 100-1000 μ L	Balanza analítica
Micropipeta volumen variable 1-10 mL	Balones volumétricos de nalgene [100 mL y 50 mL]	Espectrofotómetro UV-VIS Agilent Cary 8454
Tubos de nalgene de 10.0 mL	Beakers de nalgene [10 mL y 100 mL]	

Fuente: elaboración propia

Preparación de reactivos

- **Ácido clorhídrico 1+1:** se diluyeron 25 mL de ácido clorhídrico concentrado en 15 mL de agua desionizada en un balón volumétrico de 50 mL, luego se aforó.
- **Disolución de molibdato de amonio al 10%:** se pesaron 10.0 g de molibdato de amonio tetrahidratado y se disolvieron en agua desionizada con agitación y calentamiento suave en un beaker, luego se transfirió la disolución a un balón de

100.0 mL y se aforo. De ser necesario se filtró. El pH se ajustó en el rango de 7-8 utilizando una disolución de NaOH al 10%.

- **Hidróxido de sodio al 10%:** se disolvieron 10.0 g de hidróxido de sodio en un beaker con agua desionizada, luego se transfirió a un balón de 100 mL y se aforó.
- **Ácido oxálico al 10%:** se disolvieron 10.0 g de ácido oxálico en un beaker con agua desionizada. De ser necesario se calentó ligeramente para lograr disolución completa del reactivo. Luego se transfirió la disolución a un balón de 100 mL y se aforó.
- **Agente reductor:** en un beaker se disolvieron 500.0 mg de 1-amino-2-naftol-4-sulfónico y 1.0 g de sulfito de sodio en 50 mL de agua desionizada y se calentó suavemente, esta disolución se agregó a una compuesta por 30.0 g de bisulfito de sodio en 150.0 mL de agua desionizada. La disolución se filtró a un frasco de polietileno [de preferencia ámbar]. La disolución debe descartarse cuando torna de un color oscuro. El reactivo se almacenó en refrigeración y evitando el contacto directo con la luz.
- **Agua grado reactivo**

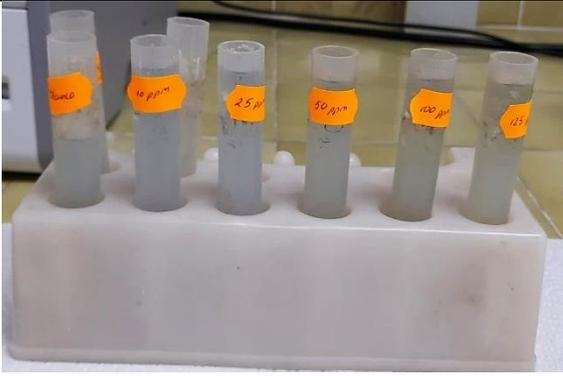
Anexo 4. Fotografías durante la realización del análisis de sulfatos por método colorimétrico

Cuadro 11

Fotografías del procedimiento de análisis de sulfatos.

Fotografía	Descripción
	Adición del indicador azul de bromofenol a los 5 mL de estándar de trabajo.

Fotografía	Descripción
	<p>Ajuste de pH con HCl 0.1N hasta lograr un color amarillo débil</p>
	<p>Neutralización con NaOH 0.1N, hasta que el color de la solución cambio de amarillo a violeta.</p>
	<p>Estándares de trabajo con 2 mL de suspensión de cromato de Bario.</p>

Fotografía	Descripción
	<p>Estándares de trabajo con disolución de amonio más calcio y alcohol etílico, colocadas en un baño de maría a ebullición previamente calentado.</p>
	<p>Sobrenadante que se lee directamente en el equipo.</p>

Fuente: elaboración propia.

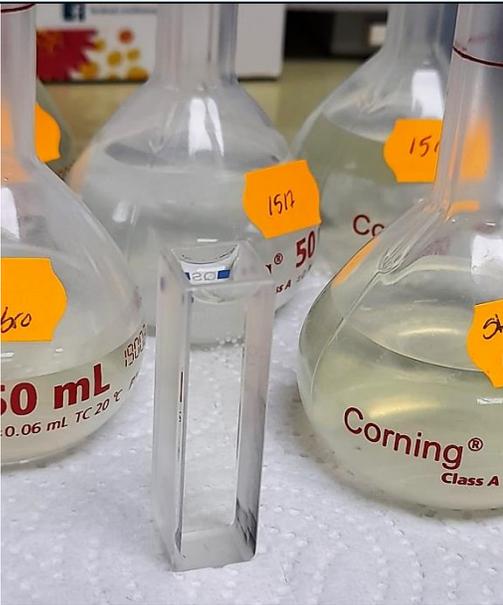
Anexo 5. Fotografías durante la realización del análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato

Cuadro 12

Fotografías del procedimiento de análisis de sílice monomérica por método de molibdosilicato.

Fotografía	Descripción
	<p>Estándares de trabajo</p>

Fotografía	Descripción
	<p>Adición de los 40 mL de la disolución C a los balones volumétricos de Nalgene.</p>
	<p>Balones volumétricos que contienen la disolución C, 5 mL de estándar de trabajo y 5 mL de ácido tartárico.</p>
	<p>Muestras preparadas para la implementación del análisis.</p>

Fotografía	Descripción
	<p>Celda con disolución de estándar de trabajo utilizada en el espectrómetro UV-Vis Agilent Cary 8454 para el análisis de sílice monomérica.</p>

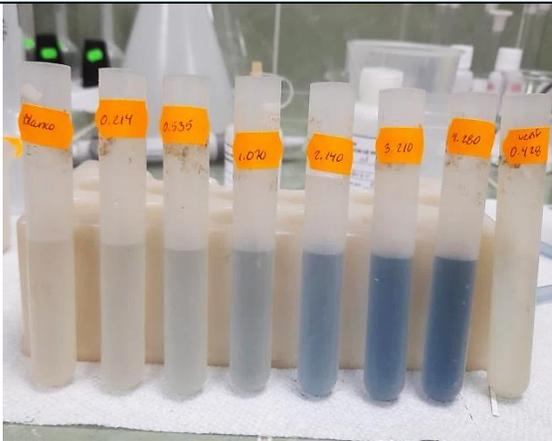
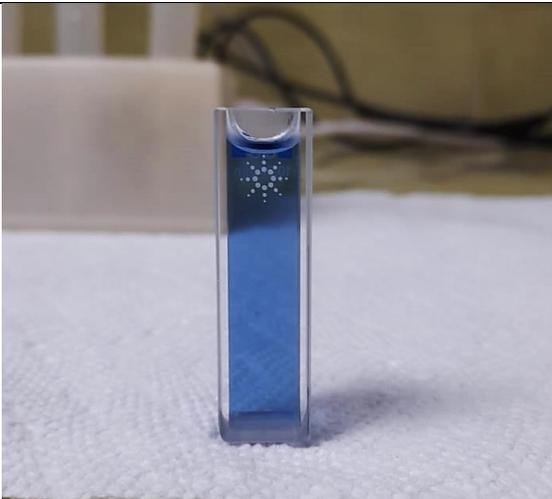
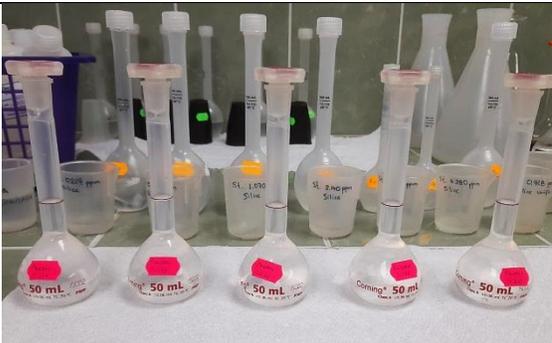
Fuente: elaboración propia.

Anexo 6. Fotografías durante la realización del análisis de sílice por el método de azul de heteropoly

Cuadro 13

Fotografías del procedimiento de análisis de sílice por método de azul de heteropoly.

Fotografía	Descripción
	<p>Estándares de trabajo.</p>

Fotografía	Descripción
	<p>Tubos de ensayo de polietileno con estándar de trabajo, ácido clorhídrico 1+1, molibdato de amonio, disolución de ácido oxálico 10% y agente reductor.</p>
	<p>Celda con disolución de estándar de trabajo utilizada en el espectrómetro UV-Vis Agilent Cary 8454 para el análisis de sílice azul de heteropoly.</p>
	<p>Muestras fortificadas.</p>

Fuente: elaboración propia.