

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO Y BROMO EN
AGUA DE CONSUMO HUMANO, POR ESPECTROSCOPÍA VISIBLE, EN UN
LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR

CARLOS MAURICIO MERINO PLEITEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO EN QUÍMICA Y FARMACIA

MARZO 2025

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALIO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

ASESOR

LICENCIADO HENRY ALFREDO HERNÁNDEZ CONTRERAS

ASESORA DE INDUSTRIA FARMACÉUTICA, COSMÉTICOS, VETERINARIA Y
PRODUCTOS AFINES

LICENCIADA CORINA IVETTE INTERIANO RAMÍREZ

TUTORA

MAESTRA ROSA MIRIAN RIVAS DE LARA

AGRADECIMIENTO Y DEDICATORIA

En primer lugar, darle gracias a Dios, por permitirme realizar mis estudios, por brindarme salud, sabiduría y entendimiento a lo largo de la carrera, y lograr este trabajo de investigación.

Agradecer a mi madre por su apoyo incondicional.

A mi novia por su amor, paciencia, su apoyo y sus consejos.

La Universidad de El Salvador y a los diferentes docentes de la Facultad de Química y Farmacia que me impartieron clases.

Además de los docentes encargados de desarrollar el Diplomado de Garantía de la Validez y Calidad, en las determinaciones analíticas en un laboratorio químico gracias que me permitieron desarrollar y tener las bases sobre este importante tema.

La tutora, Maestra Rosa Mirian Rivas De Lara por estar pendiente de la investigación por estar orientándonos en todo sentido.

ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

ABREVIATURAS

RESUMEN

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

14

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

2.2 Objetivos específicos

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

17

3.1 El agua

17

3.2 El hierro

18

3.2.1 Problemas causados por la presencia del hierro en el agua

18

3.2.2 Método de la fenantrolina

19

3.3 El bromo

19

3.3.1 Problemas causados por la presencia del bromo en el agua

20

3.3.2 Método DPD

21

3.4 Espectrofotómetro

21

3.4.1 Ley de Beer

22

3.4.2 Partes de un espectrofotómetro

23

3.4.2.1 Fuente de luz

23

3.4.2.2 Monocromador	23
3.4.2.3 Cubeta	24
3.4.2.4 Pantalla digital	24
3.6 Aplicaciones de un espectrofotómetro	24
3.6 Fundamentos de la espectroscopia UV-VIS	25
3.7 Que es validación	25
3.8 Parámetros de desempeño	27
3.8.1 Exactitud	27
3.8.2 Precisión	27
3.8.3 Linealidad	28
3.8.4 Limite de cuantificación	28
CAPÍTULO IV	
4.0 PRODUCTO FINAL	30
4.1 Protocolo de validación y registro de resultados para la determinación de hierro total en agua potable.	30
4.2 Parte experimental	30
4.2.1 Prueba del paquete de polvo para hierro (método de la fenantrolina)	30
4.2.2 Prueba en tableta de bromo (método DPD)	32
4.3 Criterios de aceptación	33
4.4 Protocolo de validación para la determinación de hierro, por el método de la 1,10 fenantrolina, en agua de consumo humano	35
4.5 Protocolo de validación para la determinación de bromo en agua de consumo humano	41

4.6 Informe de validación para la determinación de hierro, por el método de la 1,10-fenatrolina	47
4.7 Informe de validación para método DPD, para determinar bromo en agua de consumo humano.	56
CAPÍTULO V	
5.0 CONCLUSIONES	67
CAPÍTULO VI	
6.0 RECOMENDACIONES	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Parámetros a evaluar durante la validación del método para la determinación de hierro en agua de consumo humano y sus criterios de aceptación.	34
2	Resultados de la exactitud de hierro total en agua de consumo humano	47
3	Resultados de la repetibilidad de hierro total en agua de consumo humano	50
4	Resultados del límite de cuantificación para la determinación de hierro total en agua de consumo humano	51
5	Resultados de la linealidad del método para la determinación de hierro total en agua de consumo humano	53
6	Resumen de los datos obtenidos en la evaluación método espectrofotométrico para determinar de hierro total en agua de consumo humano (método de la 1,10-fenantrolina).	55
7	Resultados de la exactitud de bromo en agua de consumo humano	57
8	Resultados de la repetibilidad de bromo en agua de consumo humano	59
9	Resultados del límite de cuantificación para la determinación de bromo en agua de consumo humano	60
10	Resultados de la linealidad del método para la determinación de bromo en agua de consumo humano	62
11	Resumen de los datos obtenidos en la evaluación del método espectrofotométrico para determinar bromo en agua de consumo humano (método DPD).	65

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Diagrama esquemático del espectrofotómetro
- 2 Gráfica linealidad del método para la determinación de hierro total en agua de consumo humano
- 3 Gráfica linealidad del método para la determinación de bromo en agua de consumo humano
- 4 Tabla t-student
- 5 Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos del organismo salvadoreño de acreditación

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

OSA	Organismo Salvadoreño de Acreditación
r²	Coefficiente de determinación.
CV	Coefficiente de variación.
CV_{x/y}	Coefficiente de variación de regresión.
S	Desviación estándar.
S_b	Desviación estándar de los blancos.
S_{y/x}	Desviación estándar de regresión.
IC(b₁)	Intervalo de confianza para la pendiente.
IC(β₀)	Intervalo de confianza para la ordenada al origen.
ISO	International Organization for Standardization (Organización Internacional para la Estandarización).
LC	Límite de cuantificación.
≥	Mayor o igual.
\bar{y}	Media aritmética
≤	Menor o igual.
β₀	Ordenada al origen.
ppm	Partes por millón.
b₁	Pendiente.
Σ	Sumatoria.
Σ_y	Sumatoria de datos obtenidos de los ensayos.
UV	Ultravioleta.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo principal de validar un método analítico para la determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano, mediante espectrofotometría visible (espectrofotómetro Orion AquaMate), en un laboratorio fisicoquímico de aguas, se hizo indispensable llevar a cabo la validación de este procedimiento con el fin de presentar su adecuación con el propósito, de que el laboratorio pueda adquirir la validación de esta metodología para que, futuros resultados tengan validez al ser publicados.

Posteriormente se comprobó que los resultados obtenidos cumplieran con los criterios de validación dados por el standard methods, control de calidad analítica establecidos por el laboratorio y cumplimiento de la guía de validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) en el Sistema de Gestión de Calidad G 9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión 2.

La validación del método de determinación de hierro (método de la fenantrolina) y bromo (método DPD), en agua de consumo humano por espectroscopia visible (Orion AquaMate), en un laboratorio fisicoquímico de agua es un paso crucial para garantizar la fiabilidad y precisión de los resultados obtenidos. El Organismo Salvadoreño de Acreditación, OSA establece los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, incluyendo la validación de métodos de análisis.

En este caso, la validación del método de determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano implica la verificación de parámetros como la selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límite de cuantificación y linealidad. La selectividad del método asegura que los resultados obtenidos sean específicos para el hierro y el bromo, sin interferencias de otros componentes presentes en el agua. La linealidad del método establece la relación entre la concentración de los analitos y la respuesta del detector, para garantizar la proporcionalidad de los resultados.

La precisión del método se evalúa mediante la repetibilidad de los resultados obtenidos en diferentes condiciones de análisis. La exactitud del método se determina comparando los resultados obtenidos con valores de referencia conocidos, para verificar que los resultados sean cercanos al valor verdadero. Los límites cuantificación del método establecen la sensibilidad y capacidad de detectar concentraciones bajas de hierro y bromo en el agua.

CAPÍTULO I

1.0 INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural de utilidad pública y gestión social, vulnerable y escaso, que debe ser protegido en su ecosistema, de múltiples usos, los cuales ante su escasez deben ser priorizados y utilizados racional y eficazmente, indispensable para la supervivencia humana y del planeta. El estado y la ley deben garantizar el acceso equitativo y de calidad a toda la población, su gestión debe ser integral e integrada y de responsabilidad compartida entre las diversas contrapartes públicas y privadas implicadas en su conservación, distribución y consumo.

En la problemática de conservación y disponibilidad de agua de buena calidad convergen diferentes causas: unas comunes en cualquier lugar del planeta y otras derivadas de la situación política, económica y social del país. Entre las primeras se debe mencionar el aumento en la población y en la producción y consumo de bienes y en general del aumento de la actividad antrópica, todo lo cual incrementa la demanda del recurso y genera mayor cantidad de residuos, provocando así deterioro de la calidad y agotamiento de los recursos hídricos.

Ante esta necesidad era importante que en el Laboratorio Físicoquímico de Aguas, se validaran los métodos analíticos para la determinación de hierro y bromo presentes en el agua de consumo humano, mediante la técnica de espectroscopia visible, proporcionando valores confiables de concentración en las muestras procesadas, es decir, se validó la aptitud del método estimando los resultados de un modo que es ampliamente reconocido, internamente consistente y fácil de interpretar, porque es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos la validación se realizó, considerando que el laboratorio presta servicios a la comunidad, ofertando diferentes análisis físicoquímicos, proporcionando resultados de calidad con procesos eficientes y confiables, bajo los requisitos establecidos por el Organismo Salvadoreño de Acreditación, OSA.

CAPÍTULO II

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Validar el método para la determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano, por espectroscopia visible, en un laboratorio fisicoquímico de aguas.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Elaborar un protocolo de validación para la determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano, utilizando espectroscopía visible.
- 2.2.2 Presentar los informes de validación para las determinaciones de hierro y bromo en agua de consumo humano conforme a los requisitos establecidos por la guía de validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), G9.6 Validación de Métodos Analíticos Fisicoquímicos Versión 2
- 2.2.3 Verificar que los resultados de los parámetros evaluados, cumplen con las especificaciones establecidas en la guía de validación de OSA

CAPÍTULO III

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 Agua

Generalidades

El agua es uno de los principales componentes del planeta tierra; alrededor del 98%, corresponde a agua salada que se encuentra en mares y océanos, el agua dulce que poseemos en un 69% corresponde a agua atrapada en glaciares y nieves, un 30% está constituida por aguas subterráneas y una cantidad no superior al 0,7% se encuentra en forma de ríos y lagos. El agua es una molécula simple y extraña, puede ser considerada como el líquido de la vida. ¹

Es la sustancia más abundante en la biosfera, dónde la encontramos en sus tres estados y es además el componente mayoritario de los seres vivos, pues entre el 65 y el 95% del peso de la mayor parte de las formas vivas es agua. ^{1,2}

El agua es sumamente abundante en nuestro planeta, y dado que es el solvente universal, a menudo contiene numerosos elementos y sustancias disueltas en ella, que pueden ser detectadas a simple vista y modifican su sabor, color y olor, representando así un peligro potencial para el cuerpo humano. ^{1,2}

El agua es un líquido transparente insípido e inodoro que resulta de la combinación de dos moléculas de hidrógeno por una de oxígeno, su fórmula es H₂O, con un punto de congelación de 0° y su punto de ebullición de 100°C. El agua alcanza su densidad máxima a una temperatura de 4°C igual a 1g/mL. ^{1,2}

El agua es uno de los agentes ionizantes más conocidos. Puesto que todas las sustancias son de alguna manera solubles en agua, se le conoce frecuentemente como el disolvente universal. El agua se combina con ciertas sales para formar hidratos, reacciona con los óxidos de los metales formando ácidos y bases; y actúa como catalizador en muchas reacciones químicas importantes. ³

El agua es la única sustancia que existe a temperaturas ordinarias en los tres estados de la materia, o sea, sólido, líquido y gas. Como sólido o hielo se encuentra en los glaciares y los casquetes polares, así como en las superficies de agua en invierno; también en forma de nieve, granizo y escarcha, y en las nubes formadas por cristales de hielo. Existe en estado líquido en las nubes de lluvia formadas por gotas de agua, y en forma de rocío en la vegetación. Además, cubre las tres

cuartas partes de la superficie terrestre en forma de pantanos, lagos, ríos, mares y océanos. Como gas, o vapor de agua, existe en forma de niebla, vapor y nubes.³

3.2 Hierro

Generalidades

El hierro es un elemento químico de número atómico 26, se encuentra situado en el grupo 8, periodo 4 de la tabla periódica, su símbolo es Fe y su masa atómica es de 55,847 u. Es el cuarto elemento más abundante sobre la corteza terrestre (6,22%); en suelos su concentración varía entre 0,5 a 4,3%; en aguas superficiales en promedio se encuentra sobre 0,7 mg/L y en aguas subterráneas de 0,1 a 10 mg/L; en forma se puede encontrar generalmente en rocas y minerales como Fe^{+2} y Fe^{+3} .^{1,2}

La presencia de hierro en el agua se produce de forma natural, ya que es un elemento común en la superficie de la tierra y llega al agua subterránea a medida que esta se filtra en el suelo. Su presencia también puede estar relacionada con la corrosión en las tuberías y tanques de almacenamiento de metal que contienen este elemento. La corrosión puede arrancar y disolver el hierro de superficies de acero, y este hierro libre puede depositarse en superficies de otros puntos del sistema de distribución del agua en los que origina nuevos focos de corrosión. ³

Las concentraciones de este metal presentes en el agua, por lo general, no presentan un peligro para la salud. Sin embargo, el hierro puede modificar negativamente el sabor del agua y generar manchas color marrón rojizo en la ropa, platos, utensilios, vasos, lavaplatos o accesorios de plomería. ³

3.2.1 Problemas causados por la presencia del hierro en el agua ²

Desde el punto de vista fisiológico el hierro es un oligoelemento que juega un papel fundamental en la vida, elemento indispensable para nuestra nutrición pues un número importante de proteínas lo contienen, por ejemplo, la hemoglobina, los citocromos y numerosas enzimas de óxido-reducción.

En las aguas subterráneas anaerobias puede haber concentraciones de hierro ferroso de hasta varios miligramos por litro sin que se manifieste alteración alguna del color ni turbidez al bombearla directamente desde un pozo. Sin embargo, al entrar en contacto con la atmósfera, el hierro ferroso

se oxida a férrico, tiñendo el agua de un color marrón rojizo no deseable. El hierro también potencia la proliferación de bacterias ferruginosas, que obtienen su energía de la oxidación del hierro ferroso a férrico y que, en su actividad, depositan una capa viscosa en las tuberías.

En el agua potable el hierro, se presenta por corrosión de las tuberías de distribución de aguas, en estos fenómenos intervienen las bacterias férricas la cuales propician la aparición de ciertas características en el agua como:

- Sabor metálico.
- Color marrón rojizo.
- Turbidez.
- Manchas en la ropa lavada y en artefactos sanitarios.

La ingestión de grandes cantidades de hierro provoca hemocromatosis, enfermedad caracterizada por lesiones reversibles de diversa gravedad en varios tejidos, mientras que la deficiencia de hierro puede provocar enfermedades como la anemia, lo que convierte al hierro en un elemento indispensable para la salud en cantidades apropiadas.

3.2.2 Método de la fenantrolina ²

El Método de Fenantrolina consiste en dar un tratamiento a la muestra el cual reduce al hierro a estado ferroso, por ebullición con ácido clorhídrico e hidroxilamina y se trata con 1,10-fenantrolina, hasta obtener un pH entre 3.2 a 3.3 dando la formación de un complejo rojo-naranja, siendo este un quelato de tres moléculas de fenantrolina por cada átomo de hierro ferroso; la solución coloreada obedece a la ley de Beer.

3.3 Bromo ⁴

Generalidades

El bromo es un elemento no metálico que pertenece al grupo de los halógenos, grupo 17 (VIIA) de la tabla periódica. Su símbolo químico es el Br. Se presenta como una molécula diatómica, cuyos átomos están unidos por un enlace covalente, por lo que se le asigna la fórmula molecular Br₂.

A diferencia del flúor y el cloro, el bromo en condiciones terrestres no es un gas sino un líquido marrón rojizo (imagen superior). Es fumante, y es, junto con el mercurio, los únicos elementos líquidos. Por debajo de él, el yodo, si bien se intensifica su color y se torna morado, puede cristalizar en un sólido volátil.

El bromo es el 62° elemento más abundante de la Tierra, encontrándose distribuido en bajas concentraciones por la corteza terrestre. En el mar, la concentración promedio es de 65 ppm. El cuerpo humano contiene un 0,0004% de bromo, desconociéndose aún su función.

3.3.1 Problemas causados por la presencia de bromo en agua

El bromo es un químico que puede estar presente en el agua, ya sea de forma natural o como resultado de la desinfección del agua. Aunque se utiliza en sistemas de tratamiento de agua como desinfectante alternativo al cloro, el bromo en concentraciones altas puede tener efectos negativos en la salud humana. Algunos de los posibles efectos en la salud causados por el bromo en el agua incluyen:

- Irritación de la piel y los ojos: El contacto con agua que contiene altas concentraciones de bromo puede causar irritación en la piel y los ojos. Esto puede manifestarse como enrojecimiento, picazón, quemaduras leves o sensación de ardor.
- Problemas respiratorios: La inhalación de vapores de agua que contienen bromo puede irritar las vías respiratorias, causando tos, dificultad para respirar, dolor de garganta y congestión nasal.
- Problemas gastrointestinales: Beber agua con altos niveles de bromo puede provocar malestar estomacal, náuseas, vómitos, diarrea y otros trastornos gastrointestinales.
- Reacciones alérgicas: Algunas personas pueden ser sensibles al bromo y experimentar reacciones alérgicas como erupciones cutáneas, urticaria o dificultad para respirar.
- Toxicidad aguda: La exposición a concentraciones extremadamente altas de bromo en el agua puede causar toxicidad aguda, lo que incluye síntomas graves como convulsiones, pérdida del conocimiento e incluso la muerte en casos extremos.

Es importante tener en cuenta que los efectos en la salud pueden variar dependiendo de la concentración de bromo en el agua y la duración de la exposición.

3.3.2 Método DPD ²

El método DPD (N,N-dietil-p-fenilendiamina) para la determinación de bromo en agua es un procedimiento comúnmente utilizado en el análisis de calidad del agua, especialmente en piscinas y aguas residuales. El cual se sigue el siguiente procedimiento:

- Preparación de la muestra: Se ajusta el pH de la muestra a aproximadamente 6.3 mediante la adición de un tampón de Ph.
- Adición de reactivos: Se agrega yoduro de potasio a la muestra. El bromo reacciona con el yoduro para liberar yodo.
- Reacción con DPD: El yodo liberado reacciona con el DPD, formando un color rosado.
- Medición: La intensidad del color rosado se mide fotométricamente, lo que permite determinar la concentración de bromo en la muestra.
- Este método es muy útil para garantizar la eficacia de la desinfección y prevenir impactos negativos en la salud humana.

3.4 Espectrómetro ⁵

Un espectrofotómetro es un instrumento que mide la transmisión o absorción de luz a través de una sustancia de muestra. Obtener información de este instrumento sobre la cantidad de luz que atraviesa una muestra o es absorbida por ella puede ayudar a identificar la presencia de una sustancia en la muestra o la concentración de una sustancia en la muestra. Para usar un espectrofotómetro, el operador hace brillar un haz de luz en un prisma o monocromador. Este monocromador luego divide la luz en sus longitudes de onda componentes, y el operador elige una longitud de onda particular para pasar a través de una muestra que se mantiene en una cubeta o portamuestras. Después de que la luz pasa a través de esta muestra, es leída e interpretada por una pantalla digital, o pantalla de salida. (ver Figura N°1)

La absorbancia del espectrofotómetro se refiere a la cantidad de luz absorbida por una solución, medida por un instrumento de laboratorio llamado espectrofotómetro de absorbancia. En química y biología, los espectrofotómetros se utilizan para una variedad de propósitos. Pueden ayudar a

identificar compuestos, determinar concentraciones de soluciones o estimar la cantidad de células suspendidas en un líquido. Los espectrofotómetros funcionan dirigiendo un conjunto filtrado de ciertas longitudes de onda de luz a través de una solución de muestra y hacia un fotómetro. La cantidad de luz transmitida o absorbida por la muestra, así como las longitudes de onda absorbidas, revelan algunas de las propiedades de la muestra.

La luz que los seres humanos perciben visualmente es una forma de energía, radiación electromagnética, e incluye un rango de longitudes de onda en una pequeña porción del espectro electromagnético. Los rayos gamma, los rayos X y otras longitudes de onda cortas inferiores a 400 nanómetros (nm) no son visibles para el ojo humano, ni tampoco las longitudes de onda superiores a 700 nm, como la luz infrarroja o las ondas de radio. Los colores que perciben los humanos van desde ondas azules y violetas más cortas de alrededor de 400 nm a través del arco iris hasta el rojo, que está más cerca de 700 nm. Los espectrofotómetros miden en el rango visible con cierta superposición en las secciones ultravioleta e infrarroja del espectro.

3.4.1 Ley De Beer ⁵

El uso de un espectrofotómetro se basa en la Ley de Beer. La ley de Beer se expresa mediante esta ecuación:

- $A = Ebc$
- Dónde:
- A = Absorción (sin unidades)
- E = Epsilon, o absortividad molar, o coeficiente de extinción con unidades $L \text{ mol}^{-1}$
- b = La longitud del camino de la muestra, o el ancho de la cubeta, en centímetros (cm)
- c = concentración del compuesto en solución, en mol/L

Aquí, la absorción es directamente proporcional a la longitud del camino de la muestra o el ancho de la cubeta y también es directamente proporcional a la concentración de la muestra.

Para usar la Ley de Beer para determinar la concentración de una muestra, se prepara un gráfico usando soluciones estándar conocidas y luego la lectura de la muestra se coloca en este gráfico para determinar su concentración. Este método, sin embargo, asume una relación lineal entre

absorción y concentración. Esto solo es válido para soluciones lo suficientemente diluidas o en el rango de dilución de la muestra. La lectura que se obtiene del espectrofotómetro es la Absorción, que luego se usa en la ecuación para determinar la concentración de la muestra.

Si bien algunos tipos de espectrofotómetros más modernos pueden funcionar de manera algo diferente a la aplicación directa de la Ley de Beer junto con un gráfico, la Ley de Beer sigue siendo el principio básico detrás de los espectrofotómetros.

3.4.2 Partes de un Espectrofotómetro ⁵

Las partes del espectrofotómetro se unen para enviar una longitud de onda de luz elegida a través de una muestra de concentración desconocida. La longitud de onda que se elija dependerá de la muestra que se analice. Cuantas más moléculas de una sustancia determinada en la muestra absorban luz a una cierta longitud de onda, mayor será la concentración de esa sustancia en la muestra.

Para comenzar a operar el espectrofotómetro, el usuario debe asegurarse de configurar la longitud de onda y también configurar el “blanco”. Esta es una configuración que tiene en cuenta una cubeta llena con un líquido similar al que contiene la muestra, y su propósito es garantizar que la absorción de la cubeta y el líquido en sí no se sume a la absorción de la muestra solamente.

3.4.2.1 Fuente de luz

Hay dos fuentes de luz en un espectrofotómetro, que son la lámpara de tungsteno y la lámpara de deuterio o hidrógeno. La lámpara de tungsteno genera luz visible y las otras dos lámparas dan luz en el rango ultravioleta. La luz elegida será policromática, o compuesta por un rango de longitudes de onda. Esta luz se refleja y condensa mediante un espejo y una lente, y luego pasa al monocromador.

3.4.2.2 Monocromador

El monocromador hace exactamente lo que dice su nombre; es decir, produce luz de una sola longitud de onda. Esta es la longitud de onda elegida que se establece al comienzo del análisis de la muestra. Esto se hace con un prisma o una rejilla, dependiendo de la longitud de onda deseada.

3.4.2.3 Cubetas

La cubeta que contiene la muestra es transparente y está hecha de vidrio, sílice, plástico o cuarzo. El operador debe tener cuidado de que la cubeta esté libre de huellas dactilares u otros aceites antes de insertarla en el espectrofotómetro. El plástico y el vidrio no se pueden usar para ninguna longitud de onda elegida que esté en la región ultravioleta, pero está bien para longitudes de onda en el rango visible. Para longitudes de onda muy cortas de menos de 200 nm, incluso el oxígeno absorbe esta luz. En ese caso, la cubeta debe ser evacuada de oxígeno. La mayoría de las cubetas contienen entre uno y tres ml de solución.

3.4.2.4 Pantalla digital

Para dar una visualización digital de la absorción, se utiliza una fotocélula para convertir la luz que pasa a través de la muestra en energía eléctrica. Esto luego se amplifica y se registra como la lectura de absorción.

3.5 Aplicaciones de un espectrofotómetro

Hay varios tipos diferentes de espectrofotómetros, cada uno diseñado para aplicaciones específicas. Lo que hemos presentado hasta ahora es el espectrofotómetro UV/Visible, pero los principios son similares para todos los tipos. También hay espectrofotómetros de absorción atómica que descomponen la muestra en iones y espectrofotómetros de infrarrojo cercano que pueden proporcionar información sobre el contenido nutricional de los alimentos. Otras aplicaciones incluyen:

- Analizar la estructura de un compuesto orgánico.
- Determinación del peso molecular de un compuesto
- Asegurar la consistencia del color de un producto
- Control de calidad de productos farmacéuticos.
- Evaluación de la efectividad de los esfuerzos de remediación ambiental
- Determinación de la concentración de una sustancia en una muestra

3.6 Fundamentos de la espectroscopía ultravioleta–visible ⁶

El principio de la espectroscopía ultravioleta–visible involucra la absorción de radiación ultravioleta–visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado. La longitud de onda comprende entre 160 y 780 nm. La absorción de radiación UV–visible por una especie se da en 2 etapas: -Excitación electrónica - Relajación. Puede ser por: - Emisión de calor - Reacción fotoquímica - Emisión de fluorescencia / fosforescencia Las bandas que aparecen en un espectro UV–visible son anchas, ya que se superponen transiciones vibracionales y electrónicas. La excitación corresponde a los electrones de enlace, por ello los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces. Por este motivo la espectroscopia UV–visible es válida para identificar grupos funcionales en una molécula.

3.7 Qué es validación ⁷

La validación de un método analítico es un requisito importante en las prácticas de laboratorios de análisis químico, promoviéndole al mismo un buen sistema de gestión de calidad. Millones de mediciones analíticas se realizan diariamente en miles de laboratorios alrededor del mundo, con innumerables razones para realizarlas, por ejemplo: una forma de evaluar bienes para propósitos de comercio y como apoyo a la salud.

- Virtualmente, cada aspecto de la sociedad está apoyado de algún modo por mediciones analíticas. La validación de un método consiste en verificar mediante exámenes y provisión de evidencias objetivas que se cumplen unos requisitos previamente establecidos. Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:
- Un nuevo método desarrollado para un problema específico.
- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema.
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo.
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación.

- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

El alcance de la validación o la revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. Siempre es apropiado algún grado de validación, aun cuando se usan métodos aparentemente bien caracterizados ya sean de referencia o publicados.

El método establecido debe ser sometido a ensayos y muestras particularmente diseñados, con el fin de identificar los puntos débiles y ajustarlos. A continuación, se establecen las características de tales muestras:

- Patrones: Preparados en el laboratorio y por lo menos un patrón externo certificado. La concentración de estos patrones deberá estar dentro del rango de aplicación del método. Estos son utilizados para realizar una representación gráfica de la señal, conocida como curva de calibración.
- Blanco: Sistema físico que no contiene el analito de interés, pero si todos los demás reactivos utilizados en el método de análisis, deberá ser sometida a las mismas condiciones y el mismo procedimiento que las muestras reales.
- Muestra: El término se refiere a cada sistema físico que sea sometido al procedimiento de análisis siguiendo el método que se está estandarizando, ya sea un blanco, estándar, muestra adicionada o muestra real.
- Muestra adicionada: Es una muestra natural o real a la cual se le ha adicionado una cantidad conocida del analito que se está estudiando.
- Curvas de calibración: Para realizar el método de la curva de calibrado se introducen en el instrumento varios patrones que contienen concentraciones exactamente conocidas del analito a analizar y se registra la señal instrumental. Normalmente esta señal se corrige con la correspondiente señal obtenida con el blanco. Los datos obtenidos se representan para obtener una gráfica de la señal corregida del instrumento frente a la concentración de analito.
- Aspectos de medición: El laboratorio tiene que decidir cuáles de los parámetros de desempeño que el método necesita caracterizar con el fin de ser validado.

3.8 Parámetros de desempeño ¹⁰

3.8.1 Exactitud

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado. No debe confundirse la exactitud y precisión. Pues la precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da ninguna indicación de lo cerca que está el valor verdadero. Para que un método sea exacto requiere de un cierto grado de precisión.

Para definición de exactitud surge el principal problema de cuál es el valor aceptado como verdadero de un determinado analito; el valor verdadero en muchos casos se desconoce, pero cuando se disponen de patrones de referencia certificados, el valor de dicho patrón es el que se acepta como verdadero, por lo que la exactitud puede evaluarse aplicando el método sobre dicho patrón.

La exactitud experimentalmente se establece a través del rango especificado en el procedimiento analítico, pudiendo ser evaluado con un mínimo de tres niveles de concentración cada uno por triplicado y debiendo ser reportado su resultado como porcentaje de recobro de la cantidad del estándar de referencia o por la diferencia entre el porcentaje promedio del ensayo y el valor aceptado como verdadero.

3.8.2 Precisión

La precisión expresa el grado de concordancia entre una serie de medidas y tomas múltiples a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. El objetivo de estudiar la precisión en un método es conocer la variabilidad que pudiera haber en el mismo, esta variabilidad pudiera deberse a errores inherentes al método de ensayo, entre los factores que influyen en las causas de error sobre los resultados podemos tener: error del analista, error del equipo o instrumental, error causado por reactivos, etc. De aquí la importancia de estudiar este parámetro. En la precisión se puede considerar tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia, reproducibilidad.

Repetibilidad: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas, en un mismo laboratorio y en un periodo de corto.

Precisión intermedia: estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes y en un mismo día. La precisión del método analítico se expresa generalmente como el coeficiente de variación (CV) de una serie de medidas de igual manera que la repetibilidad.

La reproducibilidad estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios. La precisión se determina con el cálculo de la desviación estándar relativa o coeficiente de variación, y se expresa dando el valor medio obtenido junto con el más-menos de la variabilidad de los resultados.

3.8.3 Linealidad

La linealidad es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido. Siempre que sea posible se buscará una respuesta de tipo lineal que facilitará su trazado, interpolación e interpretación, para lo cual se espera obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales del analito en muestra. Por lo que se evalúa tanto por inspección visual de un gráfico respuesta analítica vrs concentración del analito, como también por métodos estadísticos como: regresión lineal, coeficiente de determinación, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza de la ordenada al origen y el coeficiente de variación de regresión.

3.8.4 Límite de cuantificación

Se entenderá por límite de cuantificación la mínima cantidad de analito presente en la muestra, que se puede cuantificar, bajo condiciones descritas, con una adecuada precisión y exactitud. El valor límite cuantitativo es únicamente indicativo y normalmente no debe usarse para tomar decisiones.

CAPÍTULO IV

4.0 PRODUCTO FINAL

4.1 Protocolo de validación y registro de resultados para la determinación de hierro total en agua potable

El protocolo de validación se hizo en base a los parámetros de desempeño a estudiar, donde se documentará el resultado obtenido del desarrollo de cada parámetro en estudio y poder verificar si cumple con el criterio de aceptación correspondiente. Además, se contará con un formato de registro de resultados con el fin de evidenciar por cada parámetro todos los análisis realizados (Ver tabla N°2 y N°3).

Se elaboró una propuesta de validación para determinación de hierro total y bromo, en agua de consumo humano, por medio del espectrofotómetro Orion AquaMate, donde se puede observar el desarrollo y cumplimiento de los parámetros de desempeño, obteniéndose resultados los cuales se interpretaron en cada parámetro en estudio valiéndose de técnicas estadísticas para establecer el cumplimiento de las mismas.

Se desarrollaron los procedimientos de operación de los parámetros de desempeño: exactitud, precisión (repetibilidad), límite de cuantificación, linealidad; aplicando a cada uno de éstos el método de estudio de la 1,10-fenantrolina (hierro total) y método de DPD (bromo), evaluados con sus respectivos criterios de aceptación por medio de técnicas estadísticas.

4.2 Parte Experimental

4.2.1 Prueba del paquete de polvos para hierro (Ferro) de AC4P78. Método de la 1,10-fenantrolina (0,02-3 mg/l Fe)

- Cargue y ejecute el método AC4P78.
- Rellene un vial redondo limpio AQUAfast de 24 mm, n.º de cat. AC2V24, con 10 ml de muestra. Cierre bien el vial con el tapón. Limpie el exterior del vial.
- Coloque el vial en el soporte de la cámara de muestras y cierre la puerta de la cámara.
- Pulse la tecla de función Blank (Blanco) para medir el blanco.
- Abra la puerta de la cámara de muestras y retire el vial del soporte.
- Añada el contenido de un paquete en polvo de F10 Ferro directamente del envase de aluminio al vial.

- Cierre bien el vial con el tapón y dele la vuelta o inviértalo varias veces para mezclar el contenido. Limpie el exterior del vial.
- Espere a que se produzca la reacción durante un periodo de 3 minutos.
- Coloque el vial en el soporte de la cámara de muestras y cierre la puerta de la cámara.
- Pulse la tecla de función Sample (Muestra) para ver el resultado en mg/l de hierro.

Notas:

- El reactivo reacciona con todo el hierro soluble y la mayoría de las formas insolubles del hierro en la muestra de agua.
- El óxido de hierro necesita una digestión previa: utilice una digestión suave, vigorosa o Digesdahl. Aquí se describe un ejemplo de digestión con ácido:
- Añada 1 ml de ácido sulfúrico concentrado a 100 ml de muestra de agua. Caliente y hierva durante 10 minutos o hasta que se hayan disuelto todas las partículas.
- Tras enfriarlo, la muestra se ajusta a un valor de pH de 3 a 6 utilizando una solución de amoníaco. Rellene con agua desionizada hasta el volumen anterior de 100 ml y mezcle bien. Se utilizan 10 ml de la solución pretratada para la prueba (realizados tal y como se describe en el método de prueba seleccionado).
- El agua que ha sido tratada con compuestos orgánicos como los inhibidores de corrosión debe oxidarse según sea necesario para descomponer el hierro. Paraesto, añada 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y 1 ml de ácido nítrico a 100 ml de muestra de agua y hiérvala hasta conseguir la mitad del volumen aproximadamente. Tras enfriarla, realice el proceso que se describe arriba.
- Las muestras fuertemente alcalinas o ácidas deben ajustarse a un valor de pH entre 3 y 5 antes de realizar la prueba.
- La eficacia no se ve afectada por el polvo sin disolver.
- Las muestras de agua que contengan óxido visible deben dejarse reaccionar al menos durante 5 minutos.

4.2.2 Prueba en tableta de bromo AC2035. Método de DPD (0,05-13 mg/l Br₂)

- Cargue y ejecute el método AC203524.
- Rellene un vial redondo limpio AQUAfast de 24 mm, n.º de cat. AC2V24, con 10 ml de muestra. Cierre bien el vial con el tapón. Limpie el exterior del vial.
- Coloque el vial en el soporte de la cámara de muestras y cierre la puerta de la cámara.
- Pulse la tecla de función Blank (Blanco) para medir el blanco.
- Abra la puerta de la cámara de muestras y retire el vial del soporte.
- Vacíe el vial, dejando algunas gotas de la muestra dentro de este.
- Añada una tableta de DPD N.º 1 directamente del envase de aluminio al vial. Aplaste la tableta con una varilla para agitar limpia.
- Añada la muestra hasta la marca de 10 ml del vial.
- Cierre bien el vial con el tapón y dele la vuelta o inviértalo varias veces hasta disolver las tabletas. Limpie el exterior del vial.
- Coloque el vial en el soporte de la cámara de muestras y cierre la puerta de la cámara.
- Pulse la tecla de función Sample (Muestra) para ver el resultado en mg/l de bromo.

Notas:

- De manera alternativa, el método AC203510 puede utilizarse con viales cuadrados de 10 mm y el método AC203550 puede utilizarse con viales rectangulares de 50 mm. Todos los volúmenes del blanco y de la muestra deben ser iguales a los especificados en estas instrucciones, por lo que es necesario preparar las muestras en recipientes separados y luego transferirlas al vial seleccionado.
- Limpieza del vial: Debido a que la mayoría de limpiadores caseros como, por ejemplo, el jabón lavaplatos, contienen sustancias reductoras, la determinación posterior del bromo podría mostrar resultados inferiores. Para evitar cualquier error de medición, utilice material de vidrio libre de cloro.
- Preparación: Ponga todos los elementos de vidrio que correspondan en una solución de hipoclorito de sodio (0,1 g/l) durante una hora y luego enjuáguelos todos a fondo con agua desionizada.

- Preparación de la muestra: Cuando prepare la muestra debe evitar el escape de gases de bromo, por ejemplo, pipeteando o agitando. Los análisis deben realizarse inmediatamente tras haber tomado la muestra.
- El desarrollo de color de DPD se lleva a cabo en un valor de pH de entre 6,2 y 6,5. La tableta de reactivo contiene por lo tanto un tampón para el ajuste del pH. Las muestras de agua fuertemente alcalinas o ácidas deben ajustarse a un pH entre 6 y 7 antes de añadir el reactivo (utilice 0,5 mol/l de ácido sulfúrico o 1 mol/l de hidróxido de sodio).
- Superación del rango de medición: Las concentraciones por encima de 22 mg/l de bromo podrían conllevar que el resultado se muestre como 0 mg/l. En este caso, la muestra de agua debe diluirse con agua libre de bromo. Se deben mezclar 10 ml de la muestra con el reactivo y debe repetirse la medición.
- Los agentes oxidantes como el cloro o el ozono interfieren debido a que reaccionan de la misma forma que el bromo.

4.3 Criterios de aceptación

Son los criterios que se establecen para cada parámetro de desempeño, con el fin de evaluar los resultados del estudio, estos criterios deben de mantenerse a lo largo de toda la validación y cualquier cambio debe de ser justificado. A continuación, se presentan los criterios de aceptación para cada parámetro en estudio. (Ver tabla N°1)

Tabla N°1. Parámetros a evaluar durante la validación del método para la determinación de hierro en agua de consumo humano y sus criterios de aceptación ^{9,13}

Parámetros	Criterios de Aceptación	Referencia
Exactitud	El coeficiente de variación: Comprende de 50-120% para impurezas. El valor de la media poblacional (\bar{y}) debe incluirse dentro del intervalo.	Guía de Validación De Métodos Analíticos Físicoquímicos. Versión 2 del Organismo Salvadoreño de Acreditación. Ortega Aguirre L. y Otros. 2001. Validación de Métodos Analíticos. Barcelona España.
Precisión (Repetibilidad)	El coeficiente de variación para soluciones menores a 1 ppm debe ser $\leq 11\%$ El valor de la media poblacional (\bar{y}) debe incluirse dentro del intervalo.	
Límite de cuantificación	$r^2 \geq 0.98$ El IC(β_1) debe incluir el cero	
Linealidad del Método	Cantidad adicionada vs cantidad recuperada: $r^2 \geq 0.98$ El IC(β_1), el valor de la pendiente debe incluirse en el intervalo. El IC(β_0), el valor de la ordenada debe incluir el intervalo. El $CV_{y/x}$, no mayor de 3% si es químico o espectrofotométrico.	

**4.4 Protocolo de validación para la determinación de hierro, por el método de la 1,10
fenantrolina, en agua de consumo humano**

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TÍTULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en el método analítico espectrofotométrico 1,10-fenantrolina, para la determinación de hierro total en agua de consumo humano.			
Método de la 1,10-fenantrolina			
Equipos			
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS	27/06/2024	
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100	14/06/2024	
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Página N°:
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	1
<p>OBJETIVO. Demostrar mediante este documento que el método analítico espectrofotométrico para la determinación de hierro total en agua de consumo humano, cumple con los requerimientos de: exactitud, precisión (repetibilidad), límite de cuantificación, linealidad.</p> <p>ALCANCE. Método de análisis que se utiliza para determinar Hierro total en agua de consumo humano en concentraciones de 0.1 mg/L a 2.0 mg/L utilizando el Espectrofotómetro Orion AquaMate UV 7100</p> <p>MATERIALES Erlenmeyer 125 mL Balón volumétrico 50.0 mL Pipeta volumétrica 50.0 mL Pipeta volumétrica 10.0 mL Pipeta volumétrica 4.0 mL Pipeta volumétrica 2.0 mL Pipeta volumétrica 1.0 mL</p> <p>REACTIVOS Ácido clorhídrico concentrado Solución de hidroxilamina Solución tampón de acetato de amonio Solución de fenantrolina Solución de hierro de reserva Solución de hierro patrón</p>			

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TÍTULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en el método analítico espectrofotométrico, 1,10-fenantrolina, para la determinación de hierro total en agua de consumo humano.			
Método de la 1,10-fenantrolina			
Equipos			
Nombre	Modelo		Fecha de calibración
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS		27/06/2024
Nombre	Modelo		Fecha de calibración
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100		14/06/2024
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Pagina N°: 2
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	14/06/2024
PARAMETROS DE DESEMPEÑO.			
Evaluación de los parámetros de desempeño del método.			
Exactitud			
La exactitud del método se demuestra analizando tres niveles de concentración de soluciones estándar de hierro, con concentraciones 0.3, 0.7 y 1 mg/l, cada uno de estos por triplicado, realizando así nueve determinaciones en total.			
Procedimiento:			
a) Se Preparó una solución estándar a una concentración de 1.0 mg/L de hierro y partiendo de ésta se prepararon dos diluciones de 0.3 mg/L de hierro y 0.7 mg/L.			
b) Se realizó a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento de hierro total, por triplicado para cada concentración.			
c) Se hicieron las lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 510 nm para el hierro.			
d) Se calculó el coeficiente de variación e intervalo de confianza utilizando las fórmulas siguientes:			
Media Aritmética. $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$			

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

$$\text{Coeficiente de variación } CV = \frac{S}{Y} * 100$$

$$\text{intervalos de confianza para la media poblacional } IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Precisión del método - repetibilidad

Se realiza con la preparación de una solución estándar correspondiente a 0.20 mg/L de hierro, esta se analizó por sextuplicado, manteniendo las condiciones de: día, analista, instrumento y laboratorio.

La estimación de la repetibilidad del método se realizó con el cálculo del coeficiente de variación de las respuestas obtenidas y con los intervalos de confianza de cada nivel de concentración estudiada.

Procedimiento:

- a) Se preparó una solución estándar a una concentración de 0.20 mg/L de hierro.
- b) Se realizaron a estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento de hierro total, éste se hizo por sextuplicado.
- c) Se hicieron lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 510 nm.
- d) Se calculó el coeficiente de variación e intervalo de confianza utilizando las fórmulas siguientes:

$$\text{Media Aritmética. } \bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

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

$$\text{Coeficiente de variación } CV = \frac{S}{Y} * 100$$

$$\text{intervalos de confianza para la media poblacional } IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

límite de cuantificación.

Para este procedimiento se prepara cuatro concentraciones obtenidas por dilución a partir de una solución 0.2 mg/L de hierro. Luego se calculó el valor de la pendiente (b_1), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza de la pendiente.

Procedimiento:

- a) Se prepara cinco soluciones con las siguientes concentraciones: 0.2 mg/L, 0.1 mg/L, 0.05 mg/L, 0.002 mg/L, 0.005 mg/L de hierro.
- b) Se realiza a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento para la determinación de hierro total.
- c) Se harán lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 510 nm.
- d) Se calculará el límite de cuantificación. Utilizando las siguientes ecuaciones:

Pendiente

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

Coefficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC_{(\beta_1)} = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

Linealidad

Se realizará analizando cinco soluciones estándar de hierro con concentraciones de 0.30, 0.50, 1.00, 1.50 y 2.00 mg/L de hierro, de esta manera se puede elaborar la curva de calibración concentración vrs absorbancia. Además, se utiliza el método de estimación por mínimos cuadrados para calcular el valor de la pendiente (b_1), la ordenada al origen (b_0), coeficiente de

determinación (r^2), intervalo de confianza de la pendiente ($IC(\beta_1)$), intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC(\beta_0)$) y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{x/y}$).

Procedimiento:

- Se preparan las muestras con las concentraciones antes mencionadas.
- Se realiza a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento para la determinación de hierro total.
- Se harán lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 510 nm.
- Se calcula la pendiente, ordenada al origen, coeficiente de determinación, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza para la ordenada al origen y coeficiente de variación de regresión, utilizando las fórmulas siguientes:

Pendiente

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

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC_{(\beta_1)} = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$IC_{(\beta_0)} = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{\frac{y}{x}} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x)^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coefficiente de variación de regresión

$$CV_{Y/x} = \frac{S_{y/x}}{y}$$

RESULTADOS

Resultados	
Parámetro	Criterio de Aceptación
Conforme	No conforme

BIBLIOGRAFÍA

1. Guía de Validación De Métodos Analíticos Fisicoquímicos. Versión 2 del Organismo Salvadoreño de Acreditación.
2. Ortega Aguirre L. y Otros. 2001. Validación de Métodos Analíticos. Barcelona España. Páginas 33-36, 46-47, 54-58, 68-70, 75-77 y 85.

4.5 Protocolo para determinar parámetros de desempeño en el método analítico espectrofotométrico DPD, para la determinación de bromo en agua de consumo humano

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TÍTULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en el método analítico espectrofotométrico DPD, para la determinación de bromo en agua de consumo humano.			
Método de DPD			
Equipos			
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS	27/06/2024	
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100	14/06/2024	
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Página N°:
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	3
<p>OBJETIVO. Demostrar mediante este documento que el método analítico espectrofotométrico para la determinación de bromo en agua de consumo humano, cumple con los requerimientos de: exactitud, precisión (repetibilidad), límite de cuantificación, linealidad.</p> <p>ALCANCE. Método de análisis que se utiliza para determinar bromo en agua de consumo humano en concentraciones de 0,05-13 mg/l Br₂, utilizando el Espectrofotómetro Orion AquaMate UV 7100</p> <p>MATERIALES Erlenmeyer 125 mL Balón volumétrico 50.0 mL Pipeta volumétrica 50.0 mL Pipeta volumétrica 10.0 mL Pipeta volumétrica 4.0 mL Pipeta volumétrica 2.0 mL Pipeta volumétrica 1.0 mL</p> <p>REACTIVOS hipoclorito de sodio ácido sulfúrico agua libre de bromo solución de bromo patrón</p>			

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TITULO: Protocolo para determinar parámetros de desempeño en el método analítico espectrofotométrico DPD, para la determinación de bromo en agua de consumo humano.			
Método de DPD			
Equipos			
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS	27/06/2024	
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100	14/06/2024	
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Página N°:
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	4
PARAMETROS DE DESEMPEÑO.			
Evaluación de los parámetros de desempeño del método.			
Exactitud			
La exactitud del método se demostrará analizando tres niveles de concentración de soluciones estándar de bromo, con concentraciones 0.1, 0.3 y 5 mg/l, cada uno de estos por triplicado, realizando así nueve determinaciones en total.			
Procedimiento:			
a) El bromo se prepara una solución estándar de 5.0 mg/L y partiendo de esta se prepararon dos disoluciones de 0.1 y 0.3 mg/l.			
b) Se realiza a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento de bromo, por triplicado para cada concentración.			
c) Se harán las lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de para el bromo a 525 nm.			
d) Se calcula el coeficiente de variación e intervalo de confianza utilizando las fórmulas siguientes:			
Media Aritmética. $\bar{y} = \frac{\Sigma y}{n}$			

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

$$\text{Coeficiente de variación } CV = \frac{S}{Y} * 100$$

$$\text{intervalos de confianza para la media poblacional } IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Precisión del método - repetibilidad

Se realiza con la preparación de una solución estándar correspondiente para el bromo de 10 mg/L, estas se analizan por sextuplicado, manteniendo las condiciones de: día, analista, instrumento y laboratorio.

La estimación de la repetibilidad del método se realiza con el cálculo del coeficiente de variación de las respuestas obtenidas y con los intervalos de confianza de cada nivel de concentración estudiada.

Procedimiento:

- a) Se prepara una solución estándar a una concentración de 10 mg/L correspondiente al bromo.
- b) Se realizan a estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento de bromo, éste se hará por sextuplicado.
- c) Se Harán lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 525 nm.
- d) Se calcula el coeficiente de variación e intervalo de confianza utilizando las fórmulas siguientes:

$$\text{Media Aritmética. } \bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

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

$$\text{Coeficiente de variación } CV = \frac{S}{Y} * 100$$

$$\text{intervalos de confianza para la media poblacional } IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Límite de cuantificación.

Para este procedimiento se preparará cuatro concentraciones obtenidas por dilución a partir de una solución de 12 mg/L para el bromo. Luego se calcula el valor de la pendiente (b_1), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza de la pendiente.

Procedimiento:

- Se prepara cinco soluciones con las siguientes concentraciones: para el bromo 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L y 12 mg /L.
- Se realizó a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento para la determinación de bromo.
- Se hacen lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 525 nm.
- Se calcula el límite de cuantificación. Utilizando las siguientes ecuaciones:

Pendiente

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

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC_{(\beta_1)} = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

Linealidad

Se hará analizando cinco soluciones estándar de bromo con concentraciones para el bromo de 1, 3, 5, 10 y 12 mg/L, de esta manera se podrá elaborar la curva de calibración concentración vrs absorbancia. Además, se utiliza el método de estimación por mínimos cuadrados para calcular el

valor de la pendiente (b_1), la ordenada al origen (b_0), coeficiente de determinación (r^2), intervalo de confianza de la pendiente ($IC(\beta_1)$), intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC(\beta_0)$) y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{x/y}$).

Procedimiento:

- Se prepararán las muestras con las concentraciones antes mencionadas.
- Se realiza a cada una de estas soluciones el tratamiento de muestra según procedimiento para la determinación de bromo.
- Se harán lecturas en el espectrofotómetro Orion AquaMate 7100 Vis, a una longitud de onda de 525 nm.
- Se calcula la pendiente, ordenada al origen, coeficiente de determinación, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza para la ordenada al origen y coeficiente de variación de regresión, utilizando las fórmulas siguientes:

Pendiente

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

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$IC(\beta_0) = b_0 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_0}$$

$$S_{b_0} = S_{\frac{y}{x}} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x)^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Coefficiente de variación de regresión

$$CV_{y/x} = \frac{S_{y/x}}{y}$$

RESULTADOS

Resultados	
Parámetro	Criterio de Aceptación
Conforme	No conforme

BIBLIOGRAFÍA

1. Guía de Validación De Métodos Analíticos Físicoquímicos. Versión 2 del Organismo Salvadoreño de Acreditación.
2. Ortega Aguirre L. y Otros. 2001. Validación de Métodos Analíticos. Barcelona España. Páginas 33-36, 46-47, 54-58, 68-70,75-77 y 85.

A continuación se presentan los informes de validación con los resultados obtenidos, durante la evaluación de los métodos de la 1,10-fenantrolina (hierros totales) y DPD(bromo), comprobándose la aptitud de dichos métodos por medio del cumplimiento de los parámetros de desempeño establecidos por el OSA.

4.6 Informe de validación para la determinación de hierro, por el método de la 1,10-fenantrolina

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TÍTULO: Informe de validación para la determinación de hierro, por el método de la 1,10-fenantrolina			
Método de la 1,10-fenantrolina			
Equipos			
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS	27/06/2024	
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100	14/06/2024	
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Página N°:
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	1
<p>OBJETIVO. Demostrar mediante este documento que el método analítico espectrofotométrico para la determinación de hierro total en agua de consumo humano, cumple con los requerimientos de: exactitud, precisión (repetibilidad), límite de cuantificación, linealidad.</p> <p>ALCANCE. Método de análisis que se utiliza para determinar Hierro total en agua de consumo humano en concentraciones de 0.1 mg/L a 2.0 mg/L utilizando el Espectrofotómetro Orion AquaMate UV 7100</p> <p>Parámetros de desempeño para el hierro total en agua de consumo humano</p> <p>determinación de la exactitud del método espectrofotométrico</p> <p>La exactitud del método se realizó de la siguiente manera: preparando una serie de nueve muestras, adicionándole a cada serie una cantidad conocida de hierro (0.3, 0.7 y 1 mg/L), para poder obtener tres concentraciones diferentes. Se calculó la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza para la media poblacional, utilizando las siguientes formulas:</p> <p>Media Aritmética. $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$</p> <p>Desviación estándar $S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$</p>			

Coefficiente de variación $CV = \frac{S}{Y} * 100$

Intervalos de confianza para la media poblacional $IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$

Tabla N°2. Resultados de exactitud de hierro total en agua de consumo humano.

N° Replica	concentración original	concentración obtenida	absorbancia (y)	y^2
1	0.3	0.297	0.199	0.039601
	0.3	0.295	0.205	0.042025
3	0.3	0.298	0.201	0.040401
4	0.7	0.695	0.503	0.253009
5	0.7	0.694	0.505	0.255025
6	0.7	0.697	0.51	0.2601
7	1	0.93	0.996	0.992016
8	1	0.96	1.001	1.002001
9	1	0.9	1.004	1.008016
			$\sum y = 5.124$	$\sum y^2 = 3.892194$

Fuente: Elaboración propia

La tabla N°2 muestra los resultados de tres niveles de concentración, cada una por triplicado, de las muestras en estudio, en el mismo día con el mismo analista e instrumento. Se muestra el promedio aritmético (y), Desviación Estándar (S), Coeficiente de Variación (CV), así como el intervalo de confianza para la media poblacional (IC(μ)).

A continuación, se ejemplifica como se realizaron los cálculos:

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{50124}{9} = 0.57$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{9(3.892194) - (5.124)^2}{9(9-1)}} = 0.35$$

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{0.35}{0.57} * 100 = 61.40\%$$

Intervalo de confianza

El valor de tabla de la distribución t de Student, se determina para un t de 0.975, n-1 grados de libertad, siendo “n” el número de replicas.

Ejemplo: n = 9 para n-1, corresponde a 9-1 = 8 y para ocho grados de libertad el de t de Student de tabla es de 2.306.

$$IC_{(\mu)} = 0.57 \pm 2.306 \frac{0.35}{\sqrt{9}} = 0.8390, 0.3009$$

El valor obtenido del Coeficiente de Variación es aceptable debido a que se encuentra dentro del rango establecido del 50 al 120% para métodos que determinan impurezas; demostrando que no existe una apreciable variabilidad en los datos.

Además, al determinar el Intervalo de Confianza puedo observarse que la media poblacional se encontró dentro del intervalo calculado.

Determinación de la Precisión del Método (Repetibilidad) Espectrofotométrico

La evaluación de la repetibilidad se realizó por un analista, el mismo día y mismo instrumento preparando un sextuplicado de la concentración de 0.20 mg/L. Mediante el cálculo de la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza de la media poblacional, utilizando las mismas fórmulas que para la exactitud.

Tabla N°3. Resultados de repetibilidad de hierro total en agua de consumo humano.

N° replicas	concentración original	concentración obtenida (mg/l)	absorbancia (y)	y^2
1	0.2	0.22	0.493	0.243049
2	0.2	0.195	0.488	0.238144
3	0.2	0.197	0.492	0.242064
4	0.2	0.26	0.499	0.249001
5	0.2	0.24	0.495	0.245025
6	0.2	0.2	0.492	0.242064
			$\sum y = 2.959$	$\sum y^2 = 1.459347$

Fuente: Elaboración propia

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{2.959}{6} = 0.4932$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{6(1.459347) - (2.9590)^2}{6(6-1)}} = 0.0042$$

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{0.0042}{0.4932} * 100 = 0.85\%$$

Intervalo de confianza

$$IC_{(\mu)} 0.4932 \pm 2.306 \frac{0.0042}{\sqrt{6}} = 0.4972, 0.4892.$$

El valor obtenido con el Coeficiente de Variación es un valor aceptable puesto que es un valor menor de 11% el cual es un valor propuesto de la concentración en función de la concentración del analito, para el análisis de impurezas. La media poblacional se encontró dentro del intervalo de confianza por lo que se considera un valor que cumple con los requerimientos establecidos.

Determinación del Límite de Cuantificación del Método Espectrofotométrico

Se realizó el límite de cuantificación utilizando muestras con concentraciones de: 0.2, 0.1, 0.05, 0.002, 0.005 mg/L de hierro, simultáneamente se utilizaron cinco blancos para cada determinación.

Tabla N°4. Resultados del límite de cuantificación para la determinación de hierro total en agua de consumo humano.

N° replicas	concentración original	concentraciones obtenidas (x)	absorbancia (y)	$(x)^2$	$(y)^2$	Xy
1	0.2	0.204	0.045	0.041616	0.002025	0.00918
2	0.1	0.127	0.024	0.016129	0.000576	0.003048
3	0.05	0	0	0	0	0
4	0.02	0	0	0	0	0
5	0.005	0	0	0	0	0
	Sumatoria	0.331	0.069	0.057745	0.002601	0.012228
	Media	0.0662	0.0138			

Fuente: Elaboración propia

Con los datos obtenidos de la tabla N.º 4 para determinar hierro total se calculó la pendiente (b1), coeficiente de determinación (r2).

Pendiente

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

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC_{(\beta_1)} = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

A continuación, se ejemplifica como se realizaron los cálculos:

pendiente

$$b_1 = \frac{5(0.0122) - (0.331)(0.069)}{5(0.0577) - (0.331)^2} = 0.2135$$

Coefficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(5(0.0122) - (0.331)(0.069))^2}{(5(0.0577) - (0.331)^2)(5(0.0026) - (0.069)^2)} = 0.9878$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{0.0026 - (0.2135)(0.0122) - (-0.0004)(0.069)}{5 - 2}} = 0.0028$$

$$S_{b_1} = 0.0028 \sqrt{\frac{1}{0.0577 - \frac{(0.331)^2}{5}}} = 0.0148$$

$$IC_{(\beta_1)} = 0.2135 \pm (3.182)(0.0148) = 0.2606, 0.1664.$$

En el límite de cuantificación se comprobó de forma práctica a través del Espectrofotómetro, que el equipo es capaz de cuantificar hasta 0.1mg/L; con la ayuda de cálculos estadísticos se determinó un valor de 0.01mg/L para la determinación de hierro total. Además, el valor de la pendiente se encuentra dentro del intervalo de confianza de la misma y el coeficiente de determinación es mayor de 0.98.

Determinación de la linealidad del método espectrofotométrico

La linealidad del método se realizó de la siguiente manera, Primero, se procedió a la elaboración de la curva de calibración, para lo cual fue necesaria la preparación de cinco soluciones estándar

a concentraciones de: 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L de hierro, en la siguiente tabla, se muestran los valores obtenidos al determinar la curva de calibración:

Tabla N°5. Resultados de la linealidad del método para la determinación de hierro total en agua de consumo humano

N° replicas	concentración original	absorbancia (y)	(x) ²	(y) ²	xy
1	0.3	0.065	0.09	0.004225	0.0195
2	0.5	0.107	0.25	0.011449	0.0535
3	1.0	0.195	1	0.038025	0.195
4	1.5	0.303	2.25	0.091809	0.4545
5	2.0	0.392	4	0.153664	0.784
	$\Sigma x = 5.3$	$\Sigma y = 1.062$	$\Sigma x^2 = 7.59$	$\Sigma y^2 = 0.299172$	$\Sigma xy = 1.5065$

Fuente: Elaboración propia

Con los datos obtenidos se procedió al cálculo de la curva de calibración concentración vs absorbancia. Además, se utilizó el método de estimación por mínimos cuadrados para calcular el valor de la pendiente (b₁), la ordenada al origen (b₀), coeficiente de determinación (r²), intervalo de confianza de la pendiente (IC(β₁)), intervalo de confianza para la ordenada al origen (IC(β₀)) y el coeficiente de variación de regresión (CV_{x/y}).

Pendiente

$$b_1 = \frac{5(1.5065) - (5.3)(1.062)}{5(7.59) - (5.3)^2} = 0.1931$$

Coficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(5(1.5065) - (5.3)(1.062))^2}{(5(7.59) - (5.3)^2)(5(0.2992) - (1.062)^2)} = 0.9986$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{0.2992 - (0.1931)(1.5065) - (0.0077)(1.062)}{5 - 2}} = 0.000039$$

$$Sb_1 = 0.000039 \sqrt{\frac{1}{7.59 - \frac{(5.3)^2}{5}}} = 0.00003$$

$$IC_{(\beta_1)} = 0.1931 \pm 3.182(0.0045) = 0.1930, 0.1932.$$

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$b_0 = \frac{1.062 - 0.1931(5.3)}{5} = 0.0077$$

$$Sb_0 = 0.000039 \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{(1.06)^2}{7.59 - \frac{(5.3)^2}{5}}} = 0.000034$$

Coefficiente de variación de regresión

$$IC_{(\beta_0)} = 0.0077 \pm 3.182(0.000034) = 0.00759, 0.00781.$$

Coefficiente de variación de regresión

$$CV_{Y/X} = \frac{0.000039}{0.2124} * 100 = 0.0184\%$$

De esta forma se pudo comprobar que la curva de calibración posee las características adecuadas, puesto que se da cumplimiento estadístico en el valor de: La pendiente con su respectivo intervalo, estando comprendido el valor de pendiente en el intervalo establecido. La ordenada al origen y su respectivo intervalo, estando comprendido el valor de pendiente en el intervalo establecido de la misma. Un valor de coeficiente de determinación mayor de 0.98. Un coeficiente de variación de regresión no mayor de un 3 %.

Tabla N°6. Resumen de los datos obtenidos en la evaluación del método espectrofotométrico para determinar hierro total en agua de consumo humano (Método de la 1,10-fenantrolina).

Parámetros Evaluados	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud	CV: 50-120% para impurezas.	CV= 61.40%	Cumple
	\bar{y} = debe incluirse dentro del intervalo.	IC(μ)= 0.8390, 0.3009. \bar{y} = 0.57	
Precisión (Repetibilidad)	CV: $\leq 11\%$ para soluciones menores a 1ppm	CV= 0.85%	Cumple
	\bar{y} = debe incluirse dentro del intervalo.	IC(μ)= 0.4972, 0.4892. \bar{y} = 0.4932	
Límite de Cuantificación	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9878$	Cumple
	IC(β_1) debe incluir el cero.	IC(β_1) =0.2606,0.1664	
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9986$	Cumple
	IC(β_1), el valor de la pendiente debe incluirse en el intervalo.	IC(β_1) =0.1930,0.1932.	
	IC(β_0), el valor de la ordenada debe incluir el intervalo.	IC(β_0)=0.00759,0.00781.	
	CV _{y/x} no mayor de 3% si es químico o espectrofotométrico	CV _{y/x} = 0.0184%	

Fuente: Elaboración propia

Dictamen: con los datos obtenidos, podemos afirmar que el método da cumplimiento, con la guía de validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación, por lo tanto, el método es aceptable.

4.7 Informe de validación del método DPD, para determinar bromo en agua de consumo humano.

LABORATORIO FISICOQUÍMICO DE AGUAS			
TÍTULO: Informe de validación del método DPD, para determinar bromo en agua de consumo humano.			
Método de DPD			
Equipos			
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Balanza Analítica Adventurer	OHAUS	27/06/2024	
Nombre	Modelo	Fecha de calibración	
Espectrofotómetro Orion AquaMate	UV 7100	14/06/2024	
Fecha de emisión	Fecha de revisión	Fecha de aprobación	Página N°:
14/07/2024	16/07/2024	22/07/2024	2
<p>OBJETIVO. Demostrar mediante este documento que el método analítico espectrofotométrico para la determinación de bromo en agua de consumo humano, cumple con los requerimientos de: exactitud, precisión (repetibilidad), límite de cuantificación, linealidad.</p> <p>ALCANCE. Método de análisis que se utiliza para determinar bromo en agua de consumo humano en concentraciones de 0,05-13 mg/l Br₂, utilizando el Espectrofotómetro Orion AquaMate UV 7100</p> <p>Parámetro de desempeño para el bromo en agua de consumo humano.</p> <p>Determinación de la exactitud del método espectrofotométrico (0,05 a 13.0 ppm) La exactitud del método se realizó de la siguiente manera: preparando una serie de nueve muestras, adicionándole a cada serie una cantidad conocida de bromo (0.1, 0.3 y 5.0 mg/L), para poder obtener tres concentraciones diferentes. Se calculó la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza para la media poblacional, utilizando las siguientes formulas:</p> <p>Media Aritmética. $\bar{y} = \frac{\Sigma y}{n}$</p>			

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

$$\text{Coeficiente de variación } CV = \frac{S}{Y} * 100$$

$$\text{intervalos de confianza para la media poblacional } IC_{(\mu)} = y \pm t_{0.975, n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Tabla N°7. Resultados de exactitud de bromo en agua de consumo humano.

N° Replica	concentración original	concentración obtenida	absorbancia (y)	y^2
1	0.1	0.089	0.193	0.037249
2	0.1	0.097	0.199	0.039601
3	0.1	0.143	0.205	0.042025
4	0.3	0.277	0.488	0.238144
5	0.3	0.305	0.493	0.243049
6	0.3	0.314	0.495	0.245025
7	5.0	4.964	0.982	0.964324
8	5.0	5.033	0.989	0.978121
9	5.0	5.13	0.992	0.984064
Sumatoria			5.036	3.771602

Fuente: Elaboración propia

La tabla N°7 muestra los resultados de tres niveles de concentración, cada una por triplicado, de las muestras en estudio, en el mismo día con el mismo analista e instrumento. Se muestra el promedio aritmético (y), Desviación Estándar (S), Coeficiente de Variación (CV), así como el intervalo de confianza para la media poblacional (IC(μ)).

A continuación, se ejemplifica como se realizaron los cálculos:

Media aritmética

$$\bar{Y} = \frac{5.036}{9} = 0.5595$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{9(3.771602) - (5.036)^2}{9(9-1)}} = 0.3453$$

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{0.3453}{0.5595} * 100 = 61.72\%$$

Intervalo de confianza

El valor de tabla de la distribución t de Student, se determina para un t de 0.975, n-1 grados de libertad, siendo “n” el número de replicas.

Ejemplo: n = 9 para n-1, corresponde a 9-1 = 8 y para ocho grados de libertad el de t de Student de tabla es de 2.306.

$$IC_{(\mu)} = 0.5595 \pm 2.306 \frac{0.3453}{\sqrt{9}} = 0.2941, 0.8249$$

El valor obtenido del Coeficiente de Variación es aceptable debido a que se encuentra dentro del rango establecido del 50 al 120% para métodos que determinan impurezas; demostrando que no existe una apreciable variabilidad en los datos.

Además, al determinar el Intervalo de Confianza puedo observarse que la media poblacional se encontró dentro del intervalo calculado.

Determinación de la Precisión del Método (Repetibilidad) Espectrofotométrico

La evaluación de la repetibilidad se realizó por un analista, el mismo día y mismo instrumento preparando un sextuplicado de la concentración de 10 mg/L. Mediante el cálculo de la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza de la media poblacional, utilizando las mismas fórmulas que para la exactitud.

Tabla N°8. Resultados de repetibilidad de bromo en agua de consumo humano.

N° replicas	concentración original	concentración obtenida (mg/l)	absorbancia (y)	y ²
1	10	9.8548	1.461	2.134521
2	10	9.9503	1.465	2.146225
3	10	10.1207	1.465	2.146225
4	10	10.1268	1.465	2.146225
5	10	10.2141	1.468	2.155024
6	10	10.2811	1.469	2.157961
Sumatoria			8.793	12.886181

Fuente: Elaboración propia

A continuación, se ejemplifica como se realizaron los cálculos:

Media aritmética

$$\bar{y} = \frac{8.793}{6} = 1.4655$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{6(12.886181) - (8.793)^2}{6(6-1)}} = 0.0069$$

Coefficiente de variación

$$CV = \frac{0.0069}{1.4655} * 100 = 0.47\%$$

Intervalo de confianza

$$IC_{(t)} 1.4655 \pm 2.306 \frac{0.0069}{\sqrt{6}} = 1.4602, 1.4708$$

El valor obtenido con el Coeficiente de Variación es un valor aceptable puesto que es un valor menor de 11% el cual es un valor propuesto de la concentración en función de la concentración

del analito, para el análisis de impurezas. La media poblacional se encontró dentro del intervalo de confianza por lo que se considera un valor que cumple con los requerimientos establecidos.

Determinación del Límite de Cuantificación del Método Espectrofotométrico

Se realizó el límite de cuantificación utilizando muestras con concentraciones de: 0.1, 0.3, 5, 10, 12 mg/L de bromo, simultáneamente se utilizaron cinco blancos para cada determinación.

Tabla N°9. Resultados del límite de cuantificación para la determinación de bromo en agua de consumo humano.

N° replicas	concentración original	concentraciones obtenidas (x)	absorbancia (y)	$(x)^2$	$(y)^2$	Xy
1	1	1.178	0.205	1.387684	0.042025	0.24149
2	3	3.0453	0.493	9.27385209	0.243049	1.5013329
3	5	5.2411	0.992	27.46912921	0.984064	5.1991712
4	10	10.0179	1.469	100.3583204	2.157961	14.7162951
5	12	11.7594	1.715	138.2834884	2.941225	20.167371
Sumatoria		31.2417	4.874	276.7724741	6.368324	41.8256601
Media		6.2483	0.9748			

Fuente: Elaboración propia

Con los datos obtenidos de la tabla N°9 para determinar hierro total se calculó la pendiente (b_1), coeficiente de determinación (r^2).

Pendiente

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

Coeficiente de determinación

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

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC_{(\beta_1)} = b_1 \pm t_{0.975, n-2} S_{b_1}$$

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

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

A continuación, se ejemplifica como se realizaron los cálculos:

Pendiente

$$b_1 = \frac{5(41.8257) - (31.2417)(4.8740)}{5(276.7725) - (31.2417)^2} = 0.1394$$

Coeficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(5(41.8257) - (31.2417)(4.874))^2}{(5(276.7725) - (31.2417)^2)(5(6.3683) - (4.874)^2)} = 0.9803$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{6.3683 - (0.1394)(41.8257) - (0.1037)(4.874)}{5 - 2}} = 0.1039$$

$$Sb_1 = 0.1039 \sqrt{\frac{1}{276.7725 - \frac{(31.2417)^2}{5}}} = 0.0115$$

$$IC_{(\beta_1)} = 0.1394 \pm (3.182)(0.0115) = 0.1028, 0.1760$$

En el límite de cuantificación se comprobó de forma práctica a través del Espectrofotómetro. Además, el valor de la pendiente se encuentra dentro del intervalo de confianza de la misma y el coeficiente de determinación es mayor de 0.98.

Determinación de la Linealidad del Método Espectrofotométrico

La linealidad del método se realizó de la siguiente manera, Primero, se procedió a la elaboración de la curva de calibración, para lo cual fue necesaria la preparación de cinco soluciones estándar a concentraciones de: 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L de bromo, en la siguiente tabla, se muestran los valores obtenidos al determinar la curva de calibración:

Tabla N°10. Resultados de la linealidad del método para la determinación de bromo en agua de consumo humano.

N° replicas	concentración original	absorbancia (y)	(x) ²	(y) ²	Xy
1	1	0.199	1	0.039601	0.199
2	3	0.488	9	0.238144	1.464
3	5	0.979	25	0.958441	4.895
4	10	1.469	100	2.157961	14.69
5	12	1.785	144	3.186225	21.42
Sumatori a	31	4.92	279	6.580372	42.668
Media		0.984	55.8		

Fuente: Elaboración propia

Con los datos obtenidos se procedió al cálculo de la curva de calibración concentración vs absorbancia. Además, se utilizó el método de estimación por mínimos cuadrados para calcular el valor de la pendiente (b_1), la ordenada al origen (b_0), coeficiente de determinación (r^2), intervalo de confianza de la pendiente ($IC(\beta_1)$), intervalo de confianza para la ordenada al origen ($IC(\beta_0)$) y el coeficiente de variación de regresión ($CV_{x/y}$).

Pendiente

$$b_1 = \frac{5(42.668) - (31)(4.92)}{5(279) - (31)^2} = 0.1401$$

Coeficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(5(42.668) - (31)(4.92))^2}{(5(279) - (31)^2)(5(6.5804) - (4.92)^2)} = 0.9802$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$S_{\frac{y}{x}} = \sqrt{\frac{6.5804 - (0.1401)(42.668) - (0.1154)(4.92)}{5 - 2}} = 0.0116$$

$$Sb_1 = 0.1100 \sqrt{\frac{1}{279 - \frac{(31)^2}{5}}} = 0.0118$$

$$IC(\beta_1) = 0.1401 \pm 3.182(0.0118) = 0.1026, 0.1777.$$

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$b_0 = \frac{4.92 - 0.1401(31)}{5} = 0.1154$$

$$Sb_0 = 0.0116 \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{(6.2)^2}{279 - \frac{(31)^2}{5}}} = 0.0093$$

Intervalo de confianza para la ordenada al origen

$$IC(\beta_0) = 0.1154 \pm 3.182(0.0093) = 0.0858, 0.1449$$

Coeficiente de variación de regresión

$$CV_{Y/X} = \frac{0.0116}{0.984} * 100 = 1.18\%$$

De esta forma se pudo comprobar que la curva de calibración posee las características adecuadas, puesto que se da cumplimiento estadístico en el valor de: La pendiente con su respectivo intervalo, estando comprendido el valor de pendiente en el intervalo establecido. La ordenada al origen y su respectivo intervalo, estando comprendido el valor de pendiente en el intervalo establecido de la misma. Un valor de coeficiente de determinación mayor de 0.98. Un coeficiente de variación de regresión no mayor de un 3 %.

Tabla N°11. Resumen de los datos obtenidos en la evaluación del método espectrofotométrico para determinar bromo en agua de consumo humano (Método DPD).

Parámetros Evaluados	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud	CV: 50-120% para impurezas.	CV= 61.72%	Cumple
	\bar{y} = debe incluirse dentro del intervalo.	IC(μ)= 0.2941,0.8249 \bar{y} = 0.5595	
Precisión (Repetibilidad)	CV: $\leq 11\%$ para soluciones menores a 1ppm	CV= 0.47%	Cumple
	\bar{y} = debe incluirse dentro del intervalo.	IC(μ)= 1.4602, 1.4708 \bar{y} = 1.4655	
Límite de Cuantificación	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9803$	Cumple
	IC(β_1)debe incluir el cero.	IC(β_1) = 0.1028,0.1760	
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9802$	Cumple
	IC(β_1), el valor de la pendiente debe incluirse en el intervalo.	IC(β_1)= 0.1026,0.1777.	
	IC(β_0), el valor de la ordenada debe incluir el intervalo.	IC(β_0)= 0.0858,0.1449.	
	CV _{y/x} no mayor de 3% si es químico o espectrofotométrico	CV _{y/x} = 1.18%	

Fuente: Elaboración propia

Dictamen: con los datos obtenidos, podemos afirmar que el método da cumplimiento, con la guía de validación del Organismo Salvadoreño de Acreditación, por lo tanto, el método es aceptable.

CAPÍTULO V

5.0 CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos de los parámetros de desempeño de la validación del Método Espectrofotométrico para la determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano, demuestran ser: exactos, precisos y lineales; en un rango de concentraciones en parte por millón (mg/L), que comprenden desde el valor mínimo del límite cuantificable hasta el valor máximo cuantificable de la linealidad (0.02 - 3.0 mg/L) para el hierro, y para el bromo (0.05, -13 mg/L). Lo que contribuye a una mayor confiabilidad en los resultados de los análisis que se realizaron.
2. En la determinación de la exactitud y precisión se obtuvieron datos con poca variabilidad entre ellos, tanto en los resultados de intervalo de confianza que demuestra que el valor de la media poblacional posee fiabilidad en la estimación realizada, al encontrarse dentro del intervalo establecido, como el resultado de porcentaje de recobro, el cual fue del 61.40% para el hierro y para el bromo de 61.72%, con respecto a la exactitud, cumpliendo así con el criterio de aceptación que establece que el valor del porcentaje de recobro debe estar dentro del rango del 50 al 120%; y para la precisión obtuvo un CV del 0.85% para el hierro y 0.47% con respecto al bromo, valor que resulto ser menor al criterio de aceptación, donde este dice que debe ser menor al 11% para impurezas a una concentración de analito menor a 1 ppm.
3. El Método Espectrofotométrico de la Fenantrolina y DPD para la determinación de hierro total y bromo, en agua de consumo humano resulta ser confiable en base a los resultados obtenidos y comparándolos con los criterios de aceptación según al Organismo Salvadoreño de Acreditación, brindando una mayor confiabilidad al momento de aplicar dicho método.
4. El límite de cuantificación, del método para la determinación de hierro y bromo en agua de consumo humano es de 0.1mg/L, que es la menor concentración fiable, pues el valor de la pendiente se encuentra dentro del intervalo de confianza de la misma y el coeficiente de determinación es mayor de 0.98, con lo que se da cumplimiento a los criterios de aceptación para estos parámetros.

5. La determinación de la linealidad produjo resultados aceptables como un coeficiente de determinación mayor de 0.98, lo que demuestra una correlación entre la concentración de los analitos y la respuesta analítica (Absorbancia); además de un coeficiente de variación de regresión menor de un 3%, demostrando así la linealidad de los dos métodos, tanto para la determinación de hierro y bromo.

6. Los resultados obtenidos en las validaciones de los métodos para la determinación de hierro y de bromo, demuestran que ambos métodos son aptos para los fines previstos, por tanto, pueden ser utilizados rutinariamente, con la certeza de que los resultados emitidos son altamente confiables.

CAPÍTULO VI

6.0 RECOMENDACIONES

1. A los estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, para que mejoren el desarrollo del Método Analítico de la Fenantrolina y DPD, verificando constantemente la etapa de ebullición de la muestra, para evitar que la ebullición sea violenta y ocasionar pérdidas del analito o contaminación entre muestras.
2. Al laboratorio fisicoquímico de agua, validar el procedimiento de lavado de cristalería ya que resulta crítico al momento de realizar análisis de metales como hierro o bromo; en este proceso debe eliminarse cualquier tipo de interferencias. Utilizar cristalería clase “A”, en el desarrollo del Método Analítico para la determinación de hierro y bromo.
3. Al Laboratorio Fisicoquímico de Aguas, utilizar agua destilada libre de Hierro o con una concentración mínima que no afecte el análisis de determinación de hierro, evitar así resultados falsos positivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Molina R, Morales E. Elaboración de un set de reactivos para la identificación de once parámetros físico-químicos en el agua potable [Tesis de pregrado en Química y Farmacia]. El Salvador: Universidad de El Salvador; 2005. Recuperado a partir de: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/cfc3522a-2deb-4096-85f4-dd48b0e05a50/content>
2. Pacheco E, Torres J. Validación de un método analítico para la determinación de hierro (Fe) total y manganeso (Mn) en agua potable, natural y residual por espectroscopía de absorción atómica [Tesis de pregrado en química]. Colombia: Universidad de Córdoba; 2020. Recuperado a partir de: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/c5f321d0-8033-45cc-bc67-e04fcf1e4684/content>
3. Calidad del agua de consumo, indicadores hierro y magnesio [internet]. España: higiene ambiental; 2023 [actualizado 2023 mayo 17; citado el 15 de mayo del 2024]. Recuperado a partir de: <https://higieneambiental.com/calidad-del-agua-de-consumo-hierro>
4. Bolívar G. Bromo: qué es, historia, estructura, propiedades, usos y riesgos [Internet]. Venezuela: Universidad de Carabobo; 2023. [actualizado 2023 septiembre 14; consultado el 20 de mayo de 2024]. Recuperado a partir de: <https://www.lifeder.com/bromo/>.
5. Rodrigo R. Espectrofotómetros: definición, usos y partes [Internet]. España: Estudiando; 2022 [Actualizado 2022 septiembre 16; consultado el 20 de mayo de 2024]. Recuperado a partir de: <https://estudiando.com/espectrofotometros-definicion-usos-y-partes/>
6. Menéndez G, Melgar S. Validación del método espectrofotométrico (3500-Fe D) de la fenantrolina para determinación de hierro total en agua potable [Tesis de pregrado en Química y Farmacia]. El Salvador: Universidad de El Salvador; 2011. Recuperado a partir de: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/caf88ba1-29d7-45c0-b11e-a801871359a0/content>
7. Definición de Validación, Qué es, Significado y Concepto [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2022. [Actualizado 2023 marzo 13; consultado el 8 de julio de 2024]. Recuperado a partir de: <https://conceptoydefinicion.com/definicion-de-validacion-que-es-significado-y-concepto/>.

8. Lenore S, Arnold E, Rhodes T. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. En: Mary Ann H, editor. Métodos normalizados. 17ª edición. España: Edición Díaz de Santos; 1992. P. 3-112, 3-115.
9. Ortega L, Pérez J, Martí P. Validación de Métodos Analíticos. En: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, editor. Métodos normalizados. 18ª edición. España: Edición AEFI; 2001. P. 33-36, 46-47, 54-58, 68-70, 75-77, 85.
10. López M. Determinación de parámetros de desempeño en métodos analíticos espectrofotométricos específicos para cuantificar fósforo y potasio en suelos utilizados para cultivos de café [Tesis de pregrado en Química y Farmacia]. El salvador: Universidad de El Salvador; 2009. Recuperado a partir de:
<https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/a0e9226c-d247-485e-aeaa-7dbe05a3d5e0/content>
11. Pérez J. Guía de Validación de Métodos Analíticos. Edición 1. México: Colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos México. A.C.; 2002. P. 33-36, 59-87.
12. REGLAMENTO TECNICO RTS 13.02.01:14. Agua, agua de consumo humano, requisitos de calidad e inocuidad. [Internet]. El salvador: OSARTEC; 2018. [citado el 20 de julio de 2024]. Recuperado a partir de: <https://lecc.com.sv/wp-content/uploads/2021/04/RTS-AGUA-CONSUMO-HUMANO.pdf>
13. Guía de Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos [Internet]. El Salvador: OSA; 2023. [citado el 20 de julio de 2024]. Recuperado a partir de: <https://www.osa.gob.sv/descarga/validacion-de-metodos-analiticos-fisicoquimicos/>

ANEXOS

ANEXO N°1

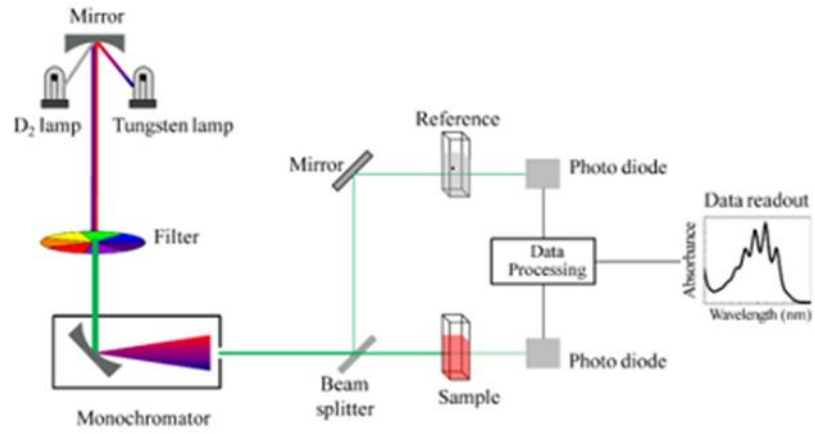


Figura N°1 Diagrama esquemático del espectrofotómetro

Fuente: Elaboración propia con base *en*⁵

ANEXO N°2

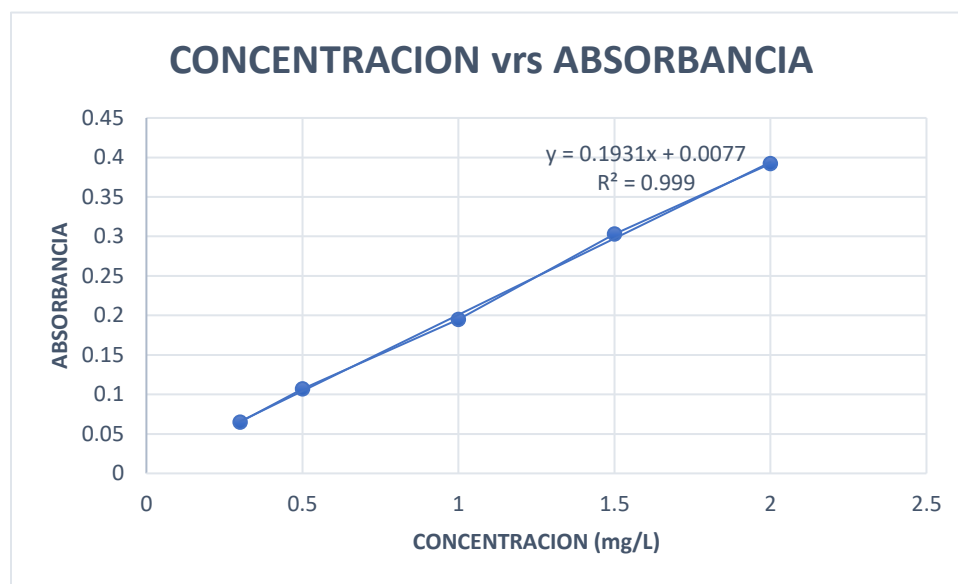


Figura N°2. Gráfica linealidad del método para la determinación de hierro total en agua de consumo humano

Fuente: elaboración propia

ANEXO N°3

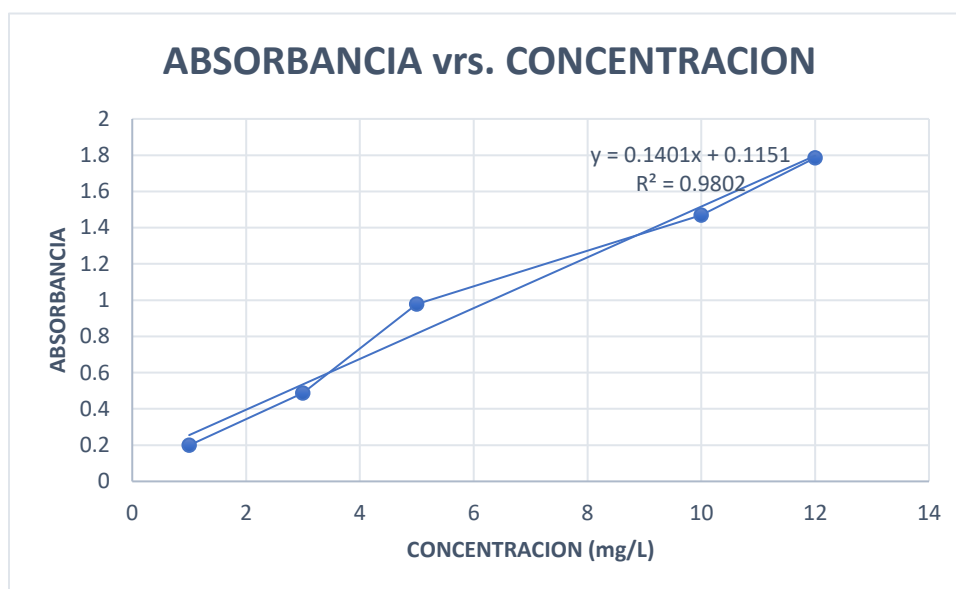
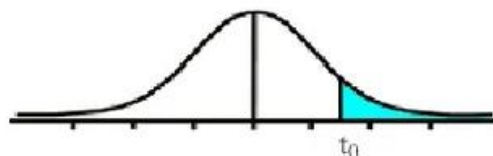


Figura N°3. Gráfica linealidad del método para la determinación de bromo en agua de consumo humano

Fuente: elaboración propia

ANEXO N°4

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7970
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500

Tabla t-student

ANEXO N°5

1. Introducción.

La validación ha sido objeto de atención por ser requerida en Normas sobre Sistemas de Gestión de la Calidad, sobre software y particularmente en la Norma ISO/IEC 17025:2005 sobre requisitos generales para laboratorios de calibración y ensayo.

La aplicabilidad del requisito sobre validación de métodos, particularmente en la Norma ISO/IEC 17025:2005, ha sido frecuentemente materia de controversia dado que cabe la interpretación de que cuando se menciona o se describe un método en una Norma, entonces denominado método normalizado, no es ya necesaria la validación del mismo.

El propósito de este trabajo es discutir el concepto de validación, los elementos que lo constituyen y los procesos para llevarla a cabo, con el objetivo de reducir las controversias respecto a este tema. Para que un resultado analítico concuerde con el propósito requerido, debe ser lo suficientemente confiable para que cualquier decisión basada en éste pueda tomarse con confianza. Así, el desempeño del método debe validarse y debe estimarse la incertidumbre del resultado a un nivel de confianza dado. La incertidumbre deberá ser evaluada y establecida de una forma que sea ampliamente reconocida, consistente de forma interna y fácil de interpretar. La mayor parte de la información requerida para evaluar la incertidumbre se puede obtener durante la validación del método.

La validación es el proceso establecido para la obtención de pruebas documentadas y demostrativas de que un método de análisis es lo suficiente fiable y reproducible para producir el resultado previsto dentro de intervalos o parámetros definidos y para el propósito requerido.

El siguiente documento ha sido elaborado con el apoyo del Comité Técnico de Validación quienes aportaron sus conocimientos en el tema con la finalidad de homologar y facilitar a los usuarios del servicio de acreditación las herramientas necesarias para dicho proceso.

2. Objetivos

Establecer una guía mínima en la que se incluyen los requisitos, pero no limitados a lo que se indica en ella, para las actividades de validación de métodos de ensayo no normalizados, desarrollados o diseñados por el laboratorio, métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados y para las verificaciones necesarias para confirmar que el laboratorio puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos. Sistematizar los procedimientos para la realización de la validación de los métodos de ensayo. Evitar las discrepancias respecto a cuándo validar y la extensión de la validación según sea el caso.

3. Alcance

Esta guía la deben aplicar los laboratorios de ensayo acreditados por el OSA y los que soliciten la acreditación ante dicho organismo, los evaluadores y expertos técnicos que actúan en los procesos de acreditación, y a todos los métodos de ensayo establecidos dentro del alcance de acreditación.