



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

**Implementación, optimización y validación analítica
de la Determinación de Bicarbonatos en Aguas
Naturales**

Tesis

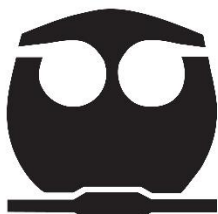
**Que para obtener el título de
Ingeniero Químico**

Presenta

Macedo Herrera Sergio Antonio

Ciudad Universitaria, CD. MX.

2018





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Segura Espinosa Guillermo Antonio

Vocal: Rodríguez de San Miguel Guerrero Eduardo

Secretario: Villanueva Estrada Ruth Esther

1er. Suplente: López Ramírez Simón

2º. Suplente: Gonzalez Dulzaides Alexis

El presente trabajo de investigación se desarrolló dentro de la **Unidad Geoquímica de Fluidos Geotérmicos (UGFG)** del Instituto de Geofísica de la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)**

Asesora

Dra. Villanueva Estrada Ruth Esther

Sustentante

Macedo Herrera Sergio Antonio

Supervisor Técnico

Lic. Felipe Martínez Blanca Xóchitl

Agradecimientos

Agradezco plenamente a mis padres, quienes me apoyaron desde el inicio de mi etapa escolar, ellos que me orientaron a ser el hombre que hoy soy. Mis padres que me enseñaron lo que era bueno y malo.

A mis hermanos, sin ser muy afectivos, sus comentarios e ideas compartidas a lo largo de mi vida me orientaron.

A mis amigos, a todos ellos que estuvieron ahí desde el comienzo y aún siguen conmigo, compartiendo momentos felices que hacen pensar que cada etapa de la vida vale la pena disfrutar.

A mi novia Sofía M. quién me apoyo y escucho en los momentos en que más me sentía débil, mostrándome que soy capaz de hacer muchas cosas por mi cuenta. A ella que me enseñó que no todo puede ser como yo quiero y que sin importar que, siempre me muestra su amor y cariño.

A mis profesores, a los malos y a los buenos, a los que me enseñaron que puedo dar más de mí, que con coraje y perseverancia puedo conseguir lo que anhelo. A ellos quienes que compartieron su conocimiento y se preocuparon por mi desarrollo profesional.

A la doctora Ruth Villanueva, que me dio un espacio en su equipo de trabajo para realizar esta tesis, a ella que me dio su tiempo y compartió conocimiento sin nada a cambio, más que la satisfacción de verme triunfar.

A Xóchitl Felipe, más que una buena amiga, una buena consejera, a ella por apoyarme en realizar y finalizar este trabajo, regalándome horas y horas de su tiempo.

Al equipo de la UGFG que me apoyo en dudas y estuvieron ahí para apoyarme.

Al profesor Guillermo Antonio Segura Espinosa por su tiempo y compromiso para revisar esta tesis de principio y fin, por ser un gran profesor y una gran persona.

A Roxana Ordaz y al equipo IPT de producción de MSD por su comprensión y apoyo durante mi proceso de titulación.

Gracias al Centro Mexicano de Innovación en Energía Geotérmica (CeMIEGeo): Fondo Sectorial Conacyt-Sener-Sustentabilidad Energética, Proyecto # 207032-2013-04 por financiar este trabajo de tesis.

Al profesor Camilo Yáñez y sus alumnos del Instituto Politécnico Nacional por la invitación a tomar muestras del Borbollón, Estado de México

A los que siguen conmigo en esta vida y los que se fueron a una mejor.

A todos ellos, gracias.

Dedicatoria

Dedicado a mis padres quienes tuvieron paciencia en educarme, en enseñarme lo se debe y no se debe hacer. A ellos que me proporcionaron un cuaderno, una pluma y un sinfín de herramientas para enriquecer mis conocimientos.

A mi persona, que a pesar de mis inseguridades pude concluir una licenciatura.

Y a mi querida Universidad Nacional Autónoma de México, que por menos de 50 centavos, nos proporciona las mejores herramientas y profesores que una escuela pública puede ofrecer... orgullosamente UNAM.

Índice

1. Glosario.....	9
2. RESUMEN.....	13
3. INTRODUCCIÓN.....	14
3.1 Ciclo hidrológico	15
3.2 Origen de carbonatos y bicarbonatos en aguas naturales	18
3.3 Alcalinidad y la importancia de su estudio.....	19
3.4 Equilibrios químicos del sistema de dióxido de carbono ácido/ácido carbónico en aguas naturales	20
3.4.1. Química de las aguas naturales.....	22
3.5 Definición del pH.....	24
3.6 Análisis volumétrico ácido-base	25
3.6.1 Tipos de volumetrías.....	28
3.6.2 Disoluciones patrón de reactivo valorante.....	28
3.6.3 Características analíticas de los métodos volumétricos.....	29
3.6.4 Principios y cálculos en análisis volumétrico	30
3.7 Detección del punto final con un indicador visual	30
3.7.1 Indicadores ácido base.....	32
3.7.2 Microtitulación	33
3.8 Valoración directa vía instrumental.....	34
3.8.1 Detección del punto final con un titulador automático	38
3.9 Validación de métodos analíticos	44
3.9.1 Estadística básica.....	45
3.9.2 Pruebas de significancia.....	48
3.9.3 Incertidumbre	51
4. ANTECEDENTES	54
5. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	55
6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	55
6.1 Objetivo general.....	55
6.2 Objetivos particulares	56
6.3 Hipótesis	56
7. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	56
7.1 Preparación de indicador visual	57

7.2	Preparación de la disolución valorante	59
7.3	Normalización de la disolución valorante	59
7.4	Aspectos previos para el titulador automático	60
	Limpieza y mantenimiento del electrodo	60
	Verificación del electrodo	62
	Creación del método “Determinación de bicarbonatos” en el software TIAMO para el titulador automático.....	64
7.5	Metodología para la determinación de bicarbonatos utilizando el titulador automático	66
7.6	Metodología para la determinación de bicarbonatos utilizando el microtitulador.....	68
7.7	Metodología para determinación de bicarbonatos in situ.....	69
7.8	Validación para métodos analíticos	70
7.9	Metodología para la validación de métodos analíticos.....	72
7.9.1	Preparación de muestras adicionadas.....	72
7.9.2	Evaluación de los parámetros de desempeño.....	73
7.10	Relación concentración vs tiempo	79
8.	RESULTADOS.....	79
8.1.	Normalización del HCl	79
8.2.	Preparación de la solución madre de Na ₂ CO ₃	80
8.3.	Preparación de los niveles de concentración.....	80
8.4.	Resultados titulador automático	81
8.4.1.	Intervalo lineal	81
8.4.2.	Intervalo de trabajo.....	83
8.4.3.	Límite de cuantificación práctico	85
8.4.4.	Recuperación y sesgo	85
8.4.5.	Repetibilidad y precisión intermedia.....	86
8.4.6.	Incertidumbre	89
8.5.	Resultados microtitulación	92
8.5.1.	Intervalo lineal	92
8.5.2.	Intervalo de trabajo.....	94
8.5.3.	Límite de cuantificación práctico	96
8.5.4.	Recuperación y sesgo	96
8.5.5.	Repetibilidad y precisión intermedia.....	97
8.5.6.	Incertidumbre	100

8.6	Relación concentración vs tiempo	101
9	Análisis de resultados	102
10	CONCLUSIONES.....	110
11	REFERENCIAS	111
12	Anexos	115

1. Glosario

Ácido dibásico: es un ácido que puede proporcionar dos iones de hidrógeno cargados positivamente, o protones, cuando se hace reaccionar con una base.

Analito: componente específico de una muestra, a medir en un análisis.

Blanco de reactivos: reactivos usados durante el proceso analítico los cuales son analizados para garantizar que la medición no es influenciada por materiales utilizados durante el análisis.

Blanco de muestra: son matrices que no contienen el analito de interés.

Calibración: conjunto de operaciones que establecen, en condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento de medida o un sistema de medida, y los valores correspondientes de esa magnitud realizados por patrones.

Criterios de aceptación: parámetros bajo los cuales el resultado de una prueba estadística será considerado aceptable.

Curva de calibración: es la representación gráfica de la señal instrumental medida como una función de cantidad del analito.

Disolución estándar de reactivo o de agente valorante: es una disolución que contiene la especie química la cual reaccionará con el analito: esta disolución debe ser de concentración conocida.

Error de valoración: es la diferencia de volumen entre el punto de equivalencia y el punto final.

Estabilidad analítica de la muestra: propiedad de una muestra preparada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse por un tiempo y bajo condiciones determinadas.

Especificidad: capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés.

Veracidad: concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Intervalo de concentración: la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método es preciso, veraz y lineal.

Linealidad: habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por una transformación matemática, son proporcionales a la concentración del analito.

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

Muestra: Porción del material a evaluar.

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

Muestra adicionada: porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito de interés.

Método normalizado: proceso de medición robusto donde pequeñas variaciones en el procedimiento no deben producir de forma imprevista grandes variaciones en los resultados.

Método no normalizado: método alternativo que demuestra o estima el mismo analito tal cual se mide utilizando el método normalizado.

Parámetro de desempeño: parámetro específico a evaluar en una validación.

Precisión: grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea.

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

Proporcionalidad: relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.

Punto de equivalencia: es un punto teórico que representa la cantidad de agente valorante añadido y que es químicamente equivalente a la cantidad de analito en la muestra.

Punto final de valoración: es el punto en el cual se presenta un cambio físico relacionado con la condición de equivalencia.

Recuperación o recobro: cantidad del analito recuperada en la porción de muestra o muestra adicionada cuando esta es conocida a través del método analítico completo, y que permite evaluar la eficiencia de la extracción, proceso de preparación e interferencias que puedan existir al aplicarlo. Se expresa en términos de porcentaje.

Repetibilidad: grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método en intervalos cortos de tiempo.

Reproducibilidad: grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea por dos analistas o instrumentos diferentes, usando el mismo método en diferentes días.

Respuesta analítica: lectura obtenida al aplicar un método analítico, como pueden ser el área o altura del pico en un cromatograma, volumen gastado en volumetría, lectura en mV, entre otros.

Resultado de ensayo: valor de un mensurado obtenido tras la realización de un método de ensayo específico.

Robustez: es la medida de la capacidad del método analítico de permanecer inalterado por pequeñas, pero deliberadas variaciones (efecto de cambio en las

condiciones) en los parámetros del mismo, proporcionando un índice de confiabilidad durante su uso normal.

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

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

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

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

Validación analítica: es el proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método, satisfacen los requisitos para su aplicación analítica.

2. RESUMEN

De acuerdo a los intereses de la Unidad Geoquímica de Fluidos Geotérmicos (UGFG) se ha buscado la forma de satisfacer las necesidades de clientes tanto internos como externos, llevando a cabo metodologías confiables y precisas. Sin embargo, los altos costos de los consumibles y su discontinuidad en el mercado, dificultaron llevar a cabo dichas metodologías, en especial la determinación de la concentración de bicarbonatos en aguas naturales, se volvió un problema. Por ejemplo, para dicha determinación se empleaban soluciones patrón secundarias ya normalizadas, las cuales eran de alto costo y fueron descontinuadas, dificultando la ejecución de la metodología.

Se implementó el uso de un titulador automático, limitado al uso en laboratorio, sin una metodología sólidamente implementada. En la UGFG se dudaba de la confiabilidad de los datos obtenidos, ya que las muestras tomadas in situ, llegaban a tardar hasta 2 semanas para ser analizadas en el laboratorio. Por lo que se buscó una forma de analizar las muestras al momento de ser extraídas de la manifestación natural, mediante la microtitulación.

Esta tesis explica la metodología implementada tanto para el titulador automático como microtitulación, siendo validados analíticamente siguiendo la guía de validación de metodologías analíticas propuesto por la COFEPRIS.

Los resultados de la validación mostraron que el titulador automático es un instrumento meramente construido específicamente para ofrecer datos precisos y veraces. Por otro lado, siendo el microtitulador un instrumento construido con piezas de fácil acceso económico ofrece datos precisos pero no veraces, pero dentro del rango de aceptación, según la COFEPRIS.

La duda entre los datos obtenidos in situ y los obtenidos en laboratorio llevo a este trabajo investigar si existía algún cambio de concentración en un intervalo aleatorio de tiempo en dos tipos de agua (termal y no termal) y en dos sitios diferentes de la República Mexicana (Guanajuato y Estado de México). Los

resultados muestran que es más fiable analizar la concentración de bicarbonatos en muestras de aguas naturales in situ; es decir, inmediatamente después de haber colectado la muestra y no después de unas horas de haberla tomado, ya que su concentración varia. Sin embargo, no se tiene fundamentos sólidos para confirmar si es debido a la difusividad del CO_2 entre el ambiente y la muestra de agua o por la perturbación del origen de bicarbonatos de la muestra de agua. Por lo que genera una nueva hipótesis que puede ser objeto de una nueva investigación para confirmar si es debido a la difusividad y si es constante está perdida de concentración sin importar de donde fue sustraída, si es agua termal o no, o es dependiente de distintas variables (temperatura, presión o concentración).

3. INTRODUCCIÓN

Como bien se sabe el agua es el compuesto más importante para los seres vivos, siendo la base de nuestra existencia y de nuestro cuerpo. La Tierra es el único planeta habitable en el sistema solar con mayor cantidad de agua en su superficie, de la cual se compone por un 97.5% de agua salada, 2.5% de agua dulce; de los reservorios de agua dulce, solo un 0.3% es para consumo humano (Jumapam, 2017).

Por lo que el estudio del agua favorece la creación de segmentos sociales comprometidos con el uso de un recurso difícil de distribuir a toda la población. Por tal motivo, evaluar la calidad del agua para consumo humano se hace imperante. La composición química del agua se define por la concentración de iones mayoritarios (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} y HCO_3^-).

El conocimiento de la concentración de bicarbonatos en aguas naturales es de suma importancia porque nos proporciona una indicación general de la calidad química del agua ya que el sistema carbonato (dióxido de carbono, ion bicarbonato y ácido carbónico) es el principal sistema regulador de pH en aguas naturales, además de que nos ayuda a llevar a cabo un balance correcto entre

aniones y cationes en una muestra de agua. Esto con el fin de conocer las características del agua, además de los compuestos disueltos para determinar la eficiencia para su probable uso en el sector industrial, sector agricultor o de consumo humano.

3.1 Ciclo hidrológico

El ciclo hidrológico es un fenómeno natural en el cual el agua permanece en constante movimiento, cambiando de estado físico; ya sea líquido (ríos, aguas subterráneas), gaseoso (nubes y vapor) o sólido (granizo, nieve, témpanos).



Figura 3.1-1 El ciclo hidrológico como ocurre en la naturaleza sin la interacción con el hombre (López-Geta et al, 2009).

Se definen como (López-Geta et al, 2009):

- Evaporación: el agua puede encontrarse en tres estados, cuando el sol calienta los mares u otros depósitos superficiales, esta cambia de su forma líquida a la gaseosa subiendo a la atmósfera. La evaporación existe tanto en los mares como en los continentes.

- Condensación: cuando el vapor de agua se encuentra en la atmósfera se crean nubes que contienen grandes concentraciones de agua. Estas, gracias a la acción del viento, tienen la capacidad de recorrer cientos de kilómetros hasta llegar a zonas más elevadas dentro de los continentes.
- Precipitación: cuando el agua contenida en las nubes se concentra en extremo se convertirá nuevamente en líquido o, en algunos casos, en sólido (granizo, por ejemplo). Las partículas de agua, por el efecto de la gravedad descenderán a la superficie distribuyéndose en diferentes lugares como, lagos, montañas o ríos subterráneos. En muchos casos el agua se almacena en acuíferos (capas de rocas con la capacidad de almacenar grandes cantidades de agua).
- Escorrentía: es la capacidad del agua para escurrirse o circular por diferentes zonas como lo serían: la saturada y no la saturada (Figura 3.1-2).

Zona saturada: franja del terreno situada por debajo de cierta profundidad donde el agua ocupa la totalidad de los huecos.

Zona no saturada: terreno comprendido entre la superficie del suelo y la zona saturada. En esta zona los poros están ocupados por aire y agua.

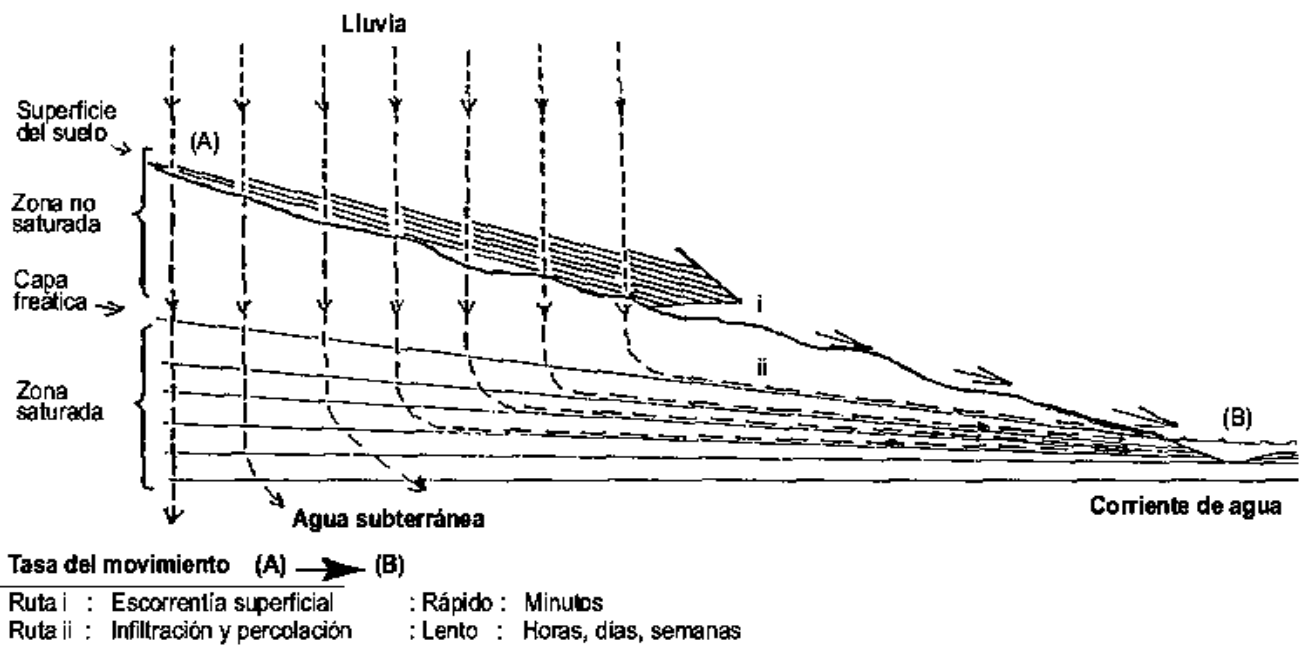


Figura 3.1-2 Procesos de escorrentía (Shaxson, 2005).

Es decir que, durante el escurrimiento, el agua puede circular y acumularse sobre una zona de roca impermeable para formar un acuífero. En otras ocasiones, se acumula entre rocas porosas con diminutas cavidades donde comparte espacio con el aire (zona no saturada).

Sin embargo, la escorrentía del agua puede ocurrir de varias formas:

- Escorrentía superficial directa: parte del agua de la lluvia que circula por la superficie del terreno, y confluye a los ríos, arroyos y otras masas de agua.
- Escorrentía superficial o hipodérmica (aguas superficiales): parte de la precipitación que se infiltra, circula por la parte superior del terreno sin llegar a la zona saturada y reaparece en superficie, incorporándose a la escorrentía superficial directa.
- Escorrentía subterránea parte del agua infiltrada que recarga la zona saturada y circula por los acuíferos.
- Escorrentía total: fracción de la precipitación caída en una cuenca vertiente que escapa a la evaporación y circula superficial y subterráneamente. Se subdivide en:
 - Infiltración: cantidad de agua precipitada que atraviesa la superficie del terreno y pasa a ocupar, total o parcialmente, los poros, fisuras y oquedades del suelo. La infiltración, es de suma importancia puesto que el agua que logra acumularse forma los acuíferos, lugar donde se encuentra una importante cantidad del total de agua dulce.
 - Percolación: movimiento del agua u otro líquido a través de los intersticios del terreno. Se suele aplicar al flujo vertical a través del medio no saturado.
 - Recarga: parte del agua infiltrada que alcanza la zona saturada.

El ciclo hidrológico conlleva el movimiento constante del agua de forma dinámica. La percolación es fundamental puesto que coopera con el desplazamiento natural del agua para que llegue al subsuelo y exista un abastecimiento de los acuíferos. En tanto la escorrentía superficial se encarga de llevar a los acuíferos libres

(acumulación de agua en contacto con el aire), el líquido. En la Figura 3.1-3 se ejemplifican los conceptos anteriores:

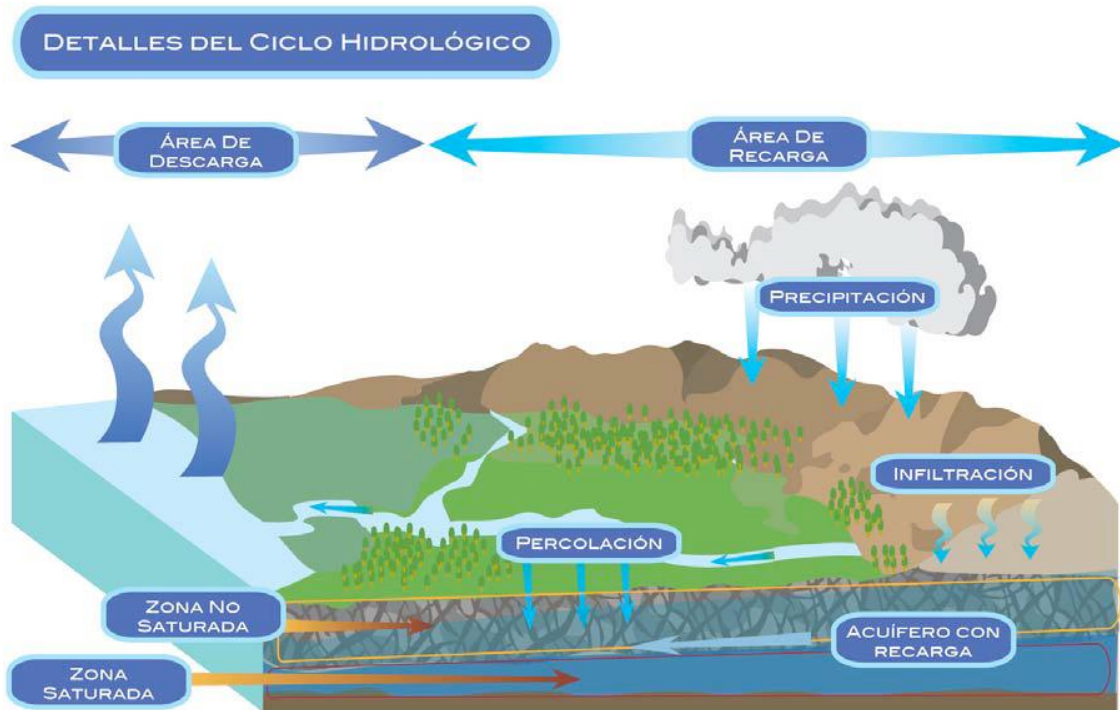


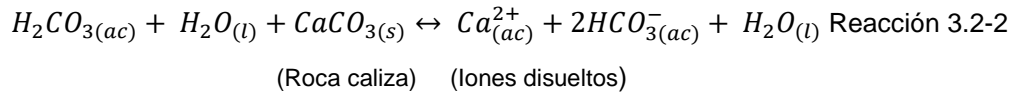
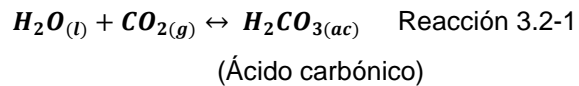
Figura 3.1-3 Detalles del ciclo hidrológico (López-Geta, et al., s.f.).

3.2 Origen de carbonatos y bicarbonatos en aguas naturales

Las aguas naturales contienen cantidades significativas de CO_2 disuelto como resultado tanto de la disolución del dióxido de carbono atmosférico como de la descomposición anaeróbica de la materia orgánica. Massol-Deya (2002), menciona que:

Los carbonatos y bicarbonatos presentes en cuerpos naturales de agua se originan generalmente del desgaste y disolución de rocas en la cuenca que contienen carbonatos tales como la piedra caliza. A pesar de que la piedra caliza no es muy soluble en agua pura, su disolución es promovida por la presencia de CO_2 disuelto en el agua (CO_2 atmosférico o CO_2 generado en sedimentos ricos en materia orgánica). El CO_2 reacciona con el agua para generar pequeñas

cantidades de ácido carbónico, el cual disuelve a las rocas carbonatadas en la cuenca (Reacción 3.2-1, 3.2-2).



El agua ubicada en regiones donde abunda la roca caliza presenta una alta concentración de bicarbonatos, al igual que una capacidad amortiguadora alta; también son llamadas aguas calcáreas (Massol-Deyá, 2002). En regiones donde el lecho rocoso está compuesto mayormente de granito y otras rocas ígneas pobres en carbonatos, generalmente encontramos lagos y corrientes con una baja concentración de bicarbonatos y una pobre capacidad amortiguadora. Dichos cuerpos de agua son a menudo más susceptibles al impacto de la lluvia ácida. Otras zonas donde encontramos lagos y corrientes con baja concentración de bicarbonatos son áreas que reciben una precipitación abundante. En dichas áreas la mayoría de los carbonatos expuestos y disponibles se han disuelto y han sido lavados a lo largo del tiempo.

Un ejemplo donde podemos encontrar una gran concentración de bicarbonatos es en aguas subterráneas en las formaciones de Supai en Limestone, el gran cañón con 622 mg/L (Drever, 1997), aunque es posible encontrar aguas naturales de 800 hasta 1000 mg/L de bicarbonatos (Porrás M., 1985).

3.3 Alcalinidad y la importancia de su estudio

La alcalinidad se refiere a la presencia de sustancias hidrolizables en agua y que como producto de hidrólisis generan el ión hidroxilo (OH⁻), como son las bases fuertes, y los hidróxidos de los metales alcalinotérreos; contribuyen también en forma importante a la alcalinidad los iones de carbonato (CO₃²⁻), bicarbonato (HCO₃⁻) y fosfatos(PO₄³⁻). La presencia de boratos (BO₃³⁻) y silicatos (SiO₄⁴⁻) en concentraciones altas también contribuyen a la alcalinidad del medio.

La especie química con mayor contribución a la alcalinidad es el bicarbonato por lo que en este trabajo se referirá solamente a la determinación de bicarbonatos en aguas naturales, dejando a un lado el término de alcalinidad, por no incluir a las demás especies que la definen.

Esta especie es particularmente importante cuando hay una gran masa de rocas calizas, actividad fotosintética de algas o cuando hay descargas industriales en un cuerpo de agua (Massol-Deyá, 2002).

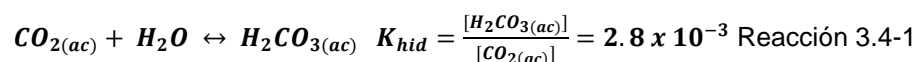
Por tanto, la concentración de bicarbonatos (alcalinidad) se expresa en mg/L.

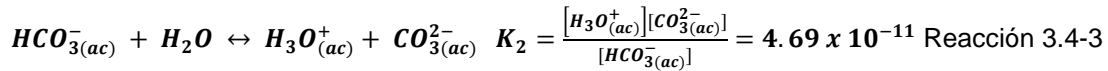
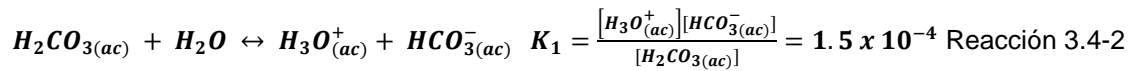
El conocimiento de la concentración de bicarbonatos además de servir como un indicador de la productividad de cuerpos de aguas naturales, es también utilizado en la interpretación y control del tratamiento de aguas naturales y aguas tratadas. Por otro lado, valores de alcalinidad en exceso sobre las concentraciones de metales alcalino-térreos (Be, Mg, Sr, Ba y Ra) y la presencia de boratos y silicatos son importantes para determinar si un abasto o fuente de agua puede ser utilizado para irrigación de suelos por lo que el estudio de la concentración de bicarbonatos es importante en México y es mencionado en la Norma Mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001.

3.4 Equilibrios químicos del sistema de dióxido de carbono ácido/ácido carbónico en aguas naturales

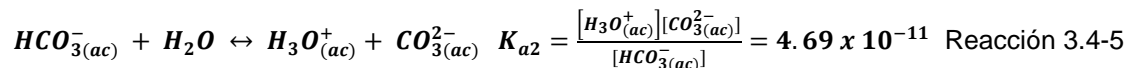
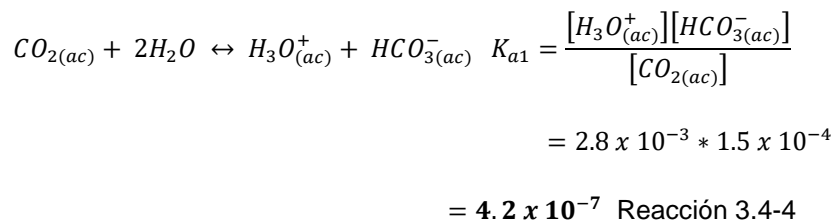
El entendimiento de los equilibrios químicos en disolución acuosa de las especies del carbonato es primordial para entender el proceso que ocurre en la naturaleza como para el entendimiento del método de cuantificación analítica.

Cuando el dióxido de carbono se disuelve en agua, se forma un sistema ácido dibásico, formado por las siguientes ecuaciones:





La primera reacción describe la hidrólisis del $CO_2(ac)$ para formar ácido carbónico. Comparando el valor de las constantes, se puede observar que la concentración de $CO_2(ac)$ es más grande que la concentración de $H_2CO_3(ac)$. Por tanto, para cálculos de acidez de las disoluciones se combinan las dos primeras ecuaciones para obtener:



Las especies químicas del ácido carbónico tienen dos valores de constantes de acidez (Figura 3.4.1-1).

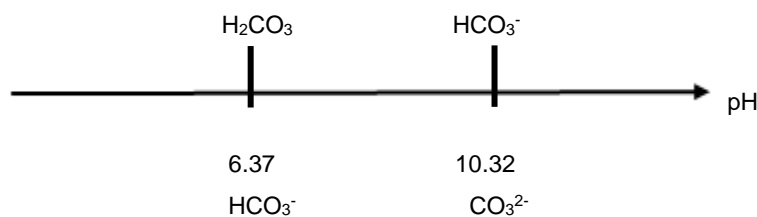


Figura 3.4-1 Escala de pH con las constantes de acidez de las especies del ácido carbónico.

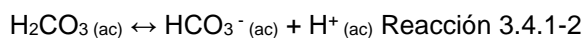
La propiedad ácido-base de las especies del ácido carbónico se emplea para la determinación cuantitativa empleando una titulación volumétrica con una base o ácido fuerte según sea el caso del valor de pH inicial de la muestra.

3.4.1. Química de las aguas naturales

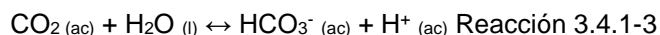
Cuando el CO₂ penetra en el agua se genera primordialmente el ácido carbónico (H₂CO₃) el cual forma parte de un complejo equilibrio ácido-base interactuando con diferentes formas carbonatadas presentes en un agua natural. La química de los procesos ácido-base de un agua natural es dominada por la presencia del ion carbonato (CO₃²⁻), el cual es una base de fuerza media por tener un pKa de 10.32 (Brown, 2009), así como del ácido carbónico (H₂CO₃), el cual es un ácido débil por tener un pKa de 6.37 (Brown, 2009), y sus demás interrelaciones. Sin embargo, la mayor parte del CO₂ disuelto se encuentra rodeado de moléculas de agua, por lo cual estará en la forma de ácido carbónico. Así, es posible escribir la primera reacción de equilibrio entre el CO₂ y el agua:



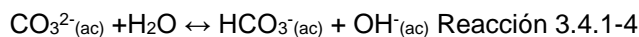
El ácido carbónico se disocia parcialmente para formar bicarbonato y protones:



Puesto que el CO₂ es un ácido de Lewis, este se hidroliza en el agua produciendo protones:



De acuerdo a la explicación anterior, la fuente mayoritaria de bicarbonato en un agua natural está dada por el lavado de rocas calizas, produciendo un aumento de forma natural del pH. La reacción de hidrólisis produce iones hidroxilo (OH⁻).



Estas reacciones implican equilibrios entre tres fases: aire, agua y rocas (Figura 3.4.1-1)

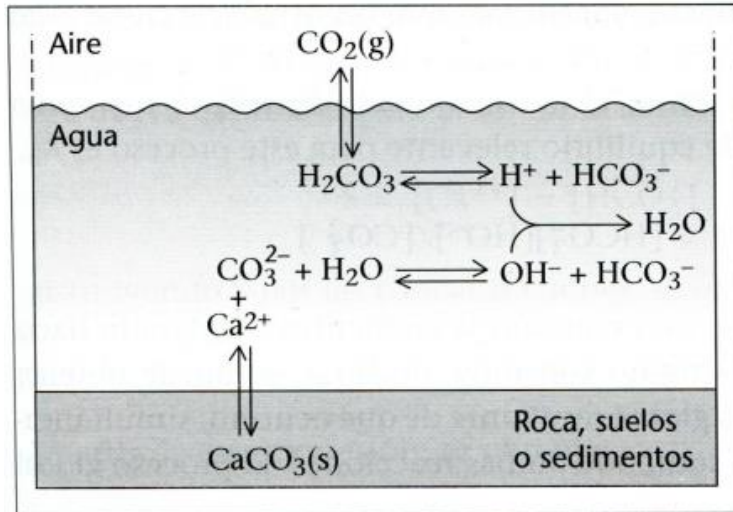


Figura 3.4.1-1 Equilibrio trifásico en el sistema CO₂/Carbonato (Massol-Deyá, 2002).

Sin embargo, dependiendo del origen del agua (subterránea o superficial) existirían más procesos químicos que interrelacionan estas especies originando la formación de bicarbonato.

El ion bicarbonato es una especie anfótera. Es decir, el ácido carbónico aporta protones al medio (comportamiento ácido), transformándose químicamente a carbonato; por otro lado, cuando está como carbonato, capta protones del medio (comportamiento básico), transformándose en ácido carbónico.

En general, las aguas naturales son ligeramente básicas (pH de las aguas superficiales está entre 6 a 8.5, siendo las aguas subterráneas más ácidas que las superficiales, menores a 6), debido a la existencia de más carbonatos en disolución que ácido carbónico, dado al grado superior de hidrólisis en la formación de OH⁻. Por lo que se tienen tres especies carbonadas ligadas de su disociación en agua (Figura 3.4.1-1).

3.5 Definición del pH

Una disolución acuosa se disocia en fragmentos menores (iones) estableciendo un equilibrio entre la especie no disociada y sus componentes. En el equilibrio, la unión de los iones para reconstruir el compuesto ya disociado la cual se produce con la velocidad precisa para compensar la disociación.

La expresión de la constante de equilibrio de la disociación del agua es:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \text{ Ecuación 3.5-1}$$

En disoluciones diluidas, el valor de $[H_2O]$, es constante. La cantidad de agua que se consume o se forma durante una reacción química es pequeña, en comparación con la cantidad total de agua presente: por lo que la ecuación 3.5-1 se reescribe como:

$$K_w = [H^+][OH^-] \text{ Ecuación 3.5-2}$$

Esta constante de equilibrio, K_w , se llama producto iónico del agua, la cual es función de la temperatura. A 25 °C su valor es de 1.0×10^{-14} por lo que el valor de $[H^+]$ y $[OH^-]$ es 1.0×10^{-7} respectivamente.

Para no trabajar con valores en potencias de 10, se ha introducido una notación logarítmica, llamada escala de pH. El símbolo pH significa “potencia negativa de la concentración de ion hidrógeno”. Se representa de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$pH = -\log_{10}[H^+] \text{ Ecuación 3.5-3}$$

El agua pura posee un pH de 7, por lo que todas las disoluciones neutras tienen este valor de pH, mientras que las disoluciones ácidas son menores que 7 y las básicas mayores a 7.

3.6 Análisis volumétrico ácido-base

El análisis volumétrico se basa en la cantidad de un reactivo de concentración conocida, que es consumida por el analito. Dependiendo de la clasificación de los métodos de análisis (clásicos, instrumentales y de separación) se puede hablar de valoraciones volumétricas, gravimétricas, electroanalíticas y espectrocópicas (Gary, 2009).

- Valoraciones volumétricas: se mide el volumen de una disolución de concentración conocida necesario para reaccionar completamente con el analito.
- Valoraciones gravimétricas: es igual a una valoración volumétrica, pero se mide la masa de reactivo en lugar del volumen.
- Valoraciones electroanalíticas: se miden propiedades eléctricas, tales como, potencial, corriente, resistencia, etc.
- Valoraciones espectrocópicas: se estudia la interacción que existe entre la radiación electromagnética y los átomos o moléculas del analito.

De este modo, al medir de forma exacta el volumen de reactivo, de concentración conocida, necesario para reaccionar con el analito, se puede calcular la concentración de la muestra.

Puesto que en este tipo de procedimientos siempre está presente un cierto grado de error de valoración se debe trabajar en condiciones en que las diferencias de volumen del agente valorante entre el punto de equivalencia y el punto final sea la mínima posible. Sin embargo, existen limitaciones en los cambios físicos y nuestra capacidad de detectarlos, por lo que se debe escoger una propiedad física cuyo cambio sea fácilmente observable (cambio de color de un indicador, pH, etc.), con el objetivo de minimizar el error de valoración entre el punto de equivalencia y el punto final.

Es posible realizar una estimación de error de valoración a través de una valoración del blanco, el cual consiste en realizar el mismo procedimiento, pero en ausencia de analito, restando el volumen del blanco al volumen de la muestra.

Para la detección del punto final en una reacción ácido-base se utilizan diferentes métodos, sin embargo, en este trabajo se plantea la determinación de HCO_3^- en aguas naturales empleando la titulación volumétrica vía instrumental (potenciométrica) y empleando indicador químico. Se explica a continuación.

- a) Vía instrumental: se basa en la detección de un cambio brusco de potencial o intensidad de corriente en las inmediaciones del punto de equivalencia. El potencial de un sistema de electrodo vidrio/calomel es determinado con un potenciómetro o medidor de pH o con algún otro aparato de medición de voltaje, el cual es un claro ejemplo de vía instrumental. El voltaje medido es directamente proporcional al pH.
- b) Indicador químico: un indicador para una titulación ácido-base es un ácido débil o una base débil con una coloración muy pronunciada. El color de la forma ionizada es notablemente diferente al de la normal no ionizada. Estas sustancias por lo regular están conformadas por sustancias altamente conjugadas que producen el color.

La cantidad agregada debe ser mínima, de modo que no contribuya en la forma apreciable al pH y que solo se necesite una pequeña cantidad de titulante para provocar el cambio de color (Gary, 2009).

Las curvas de valoración, son una representación gráfica de la concentración de uno de los reactivos de la valoración (analito o valorante) con respecto al volumen de valorante añadido.

En estas representaciones gráficas es posible distinguir dos regiones perfectamente diferenciadas, ya que se encuentran separadas por el punto de equivalencia. A la región que comprende todos los volúmenes de valorantes inferiores al correspondiente punto de equivalencia se le llama zona de pre-equivalencia, mientras que la zona de post-equivalencia incluye todos los valores de volumen de valorantes superiores al del punto de equivalencia (Figura 3.6-1).

Dependiendo de la forma de la curva de valoración, se distinguen dos tipos (Riaño, 2000):

- Curvas sigmoideas: se representa la concentración del analito (o del reactivo) como función del volumen de reactivo (Figura 3.6-1).

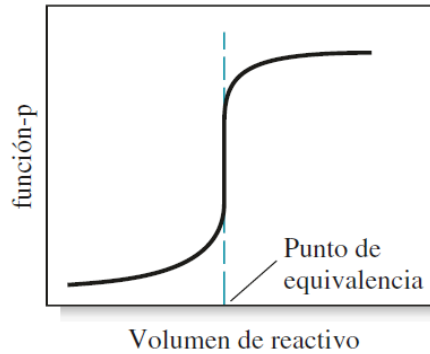


Figura 3.6-1 Curva sigmoidea de una titulación (Skoog, 2014).

- Curvas de segmento lineal: el eje de las ordenadas se representa la lectura de señal analítica en un instrumento (por ejemplo, pH) que es directamente proporcional a la concentración de reactivo o de analito (Figura 3.6-2).

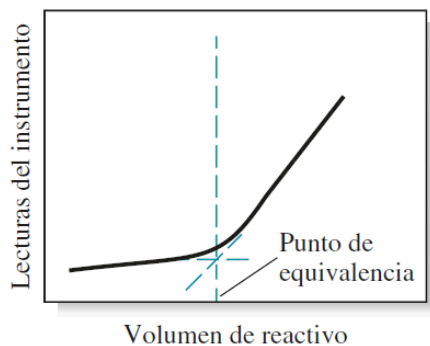


Figura 3.6-2 Curva de segmento lineal de una titulación (Skoog, 2014).

Las curvas de segmento lineal son especialmente útiles para reacciones químicas que se completan solamente en presencia de un exceso considerable de analito o de reactivo.

Trazar curvas de valoración ayuda a comprender las reacciones químicas que ocurren durante la valoración, además de aprender a controlar las condiciones experimentales que influyen en la calidad de una valoración.

3.6.1 Tipos de volumetrías

Las volumetrías se clasifican de acuerdo con la naturaleza de la reacción química (ácido-base, oxidación-reducción, complejación y de precipitación).

Sin embargo, no todas las reacciones químicas pueden ser empleadas en una valoración, la reacción debe ser:

- c) Sencilla: la reacción entre el analito y valorante debe ser simple.
- d) Rápida: para llevar a cabo la volumetría en poco tiempo, de ser lo contrario sería un método poco práctico.
- e) Estequiométrica: para cada cálculo debe existir una reacción definida.

Principalmente se pueden distinguir tres tipos de volumetrías:

- Valoración directa: el valorante se añade a la disolución del analito hasta completar la reacción.
- Valoración por retroceso (retrovaloración): se añade al analito un exceso conocido del reactivo valorante, y se usa un segundo reactivo estándar para valorar el exceso del primer reactivo.
- Valoraciones por sustitución (desplazamiento): se basan en la sustitución de un ion por otro.
- Valoración indirecta: Las valoraciones indirectas se utilizan para determinar aquellos aniones que precipitan con determinados cationes metálicos.

3.6.2 Disoluciones patrón de reactivo valorante

La disolución de valorante debe ser preparada cuidadosamente, puesto que es parte importante para un análisis volumétrico, por el cual se establecen dos métodos de preparación:

- Método directo: una cantidad del patrón primario pesada cuidadosamente se disuelve en un disolvente y se diluye hasta un volumen conocido con

exactitud en un matraz volumétrico; este método es utilizado si el reactivo es una sustancia estándar primario.

- Método indirecto: este método es utilizado si el reactivo no es una sustancia estándar primario por lo que es necesario recurrir a la estandarización de la disolución, empleando un reactivo que si sea estándar primario.

La disolución valorante que se estandariza con otra disolución patrón es denominada patrón secundario.

Un estándar primario necesariamente tiene que cumplir las siguientes características: alto grado de pureza o pureza conocida, estabilidad atmosférica, ausencia de agua de hidratación, masa molar razonablemente alta y solubilidad razonable en el medio de valoración.

Además, cualquier disolución de reactivo valorante preparada por el método directo o indirecto debe cumplir los siguientes requisitos.

- Estable, de modo que solo sea necesario determinar su concentración una vez.
- Reacción rápida con el analito.
- Reaccionar de forma completa con el analito.
- Experimentar una reacción selectiva con el analito.

3.6.3 Características analíticas de los métodos volumétricos

A continuación, se citan algunas de las características más importantes para los métodos de análisis volumétrico (Campillo, 2011):

- La selectividad está directamente relacionada con la reacción de valoración y el indicador empleado.
- La sensibilidad se halla restringida a componentes mayoritarios de las muestras.

- La veracidad alcanzada se halla directamente relacionada con las operaciones de pesada y medidas con el material volumétrico.
- La precisión depende de la habilidad del analista.
- Son métodos relativamente rápidos, sencillos y fácilmente automatizables.

3.6.4 Principios y cálculos en análisis volumétrico

Con el fin de obtener resultados de calidad en análisis volumétrico, en general, se siguen los siguientes principios:

1. La muestra pesada no debe ser menor de 0.1 g.
2. El volumen de la disolución de analito no debe ser tan grande como para volver a llenar la bureta para completar la valoración.
3. La concentración del reactivo valorante debe seleccionarse de acuerdo con el tamaño de la muestra y el material a emplear.
4. Llevarse a cabo la valoración del blanco del indicador cuando sea posible. Si el valorante ha sido normalizado mediante la misma reacción de valoración de la muestra, el error del indicador queda anulado.
5. El análisis debe fundamentarse en los resultados de al menos tres valoraciones en estrecha concordancia.

En volumetrías directas los cálculos se rigen por la condición de equivalencia de la valoración, el número de equivalentes químicos de reactivo es igual al de equivalentes químicos de analito. Los cálculos resultan de la relación de moles de valorante y analito que reaccionan.

3.7 Detección del punto final con un indicador visual

La concentración de bicarbonatos se determina por titulación con ácido clorhídrico (aproximadamente 0.1 M) y como indicador visual se utilizan fenolftaleína, rango de pH de 8.3 a 10 de incoloro a violeta (presencia de carbonatos) y verde de

bromocresol, rango de pH de 3.8 a 5.4 de amarillo a azul-verdoso (presencia de bicarbonatos).

Estas caracterizaciones se deben a los virajes o cambios de color de estos indicadores al llegar al punto final en la determinación por titulación con un ácido. La titulación para la determinación de concentración de carbonatos se hace en dos fases; la primera fase se realiza con fenolftaleína, titulando la muestra hasta pH 8.3 y en la segunda se determina la concentración de bicarbonatos titulando la muestra hasta pH 4.5. En la Figura 3.7-1, se presenta estas dos fases en la titulación. Se puede observar que a medida que se añade ácido, se produce una caída lenta de pH hasta llegar a pH 8.5 y a partir de este punto hay una caída rápida de pH, con una inflexión alrededor del punto de pH 8.3: este punto es donde los CO_3^{2-} habrán pasado a HCO_3^- y el color de la fenolftaleína pasará de rosa a incoloro. Al ir añadiendo más ácido, el pH ira disminuyendo hasta alcanzar otro punto de inflexión entorno al pH 4.5, donde los HCO_3^- pasaran a CO_2 y el color del indicador verde bromocresol pasará de azul oscuro a un tono verde-amarillo.

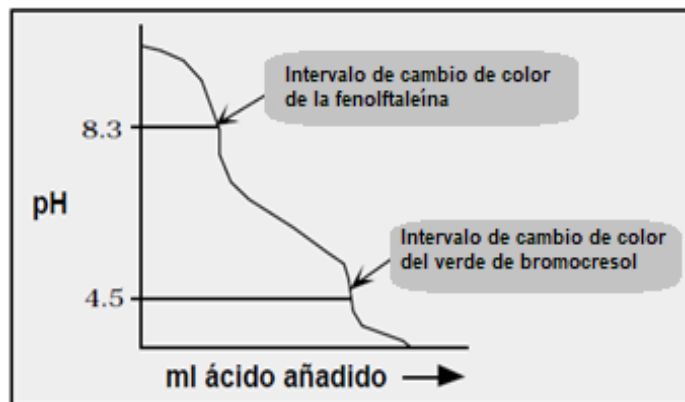
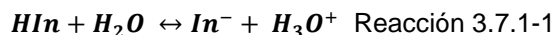


Figura 3.7-1 Representación gráfica de titulación (Massol, 2002).

Los resultados obtenidos se reportan en mg/L de bicarbonatos de la reacción total entre un protón ácido (proporcionado por el ácido clorhídrico) y el carbonato.

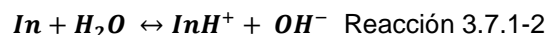
3.7.1 Indicadores ácido base

Un indicador ácido/base es un ácido orgánico débil o una base orgánica débil que en su forma no disociada difiere en color de su base o ácido conjugado (Skoog, 2014). Para un indicador de tipo ácido (HIn), tiene un comportamiento de acuerdo al siguiente equilibrio



Color 1 Color 2

En la reacción, los cambios estructurales internos acompañan a la disociación y causan el cambio de color. El equilibrio para un indicador tipo básico, In, es:



Dónde HIn es el color ácido y In⁻ es el color de la base

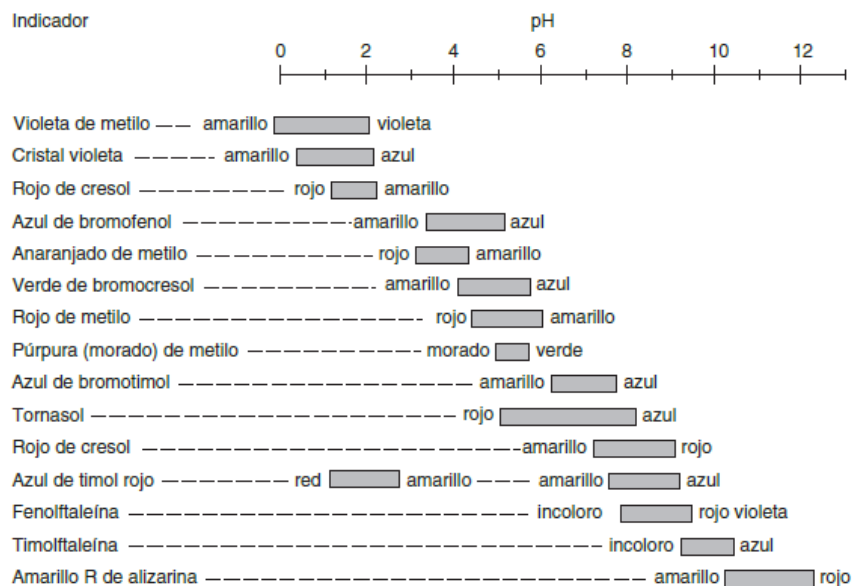


Figura 3.7.1-1 Intervalos de transición de pH y colores de indicadores comunes (Gary, 2009).

La expresión de la constante de equilibrio para la disociación de un indicador de tipo ácido es la siguiente (este principio puede generalizarse para los indicadores de tipo básico):

$$K_a = \frac{[H_3O^+][In^-]}{[HIn]} \text{ Ecuación 3.7.1-1}$$

Reorganizando obtenemos que:

$$[H_3O^+] = K_a \frac{[HIn]}{[In^-]} \text{ Ecuación 3.7.1-2}$$

Observamos que la concentración de iones hidronio es la que determina la proporción entre el ácido y la base conjugada del indicador, así mismo, determina el color de la disolución.

3.7.2 Microtitulación

Se ha demostrado que la química a micro escala tiene una gran utilidad en la práctica experimental, ya sea en Química General y Química Sintética orgánica como inorgánica (Pike et al, 1999). Sin embargo, la química a micro escala además de ser veraz y precisa resulta ser costosa por la adquisición y mantenimiento de la instrumentación para el trabajo analítico (Mainero, 1997), por lo que su uso se restringe al campo profesional o a la investigación formal (Villar et al, 2001).

Una de las metodologías analíticas más abordada a micro escala ha sido la titulación ácido-base con indicador visual (Silverman, 2000), ya que se puede ilustrar el proceso de neutralización adicionando gotas controladas de titulante y realizando determinaciones semi cuantitativas.

Se ha reportado que la precisión en la determinación del volumen de viraje de punto final en una titulación ácido-base con micro bureta si bien no alcanza la precisión de las buretas grandes, las desviaciones estándar relativas obtenidas son comparables y aceptables (González et al, 1997).

La UGFG recurre a materiales comerciales. En este trabajo se muestran resultados obtenidos en la titulometría ácido-base con indicador visual y la titulometría de determinación de bicarbonatos con una bureta de 1 mL construida con jeringa de insulina y otra jeringa del mismo tipo acopladas a una llave de 3

pasos e integradas a un soporte de improvisado de acrílico construido en el laboratorio 3-D del edificio A de la Facultad de Química por el profesor Pedro Villanueva Gonzalez con materiales de bajo costo. A continuación, en la Figura 3.7.2-1 se muestra el arreglo utilizado.

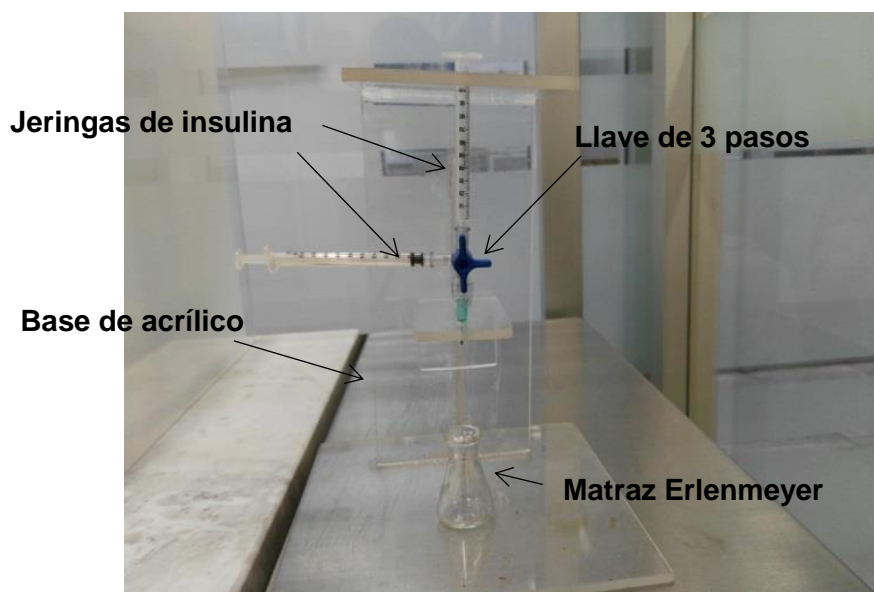


Figura 3.7.2-1 Micro bureta utilizada en campo por la UGFG.

Nota: la función de acoplar una segunda jeringa en posición horizontal es para inyectar la solución valorante a la jeringa en posición vertical.

3.8 Valoración directa vía instrumental

Los electrodos de pH resultan importantes y útiles en su aplicación directa en la investigación y en la industria, química, biológica, agro veterinaria, médica y más.

Un electrodo de pH se conforma de una varilla como soporte, comúnmente de vidrio común (o plástico), no conductor de cargas eléctricas. En la parte inferior del electrodo se encuentra un bulbo sensible hecho de vidrio polarizable, conocido como “vidrio sensible al pH”. El vidrio de pH es conductor de cargas eléctricas porque está compuesto de óxido de litio dentro del cristal, además de óxido de sílice, óxido de calcio y otros. De acuerdo con la Figura 3.8-1, la estructura del

vidrio es tal que permite el intercambio de iones litio por iones de hidrogeno en solución acuosa, de modo que se forma una capa fina hidratada, creando así un potencial (del orden de milivolts) a través de la interface creada entre el vidrio (en el seno del vidrio) y la solución acuosa. El voltaje creado hacia el interior del bulbo es constante porque mantiene su pH constante (mediante una solución buffer) de modo que la diferencia de potencial depende solo del pH del medio externo. A lo largo del electrodo existe un alambre (usualmente de Ag/AgCl) el cual permite conducir dicho potencial hasta un amplificador.

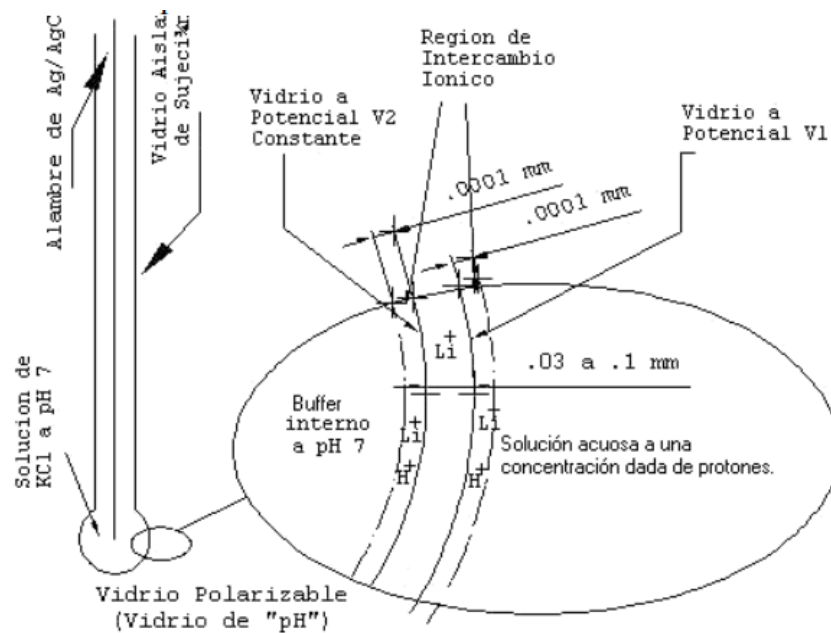


Figura 3.8-1 Electrodo de vidrio. Vista general y detalle de la membrana intercambiadora de iones (Ciganda, 2004).

Funcionamiento de un electrodo de pH

El método para determinar el pH se hace midiendo el potencial generado por un electrodo, que se compara contra un electrodo de referencia, este electrodo genera un potencial constante e independiente de pH llamado electrodo de referencia

El electrodo de referencia que se utiliza es el de calomel saturado con cloruro de potasio. El cloruro de potasio sirve como puente salino que permite el paso del potencial generado hasta un circuito de medición.

La diferencia de potencial será dada por la ecuación de Nernst:

$$E_H = \frac{RT}{F} \ln \frac{[H^+]_C}{\sqrt{[H_2]_C}} - \frac{RT}{F} \ln \frac{[H^+]_M}{\sqrt{[H_2]_M}} \quad \text{Ecuación 3.8-1}$$

Donde F es la constante de Faraday, el subíndice C se refiere a la celda de concentración conocida mientras que el subíndice M refiere a la muestra de pH desconocido.

Considerando que las actividades de H⁺ y de H₂ en la celda de composición fuesen unitarias, se estaría hablando de un electrodo estándar de hidrógeno, por lo que el primer término es cero. Además, si la presión del hidrógeno gaseoso fuese de 1 atm, el potencial sería dependiente de la concentración de hidrógeno ionizado en la celda que contiene la muestra. Así:

$$E_H = -\frac{RT}{F} \ln [H^+]_M \quad \text{Ecuación 3.8-2}$$

$$\text{Si } E_H (\text{a } 25^\circ\text{C}) = 0.0591 * pH$$

Es decir:

$$pH = \frac{E_H}{0.0591} \quad \text{a } 25^\circ\text{C} \quad \text{Ecuación 3.8-3}$$

Incertidumbre y rango de validez de las mediciones potenciométricas

En muestras con un pH mayor a 10, se presenta el error del sodio o error alcalino. Esto es debido al intercambio de otros cationes, distintos al H⁺ presentes en las disoluciones de análisis. Este error puede ser mayor en muestras con presencia de cationes monovalentes en la membrana de vidrio.

En disoluciones fuertemente ácidas 1 < pH < 6, la actividad del agua en la disolución se reduce afectando la capa hidratada sobre la membrana, y disminuyendo la zona donde verdaderamente tiene lugar las reacciones de intercambio.

La temperatura tiene dos efectos de interferencia: en el potencial de los electrodos y el pH de la muestra. El primer efecto se puede compensar agregando un sensor de temperatura que compense las señales de los electrodos. El segundo efecto se toma en consideración, anotando la temperatura de la muestra y su pH, por lo que se recomienda trabajar a 25 °C.

Debido a estas contraposiciones, los electrodos son diseñados de forma específica para ciertos rangos de temperatura y pH.

Los fabricantes montan los electrodos en diferentes materiales, confiriéndoles distintas propiedades extra por lo que necesitan.

Mantenimiento

El electrodo de vidrio es relativamente inmune a las interferencias del color, turbidez, material coloidal, cloros libres, oxidantes y reductores. La medición se afecta cuando la superficie de la membrana de vidrio está sucia con grasa o material orgánico insoluble en agua, lo cual impediría hacer contacto con la muestra, por tanto, los electrodos deben tener una limpieza escrupulosa.

Enjuagados con agua destilada entre muestras y secarlo suavemente con un papel para evitar cargarlo electrostáticamente.

Calibración o verificación

Como los electrodos de vidrio de pH miden la concentración de H^+ relativa a sus referencias, éstos deben ser calibrados periódicamente para asegurar precisión. Por lo que se utilizan disoluciones buffer de calibración. Generalmente se verifican con soluciones buffer de pH 4, 7 y 9.

Precauciones

El electrodo debe ser mantenido húmedo. Por lo que se recomienda ser guardado en una solución de 3 M KCl.

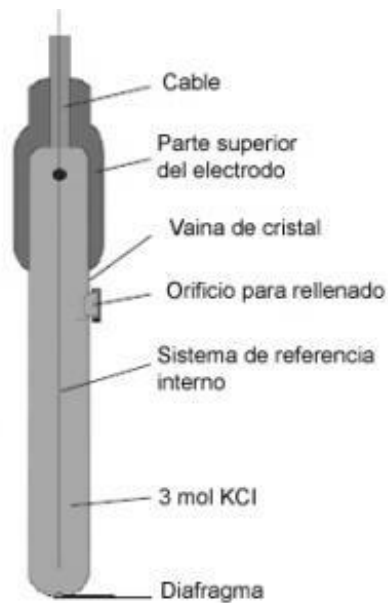


Figura 3.8-2 Esquema de un electrodo de pH.

3.8.1 Detección del punto final con un titulador automático

Se define a un titulador automático o valorador automático como un instrumento que permite la automatización de todas las operaciones implicadas en una valoración o titulación (Mettler-Toledo, 2017). Estas operaciones pueden ser adición de reactivo, reconocimiento de punto final, control de la reacción (mediante adquisición de señal), almacenamiento de datos, cálculo y almacenamiento de resultados, permitiendo obtener menos errores típicos de una titulación o valoración con indicador (Mettler-Toledo, 2017).

En general todos los tituladores automáticos, sin importar marca o modelo, siguen una secuencia definida de operaciones. Esta secuencia se realiza y se repite varias veces hasta que se alcanza el punto final o el punto de equivalencia de la reacción de valoración; esto se le llama ciclo de valoración (Figura 3.8.1-1).

Este ciclo de valoración se divide en aproximadamente cuatro partes. Cada parte tiene diferentes parámetros controlados (p. Ej. velocidad de reacción), y son definidos por el operador (valorador) y son específicos según su aplicación.

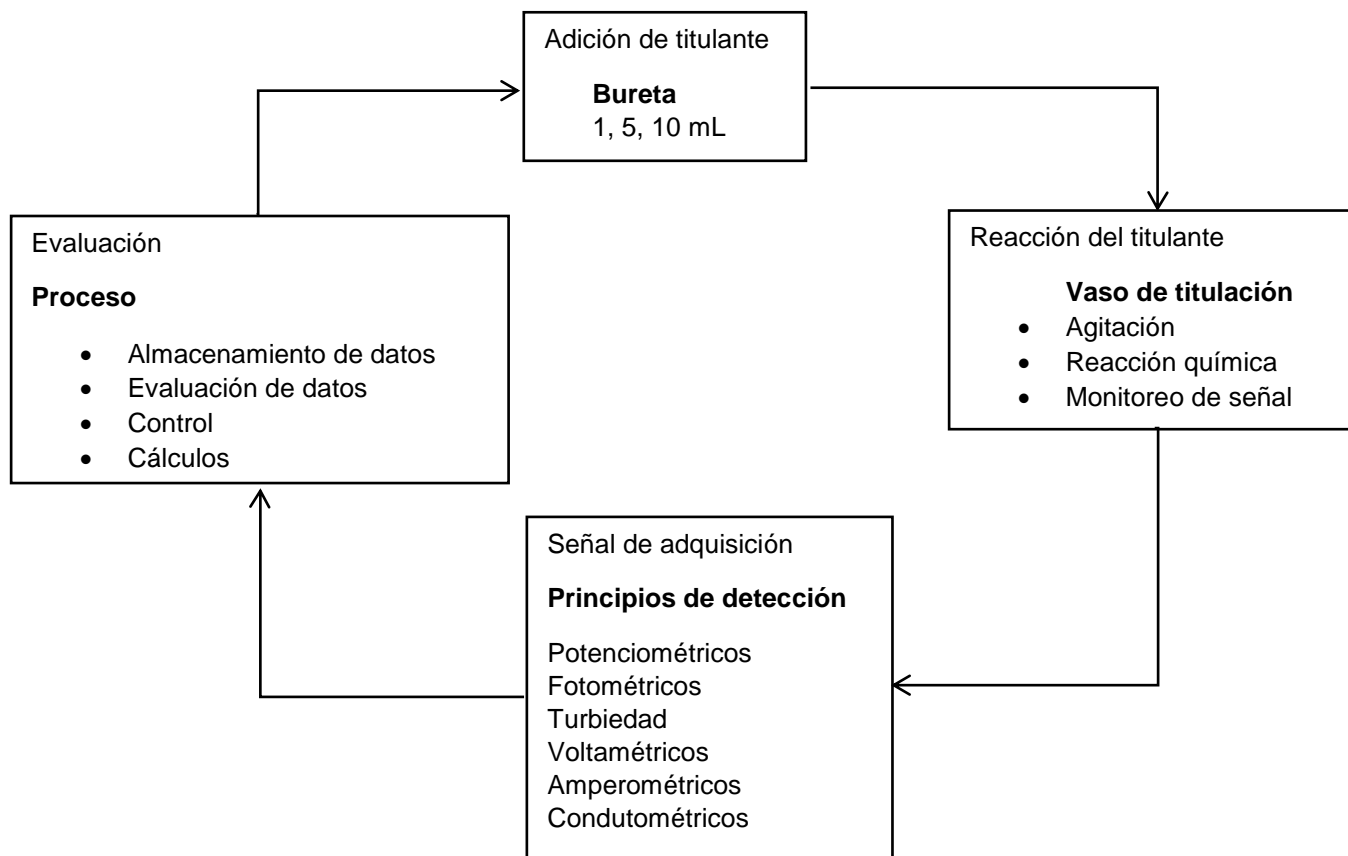


Figura 3.8.1-1 Ciclo de valoración (Mettler-Toledo, 2017).

A continuación, se explicará cada ciclo de valoración.

Adición y reacción de titulante

Durante una valoración, el reactivo se añade a la muestra de dos maneras diferentes para comenzar la reacción: A) Añadiendo cantidades fijas de reactivo para cada nuevo punto de medición. B) Definir dentro de los límites del instrumento un algoritmo de control del valorador. A continuación, se describen estos dos principios.

A) Adición incremental de reactivo

El reactivo se añade en incrementos de volumen constantes ΔV :

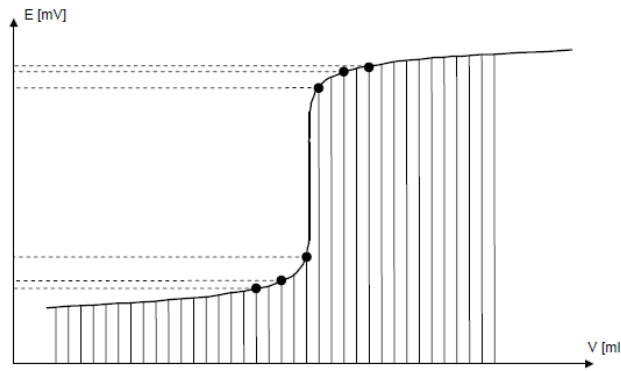


Figura 3.8.1-2 Adición incremental de reactivo (Mettler-Toledo, 2017).

Este principio se emplea en valoraciones propensas a tener señales inestables o puntos de equivalencia inesperados (sin conocimiento del punto de equivalencia).

B) Adición dinámica de reactivo

El algoritmo de control del valorador selecciona automáticamente el incremento por punto medio, basándose en parámetros previamente definidos por el usuario. Con el objetivo de obtener un aumento constante de la señal de la curva de valoración que dé lugar a una curva con más puntos medidos en la parte con más pendiente. Esto permite tener una evaluación más precisa y tener la posición exacta del punto de equivalencia. Es empleado cuando se tiene conocimiento del punto de equivalencia.

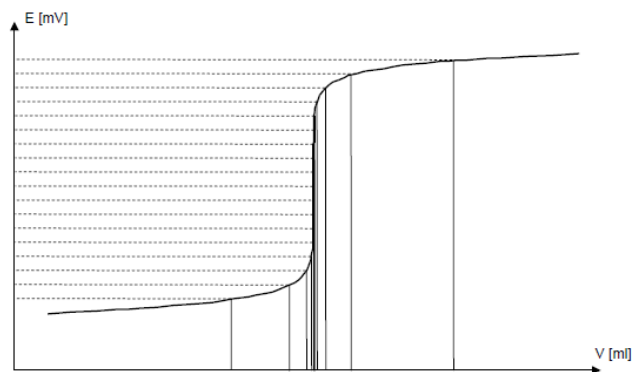


Figura 3.8.1-3 Adición dinámica de reactivo (Mettler-Toledo, 2017).

Señal de adquisición

Para asegurar la medición del siguiente punto en la curva de valoración, la porción anterior del reactivo debe haber reaccionado completamente con la muestra, se emplea la estabilidad de señal como un indicador para la adquisición de datos.

C) Adquisición de incrementos por tiempo

Es un método de adquisición de datos utilizado cuando la señal es ruidosa y puede resultar errático encontrar un punto de medición estable.

Para una señal detectada, se registra un tiempo de espera Δt , después de la última adición de reactivo.

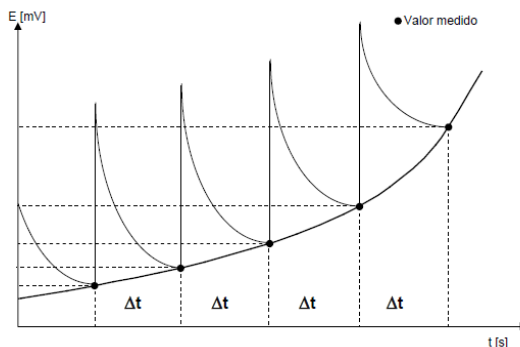


Figura 3.8.1-4 Incrementos fijos de tiempo en una curva de valoración (Mettler-Toledo, 2017).

D) Adquisición controlada por equilibrio

Los datos de medición se adquieren únicamente mediante el valorador cuando el pH o potencial (mV) de una muestra cambia menos de una cierta cantidad (ΔE) dentro de un intervalo de tiempo definido (Δt).

Este método es un buen indicador, ya que nos asegura que todo el reactivo ha reaccionado con la muestra, manteniendo la composición de la muestra constante y, por tanto, una señal estable.

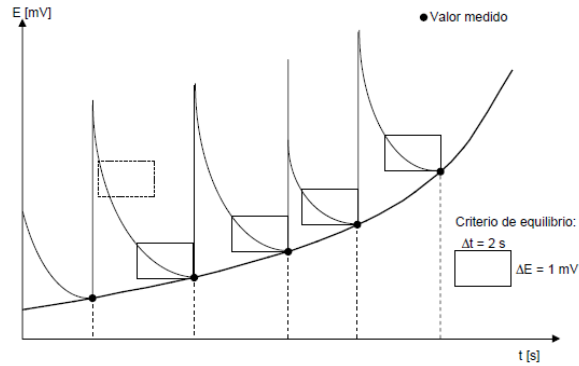


Figura 3.8.1-5 Curva de valoración controlada por equilibrio (Mettler-Toledo, 2017).

Evaluación

Hay cuatro formas diferentes para evaluar las curvas de valoración formadas por los puntos de datos, estos deben ser analizados con los algoritmos de evaluación adecuados. Estas cuatro formas son: la curva simétrica, la curva asimétrica, la curva mínima/máxima y la curva segmentada. En este documento se citará únicamente la curva simétrica puesto que es la que más se adecua a titulaciones ácido-base.

La curva simétrica en forma de S (Figura 3.8.1-6A) presenta un perfil simétrico en donde el punto de inflexión de la curva es el punto de equivalencia. La primera derivada de una curva de valoración se evalúa trazando la primera derivada dE/dV frente al consumo de reactivo V (Figura 3.8.1-6B) esta curva muestra que en el máximo de la derivada es el punto de inflexión e indica el punto de equivalencia, por otro lado, la segunda derivada $d(dE/dV)$ el punto de equivalencia corresponde al volumen para el cual la segunda derivada es cero (Figura 3.8.1-6C).

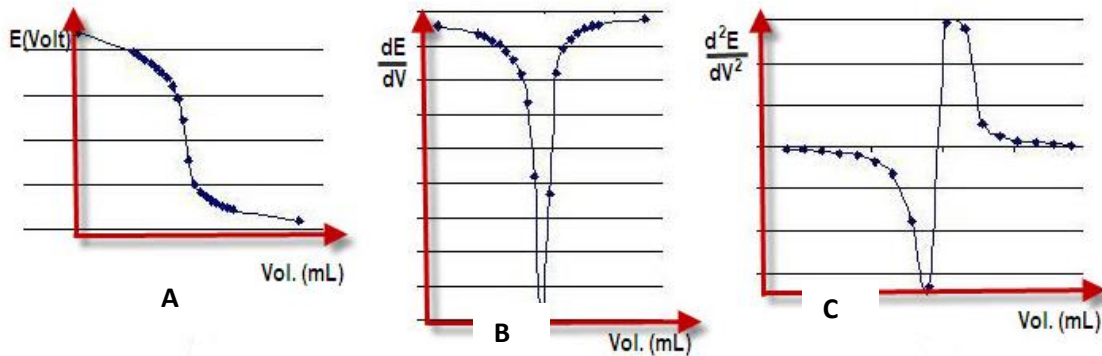


Figura 3.8.1-6 Curva simétrica en forma de S (A), Primera derivada de una curva de valoración (B), segunda derivada de una curva de valoración (C)

El punto final de titulación en una titulación potenciométrica es tomada como el punto de inflexión de una curva de titulación (primera derivada) o el punto donde la segunda derivada es cero. A concentraciones bajas de analito o constantes de equilibrio insuficientemente grandes, el grado de incompletitud de la reacción es alto a lo largo del punto de equivalencia.

Ya que se presenta un problema cuando se utilizan derivadas para hallar puntos de equivalencia algunos tituladores automáticos utilizan el punto de Gran para determinar con mayor exactitud el punto a la equivalencia (o punto final de la valoración).

También llamado aproximación de Gran, ya que utiliza datos correspondientes a volúmenes entre 10 y 20% antes del volumen a la equivalencia. Está aproximación se basa en la transformación de la gráfica potenciométrica (en el cual la señal es una función algorítmica de la concentración) para una gráfica donde la función transformada es lineal en la concentración. La extrapolación de la parte lineal permite una determinación más exacta del punto final.

La aproximación de Gran es presentada por la ecuación 3.8.1-1 cuando una base débil, B, se valora con un ácido fuerte.

$$V_a * 10^{pH} = \left(\frac{1}{K_a} * \frac{\gamma_B}{\gamma_{BH^+}} \right) (V_e - V_a) \text{ Ecuación 3.8.1-1}$$

Donde V_a es el volumen de ácido fuerte añadido, y K_a es la constante de disociación ácida de BH^+ . Un gráfico que represente $V_a * 10^{pH}$ frente V_a será una recta con pendiente $-\left(\frac{1}{K_a} * \frac{\gamma_B}{\gamma_{BH^+}}\right)$, y de abscisa en el origen V_e (volumen a la equivalencia o punto final)

La intersección con el eje x (cuando $V_a * 10^{pH}$ es igual a 0) será el punto a la equivalencia o punto final (Figura 3.8.1-7)

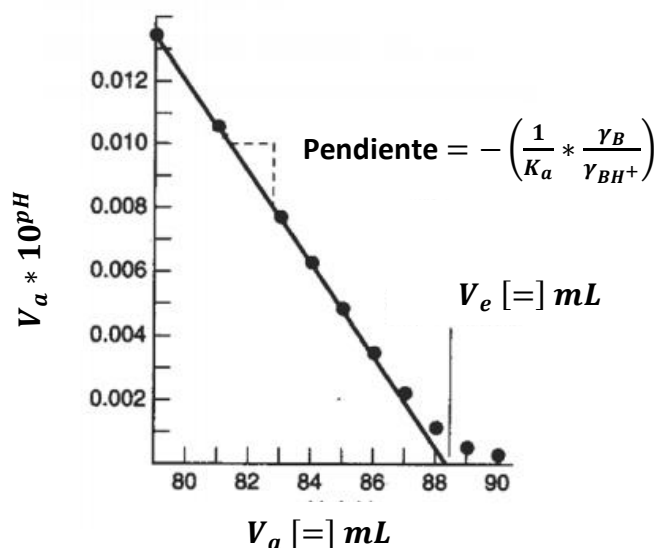


Figura 3.8.1-7 Ejemplo de un gráfico de Gran cuando una base débil se valora con un ácido fuerte (Harris, 2006).

3.9 Validación de métodos analíticos

Un método analítico se define como la descripción de una serie de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de uno o varios componentes específicos de una muestra, por tanto, la validación de métodos analíticos es el proceso mediante el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

Para eso se sigue una serie de pruebas para comprobar que el método analítico propuesto es confiable. En este documento se siguen pruebas de satisfacción propuestos en el documento “Criterios para la Validación Interna y Confirmación de Métodos Físicoquímicos” publicado por COFEPRIS.

3.9.1 Estadística básica

Para la validación de métodos analíticos se utilizan herramientas estadísticas, las cuales nos ayudan a establecer si el método se encuentra dentro de un parámetro aceptable, normalmente se utilizan las siguientes:

Distribución normal: también conocida como distribución Gaussiana, la distribución de una variable normal está completamente determinada por dos parámetros, su media y su desviación estándar (μ y σ respectivamente). Se caracteriza por tener una única moda, que coincide con su media y su mediana. Su expresión gráfica es una curva normal, cuya forma es similar a una campana (Figura 3.9.1-1), conocida así como campana de Gauss que es simétrica respecto a su media y asintótica al eje de las abscisas, por lo que valores entre $-\infty$ y ∞ son teóricamente imposibles. El área total bajo la curva es, por tanto, igual a 1.

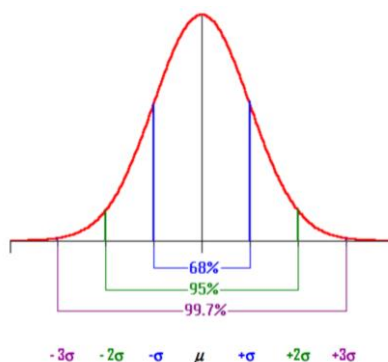


Figura 3.9.1-1 Campana de Gauss y la probabilidad de que un valor x_0 caiga en el intervalo comprendido entre:

$\mu \pm \sigma$ es aproximadamente 68.27 %

$\mu \pm 2\sigma$ es aproximadamente 95.45 %

$\mu \pm 3\sigma$ es aproximadamente 99.73 %

Nivel de significancia (Alfa, α): es el nivel de significancia para calcular el nivel de confianza. Siendo el nivel de confianza igual a 100 % (1- α), es decir, un alfa (α) de 0.025 indica un nivel de confianza del 95 % para una prueba de 2 colas.

Media: también conocida como media aritmética o promedio, es la cantidad total de la variable (muestra o medida) distribuida a partes iguales entre cada observación.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \text{ Ecuación 3.9.1-1}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

n = número de lecturas.

Desviación estándar muestral (σ, S): es el promedio de lejanía de los valores obtenidos (lecturas) respecto al promedio.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \text{ Ecuación 3.9.1-2}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

\bar{x} = promedio de la totalidad de lecturas.

n = número de lecturas.

Coficiente de variación (CV, RSD): es también conocida como desviación estándar relativa y es expresado en porcentaje.

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \text{ Ecuación 3.9.1-3}$$

Siendo:

S = desviación estándar de las lecturas.

\bar{x} = promedio de la totalidad de lecturas.

Varianza: es una medida de dispersión definida como el cuadrado de la desviación estándar.

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)} \text{ Ecuación 3.9.1-4}$$

Siendo:

x_i = valor de una lectura.

\bar{x} = promedio de la totalidad de lecturas.

n = número de lecturas.

Coefficiente de variación de Horwitz (CV_{Horwitz}): es un coeficiente de variación definido por W. Horwitz, a través de la ecuación obtenida en un estudio estadístico. En dicho estudio, Horwitz después de reunir una serie de datos (provenientes de 150 ensayos de interlaboratorios organizados por la AOAC que por sus siglas en inglés significa: Association of Official Analytical Chemists (asociación oficial de químicos analíticos) hoy en día AOAC International, observó que el coeficiente de variación de los valores medios dados por los diferentes laboratorios aumentaba a medida que disminuía la concentración del analito, conocida como la trompeta de Horwitz (Figura 3.9.1-2).

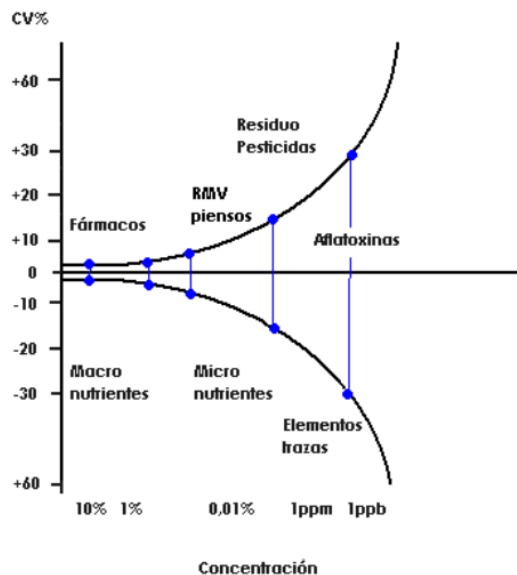


Figura 3.9.1-2 Gráfico "Trompeta de Horwitz" (Riviera, 2006).

La ecuación de Horwitz, está definida como:

$$\text{Valor de HorRat} = \sigma_{\text{Horwitz}} = \text{PRSD}_R = \text{CV}_{\text{Horwitz}} = 2^{1-0.5 \log C}$$

Ecuación 3.9.1-5

Dónde:

$\text{CV}_{\text{Horwitz}}$ = coeficiente de variación de Horwitz.

Valor de HorRat= σ_{Horwitz} = desviación estándar calculada conforme al modelo de precisión de Horwitz.

C = concentración del analito en unidades adimensionales de masa.

3.9.2 Pruebas de significancia

En el proceso de validación de métodos analíticos es común utilizar pruebas de significancia, se aplican comúnmente las siguientes:

1. Prueba t-Student para identificar errores sistemáticos (sesgo).
2. Prueba F-Fisher para identificar errores aleatorios (precisión).

Al hacer una prueba de significancia se comprueba la veracidad de una hipótesis experimental, llamada “hipótesis alternativa” (H_1 , si hay diferencia), con respecto a la “hipótesis nula (H_0 , no hay diferencia). Es la hipótesis alternativa la que determina el número de colas (Figura 3.9.2-1).

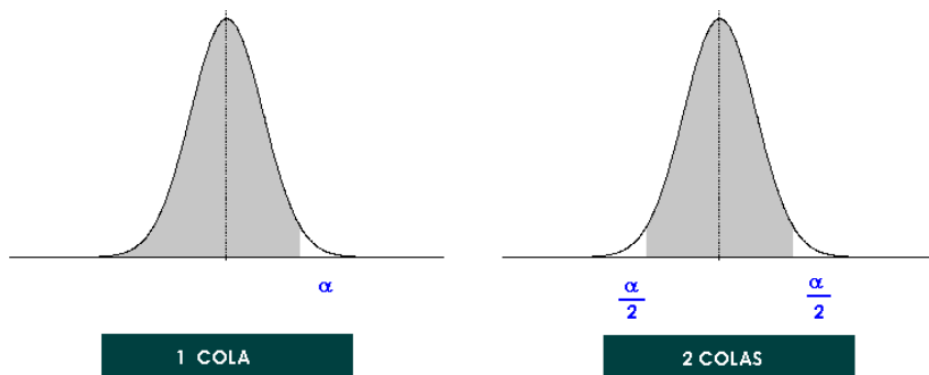


Figura 3.9.2-1 Representación gráfica de 1 cola y 2 colas.

Casos:

- a) La media es igual al valor dado ($H_0: \mu=x_0$) versus la media no es igual al valor dado ($H_1: \mu \neq x_0$) → Dos colas
- b) La media es igual al valor dado ($H_0: \mu=x_0$) versus la media es menor al valor dado ($H_1: \mu < x_0$) → una cola
- c) La media es igual al valor dado ($H_0: \mu=x_0$) versus la media es mayor al valor dado ($H_1: \mu > x_0$) → una cola

Prueba t-Student

La prueba t-Student permite comparar las medias de dos grupos de datos y determinar si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas.

En la prueba t se determina un valor de t de student calculado (t_{calc}), obtenido a través del experimento analítico, y ese valor se compara con el valor crítico o t crítico (t_{crit}), la cual se obtiene de la tabla t-student (Anexo A) para un determinado porcentaje de confiabilidad. Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, el t_{calc} debería ser inferior al t_{crit} , por tanto, si el valor si t_{calc} es superior al t_{crit} existirá una diferencia significativa entre los 2 grupos (Figura 3.9.2-2).



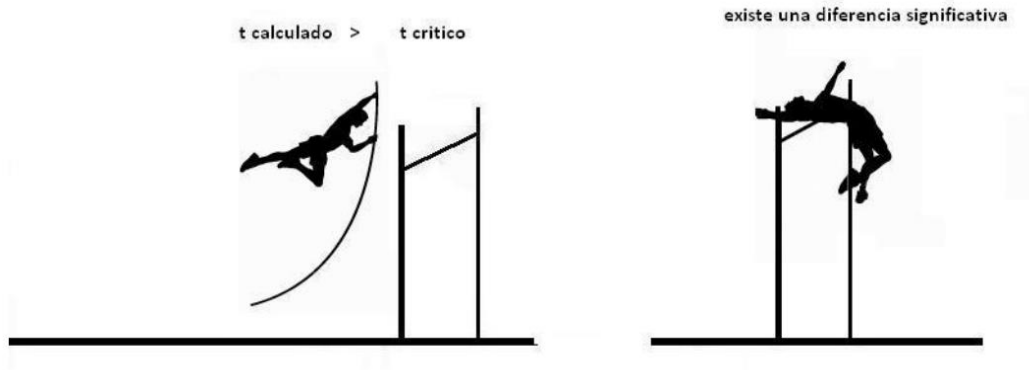


Figura 3.9.2-2 Ejemplificación de t_{crit} versus t_{calc} (Duffau B, 2010).

Prueba F (de Fisher)

Se denomina prueba F de Fisher a cualquier prueba en la que el estadístico utilizado sigue una distribución F.

La necesidad de disponer de métodos estadísticos para comparar las varianzas de dos poblaciones es evidente a partir del análisis de una sola población, por lo que es la distribución más importante en la experimentación ya que permite hacer cálculos sobre varianzas propuestas y lograr determinar si las diferencias mostradas son significativas.

En esta prueba se verifica que la hipótesis de que las varianzas de dos poblaciones normalmente distribuidas son iguales. Se tienen dos casos:

Si $F_{calculada} < F_{crítico}$ existe diferencia significativa entre dos varianzas, por otro lado, si $F_{calculada} > F_{crítico}$, no existe diferencia significativa entre dos varianzas.

Análisis de varianza

El análisis de varianza, también conocido como ANOVA, es el análisis estadístico en el cual se compara más de dos medias entre sí.

En general se refiere a un conjunto de situaciones experimentales y procedimientos estadísticos para el análisis de respuestas cuantitativas de unidades experimentales. Para este fin, se procede a comparar las diferencias entre cada grupo y dentro de cada grupo con las observaciones realizadas.

3.9.3 Incertidumbre

La incertidumbre (de medición) es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mensurando (Vocabulario internacional de términos básicos y generales de metrología, 1993).

En otras palabras, incertidumbre significa certeza, y en su sentido, incertidumbre de medición significa certeza acerca de la validez del resultado de una medición, así como la veracidad del resultado.

Mensurando (y)

Se define como el atributo sujeto a una medición de un fenómeno, cuerpo o sustancia, la cual puede ser distinguido cualitativamente o cuantitativamente.

Error

El error es el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y su valor de referencia aceptado (ec. 3.9.3-1)

$$\text{Error} = \text{valor medido} - \text{valor de referencia} \quad \text{Ecuación 3.9.3-1}$$

Existen tres tipos de errores:

- Errores accidentales: causados por equivocaciones humanas.
- Errores aleatorios o indeterminados: son atribuibles al método, reactivo, equipos, operador y/o manipulaciones. Este tipo de errores afectan la precisión.
- Errores sistemáticos o determinados: es aquel que se produce de igual modo en todas las mediciones (sesgo). Pueden y deben ser corregidos.

Cabe destacar que, por definición, el error no es la incertidumbre.

La incertidumbre se compone de diversas fuentes y se puede usar un diagrama de Ishikawa para ubicar visualmente las fuentes que afectan una medición.

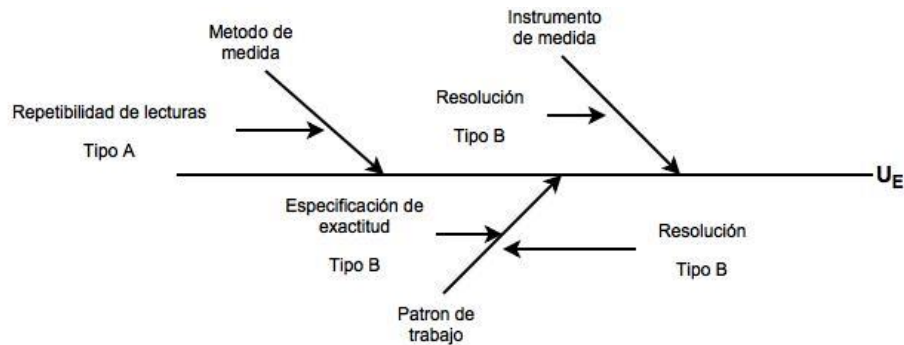


Figura 3.9.3-1 Fuentes de incertidumbre involucradas en el proceso de medición.

Incertidumbre absoluta (u_y)

Se define como la expresión del margen de incerteza asociada a una medición. La incertidumbre absoluta tiene las mismas unidades del mensurando.

Incertidumbre relativa

Es la razón entre la incertidumbre absoluta y el valor del mensurando (u_y/y), por ser una relación entre la incertidumbre absoluta y el mensurando, es una cantidad adimensional.

Incertidumbre tipo A

Es un valor basado en un análisis estadístico de una serie de mediciones bajo condiciones de repetibilidad (ec. 3.9.3-2)

$$U_A = \frac{s}{\sqrt{n}} \text{ Ecuación 3.9.3-2}$$

Dónde:

S = desviación estándar de las lecturas

n = número de lecturas

Incertidumbre tipo B

La incertidumbre del tipo B usa información externa u obtenida por experiencia ya sea por:

- Certificados de calibración.
- Especificaciones del instrumento.
- Normas o literatura.
- Valores de mediciones anteriores

Teniendo conocimiento sobre las características o el comportamiento de un sistema de medición, sea:

$$Y = F(X_1, X_2, \dots, X_N) \text{ Ecuación 3.9.3-3}$$

Por lo que la incertidumbre del tipo B se representa de la siguiente manera:

$$U_y = Y \sqrt{\sum_{i=1}^N u_{X_i}^2} \text{ Ecuación 3.9.3-4}$$

Dónde:

Y = mensurando de interés.

X_N = variables involucradas al determinar el mensurando.

El cálculo de incertidumbre presenta su propia álgebra, siendo para:

- Sumas y restas: $y = X_1 \pm X_2 \pm X_3 \pm \dots \pm X_n$

$$U_y = Y \sqrt{u_{X_1}^2 + u_{X_2}^2 + u_{X_3}^2 + \dots + u_{X_N}^2} \text{ Ecuación 3.9.3-5}$$

- Multiplicaciones y divisiones: $y = \frac{X_1 + X_2 + \dots}{X_4 + X_5 + \dots}$

$$U_y = \sqrt{\left(\frac{u_{X_1}}{X_1}\right)^2 + \left(\frac{u_{X_2}}{X_2}\right)^2 + \left(\frac{u_{X_3}}{X_3}\right)^2 + \dots + \left(\frac{u_{X_N}}{X_N}\right)^2} \text{ Ecuación 3.9.3-6}$$

Incertidumbre combinada estándar

La incertidumbre combinada estándar es la suma de la incertidumbre del tipo A y la incertidumbre del tipo B y de acuerdo con lo anterior, su fórmula es:

$$U_c = \sqrt{(U_A)^2 + (U_B)^2} \text{ Ecuación 3.9.3-7}$$

Incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida es la cantidad que define un intervalo alrededor del resultado de una medición, y que se espera abarque una fracción grande de la distribución de valores que se podrían atribuir al mensurando. Para la incertidumbre expandida se utiliza un factor de cobertura (k) igual a 2 (95% de confianza) y se reporta como:

$$\text{Resultado obtenido} \pm k (U_c) \text{ Ecuación 3.9.3-8}$$

4. ANTECEDENTES

La determinación de concentración de bicarbonato ha sido objeto de estudio para el grupo de la Unidad de Geoquímica de Fluidos Geotérmicos (UGFG). La determinación analítica de esta especie química se realiza tanto en campo (con un titulador digital marca HACH) como en laboratorio (con un titulador automático marca METROHM modelo 905).

Los procedimientos seguidos por la UGFG para la determinación de bicarbonatos no estaban validados, tanto en campo, como en laboratorio. Por tanto, se modificó la metodología en campo (implementando la microtitulación) y se implementó una metodología para utilizarla en laboratorio (utilizando un titulador automático).

La modificación del procedimiento en campo nació a partir de la búsqueda de métodos confiables, precisos y de bajo costo. Para el caso de la implementación de una metodología para laboratorio surgió para que todo integrante del grupo de la UGFG pudiera realizar la determinación de la concentración de bicarbonatos.

5. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La determinación de bicarbonatos es importante para realizar un balance iónico correcto para la descripción de aguas naturales, así como para explicar los procesos geoquímicos que se llevan a cabo. En campo inicialmente, la UGFG propuso la determinación de bicarbonatos implementando un titulador digital comercial de la marca HACH, el cual dispone de cartuchos con una disolución de H_2SO_4 0.1 N. Sin embargo, conseguir dichos cartuchos con la disolución valorante no era fácil por tener altos costos y falta de existencias por parte del proveedor, por tanto, la UGFG optó por implementar un método de microtitulación en campo, basándose en el artículo "*Microbureta a microescala total para titulometría*" (Baeza, 2003), en el cual menciona que los resultados obtenidos a partir de microtitulación son confiables.

Para confirmación de los datos obtenidos en campo se utiliza un titulador automático, sin embargo, el hecho de no tener una metodología definida y validada, no se sabe si los datos obtenidos son confiables.

Por otro lado, se sabe que el CO_2 tiene una fugacidad definida entre el medio ambiente y la manifestación de agua natural de la que proviene la muestra, por lo que la concentración de HCO_3^- varía entre estos medios.

6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

6.1 Objetivo general

- Implementar, optimizar y validar de forma analítica la determinación de bicarbonatos en aguas naturales empleando las técnicas de microtitulación y titulación automática.
- Saber si existe algún cambio de concentración con respecto al tiempo una vez tomada la muestra para su análisis.

6.2 Objetivos particulares

- a) Implementar y validar una metodología con microbureta para determinación de la concentración de bicarbonatos en campo, una vez colectada la muestra de agua natural.
- b) Implementar y validar una metodología con titulador automático para determinación de la concentración de bicarbonatos en laboratorio.
- c) Comparar ambos métodos para saber el alcance de cada uno de los métodos
- d) Comprobar si existe cambio de concentración de bicarbonatos una vez tomada la muestra y pasado unas horas.
- e) Aplicar parámetros de calidad para la realización de la validación analítica.

6.3 Hipótesis

Es posible conseguir datos confiables para la determinación de bicarbonatos, para garantizar un correcto balance iónico.

Es posible que exista una relación entre concentración vs tiempo una vez tomada la muestra de agua.

7. SECCIÓN EXPERIMENTAL

Para cumplir con el primer punto del objetivo general. El procedimiento general que se aplicó para la validación analítica fue la siguiente:

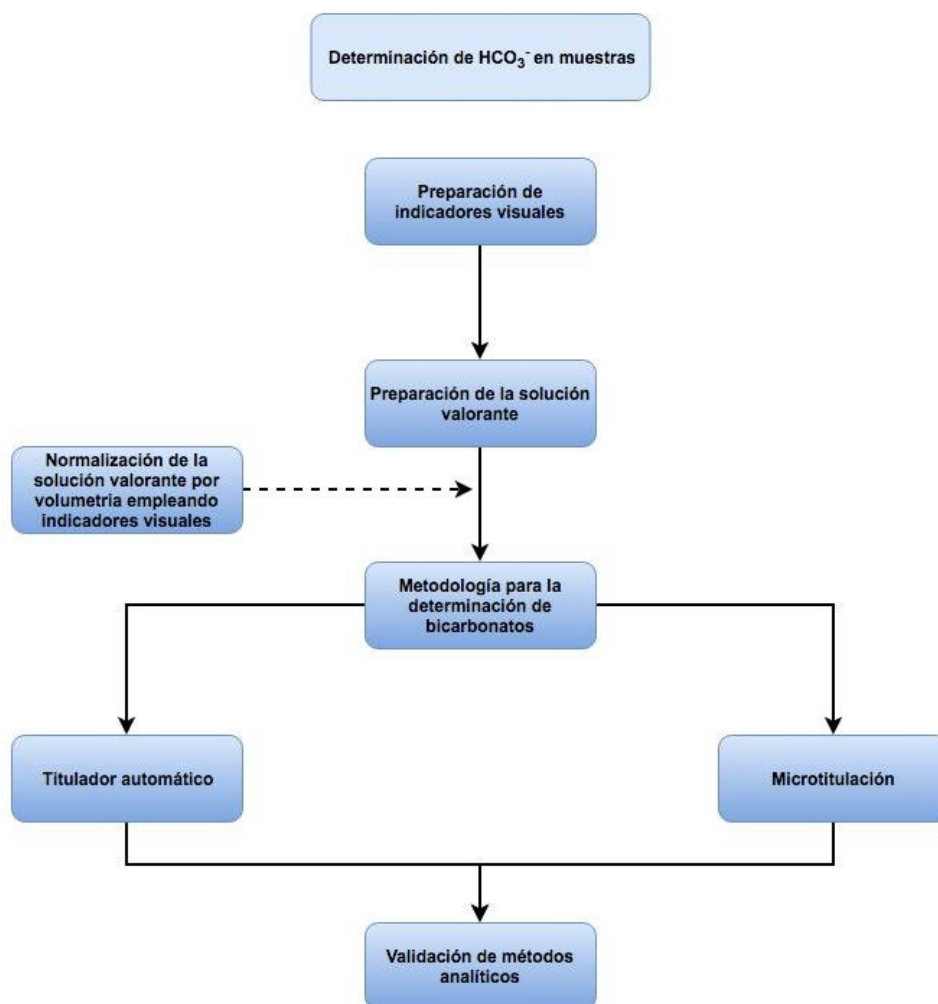


Figura 7-1 Secuencia de actividades realizadas para la sección experimental para la determinación de bicarbonatos

7.1 Preparación de indicador visual

Para la determinación de bicarbonatos se utilizaron dos indicadores visuales; fenolftaleína (para identificar los carbonatos) y verde de bromocresol (para identificar los bicarbonatos). Los rangos de pH para la fenolftaleína y verde de bromocresol son entre 8.3 y 10 y entre 3.8 y 5.4, respectivamente. La preparación de estos indicadores fue de acuerdo a Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM (2015).

Se describe a continuación la preparación de cada indicador.

1. Disolución indicadora de fenolftaleína

La fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$, o bien 3,3-bis(4-hidroxifenil)-1 (3H)-isobenzofuranona) es un polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Insoluble en agua, soluble en etanol.

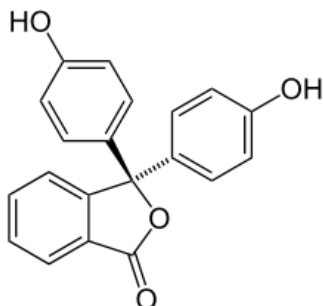


Figura 7.1-1 Estructura molecular de la Fenolftaleína en medio ácido o neutro (incoloro).

Preparación. Disolver 1.0 g de fenolftaleína en 100 mL de etanol (FEUM, 2015).

2. Disolución indicadora de verde de bromocresol

El verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$, o bien 4,4'-(3H-2,1-enzoxatiol-3-iliden) bis [2,6-dibromo-3 metilfenol] S, S dióxido) es un polvo blanco o ligeramente amarillo. Muy ligeramente soluble en agua, soluble en etanol y en disoluciones alcalinas.

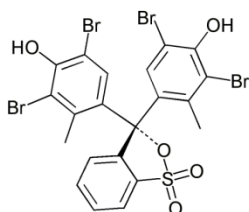


Figura 7.1-2 Estructura molecular del verde de bromocresol (amarillo).

Preparación. Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 100 mL de etanol y filtrar si es necesario (FEUM, 2015).

7.2 Preparación de la disolución valorante

La disolución valorante utilizada para la determinación de bicarbonatos fue ácido clorhídrico (HCl) a una concentración 0.1 N. De igual manera, se preparó de acuerdo al procedimiento establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2015.

Disolución volumétrica de HCl: a partir de una disolución de HCl con concentración masa masa (m/m) de 36.46. En un matraz volumétrico de 1000.0 mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua (FEUM, 2015).

7.3 Normalización de la disolución valorante

Para valorar (normalizar) la disolución se necesita disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro, (secar previamente a 270°C durante 1 h), en 20 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 0.1 mL de anaranjado de metilo y titular con la disolución volumétrica de ácido clorhídrico hasta vire amarillo rojizo. Calentar a ebullición y continuar la titulación hasta que el color amarillo rojizo no desaparezca (FEUM, 2015). Teniendo la información de volumen gastado y de la masa del carbonato de sodio anhidro pesado se realiza el siguiente cálculo.

$$[HCl] = \frac{2000 * m_{Na_2CO_3}}{MM * V_g} [=] \frac{mol}{L} \text{ Ecuación 7.3-1}$$

Dónde:

$m_{Na_2CO_3}$ = es la masa inicial del carbonato de calcio anhídrido (Na_2CO_3) en g.

MM = masa molecular (g/mol) del carbonato de calcio anhídrido (Na_2CO_3).

Factor "2000" = es la relación estequiometría entre el ácido clorhídrico (HCl) y el carbonato de calcio anhídrido (Na_2CO_3) y la conversión de mL a L.

V_g = volumen gastado de ácido clorhídrico en mL al punto final.

7.4 Aspectos previos para el titulador automático

Limpieza y mantenimiento del electrodo

Todos los electrodos de pH deben someterse a limpieza y mantenimiento cada cierto tiempo. En la UGFG se realiza este procedimiento cada mes, ya que su preparación y limpieza son indispensables para asegurar su funcionamiento. Como parte de Sistema de Gestión de Calidad, se anota en una bitácora la fecha de limpieza y mantenimiento del electrodo.

1. Preparación y limpieza

Los sensores deben revisarse, así como comprobarse su buen funcionamiento inmediatamente después de una medición (en el caso de una nueva adquisición). Se extrae el electrodo de su tubo de conservación con cuidado, para no dañarlo.

Es muy normal que se encuentre cristales precipitados en el compartimiento del electrolito (Figura 7.4-1).

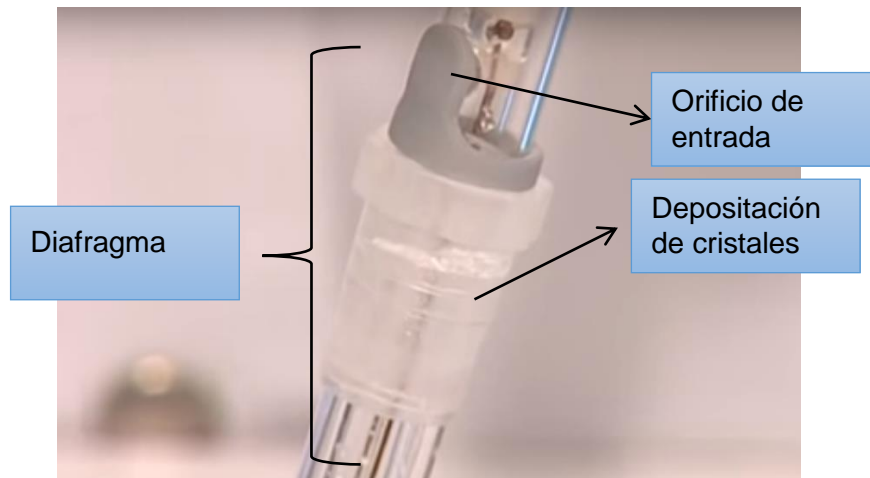


Figura 7.4-1 Cristales precipitados alrededor del compartimiento de electrolito.

Estos cristales se eliminan fácilmente con agua destilada. La referencia del electrodo se llena con el electrolito adecuado hasta el orificio de entrada, para el caso de la UGFG se utiliza una disolución de KCl 3.0 M. El uso exclusivo de

electrolitos de la marca del electrodo garantiza un correcto funcionamiento del mismo.

Si se presentan burbujas de aire, éstas se pueden eliminar sacudiendo suavemente el electrodo hacia abajo. Antes de las medidas, se fija el electrodo en su soporte y se deja abierto el orificio de rellenado. Durante las medidas se asegura que el diafragma este totalmente sumergido en la disolución. Un enjuagado con agua destilada es lo más adecuado para disoluciones acuosas.

Después de una limpieza con un disolvente (agua), es aconsejable sumergir el electrodo, un breve tiempo, en la disolución de conservación.

Para evitar daños, el electrodo no debe tocar la base del vaso, y no debe usarse como agitador.

No se debe tocar la membrana de vidrio del electrodo y no pasar un trapo y/o secar completamente el electrodo ya que esto puede producir una carga electrostática.

2. Limpieza del diafragma

La limpieza del diafragma de un electrodo combinado de pH es especialmente importante ya que el diafragma es el responsable de la mayoría de los errores en las medidas.

Se cierra el orificio de llenado de electrolito y se sumerge el electrodo en la disolución de limpieza adecuada durante varias horas (Tabla 7.4-1).

Tabla 7.4-0-1 Disolución de limpieza por contaminante.

Contaminante	Disolución de limpieza
Precipitados de plata	Tiourea al 7% en $c(\text{HCl})=0.1 \text{ mol/L}$
Proteínas	Pepsina al 1% en $C(\text{HCl})=0.1 \text{ mol/L}$
Contaminación orgánica	Disolvente

Se quita el mango esmerilado (en caso de tenerlo) y se limpia según el tipo de contaminación. Después de la limpieza, se enjuaga el compartimiento del

electrolito de referencia varias veces con electrolito fresco, se rellena y se acondiciona el electrodo durante varias horas. Nunca se enjuaga el compartimiento del electrodo de referencia con agua destilada ni otro líquido que no sea el electrolito de referencia.

3. Almacenamiento

Los electrodos de vidrio se guardan en agua destilada. Para prevenir el envejecimiento de la membrana de vidrio, los electrodos de pH combinados se llenan generalmente con una solución de KCl 3 mol/L. Deben guardarse sumergidos en la disolución de conservación.

4. Limpieza

Los electrodos combinados deben enjuagarse únicamente con agua destilada. Si se ha pegado algún tipo de contaminante, pruebe de eliminarlo pasando suavemente un pañuelo de papel húmedo, ya que un frote con fuerza podría dañarse el hilo de platino.

Verificación del electrodo

El electrodo se debe calibrar previamente a cada sesión de laboratorio con el fin de tener resultados confiables, dentro del rango aceptable de pH.

Procedimiento:

1. Etiquetar los 3 vasos precipitados con pH de (4.0, 7.0 y 9.0) ± 0.02
2. Verter las disoluciones amortiguadoras en sus correspondientes vasos de precipitados
3. Prender la PC (el titulador automáticamente se prende)
4. Abrir el software Tiamo
5. Tomar el vaso de precipitados con etiqueta "pH 4" y colocar el agitador y el electrodo, hasta cubrir por completo el punto de referencia del electrodo.

6. En la pantalla principal del software (Workplace), colocarse en la ventana superior derecha (Run) y en la sección de “Sample Data” seleccionar de la pestaña “method” el método “CALIBRACION ELECTRODO, acto seguido, dar click izquierdo en el botón verde con nombre “Start”, esperar a que mande una alerta.

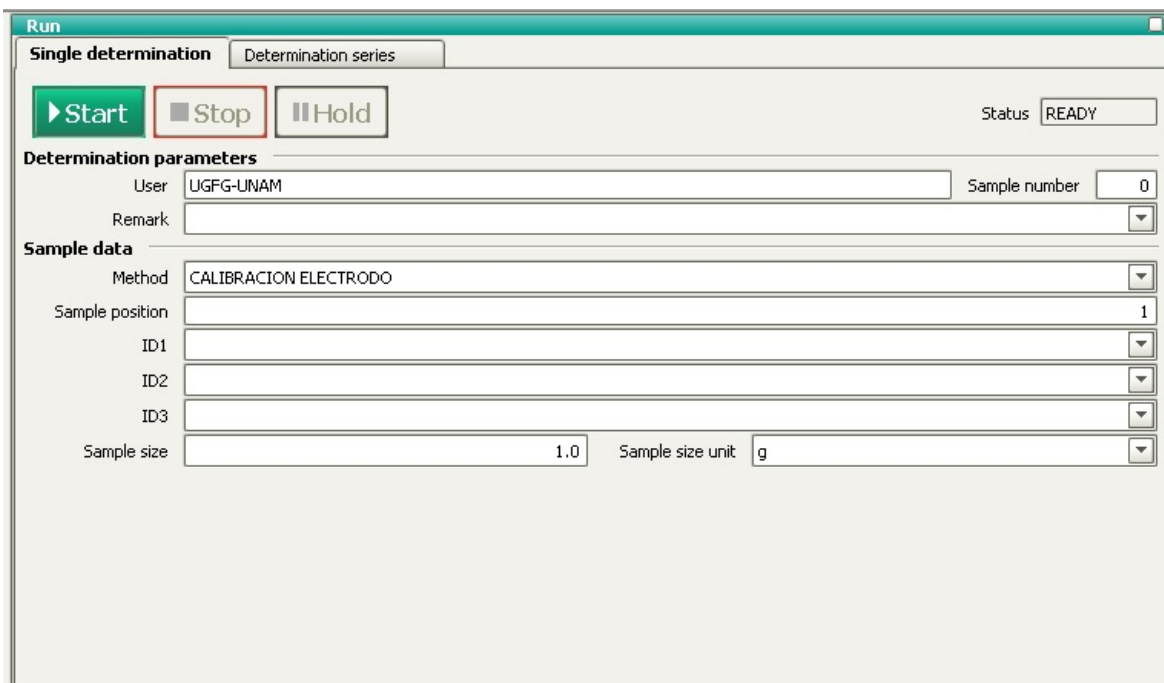


Figura 7.4-2 Ventana de Run para la calibración del electrodo (TIAMO).

7. Retirar el vaso de precipitados con etiqueta “pH 4”, limpiar con agua destilada el electrodo y el agitador, y secar cuidadosamente.
8. Verter de nuevo el vaso de precipitados con etiqueta “pH 4” a su envase original y cerrarlo perfectamente.
9. Repetir del punto 6 al punto 8 para cada vaso de precipitados.

Una vez terminado, el software nos otorgara la curva de calibración de electrodo y la pendiente de la misma, teniendo un coeficiente de correlación igual o mayor a 0.98.

Creación del método “Determinación de bicarbonatos” en el software TIAMO para el titulador automático.

En la sección de “Method” en el software Tiamo se crea un nuevo método en blanco, en la pestaña de “File” y en “new” aparecerá la siguiente ventana (Figura 7.4-3)

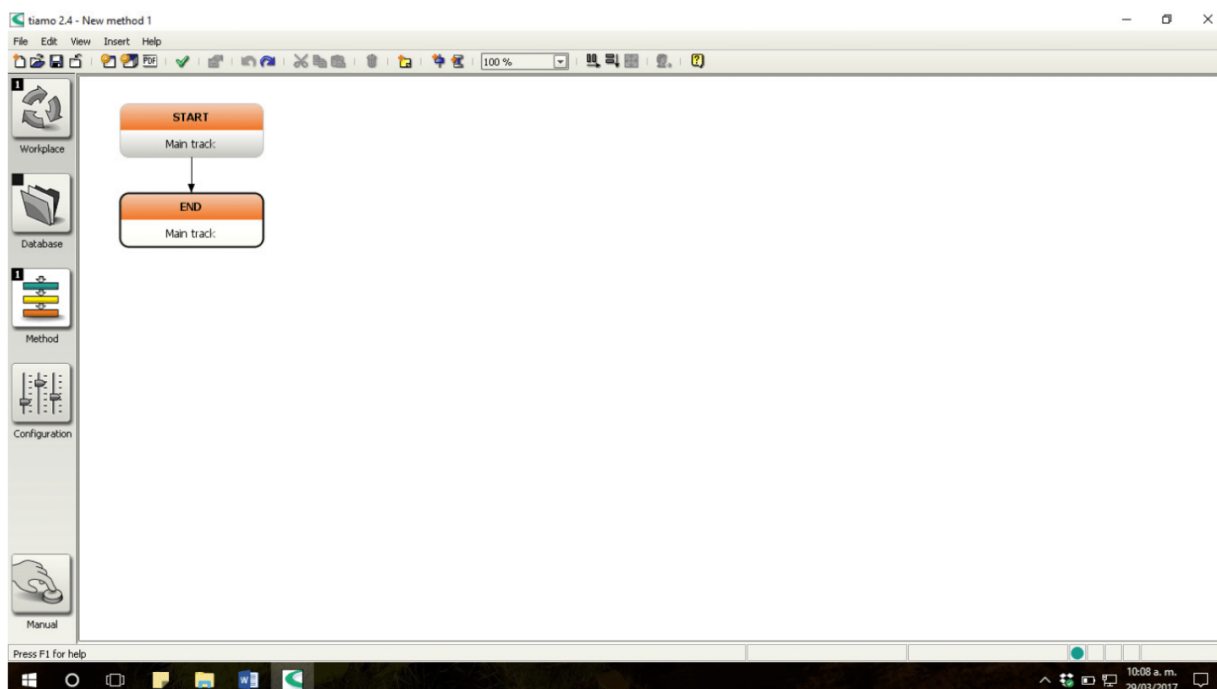


Figura 7.4-3 Página principal de “Method”.

De la carpeta Titration se agrega un nuevo comando, llamado “DET pH”. Seguido esto, se agrega un nuevo paso (new track), llamado “exit track”, en él se le agregará un nuevo comando, con el nombre “CALC” que se encuentra en la carpeta “results” quedando de la siguiente manera (Figura 7.4-4).

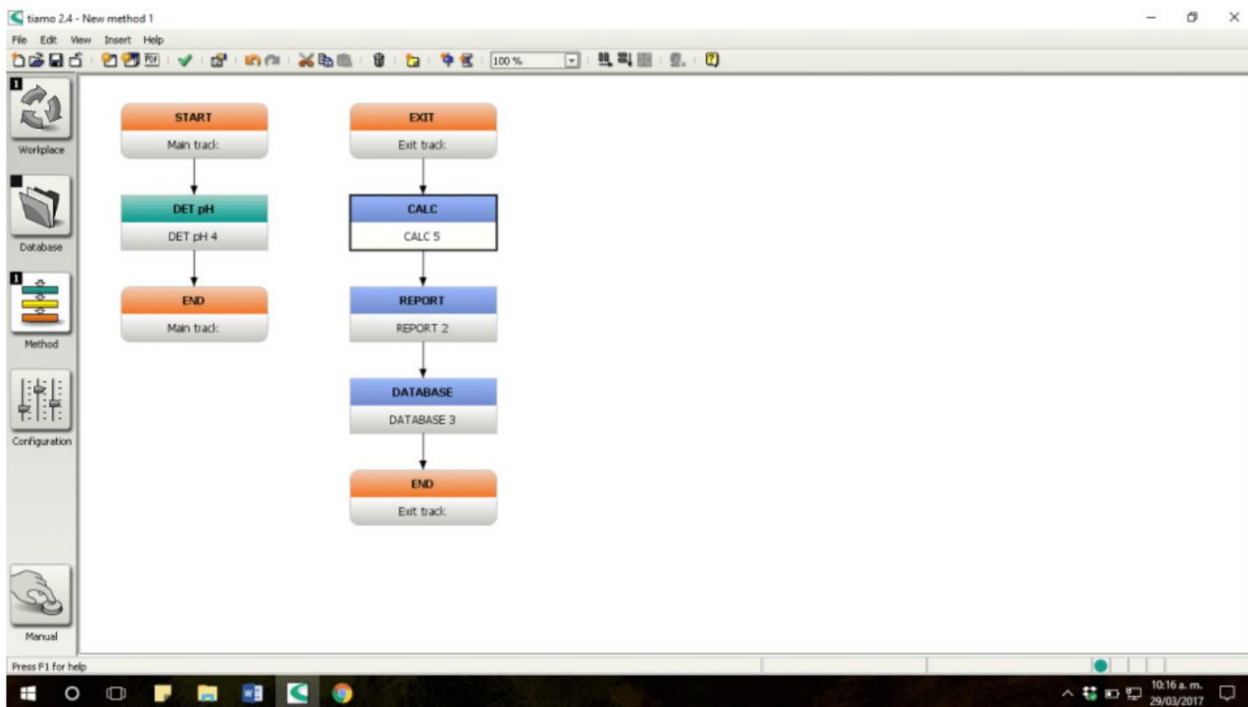


Figura 7.4-4 Forma final del método.

Para que el titulador haga los cálculos para la determinación de bicarbonatos se debe programar la sección “CALC”, haciendo clic en “CALC”; se abrirá una nueva pestaña en la cual se agrega la siguiente formula.

$$[HCO_3] = ('Det\ pH\ 1.GP.VOL' * [HCl] * 30500) / 'MV.Sample\ size'$$
 Ecuación 7.4-1

La fórmula anterior se escribe en el lenguaje del software donde:

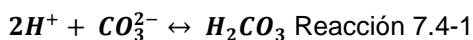
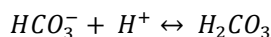
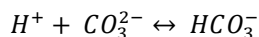
‘MV. Sample size’ = es el tamaño de la muestra en mL

30500 = es un factor que se obtiene de la relación estequiométrica de la reacción entre CO_3^{2-} y el H^+ , además de valores para la conversión de unidades.

‘DET pH.1GP.VOL’ = es el volumen gastado al punto de Gran en mL

[HCl] = es la concentración del HCl en mol/L

Esta fórmula nos da el resultado en mg/L y su deducción sale de la siguiente reacción y calculo.



$$[HCO_3^-] = x \text{ mL de } H^+ * \frac{x \text{ mol } H^+}{1000 \text{ mL}} * \frac{1 \text{ mol } H_2CO_3}{2 \text{ mol } H^+} * \frac{1 \text{ mol } HCO_3^-}{1 \text{ mol } H_2CO_3} * \frac{61 \text{ g } HCO_3^-}{1 \text{ mol } HCO_3^-} * \frac{1000 \text{ mg } HCO_3^-}{1 \text{ g } HCO_3^-} * \frac{1}{\text{mL de muestra inicial}} * \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \text{ Ecuación 7.4-2}$$

Simplificando, queda:

$$[HCO_3^-] = \frac{x \text{ mL de } H^+ * [H^+] \text{ en } \frac{\text{mol}}{\text{L}} * 30500}{x \text{ mL de muestra inicial}} \text{ Ecuación 7.4-3}$$

7.5 Metodología para la determinación de bicarbonatos utilizando el titulador automático

La metodología para la determinación de bicarbonatos con el titulador automático, se explica en los siguientes puntos.

1. Verificar el electrodo de pH de acuerdo al punto 7.4 “Calibración del electrodo”
2. En un vaso de precipitados de 250 mL vertir 50 mL de la muestra a determinar su concentración de bicarbonatos.
3. Colocar el vaso de precipitados en la base del titulador automático.
4. Se introduce la propela de agitación, el electrodo y el dosificador (con HCl 0.1 N), cuidando que la propela no choque contra el electrodo cuando este esté girando para evitar datos erróneos e incluso el deterioro del mismo (Figura 7.5-1).
5. En el software TIAMO, dar click en “method” en la pestaña de “Run” y seleccionar el método “Determinación de Bicarbonatos” (Figura 7.5-2).
6. Colocar el tamaño de la muestra en el espacio “Sample size” y cambiar las unidades a mL.
7. Dar click en “Start” y esperar a que el titulador termine de analizar la muestra.

8. El software automáticamente mostrará los resultados en la pantalla en la pestaña "Report".
9. Extraer la propela de agitación, el electrodo y el dosificador del vaso de precipitados y vertir la muestra analizada en un algún envase de residuos para su posterior neutralización para así desecharlo.
10. Limpiar la propela de agitación, el electrodo y el dosificador con agua destilada y secar cuidadosamente con una servilleta sanita.
11. Una vez terminado el análisis resguardar el electrodo en solución conservadora.

Para más de una prueba repetir del punto 1 al punto 9.



Figura 7.5-1 Imagen ilustrativa para colocar muestras a analizar en el titulador automático.

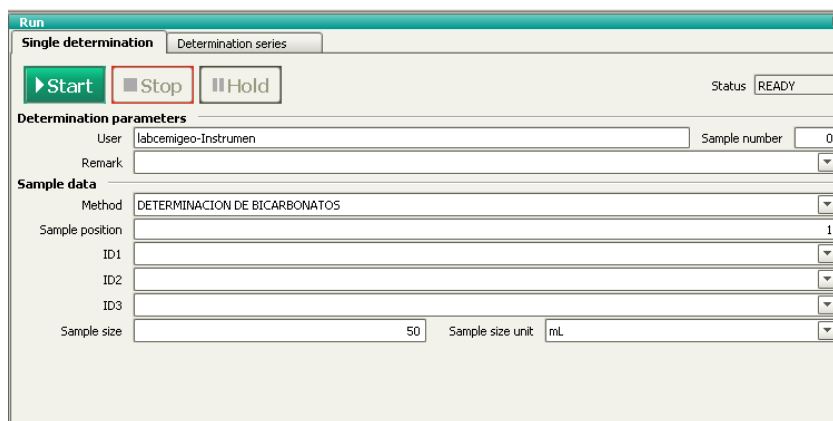


Figura 7.5-2 Pestaña “Run” del software Tiamo para la selección de método.

7.6 Metodología para la determinación de bicarbonatos utilizando el microtitulador

La metodología para la determinación de bicarbonatos con el microtitulador, se explica en los siguientes puntos.

1. Tomar y colocar las jeringas y la llave de tres pasos en la base de acrílico, de acuerdo a la Figura 7.6-1.
2. En un vaso de precipitados de 20 mL vertir 5 mL de la muestra a determinar su concentración de bicarbonatos.
3. Colocar el vaso de precipitados en la base del microtitulador (Figura 7.6-1)
4. Colocar fenolftaleína en la muestra y titular con HCl 0.1 N hasta el cambio de color (incoloro), tomar nota del volumen gastado de ácido.
5. Colocar verde de bromocresol en la muestra y titular hasta cambio de color (verde-amarillo), tomar nota del volumen gastado de ácido.
6. Una vez terminado el análisis, del vaso de precipitados vertir la muestra analizada en un algún envase de residuos para su posterior neutralización para así desecharlo.
7. Calcular la concentración de bicarbonatos de acuerdo a la ecuación 7.6-1.

Para más de una prueba repetir el punto 1 al 5.

$$[HCO_3^-] = \frac{x \text{ mL de } H^+ \text{ gastado} * [H^+] \text{ en } \frac{\text{mol}}{\text{L}} * 30500}{x \text{ mL de muestra inicial}} \text{ Ecuación 7.6-1}$$



Figura 7.6-1 Imagen ilustrativa para colocar muestras a analizar en el microtitulador.

7.7 Metodología para determinación de bicarbonatos in situ

Una vez localizado la fuente de agua natural se realiza lo siguiente:

1. Dependiendo de las condiciones de la fuente del agua, fría o termal, se utilizan diferentes formas de tomar muestras de agua natural. Normalmente para el agua fría se toma directamente de la descarga de agua (Figura 7.7-1).



Figura 7.7-1 Manifestación de agua fría El Borbollón, Estado de México.

Para aguas termales (Figura 7.7-2), se toman muestras con ayuda de un colector de mango largo para poder extraer una muestra de agua del centro (si es posible, o lo más lejos a la orilla)



Figura 7.7-2 Manifestación de agua termal Rancho Nuevo, Guanajuato.

2. Una vez colectada la muestra de agua natural se siguen los pasos del punto 7.6, del paso 1 al 5 por triplicado.

Para determinar si existe un cambio de concentración con respecto al tiempo (una vez tomada la muestra) se hicieron determinaciones a distintas horas, las cuales serán mencionadas más adelante.

7.8 Validación para métodos analíticos

Para la aplicación de la validación de los métodos analíticos propuestos (microtitulación y titulación automática), se deben seleccionar los parámetros de desempeño apropiados de acuerdo con la clasificación del método analítico (en este caso, físico-químico); tomando como guía el documento “Criterios para la validación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos” (COFEPRIS, 2017) la selección de estos parámetros de desempeños se representa en la siguiente tabla.

Tabla 7.8-1 Parámetros de desempeño.

Parámetro de desempeño	Tipo de prueba
Intervalo lineal	Volumétrica Categoría II Trazas
Intervalo de trabajo	
Límite de cuantificación	
Recuperación	
Repetibilidad	
Precisión intermedia	
Incertidumbre	

De acuerdo con la norma NMX-AA-036-SCFI-2001, la determinación analítica de bicarbonatos es un método normalizado, por lo que la selección de esta matriz de parámetros de desempeño es la adecuada al estarse modificando dicho método.

Se siguió la siguiente secuencia para la validación del método (líneas en rojo).

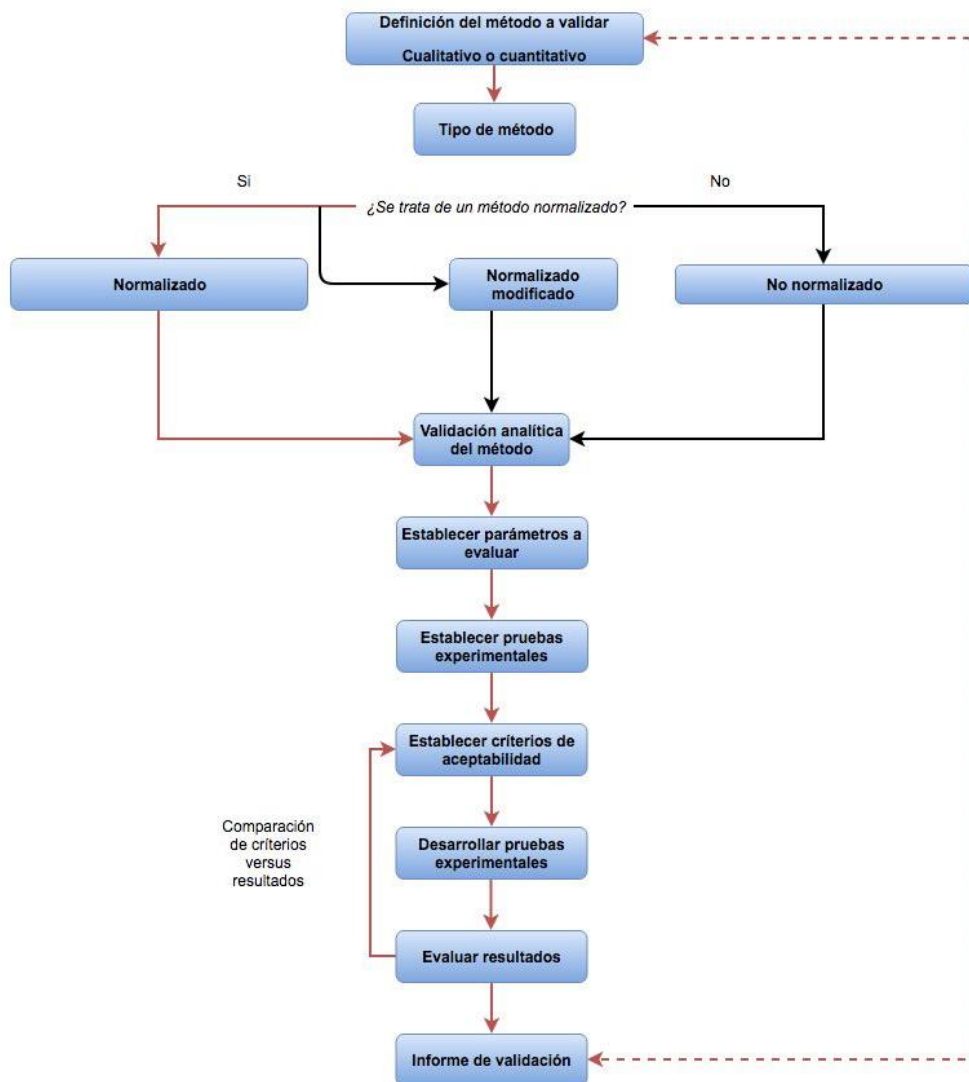


Figura 7.8-1 Secuencia de pasos a seguir para una validación de métodos analíticos.

7.9 Metodología para la validación de métodos analíticos

7.9.1 Preparación de muestras adicionadas

Se prepararon muestras adicionadas a partir del estándar de referencia de bicarbonato de sodio (Na_2CO_3) certificado como patrón primario por Merck KGaA con una pureza $99.96\% \pm 0.05\%$.

Se preparó una solución madre de 3000 mg/L de HCO_3^- pesando y disolviendo 2.5 g de Na_2CO_3 en un matraz aforado de 500 mL. Se seleccionaron 7 niveles de concentración de acuerdo a la guía de COFEPRIS (3.75, 7.5, 15, 30, 60, 90 y 120%) para la evaluación de los parámetros de desempeño.

Para la preparación de las disoluciones se utilizó agua ultra pura tipo I (INIMET, 2010) proporcionada por el sistema de ultra purificación de agua Milli-Q de la marca Millipore Sigma.

7.9.2 Evaluación de los parámetros de desempeño

Se evaluaron los siguientes parámetros de desempeño tanto para el método de microtitulación como para el del titulador automático:

Intervalo lineal

Se prepararon por triplicado y de forma independiente, muestras adicionadas de los siguientes 7 niveles de concentración del analito HCO_3^- (Tabla 7.9.2-1).

Tabla 7.9.2-1 Niveles de concentración del analito.

Niveles de concentración %	3.75	7.5	15	30	60	90	120
Concentración del analito	15	30	59	118	237	355	473

Se analizaron bajo el método implementado tanto para microtitulación, como para titulación automática, bajo las mismas condiciones de presión y temperatura.

Una vez determinado la respuesta analítica (volumen gastado de HCl). Se hicieron las siguientes actividades (Tabla 7.9.2-2).

Tabla 7.9.2-2 Actividades realizadas para el intervalo linealidad.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se graficaron los valores de respuesta obtenida en función de cada uno de los valores de concentración añadida	No aplica
Se calculó la pendiente (m), la ordenada al origen (b). Con estos se determinó el valor de la respuesta analítica ajustada (y') para así determinar los valores residuales y su respectivo gráfico.	<p>Pendiente</p> $m = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i + \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}$

Intervalo de trabajo

Con los datos obtenidos de la prueba de linealidad y a partir de la respuesta analítica obtenida, se hizo lo siguiente (Tabla 7.9.2-3).

Tabla 7.9.2-3 Actividades realizadas para el intervalo de trabajo.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se calculó la cantidad del analito para cada uno de los niveles de concentración	<p>Concentración de analito (respetando la estequiometria de la reacción entre HCl y Na₂CO₃)</p> $[HCO_3^-] = \frac{Vol. gastado de HCl (mL) * [HCl] * 30500}{Vol. alicuota (mL)}$
Se calculó el % de recobro	$\% de recobro = \frac{C_f}{C_a} * 100$ <p>C_f = concentración recuperada en la muestra adicionada. C_a = Concentración adicionada a la muestra de prueba</p>
Se calculó la desviación estándar, la desviación estándar relativa y el valor de HorRat	<p>Desviación estándar</p> $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$ <p>Desviación estándar relativa</p> $\%RSD = \frac{s}{\bar{x}} * 100$ <p>Desviación estándar (modelo de precisión de Horwitz)</p> $\sigma_{Horwitz} = PRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$ <p>C= concentración del analito expresado en valores adimensionales de masa.</p> <p>Relación de HorRat</p>

	$\text{HorRat} = \frac{\text{RSD}_R}{\text{PRSD}_R}$ <p>RSD_R = desviación estándar relativa</p>
Se graficaron los datos de concentración recuperada en función de la concentración adicionada y se calculó el coeficiente de correlación y el intervalo de confianza de la pendiente	<p>Coeficiente de correlación</p> $r = \frac{[n(\sum_{i=1}^n x_i y_i) - (\sum_{i=1}^n x_i)(\sum_{i=1}^n y_i)]}{\sqrt{[n(\sum_{i=1}^n x_i^2) - (\sum_{i=1}^n x_i)^2][n(\sum_{i=1}^n y_i^2) - (\sum_{i=1}^n y_i)^2]}}$ <p>Desviación estándar de la regresión lineal</p> $S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n y_i^2 - m \sum_{i=1}^n x_i y_i - b_0 \sum_{i=1}^n y_i}{n - 2}}$ <p>Desviación estándar de la pendiente</p> $S_m = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}}}$ <p>Intervalo de confianza de la pendiente</p> $IC(m) = m \pm t_{(0.025, n-2)} * S_m$

Límite de cuantificación

Se consideró como límite de cuantificación práctico (LCP) el nivel inferior del intervalo de trabajo calculado en mg/L.

Recuperación

Con los datos de recuperación obtenidos en la determinación del intervalo de trabajo, se realizó lo siguiente (Tabla 7.9.2-4).

Tabla 7.9.2-4 Actividades realizadas para la recuperación.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se determinó el intervalo de confianza del porcentaje de recuperación	<p>Intervalo de confianza</p> $IC = \text{promedio} \pm t_{(0.025, n-1)} * \frac{s}{\sqrt{n}}$

Sesgo

Con los datos obtenidos en las pruebas anteriores, se realizó lo siguiente (Tabla 7.9.2-5).

Tabla 7.9.2-5 Actividades realizadas para el sesgo.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se realizó una prueba t-Student para comparación muestral versus un valor de referencia (concentración a la que fue preparada la muestra).	Desviación estándar $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$ Grados de libertad GL= n-1 Media $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$ t calculado $t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{\left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)}$ μ = valor de referencia t crítica y α Tabla 12.A-1, anexo A

Repetibilidad y precisión intermedia

Se preparó por triplicado muestras adicionales a las concentraciones equivalentes a los niveles inferior, medio y superior calculados en la prueba de intervalo de trabajo y se realizó lo siguiente (Tabla 7.9.2-6).

Tabla 7.9.2-6 Actividades realizadas para repetibilidad y precisión intermedia.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se analizó por otro analista diferente y se obtuvo el porcentaje de recobro de los resultados y utilizar los resultados obtenidos en la prueba de intervalo de trabajo para los niveles inferior, medio y superior, como los datos para el analista 1.	Porcentaje de recobro $\% \text{ de recobro} = \frac{C_f}{C_a} * 100$
Se verificó la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba F de Fisher.	Media $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$ Varianza $S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}$

	<p>Grados de libertad</p> <p>GL= n-1</p> <p>Fisher calculado</p> $F = \frac{\text{Varianza mayor}}{\text{Varianza menor}} = \frac{\text{Varianza 1}}{\text{Varianza 2}}$ <p>Fisher critico</p> <p>Tabla 12.A-2, anexo A</p>
<p>Se efectuó el análisis de ANOVA de un factor y se verificó la significancia estadística</p>	<p>Observaciones totales = N</p> <p>Sumatoria de las observaciones de experiencia</p> $\sum_{i=1}^n x_i \text{ y } \sum_{i=1}^n x_i^2$ <p>Suma total de los cuadrados</p> $SC_T = \sum \sum x_i^2 - \frac{(\sum \sum x)^2}{N}$ <p>Grados de libertad totales</p> <p>GL_{total}=N-1</p> <p>Suma de cuadrados entre grupos</p> $SC_B = \frac{(\sum x_A)^2}{n_A} + \frac{(\sum x_B)^2}{n_B} - \frac{(\sum \sum x)^2}{N}$ <p>Grados de libertad dentro del grupo</p> <p>GL_{A,B} = GL_{total} – GL_{A,B}</p> <p>Suma de cuadrados residuales o dentro del grupo</p> $SC_w = SC_T - SC_B$ <p>Fisher calculado</p> $F_{calc.} = \frac{(SC_B/GL_B)}{(SC_w/GL_w)}$ <p>Fisher critico</p> <p>Tabla 12.A-2, anexo A</p>
<p>Se calculó la media de todos los datos, las desviaciones estándar relativas de la relativa (RSD_R) y precisión intermedia (RSD_{pi}) para el método y los valores de HorRat para métodos fisicoquímicos.</p>	<p>Desviación estándar de la repetibilidad</p> $S_r = \sqrt{SC_w}$ <p>Desviación estándar relativa de la repetibilidad</p> $RSD_R = \frac{S_r}{\bar{x}} * 100$ <p>Desviación estándar de la precisión intermedia</p> $S_I = \sqrt{\frac{SC_B - SC_w}{n}}$ $S_{PI} = \sqrt{S_I^2 + S_r^2}$

	<p>Desviación estándar relativa de la precisión intermedia</p> $RSD_{PI} = \frac{S_{PI}}{\bar{x}} * 100$ <p>Desviación estándar (modelo de precisión de Horwitz)</p> $\sigma_{Horwitz} = PRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$ <p>C= concentración del analito expresado en valores adimensionales de masa.</p> <p>Relación de HorRat</p> $HorRat = \frac{RSD_R}{PRSD_R}$
--	--

Incertidumbre

Empleando un diagrama de Ishikawa se realizó lo siguiente:

Tabla 7.9.2-7 Actividades realizadas incertidumbre.

Actividad realizada	Formula (si aplica)
Se reportó la incertidumbre relativa y valores del mensurando	
Se calculó la incertidumbre relativa, incertidumbre del tipo A, incertidumbre del tipo B, incertidumbre combinada estándar y la incertidumbre expandida.	<p>Incertidumbre relativa (u_y/y)</p> <p>Incertidumbre tipo A</p> $U_A = \frac{S}{\sqrt{n}}$ <p>Incertidumbre tipo B</p> $U_y = Y \sqrt{\sum_{i=N}^N u_{X_N}}$ <p>Incertidumbre combinada estándar</p> $U_c = \sqrt{(U_A)^2 + (U_B)^2}$ <p>Incertidumbre expandida</p> <p>Resultado obtenido $\pm k (U_c)$</p>

7.10 Relación concentración vs tiempo

Para llevar a cabo esta determinación, se tomó una muestra de dos manifestaciones de agua natural, en el Borbollón, Estado de México (Tabla 7.10-1) y en Rancho nuevo, Guanajuato (Tabla 7.10-2). A las cuales se les determinó la concentración de bicarbonatos con el microtitulador, de acuerdo la siguiente tabla:

Tabla 7.10-1 Orden en las que fueron tomadas y analizadas las muestras para la saber si existe alguna relación concentración vs tiempo.

Fecha	27 febrero 2017		28 febrero 2017	01 marzo 2017	02 marzo 2017
Hora de análisis (24 horas)	16:06	18:25	15:15	16:30	08:03
Temperatura (°C)	Temperatura ambiente (20 °C)				
Tiempo transcurrido (horas)	0	2.3	21.2	44.42	61

Tabla 7.10-2 Orden en las que fueron tomadas y analizadas las muestras para la saber si existe alguna relación concentración vs tiempo.

Fecha	01 marzo 2017			02 marzo 2017	03 marzo 2017
Hora de análisis (24 horas)	15:50	17:00	19:36	11:50	14:06
Temperatura (°C)	80	65	49	24	26
Tiempo transcurrido (horas)	0	2.83	5.43	22	49.77

8. RESULTADOS

8.1. Normalización del HCl

Se preparó una solución de HCl 0.1 N y se valoró por triplicado con un patrón primario de Na₂CO₃ y se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 8.1-1 Resultados de normalización del HCl.

Repeticiones	Gramos de Na ₂ CO ₃	Volumen gastado de HCl	[HCl] mol/L
1	0.155	27.8	0.105
2	0.154	27.45	0.106
3	0.151	26.75	0.106
Promedio	0.153	27.33	0.106
IC (t_{0.025, n-1})	0.153 ± 0.005	27.33 ± 1.327	0.106 ± 0.001

Fórmula utilizada para obtener la concentración de ácido clorhídrico

$$[HCl] = \frac{2 * m_{Na_2CO_3}}{MM * V_g} \text{ Ecuación 8.1-1}$$

8.2. Preparación de la solución madre de Na₂CO₃

Se preparó una solución 3000 mg/L de HCO₃⁻ en un matraz volumétrico de 500 mL, de acuerdo a la estequiometria de la reacción de equilibrio entre el Na₂CO₃ y el HCO₃⁻.

$$3000 \frac{mg \text{ HCO}_3^-}{L} * \frac{1 \text{ mmol HCO}_3^-}{61 \text{ mg HCO}_3^-} * \frac{1 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3}{1 \text{ mmol HCO}_3^-} * \frac{106 \text{ mg Na}_2\text{CO}_3}{1 \text{ mmol Na}_2\text{CO}_3} * \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} * 0.5 \text{ L} = 2.6 \text{ g} \text{ Ecuación 8.2-1}$$

Tabla 8.2-1 Resultados de la preparación de la solución madre.

Peso registrado en la balanza (g)	Concentración de HCO ₃ ⁻ (mg/L)
2.57	2958

8.3. Preparación de los niveles de concentración

Se preparó de forma independiente 7 niveles de concentración por triplicado con una micropipeta y en matraces de 50 mL para llevar acabo la dilución, de acuerdo a la ecuación C₁V₁=C₂V₂.

Siendo:

C₁ = concentración de la solución madre.

V₁ = volumen a tomar con la micropipeta.

C₂ = concentración a preparar.

V_2 = volumen a aforar.

Tabla 8.3-1 Volumen tomado para la preparación de los niveles de concentración.

% nivel de concentración	4%	8%	15%	30%	60%	90%	120%
Nivel de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
V_1 (mL)	0.3	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0

Se utilizaron alícuotas de 50 y 5 mL para el titulador automático y microtitulación respectivamente.

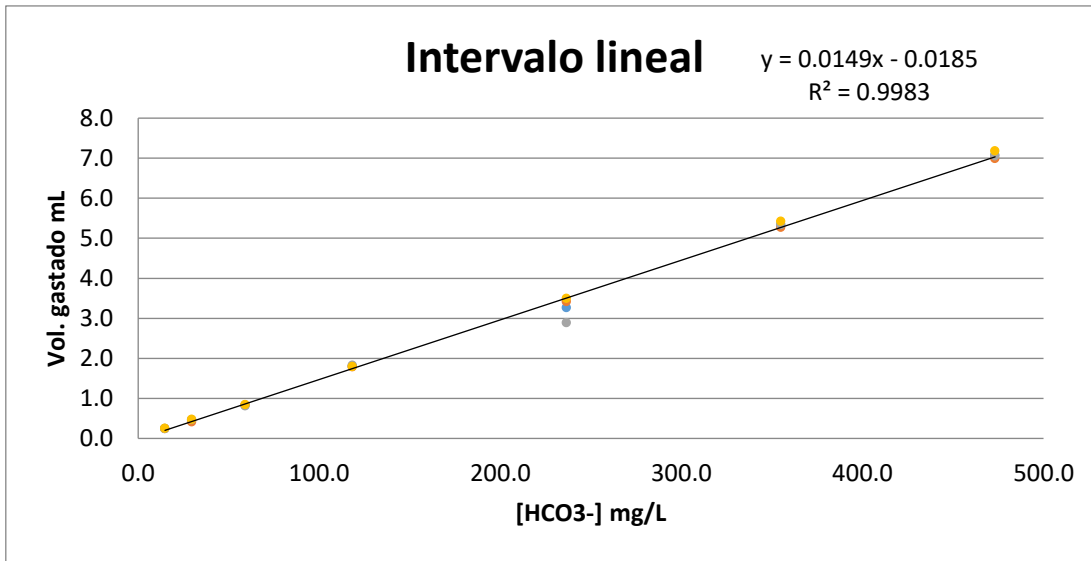
8.4. Resultados titulador automático

8.4.1. Intervalo lineal

Se obtuvieron los siguientes resultados del titulador para cada uno de los niveles de concentración.

Tabla 8.4.1-1 volumen gastado (mL) para cada nivel de concentración.

volumen gastado (mL)							
Niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	0.2	0.4	0.8	1.8	3.4	5.3	7.0
2	0.2	0.5	0.8	1.8	2.9	5.3	7.1
3	0.3	0.5	0.9	1.8	3.5	5.4	7.2
Promedio (\bar{x})	0.2	0.5	0.8	1.8	3.3	5.3	7.1

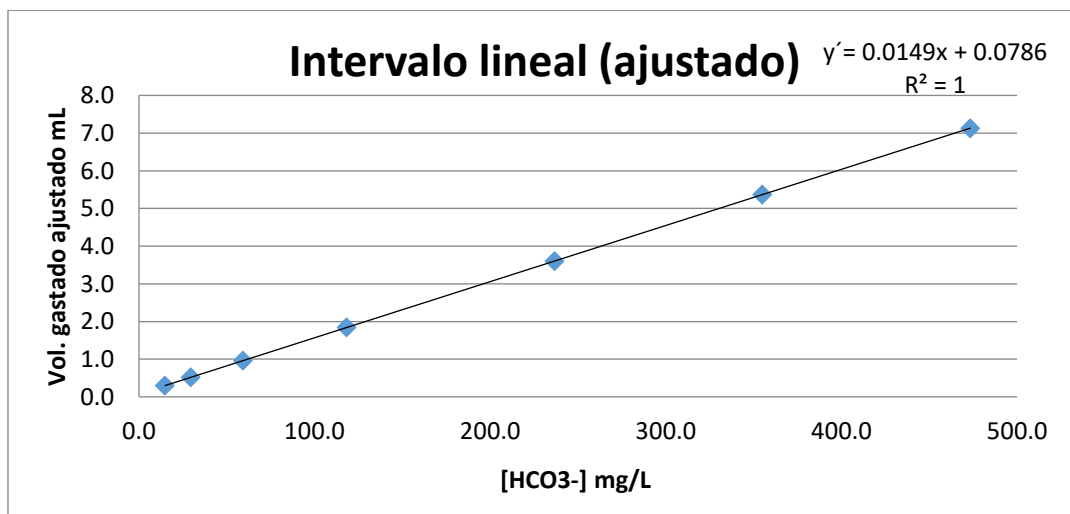


Gráfica 8.4.1-1 Vol. Gastado (mL) vs niveles de concentración de HCO₃⁻

De este gráfico se sabe que el valor de la pendiente (m) es igual 0.0149 y la ordenada al origen (b₀) igual a -0.0185. De estos valores de m y b₀ se ajusta la regresión lineal.

Tabla 8.4.1-2 Volumen gastado (mL) para cada nivel de concentración ajustado.

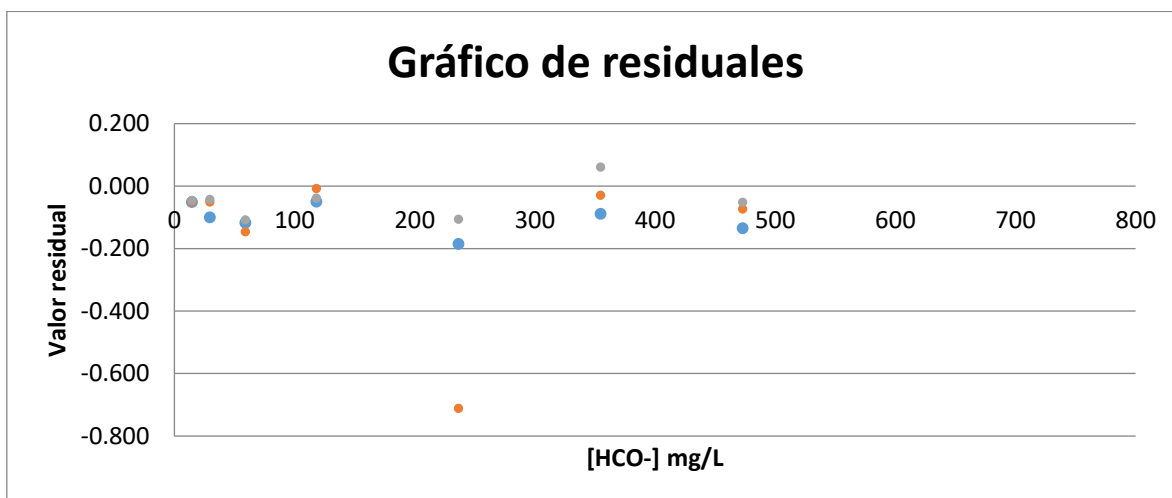
niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
Vol. Gastado (mL)	0.3	0.5	1.0	1.8	3.6	5.4	7.1



Gráfica 8.4.1-2 Vol. Gastado (mL) vs niveles de concentración de HCO₃⁻ (ajustado).

Tabla 8.4.1-3 Valores residuales.

[HCO ₃ ⁻] mg/L	Volumen gastado (mL)				Valores residuales		
x	y ₁	y ₂	y ₃	y'	y ₁ -y'	y ₂ -y'	y ₃ -y'
15	0.247	0.247	0.252	0.299	-0.052	-0.052	-0.047
30	0.419	0.468	0.476	0.519	-0.101	-0.051	-0.043
59	0.842	0.813	0.851	0.960	-0.118	-0.147	-0.109
118	1.791	1.833	1.802	1.842	-0.051	-0.009	-0.040
237	3.419	2.892	3.497	3.604	-0.186	-0.712	-0.107
355	5.278	5.338	5.427	5.367	-0.089	-0.030	0.060
473	6.995	7.056	7.078	7.130	-0.136	-0.074	-0.053



Gráfica 8.4.1-3 Gráfico de residuales.

8.4.2. Intervalo de trabajo

Con los datos que se obtuvieron en el intervalo de trabajo se calculó el % de recobro.

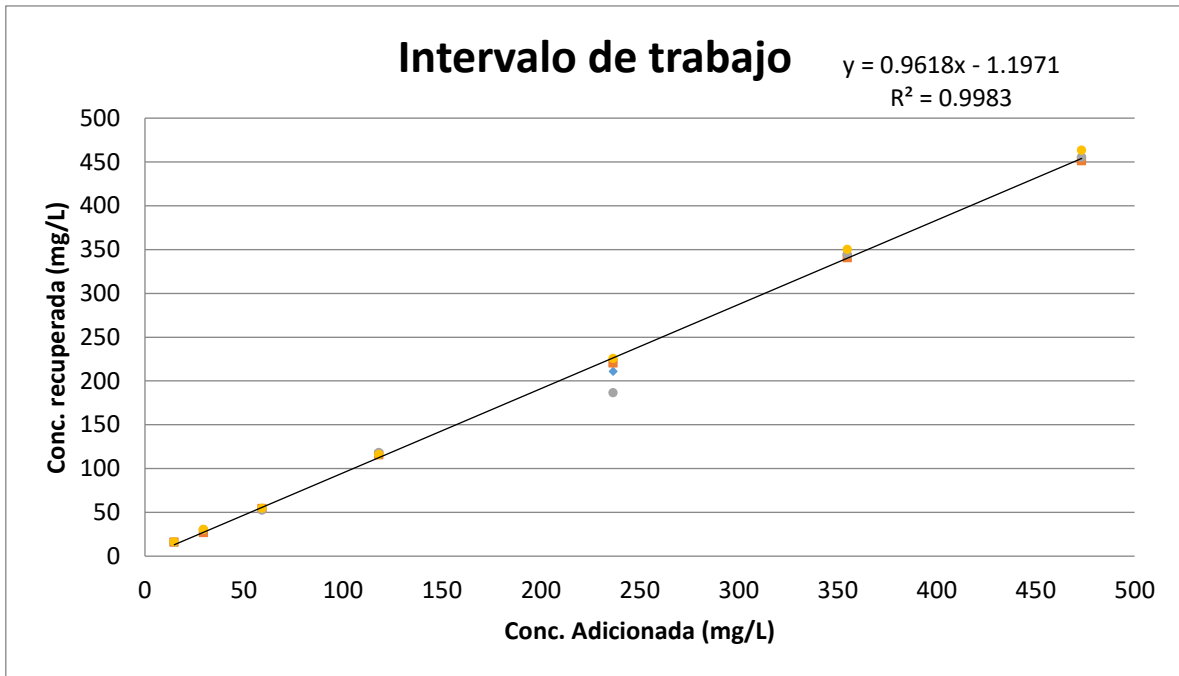
Tabla 8.4.2-1 Porcentaje de recobro para cada uno de los niveles de concentración.

% de recobro							
niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	108%	91%	92%	98%	93%	96%	95%
2	108%	102%	89%	100%	79%	97%	96%
3	110%	104%	93%	98%	95%	99%	98%
Promedio (\bar{x})	109%	99%	91%	99%	89%	97%	97%

Con los mismos datos que se obtuvo lo siguiente:

Tabla 8.4.2-2 Resultados del intervalo de trabajo.

niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	15.94	27.03	54.33	115.61	220.68	340.71	451.54
2	15.97	30.22	52.51	118.32	186.72	344.57	455.48
3	16.27	30.73	54.92	116.31	225.75	350.33	463.66
Promedio (\bar{x})	16.06	29.33	53.92	116.74	211.05	345.20	456.89
Desv. Stand	0.18	2.01	1.26	1.40	21.22	4.84	6.18
Desv. Stand. Rel.	1.12	6.84	2.33	1.20	10.06	1.40	1.35
$PRSD_R$	10.67	9.61	8.66	7.80	7.03	6.61	6.33
HorRat	0.10	0.71	0.27	0.15	1.43	0.21	0.21
Pendiente	0.96						
Ordenada al origen	-1.20						
Desviación estándar de la regresión lineal	7.78						
Desviación estándar de la pendiente	0.02						
$t_{0.025,1}$	12.71						
Intervalo de confianza de la pendiente	0.96 ± 0.23						



Gráfica 8.4.2-1 Gráfico del intervalo de trabajo.

8.4.3. Límite de cuantificación práctico

De acuerdo al punto anterior, todo el rango en el que se trabajó es lineal por lo que el límite de cuantificación práctico es el valor mínimo que se midió (15 mg/L).

8.4.4. Recuperación y sesgo

De los valores del intervalo de trabajo se realizó lo siguiente para la recuperación.

Tabla 8.4.4-1 Resultados de recuperación.

% de recobro								
niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473	
1	108%	91%	92%	98%	93%	96%	95%	
2	108%	102%	89%	100%	79%	97%	96%	
3	110%	104%	93%	98%	95%	99%	98%	

Promedio (\bar{x})	109%	99%	91%	99%	89%	97%	97%
Desv. Stand	0.01	0.07	0.02	0.01	0.09	0.01	0.01
$t_{0.025,2}$	4.30						
Intervalo de confianza del % de recobro	109 ± 3.01	99 ± 16.84	91 ± 5.27	99 ± 2.95	89 ± 22.27	97 ± 3.39	97 ± 3.24

Para el sesgo se utilizó la prueba de t de Student con confiabilidad del 95% y α igual a 0.025 (a dos colas), se obtuvo lo siguiente.

Tabla 8.4.4-2 Resultados del sesgo.

niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	15.94	27.03	54.33	115.61	220.68	340.71	451.54
2	15.97	30.22	52.51	118.32	186.72	344.57	455.48
3	16.27	30.73	54.92	116.31	225.75	350.33	463.66
Promedio (\bar{x})	16.06	29.33	53.92	116.74	211.05	345.20	456.89
Desv. Stand	0.18	2.01	1.26	1.40	21.22	4.84	6.18
Numero de lecturas	3						
Grados de libertad	2						
t calculada	12.28	0.22	7.23	1.94	2.09	3.49	4.59
t critica	4.30						

8.4.5. Repetibilidad y precisión intermedia

Se preparó por triplicado muestras adicionadas a las concentraciones equivalentes a los niveles inferior (15 mg/L) medio (118 mg/L) y superior (473 mg/L) se obtuvo lo siguiente.

% de recobro

Tabla 8.4.5-1 Resultados del % de recobro del analista 1 y del analista 2.

% de recobro del analista 1			
niveles de concentración (mg/L)	15	118	473
1	108%	98%	95%
2	108%	100%	96%
3	110%	98%	98%
Promedio (\bar{x})	109%	99%	97%

% de recobro del analista 2			
niveles de concentración (mg/L)	15	118	473
1	97%	95%	91%
2	92%	95%	99%
3	98%	91%	98%
Promedio (\bar{x})	95%	94%	96%

Prueba de Fisher

Tabla 8.4.5-2 Resultados de la prueba de Fisher.

Nivel	Analista	
	1	2
Inferior	15.94	14.28
	15.97	13.56
	16.27	14.43
Medio	115.61	112.51
	118.32	112.82
	116.31	107.96
Superior	451.54	430.29
	455.48	470.85
	463.66	464.66

Prueba de Fisher						
Resumen	Cuenta	GL (n-1)	Promedio	Varianza	F calculada	F crítica
Analista 1	9	8	196.57	40031.76	1.01	4.43
Analista 2			193.48	40434.26		

ANOVA (Análisis de varianza de un factor)

Tabla 8.4.5-3 Resultados de la ANOVA.

Nivel	Analista	
	1	2
Inferior	15.94	14.28
	15.97	13.56
	16.27	14.43
Medio	115.61	112.51
	118.32	112.82
	116.31	107.96
Superior	451.54	430.29
	455.48	470.85
	463.66	464.66

Análisis de varianza de un factor				
Resumen	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista 1	9	1769.10	196.57	40031.76
Analista 2	9	1741.36	193.48	40434.26

Análisis de varianza							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad		Promedio de los cuadrados	F calculada	Probabilidad	F crítica
Analistas	42.74	1	$SC_B =$	42.74	0.0011	0.97	4.43
Niveles	643728.19	16	$SC_W =$	40233.01			
Total	643770.93	17					

Desviación estándar de la repetibilidad	802.33
Desviación estándar relativa de la repetibilidad	1.99
Desviación estándar de la precisión intermedia	
S_i	66.83
S_{PI}	805.10
Desviación estándar relativa de la precisión intermedia	2.0

8.4.6. Incertidumbre

De acuerdo al siguiente diagrama de Ishikawa se realizó el cálculo de incertidumbre.

Incertidumbre de la normalización de HCl

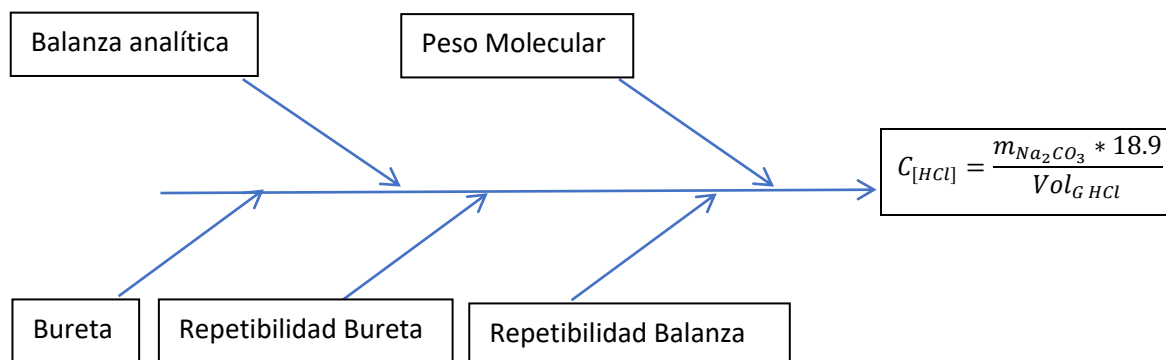


Figura 8.4.6-1 Diagrama de Ishikawa "incertidumbre de la concentración de HCl".

Tabla 8.4.6-1 Tabla de Tolerancias e incertidumbres (concentración de HCl).

Instrumento	Tolerancia	Incertidumbre tipo A
Balanza analítica (g)	0.0001	0.00014
Bureta 10 mL	0.02	0.028
Peso molecular		Consultar tabla 8.4.6.2
Repetibilidad (bureta)		0.20
Repetibilidad (balanza)		0.014
Incertidumbre Estándar Combinada		0.021
Incertidumbre expandida (concentración de HCl)		0.106 ± 0.043

Tabla 8.4.6-2 Tabla de tolerancias e incertidumbres (Peso molecular). Fuente: L&S CONSULTORES CA, 2002.

Especie química	Peso molecular (g/mol)	Tolerancia	Incertidumbre tipo A
Na	22.98	0.000002	2.30x10 ⁻⁰⁶
C	12.0107	0.0008	0.00046
O	15.9993	0.0003	0.00052
Na ₂ CO ₃	105.9686		0.00070

Incertidumbre de la preparación de la solución de HCO₃⁻

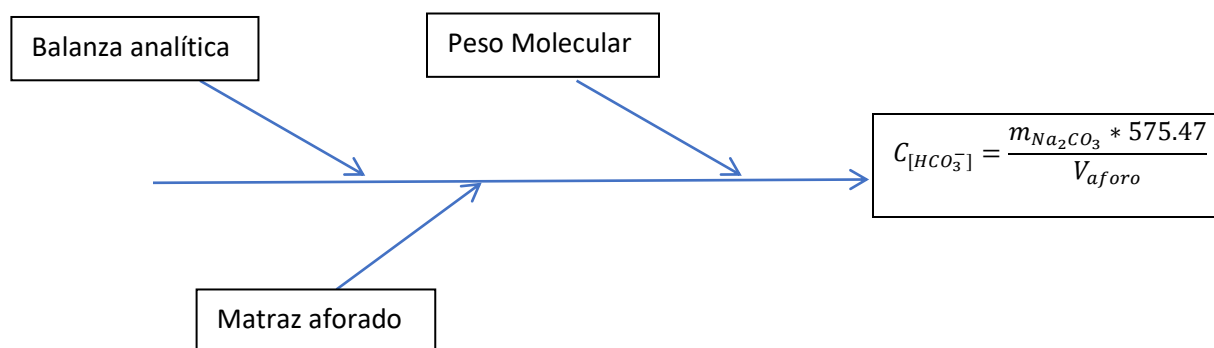


Figura 8.4.6-2 Diagrama de Ishikawa “incertidumbre de la concentración de HCO₃⁻”.

Tabla 8.4.6-3 Tabla de Tolerancias e incertidumbres (concentración de HCO₃⁻).

Instrumento	Tolerancia	Incertidumbre tipo A
Balanza analítica (g)	0.0001	0.00014
Matraz aforado 500 mL	0.15	0.21
Peso molecular		Consultar tabla 8.4.6.4

Incertidumbre Estándar Combinada	0.00043
Incertidumbre expandida (concentración de HCl)	2957.92 ± 0.00086

Tabla 8.4.6-4 Tabla de tolerancias e incertidumbres (Peso molecular). Fuente: L&S CONSULTORES CA, 2002.

Especie química	Peso molecular (g/mol)	Tolerancia	Incertidumbre
H	1.00794	0.00007	4.04x10 ⁻⁰⁵
C	12.0107	0.0008	0.00046
O	15.9993	0.0003	0.00052
HCO ₃ ⁻	61.01654		0.00070

Incertidumbre del método (Determinación de HCO₃⁻)

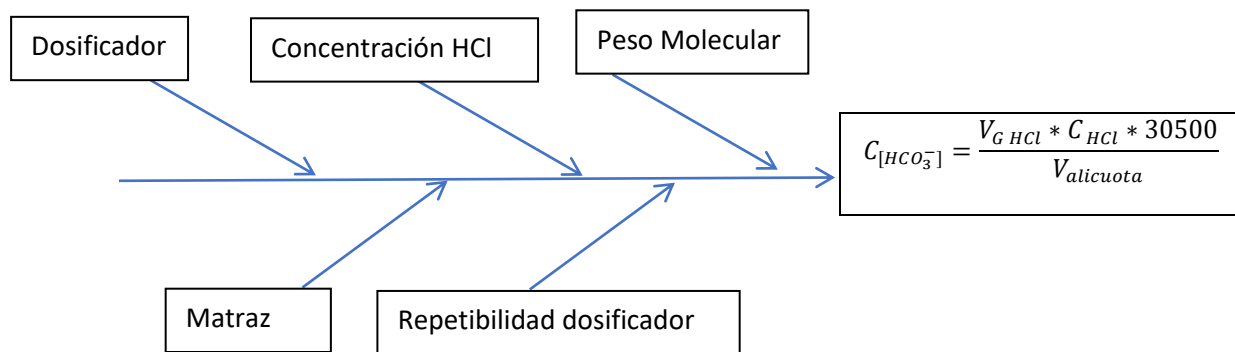


Figura 8.4.6-3 Diagrama de Ishikawa “incertidumbre del método para el titulador automático”.

Tabla 8.4.6-5 Tabla de Tolerancias e incertidumbres (concentración de HCO₃⁻).

Instrumento	Tolerancia		Incertidumbre tipo A				
Dosificador (mL)	0.0004		0.00057				
Concentración HCl (mol/L)			0.021				
Peso molecular	Consultar tabla 8.4.6.4		0.00070				
Matraz 50 mL	0.05		0.071				
Concentración de HCO₃⁻	15	30	59	118	237	355	473
	Incertidumbre tipo A						
Repetibilidad (dosificador)	0.002	0.018	0.011	0.013	0.19	0.043	0.055

Concentración de HCO₃⁻	15	30	59	118	237	355	473
Incertidumbre Estándar Combinada	0.20	0.20	0.20	0.20	0.28	0.21	0.21
Incertidumbre expandida (concentración de HCO₃⁻)	15 ± 0.40	30 ± 0.41	59 ± 0.41	118 ± 0.41	237 ± 0.55	355 ± 0.41	473 ± 0.42

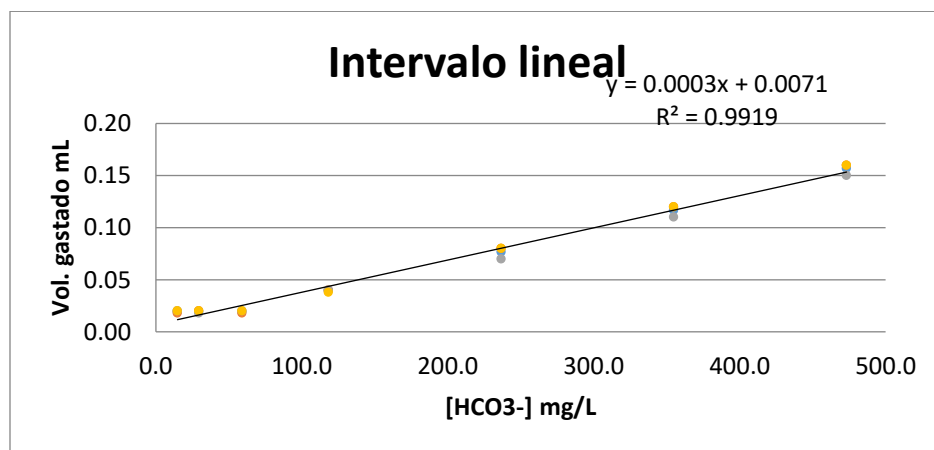
8.5. Resultados microtitulación

8.5.1. Intervalo lineal

Se obtuvieron los siguientes resultados del titulador para cada uno de los niveles de concentración.

Tabla 8.5.1-1 volumen gastado (mL) para cada nivel de concentración.

volumen gastado (mL)								
Niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473	
1	0.018	0.02	0.018	0.04	0.08	0.12	0.16	
2	0.02	0.018	0.02	0.04	0.07	0.11	0.15	
3	0.02	0.02	0.02	0.038	0.08	0.12	0.16	
Promedio (\bar{x})	0.02	0.02	0.02	0.04	0.08	0.12	0.16	

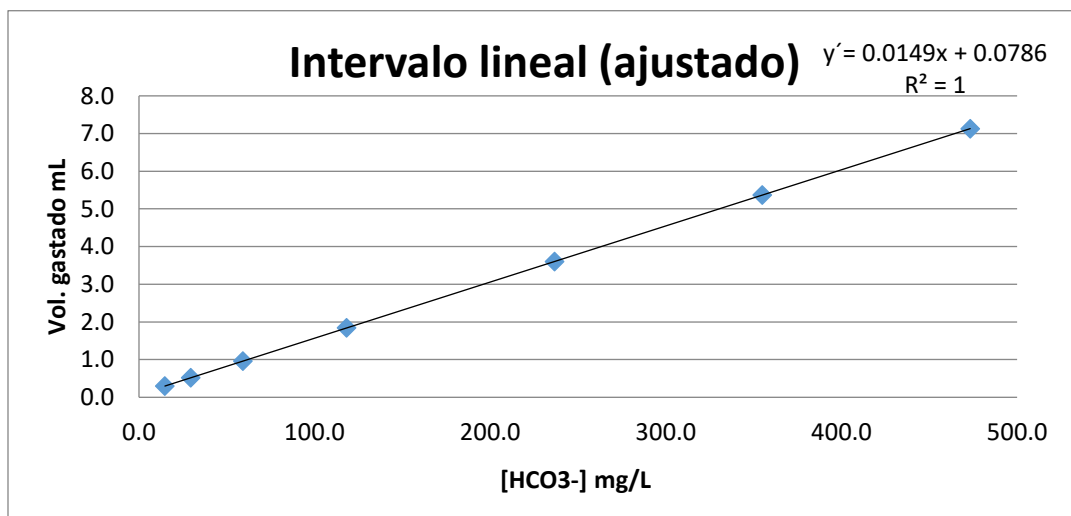


Gráfica 8.5.1-1 Vol. Gastado (mL) vs niveles de concentración de HCO₃⁻

De este grafico se sabe que el valor de la pendiente (m) es igual 0.0003 y la ordenada al origen (b₀) igual a 0.0071. De estos valores de m y b₀ se ajusta la regresión lineal.

Tabla 8.5.1-2 Volumen gastado (mL) para cada nivel de concentración ajustado.

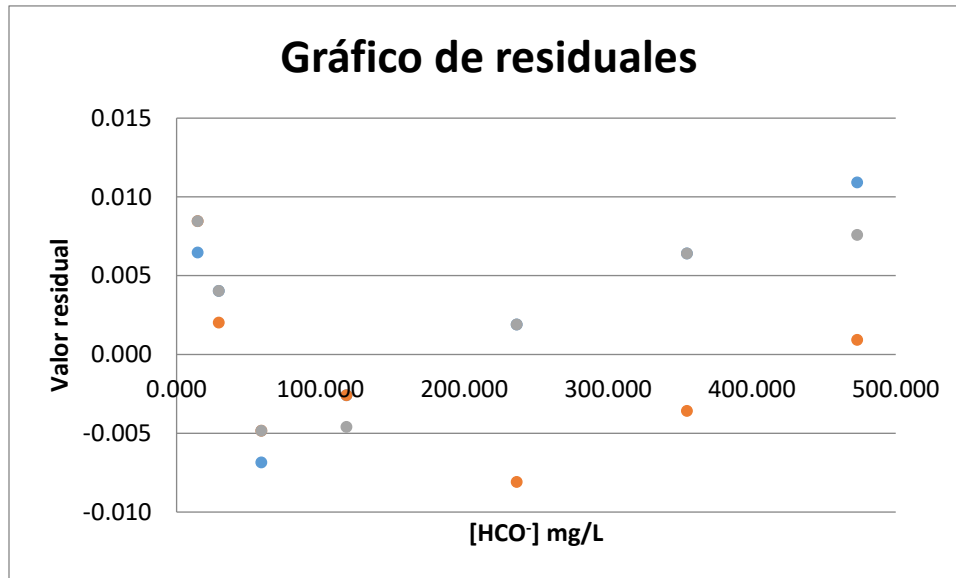
volumen gastado mL							
niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
Vol. Gastado (mL)	0.012	0.016	0.025	0.043	0.078	0.114	0.149



Gráfica 8.5.1-2 Vol. Gastado (mL) vs niveles de concentración de HCO₃⁻ (ajustado)

Tabla 8.5.1-3 Valores residuales.

[HCO ₃ ⁻] mg/L	Volumen gastado (mL)				Valores residuales			
	x	y ₁	y ₂	y ₃	y'	y ₁ -y'	y ₂ -y'	y ₃ -y'
14.790		0.018	0.020	0.020	0.012	0.006	0.008	0.008
29.579		0.020	0.018	0.020	0.016	0.004	0.002	0.004
59.158		0.018	0.020	0.020	0.025	-0.007	-0.005	-0.005
118.317		0.040	0.040	0.038	0.043	-0.003	-0.003	-0.005
236.634		0.080	0.070	0.080	0.078	0.002	-0.008	0.002
354.951		0.120	0.110	0.120	0.114	0.006	-0.004	0.006
473.268		0.160	0.150	0.157	0.149	0.011	0.001	0.008



Gráfica 8.5.1-3 Gráfico de residuales.

8.5.2. Intervalo de trabajo

Con los datos que se obtuvieron en el intervalo de trabajo se calculó el % de recobro.

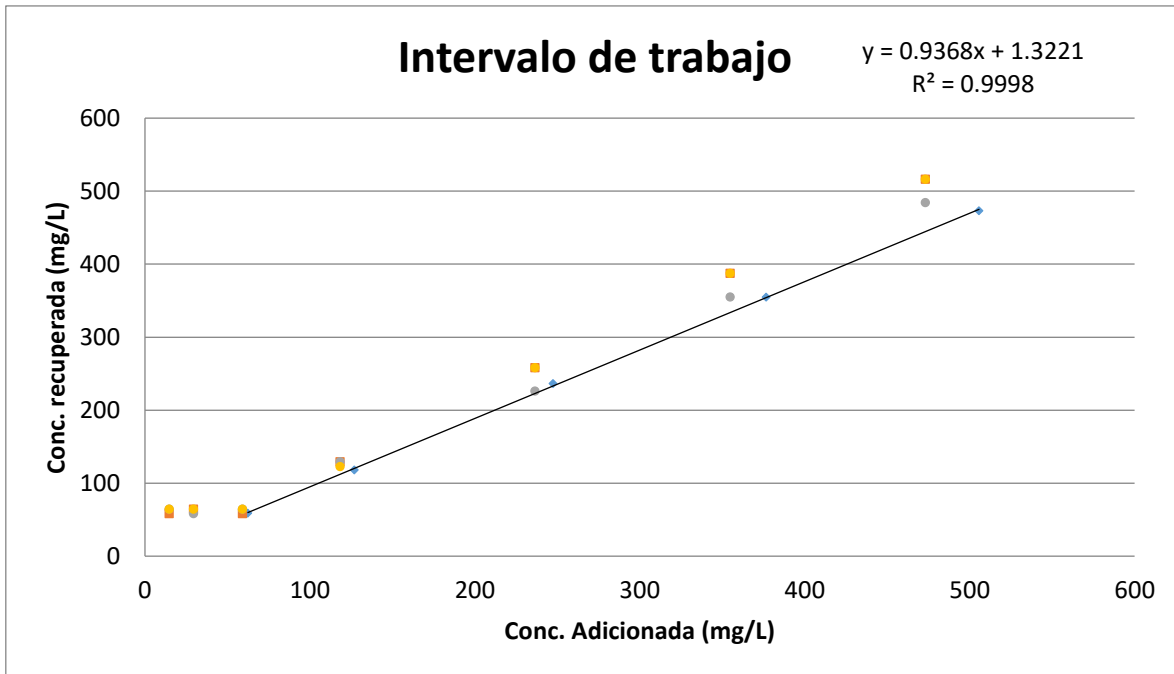
Tabla 8.5.2-1 Porcentaje de recobro para cada uno de los niveles de concentración.

% de recobro							
niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	393%	218%	98%	109%	109%	109%	109%
2	436%	196%	109%	109%	95%	100%	102
3	436%	218%	109%	104%	109%	109%	109%
Promedio (\bar{x})	422%	211%	105%	107%	105%	106%	107%

Con estos datos se obtuvo lo siguiente:

Tabla 8.5.2-2 Resultados del intervalo de trabajo.

niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	58.10	64.55	58.10	129.11	258.22	387.33	516.44
2	64.55	58.10	64.55	129.11	225.94	355.05	484.16
3	64.55	64.55	64.55	122.65	258.22	387.33	516.44
Promedio (\bar{x})	62.40	62.40	62.40	126.96	247.46	376.57	505.68
Desv. Stand	3.73	3.73	3.73	3.73	18.64	18.64	18.64
Desv. Stand. Rel.	5.97	5.97	5.97	2.94	7.53	4.95	3.69
$PRSD_R$	10.67	9.61	8.66	7.80	7.03	6.61	6.33
HorRat	0.56	0.62	0.69	0.38	1.07	0.75	0.58
Pendiente	0.997						
Ordenada al origen	22.87						
Desviación estándar de la regresión lineal	17.51						
Desviación estándar de la pendiente	0.040						
$t_{0.025,1}$	12.71						
Intervalo de confianza de la pendiente	0.997 ± 0.5132						



Gráfica 8.5.2-1 Gráfico del intervalo de trabajo.

8.5.3. Límite de cuantificación práctico

De acuerdo al punto anterior, todo el rango en el que se trabajó es lineal a partir del nivel 59 mg/L por tanto que el límite de cuantificación práctico es el valor mencionado. Por lo que los niveles anteriores a este quedan descartados para los próximos cálculos.

8.5.4. Recuperación y sesgo

De los valores del intervalo de trabajo se realizó lo siguiente para la recuperación.

Tabla 8.5.4-1 Resultados de recuperación.

% de recobro					
niveles de concentración (mg/L)	59	118	237	355	473
1	98%	109%	109%	109%	109%
2	109%	109%	95%	100%	102%

3	109%	104%	109%	109%	109%
Promedio (\bar{x})	105%	107%	105%	106%	107%
Desv. Stand	0.06	0.03	0.08	0.055	0.04
$t_{0.025,2}$	4.30				
Intervalo de confianza del % de recobro	105 ± 15.64	107 ± 7.82	105 ± 19.55	106 ± 13.03	107 ± 9.78

Para el sesgo se utilizó la prueba de t de Student con confiabilidad del 95% y α igual a 0.025 (a dos colas), se obtuvo lo siguiente.

Tabla 8.5.4-2 Resultados del sesgo.

niveles de concentración (mg/L)	59	118	237	355	473
1	58.10	129.11	258.22	387.33	516.44
2	64.55	129.11	225.94	355.05	484.16
3	64.55	122.65	258.22	387.33	516.44
Promedio (\bar{x})	62.40	126.96	247.46	376.57	505.68
Desv. Stand	3.727	3.727	18.635	18.635	18.635
Numero de lecturas	3				
Grados de libertad	2				
t calculada	1.50	4.01	1.1	2.1	3.01
t critica	4.30				

8.5.5. Repetibilidad y precisión intermedia

Se preparó por triplicado muestras adicionadas a las concentraciones equivalentes a los niveles inferior (59 mg/L) medio (237 mg/L) y superior (473 mg/L) se obtuvo lo siguiente.

% de recobro

Tabla 8.5.5-1 Resultados del % de recobro del analista 1 y del analista 2.

% de recobro del analista 1			
niveles de concentración (mg/L)	59	237	473
1	98%	109%	109%
2	109%	95%	102%

3	109%	109%	109%
Promedio (\bar{x})	105%	105%	107%

% de recobro del analista 2			
niveles de concentración (mg/L)	59	237	473
1	98%	109%	95%
2	109%	98%	109%
3	109%	109%	109%
Promedio (\bar{x})	105%	98%	105%

Prueba de Fisher

Tabla 8.5.5-2 Resultados de la prueba de Fisher.

Nivel	Analista	
	1	2
Inferior	58.10	58.10
	64.55	64.55
	64.55	64.55
Medio	258.22	129.11
	225.94	116.20
	258.22	129.11
Superior	516.44	451.88
	484.16	516.44
	516.44	516.44

Prueba de Fisher						
Resumen	Cuenta	GL (n-1)	Promedio	Varianza	F calculada	F crítica
Analista 1	9	8	271.85	37353.83	1.07	4.43
Analista 2			227.38	41357.89		

ANOVA (Análisis de varianza de un factor)

Tabla 8.5.5-3 Resultados de la ANOVA.

Nivel	Analista	
	1	2
Inferior	58.10	58.10
	64.55	64.55
	64.55	64.55
Medio	258.22	129.11
	225.94	116.20
	258.22	129.11
Superior	516.44	451.88
	484.16	516.44
	516.44	516.44

Análisis de varianza de un factor				
Resumen	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista 1	9	2446.61	271.85	37353.83
Analista 2	9	2046.37	227.38	41357.89

Análisis de varianza							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad		Promedio de los cuadrados	F calculada	Probabilidad	F crítica
Analistas	8899.45	1	$SC_B =$	8899.45	0.23	0.64	4.49
Niveles	629693.77	16	$SC_w =$	39355.86			
Total	638593.22	17					

Desviación estándar de la repetibilidad	793.53
Desviación estándar relativa de la repetibilidad	2.02
Desviación estándar de la precisión intermedia	
S_i	100.76
S_{PI}	799.90
Desviación estándar relativa de la precisión intermedia	2.03

8.5.6 Incertidumbre

De acuerdo al siguiente diagrama de Ishikawa se realizó el cálculo de incertidumbre (para los datos de concentración de HCl se tomaron los valores calculados en el punto 8.4.6)

Incertidumbre del método (Determinación de HCO_3^-)

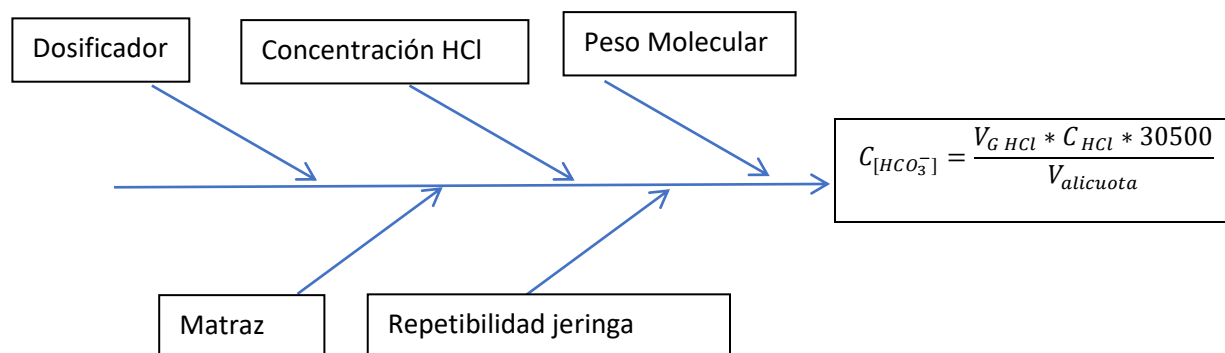


Figura 8.5.6-1 Diagrama de Ishikawa “incertidumbre del método para el titulador automático”.

Tabla 8.5.6-1 Tabla de Tolerancias e incertidumbres (concentración de HCO_3^-).

Instrumento	Tolerancia		Incertidumbre tipo A			
Concentración HCl (mol/L)			0.021			
Peso molecular	Consultar tabla 8.4.6-4		0.00070			
Matraz 50 mL	0.05		0.070			

Concentración de HCO_3^-	59	118	237		355	473
	Incertidumbre Tipo A					
Jeringa (mL)	0.0014	0.0028	0.0054		0.0082	0.0111
Repetibilidad (jeringa)	0.001	0.001	0.003	0.003	0.003	0.003

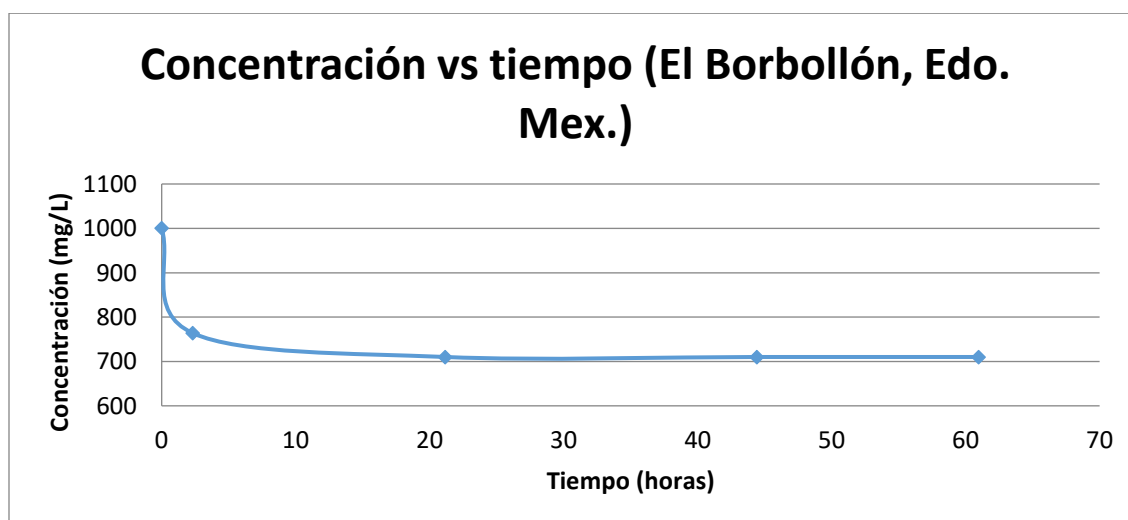
Concentración de HCO₃⁻	59	118	237	355	473
Incertidumbre Estándar Combinada	0.24	0.24	0.24	0.21	0.20
Incertidumbre expandida (concentración de HCO₃⁻)	59.16 ± 0.47	118.32 ± 0.47	236.63 ± 0.47	354.95 ± 0.42	473.27 ± 0.41

8.6 Relación concentración vs tiempo

Utilizando el método de micro titulación se obtuvo lo siguiente para un agua natural (El Borbollón, Estado de México).

Tabla 8.6-1 Resultados de las muestras concentración vs tiempo (Estado de México).

Fecha	27 febrero 2017		28 febrero 2017	01 marzo 2017	02 marzo 2017
Hora (24 horas)	16:06	18:25	15:15	16:30	08:03
Temperatura in situ (°C)	Temperatura ambiente (20 °C)				
Tiempo transcurrido (horas)	0	2.3	21.2	44.42	61
Concentración (mg/L)	1001	764	710	710	710

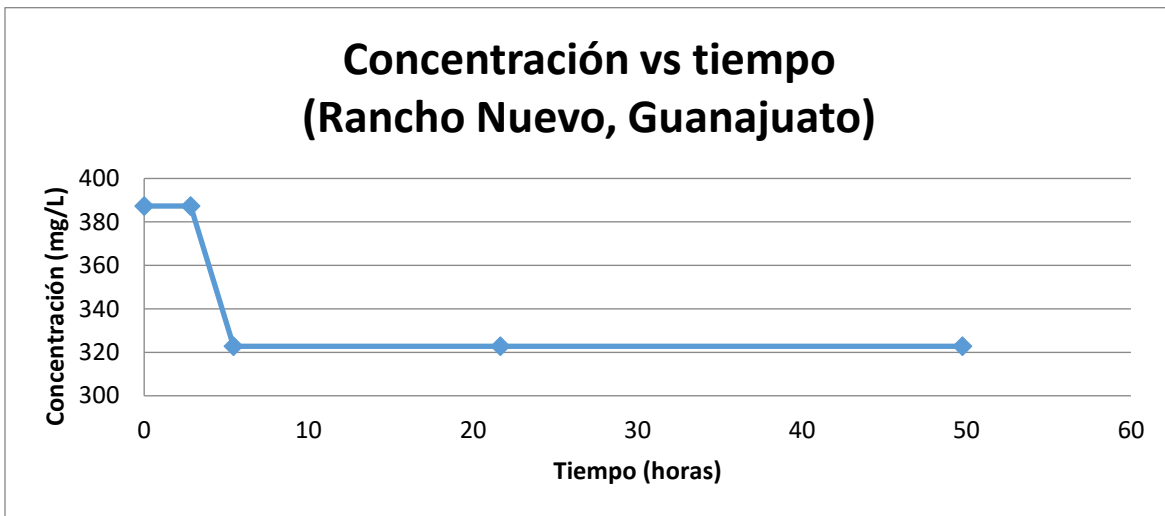


Gráfica 8.6-1 Resultados del Borbollón a diferentes tiempos.

Utilizando el método de micro titulación se obtuvo lo siguiente para un agua termal (Rancho Nuevo, Guanajuato).

Tabla 8.6-2 Resultados de las muestras concentración vs tiempo (Guanajuato).

Fecha	01 marzo 2017			02 marzo 2017	03 marzo 2017
Hora (24 horas)	15:50	17:00	19:36	11:50	14:06
Temperatura in situ (°C)	80	65	49	24	26
Tiempo transcurrido (horas)	0	2.83	5.43	22	49.77
Concentración (mg/L)	387	387	323	323	323

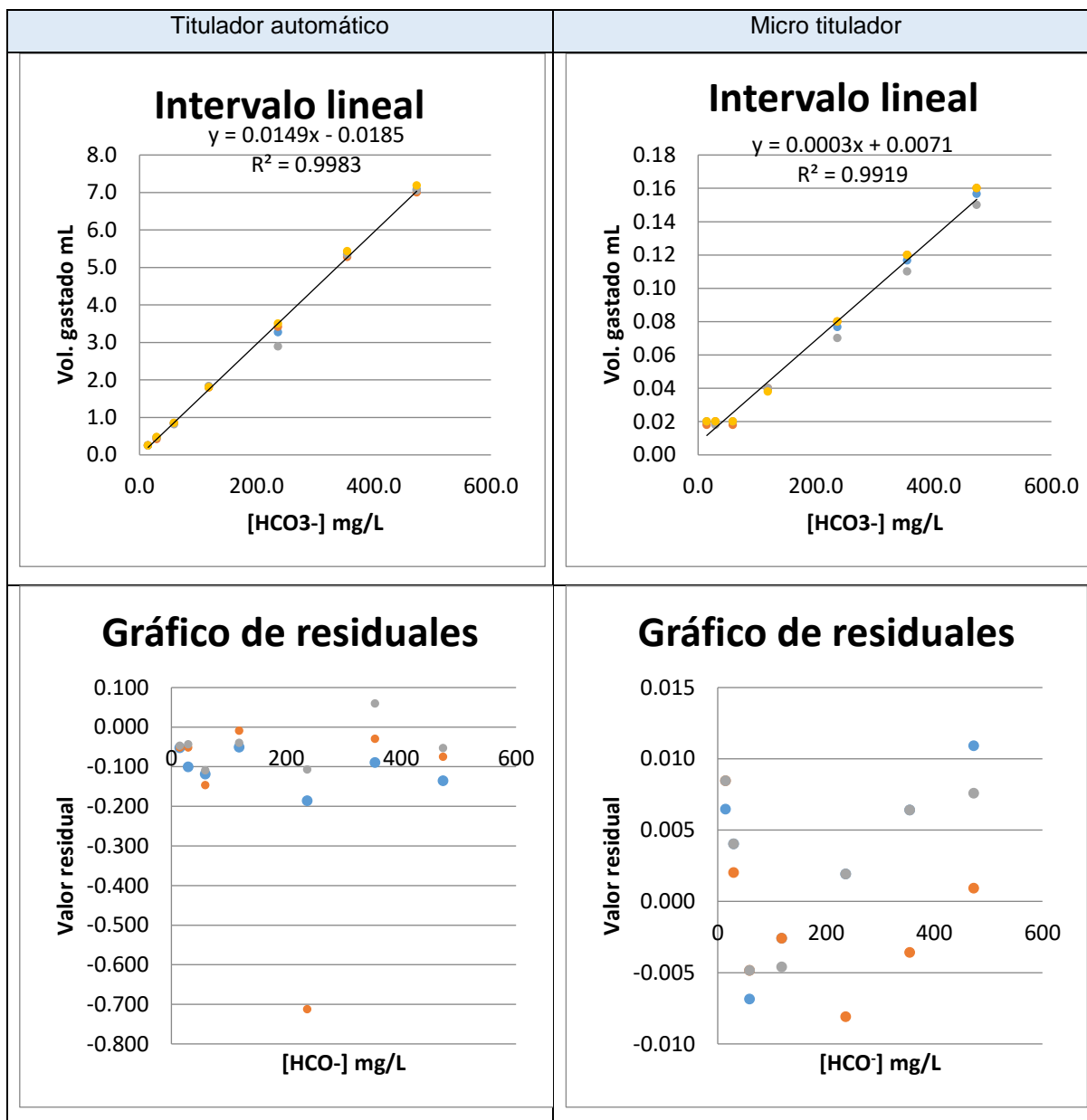


Gráfica 8.6-2 Resultados de Rancho nuevo a diferentes tiempos.

9 Análisis de resultados

Tomando en cuenta los criterios de aceptación implementados en el documento de COFEPRIS, se obtuvo lo siguiente.

Intervalo lineal



Gráfica 9-1 Gráficos de residuales de cada método (eje y: valor residual, eje x: concentración, mg/L).

De acuerdo con el anexo B, se aprecia un comportamiento lineal en el gráfico de respuesta analítica (volumen gastado de ácido en ml) contra concentración (mg/L).

Por tanto, es posible visualizar en el gráfico de residuales que se tiene una distribución aleatoria de los puntos alrededor de la recta en ambos métodos. Por lo que se afirma que los métodos se ajustan y son lineales en el rango analizado.

Intervalo de trabajo y límite de cuantificación

Tabla 9-1 Resultados obtenidos en el estudio del intervalo de trabajo para el método implementado para el titulador automático

Concentración teórica (mg/L)	Titulador automático				
	% de recobro promedio	Desviación estándar relativa	Valor de HorRat	Coefficiente de correlación	Intervalo de confianza de la pendiente
15	109	1.12	0.10	0.9983	0.96 ± 0.23
30	99	6.84	0.71		
59	91	2.33	0.27		
118	99	1.20	0.15		
237	89	10.06	1.43		
355	97	1.40	0.21		
473	97	1.35	0.21		

Tabla 9-2 Resultados obtenidos en el estudio del intervalo de trabajo para el método implementado para el titulador automático y el micro titulador.

Concentración teórica (mg/L)	Micro titulador				
	% de recobro promedio	Desviación estándar relativa	Valor de HorRat	Coefficiente de correlación	Intervalo de confianza de la pendiente
15	422	5.97	0.56	0.9919	0.997±0.5132
30	211	5.97	0.62		
59	105	5.97	0.69		
118	107	2.94	0.38		
237	105	7.53	1.07		
355	106	4.95	0.75		
473	107	3.69	0.58		

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que en el método del titulador automático tiene un intervalo amplio de 15 mg/L en adelante. Por tanto, la concentración mínima (15 mg/L) representa el límite de cuantificación para este

método, con un coeficiente de correlación mayor a 0.98 y valores de HorRat menores o iguales a 2.

Estos resultados indican la homogeneidad de las muestras y de que está bien ejecutado el método. Además de que el intervalo de confianza de la pendiente (0.7338, 1.1898) incluye el valor de la unidad por lo que se demuestra que se tiene la máxima correlación (existe una diferencia mínima entre lo que se recupera y lo que se adiciona), por tanto, los datos son consistentes.

Por otro lado, se observa que el micro titulador posee un intervalo de trabajo limitado, no es posible tener lecturas menores a 59 mg/L, por tanto, el límite de cuantificación para este método es dicha concentración. Al igual que el titulador automático, se tiene un coeficiente de correlación mayor a 0.98, valores de HorRat menores o iguales a 2 y el intervalo de confianza (0.4787, 1.5051).

Recuperación y sesgo

Con base a los resultados obtenidos y comparando con la tabla guía obtenida del documento elaborado por COFEPRIS para validación de métodos fisicoquímicos (anexo B), se observa lo siguiente.

Tabla 9-3 y Tabla 98.6-4 Resultados obtenidos de la recuperación del titulador automático y del micro titulador respectivamente versus el criterio de aceptación implementado por COFEPRIS

Titulador automático

Concentración mg/L	Recuperación
118	99%
237	89%
355	97%
473	97%



Dentro del Rango

Concentración	Recuperación (%)
>100 mg/L	85-110

Concentración mg/L	Recuperación
15	109%
30	99%
59	91%



Dentro del rango

Concentración	Recuperación (%)
10-100 mg/L	80-115

Micro titulador

Concentración mg/L	Recuperación
118	107%
237	105%
355	106%
473	107%



Dentro del Rango

Concentración	Recuperación (%)
>100 mg/L	85-110

Concentración mg/L	Recuperación
15	422%
30	211%
59	105%



Fuera del rango



Dentro del rango

Concentración	Recuperación (%)
10-100 mg/L	80-115

Como es de observarse el titulador automático se encuentra dentro del rango de recuperación implementado en los criterios de aceptación de COFEPRIS. Sin embargo, como se observa en los resultados del micro titulador los valores por debajo de 59 mg/L están fuera del rango, por lo que los puntos por debajo de esta concentración son eliminados.

De acuerdo a los valores del intervalo de confianza del % de recobro (Tabla 9-5) y resultados del análisis de t de student (Tabla 9-6 y 9-7) de ambos métodos; se observa que para el titulador automático solo existe sesgo en las concentraciones 15, 59 y 473 mg/L y se comprueba en el análisis de t de student.

Tabla 98.6-5 Intervalos de confianza del porcentaje de recobro de ambos métodos.

Concentración mg/L	Titulador automático	Micro titulador
	Intervalo de confianza del % de recobro	Intervalo de confianza del % de recobro
15	106, 112	
30	82, 116	
59	86, 96	89, 121.1
118	96, 102	99, 115
237	67, 111	85, 124

355	94, 100	93, 119
473	94, 100	97, 117

Tabla 9-6 Análisis t de student del titulador automático.

niveles de concentración (mg/L)	15	30	59	118	237	355	473
1	15.94	27.03	54.33	115.61	220.68	340.71	451.54
2	15.97	30.22	52.51	118.32	186.72	344.57	455.48
3	16.27	30.73	54.92	116.31	225.75	350.33	463.66
Promedio (\bar{x})	16.06	29.33	53.92	116.74	211.05	345.20	456.89
Desv. Stand	0.18	2.01	1.26	1.40	21.22	4.84	6.18
Numero de lecturas	3						
Grados de libertad	2						
t calculada	12.28	0.22	7.23	1.94	2.09	3.49	4.59
t critica	4.30						

Tabla 98.6-7 Análisis t de student del microtitulador.

niveles de concentración (mg/L)	59	118	237	355	473
1	58.10	129.11	258.22	387.33	516.44
2	64.55	129.11	225.94	355.05	484.16
3	64.55	122.65	258.22	387.33	516.44
Promedio (\bar{x})	62.40	126.96	247.46	376.57	505.68
Desv. Stand	3.727	3.727	18.635	18.635	18.635
Numero de lecturas	3				
Grados de libertad	2				
t calculada	1.50	4.01	1.1	2.1	3.01
t critica	4.30				

Repetibilidad y precisión intermedia

En la Tabla 9.8 y 9.9 es posible observar que en ambos métodos y por ambos analistas se encuentran dentro del rango de recuperación de los criterios de aceptación de COFEPRIS.

Tabla 9-8 y Tabla 9-9 Porcentajes de recuperación para el método de titulador automático y micro titulador respectivamente, por dos analistas diferentes.

Titulador automático		Analista 1	Analista 2	Dentro del Rango	Criterios de Aceptación	
Concentración ppm	Recuperación	Recuperación	Concentración		recuperación (%)	
118	99%	94%	>100 mg/L	85-110		
473	97%	96%				

Titulador automático		Analista 1	Analista 2	Dentro del rango	Criterios de Aceptación	
Concentración ppm	Recuperación	Recuperación	Concentración		recuperación (%)	
15	109%	95%	10-100 mg/L	80-115		

Micro titulador		Analista 1	Analista 2	Dentro del Rango	Criterios de Aceptación	
Concentración ppm	Recuperación	Recuperación	Concentración		recuperación (%)	
237	105%	98%	>100 mg/L	85-110		
473	109%	105%				

Micro titulador		Analista 1	Analista 2	Dentro del rango	Criterios de Aceptación	
Concentración ppm	Recuperación	Recuperación	Concentración		recuperación (%)	
59	105%	105%	10-100 mg/L	80-115		

Se observa en la Tabla 9-10 y 9-11 que la F crítica es mayor que la F calculada, por lo que se verifica la homogeneidad de las varianzas entre analistas.

Tabla 9-10 Resumen de la prueba de Fisher del titulador automático.

Prueba de Fisher						
Resumen	Cuenta	GL (n-1)	Promedio	Varianza	F calculada	F crítica
Analista 1	9	8	196.57	40031.76	1.01	4.43
Analista 2			193.48	40434.26		

Tabla 9-11 Resumen de la prueba de Fisher del micro titulador.

Prueba de Fisher						
Resumen	Cuenta	GL (n-1)	Promedio	Varianza	F calculada	F crítica
Analista 1	9	8	271.85	37353.83	1.07	4.43
Analista 2			227.38	41357.89		

Se aprecia en la Tabla 9-12 del análisis de varianza que para ambos métodos la F crítica es mayor que la F calculada, por lo que se verifica la significancia estadística (no hay variabilidad entre analistas).

De la tabla 9.12 la desviación estándar relativa de la repetibilidad y de la precisión intermedia es menor o igual a 2, por lo que es un valor aceptado.

Tabla 9-12 Análisis de varianza de ambos métodos.

Análisis de varianza				
Método	F calculada	F crítica	Desviación estándar relativa a la repetibilidad	Desviación estándar relativa de la precisión intermedia
Titulador automático	0.0011	4.43	1.99	2.0
Micro titulador	0.23		2.02	2.03

Incertidumbre

De acuerdo con los resultados en los puntos 8.4.6 y 8.5.6, es posible observar que tanto el método del titulador automático y el micro titulador presentan incertidumbres no altas y con pocas diferencias. Por tanto, el resultado con su cálculo de incertidumbre expandida del método es:

Titulador automático: resultado ± 0.43 mg/L*.

Microtitulador: resultado ± 0.448 mg/L*.

* Valores obtenidos de los promedios obtenidos en el cálculo de incertidumbre expandida para cada nivel de concentración.

Relación concentración vs tiempo

De acuerdo a los resultados obtenidos en el punto 8.6 se puede observar que existe una relación entre la concentración y el tiempo en el que fue colectada la muestra de la manifestación de agua natural. Para el caso de El borbollón, transcurridos 2.3 horas presenta un decremento del casi 24% de la concentración inicial (tiempo cero) y para Rancho nuevo transcurridos 5.43 horas presenta un decremento de un 16% de la concentración inicial. Esto es debido que al colectar la muestra se perturba la fuente natural de bicarbonatos. Por principio de Le

Chatelier, si disminuye la concentración de CO_3^{2-} proporcionada por el deslavado de roca caliza y la disminución de la temperatura del sistema (para el caso de un agua de tipo termal) altera la concentración de bicarbonatos, además de que al estar en contacto con el aire atmosférico (constituido por CO_2 principalmente), la muestra pierde gradualmente su concentración inicial por el fenómeno de difusividad.

La ley de Fick nos indica que la densidad del flujo molar es la relación directamente proporcional de un gradiente de concentración de la sustancia A (en este caso, la muestra de agua natural) y una constante de proporcionalidad llamada difusividad; esta última se refiere al proceso de difusión de la sustancia A (CO_2 de la muestra) a la sustancia B (aire atmosférico).

Esta constante es función de la concentración, temperatura y presión (depende del estado físico de las sustancias será la contribución a esta propiedad de la mezcla)

Al tener la sustancia A (muestra) con una concentración mayor a la del aire (alrededor de 300 a 400 mg/L) esta tendera a fugar a la sustancia B (aire).

10 CONCLUSIONES

Con base en los análisis de resultados, los métodos de microtitulación con indicador visual y titulador automático cumplen con los criterios de aceptación de la COFEPRIS, sin embargo, existen notables diferencias, ventajas y desventajas.

El método para microtitulación no es veraz pero si preciso teniendo como resultados porcentajes de recobro promedio mayores al 100% con un intervalo de trabajo reducido. Este método puede ser utilizado para el análisis en campo, tomando en cuenta que se tendrá un resultado no mayor del 10% (de acuerdo a lo obtenido en el porcentaje de recobro) por errores sistemáticos (percepción visual del analista) a la concentración real, siendo aplicable a concentraciones mayores a 59 mg/L de bicarbonatos.

El método de titulación automática, a diferencia del método de microtitulación, es veraz y preciso con un amplio intervalo de trabajo. Sin embargo, no es lo suficientemente viable para determinar la concentración de una manifestación de agua ya que podría presentar una pérdida del 16% al 24% de la concentración real al ser transportada la muestra del sitio de colecta al laboratorio. Comúnmente el tiempo de colecta al tiempo de análisis en laboratorio es de una semana para analizar dicha muestra.

Por lo tanto, se recomienda realizar la determinación de bicarbonatos en campo y no en laboratorio ya que se podrían obtener datos incorrectos. Además de ampliar un estudio para evaluar el cambio de concentración con respecto al tiempo tanto para aguas termales como frías e incluso proponer una concentración de HCl menor a la propuesta por la norma oficial mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001.

11 REFERENCIAS

Baeza, A. (2003). "Microbureta a microescala total para titulometría". Revista chilena de educación científica.

Boris Duffau, et al. (2010). Validación de Métodos y Determinación de la Incertidumbre de la Medición: Aspectos Generales Sobre la Validación de Métodos, Instituto de la salud pública.

Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (2017). Criterios para la Validación Interna y Confirmación de Métodos Físicoquímicos, Clave: CCAYAC-CR-03/1, COFEPRIS.

D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler & S. R. Crouch. (2014). Fundamentos de química analítica. 2015: CENGAGE Learning.

Daniel C. Harris. (2006). Análisis químico cuantitativo. Barcelona, España: Reverté

Drever, James I. (1997). The Geochemistry of Natural Waters: Surface and Groundwater Environments, 3rd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.

Duffau, B. et al. (2010). "Validación de Métodos y Determinación de la Incertidumbre de la Medición: Aspectos Generales sobre la Validación de Métodos". Chile: Instituto de Salud Pública.

E. Kirowa-Eisner, et al. (2007). Experiments in Electroanalytical Chemistry Applications to the Analysis of Drinking Water. Tel Aviv University.

Francis Shaxson, Richard B. (2005). Optimización de la humedad del suelo para la producción vegetal. El significado de la porosidad del suelo, Consultores de la FAO, Roma.

Fuentes Francisco, Massol-Deyá Arturo. (2002). Manual de Laboratorios: Ecología de Microorganismos. Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico.

Gary D. Christian. (2009). "Química analítica", sexta edición. McGrawHill.

González Muradás R., Montagut Bosque P., Sansón Ortega C. (1997). Versatilidad en una valoración macro y microescala. Anuario Latinoamericano de Educación Química.

ISO 7886-1 (2017). Sterile hypodermic syringes for single use -- Part 1: Syringes for manual use.

ISO 8655 (2002). Piston-operated volumetric apparatus -- Part 3: Piston burettes.

James R. Welty (1994). "Fundamentos de Transferencia de Momento, Calor y Masa" Limusa Noriega Editores.

Jumapam. (14 junio 2017). Distribución de Agua en el Planeta. Jumapam Recuperado de <http://jumapam.gob.mx/cultura-del-agua/distribucion-de-agua-en-el-planeta/>

L&S CONSULTORES CA (2002). "Tabla periódica – Incertidumbre Estandar de los Pesos Atómicos". Venezuela.

López Geta, J. (2001). Las Aguas subterráneas. Madrid: Instituto Geológico y Minero de España.

Lyl M Ciganda (2004). Electrodo para medir pH). Universidad de la república oriental de Uruguay, XIII seminario de Biomédica.

Lyl M. Ciganda (2004). Electrodo para medir pH. XIII Seminario de Ing. Biomédica, Universidad de la República Oriental del Uruguay.

Ma Jose Berenguer Subils, et al (2000). El dióxido de carbono en la evaluación de la calidad del aire interior. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.

Ma. Araceli García, et al. (2002) "Guía de Validación de Métodos Analíticos" Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

Mainero Rosa M. (1997). ¿Por qué microescala? Educación Química.

METTLER TOLEDO (2017). "Fundamentos de la Valoración. Mettler-Toledo GmbH, Analytical.

Miller J.C., Miller J. N. (1993) Estadística para química analítica, Addison-Wesley Iberoamericana, E.U.A.

Natalia Campillo S. (2011). Análisis Químico: Grado Bioquímica. Universidad de Murcia.

Nestor Riaño C. (2000). Fundamentos de Química Analítica Básica. Análisis cuantitativo, primera edición. Editorial. Universidad de Caldas Ciencias Exactas y Naturales.

Norma Oficial Mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001, Análisis de Agua-Determinación de Acidez y Alcalinidad en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas-Método de Prueba.

Pike R. M., Szafran Z., Singh M: Mayo D. W. A. (1999). Major Revolution in the Chemistry Laboratory", Educación Química.

Porrás, M. (1985). Calidad y Contaminación de las Aguas Subterráneas en España. España: IGME.

R. Valdivia-Medina et al (2010). "Agua para uso en laboratorios" Boletín científico técnico INIMET, num 1, Ciudad de la Habana, Cuba.

Riviera, C. y Rodríguez, M. (2006). Uso de la Ecuación de Horwitz en Laboratorios de Ensayos NMX-EC-17025-IMNC-2006. México: Simposio de Metrología.

Secretaría de Salud (2011). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Décima edición, Vol. I.

Silberman R. G. (2000). Using Small Scale Techniques to Asses Laboratory Learning. Educación química.

Sin autor. (2017). Teoría de la valoración. Mettler Toledo Recuperado de <http://www.mt.com/mx/es/home/library/know-how/lab-analytical-instruments/titration-definition-titrant-titrate-guide.html>

T. L. Brown, H. E. LeMay, Jr, B. E. Bursten. (2009). Química la ciencia central. México: Pearson educación.

Villar M. C., Rodriguez M., Mirabal L. (2001). Adaptación de métodos de análisis a microescala para bebidas alcohólicas, educación química.

12 Anexos

Anexo A.

	1 cola	0,005	0,01	0,015	0,02	0,025	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
	2 colas	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
	t	0,995	0,99	0,985	0,98	0,975	0,95	0,9	0,85	0,8	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5
G r a d o s d e l i b r e r t a d	1	63,66	31,82	21,20	15,89	12,71	6,31	3,08	1,96	1,38	1,00	0,73	0,51	0,32	0,16	0,00
	2	9,92	6,96	5,64	4,85	4,30	2,92	1,89	1,39	1,06	0,82	0,62	0,44	0,29	0,14	0,00
	3	5,84	4,54	3,90	3,48	3,18	2,35	1,64	1,25	0,98	0,76	0,58	0,42	0,28	0,14	0,00
	4	4,60	3,75	3,30	3,00	2,78	2,13	1,53	1,19	0,94	0,74	0,57	0,41	0,27	0,13	0,00
	5	4,03	3,36	3,00	2,76	2,57	2,02	1,48	1,16	0,92	0,73	0,56	0,41	0,27	0,13	0,00
	6	3,71	3,14	2,83	2,61	2,45	1,94	1,44	1,13	0,91	0,72	0,55	0,40	0,26	0,13	0,00
	7	3,50	3,00	2,71	2,52	2,36	1,89	1,41	1,12	0,90	0,71	0,55	0,40	0,26	0,13	0,00
	8	3,36	2,90	2,63	2,45	2,31	1,86	1,40	1,11	0,89	0,71	0,55	0,40	0,26	0,13	0,00
	9	3,25	2,82	2,57	2,40	2,26	1,83	1,38	1,10	0,88	0,70	0,54	0,40	0,26	0,13	0,00
	10	3,17	2,76	2,53	2,36	2,23	1,81	1,37	1,09	0,88	0,70	0,54	0,40	0,26	0,13	0,00
	11	3,11	2,72	2,49	2,33	2,20	1,80	1,36	1,09	0,88	0,70	0,54	0,40	0,26	0,13	0,00
	12	3,05	2,68	2,46	2,30	2,18	1,78	1,36	1,08	0,87	0,70	0,54	0,39	0,26	0,13	0,00
	13	3,01	2,65	2,44	2,28	2,16	1,77	1,35	1,08	0,87	0,69	0,54	0,39	0,26	0,13	0,00
	14	2,98	2,62	2,41	2,26	2,14	1,76	1,35	1,08	0,87	0,69	0,54	0,39	0,26	0,13	0,00
	15	2,95	2,60	2,40	2,25	2,13	1,75	1,34	1,07	0,87	0,69	0,54	0,39	0,26	0,13	0,00
	16	2,92	2,58	2,38	2,24	2,12	1,75	1,34	1,07	0,86	0,69	0,54	0,39	0,26	0,13	0,00
	17	2,90	2,57	2,37	2,22	2,11	1,74	1,33	1,07	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	18	2,88	2,55	2,36	2,21	2,10	1,73	1,33	1,07	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	19	2,86	2,54	2,35	2,20	2,09	1,73	1,33	1,07	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	20	2,85	2,53	2,34	2,20	2,09	1,72	1,33	1,06	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	21	2,83	2,52	2,33	2,19	2,08	1,72	1,32	1,06	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	22	2,82	2,51	2,32	2,18	2,07	1,72	1,32	1,06	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	23	2,81	2,50	2,31	2,18	2,07	1,71	1,32	1,06	0,86	0,69	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	24	2,80	2,49	2,31	2,17	2,06	1,71	1,32	1,06	0,86	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	25	2,79	2,49	2,30	2,17	2,06	1,71	1,32	1,06	0,86	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	26	2,78	2,48	2,30	2,16	2,06	1,71	1,31	1,06	0,86	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	27	2,77	2,47	2,29	2,16	2,05	1,70	1,31	1,06	0,86	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	28	2,76	2,47	2,29	2,15	2,05	1,70	1,31	1,06	0,85	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	29	2,76	2,46	2,28	2,15	2,05	1,70	1,31	1,06	0,85	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	30	2,75	2,46	2,28	2,15	2,04	1,70	1,31	1,05	0,85	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
	40	2,70	2,42	2,25	2,12	2,02	1,68	1,30	1,05	0,85	0,68	0,53	0,39	0,26	0,13	0,00
50	2,68	2,40	2,23	2,11	2,01	1,68	1,30	1,05	0,85	0,68	0,53	0,39	0,25	0,13	0,00	
100	2,63	2,36	2,20	2,08	1,98	1,66	1,29	1,04	0,85	0,68	0,53	0,39	0,25	0,13	0,00	
200	2,60	2,35	2,19	2,07	1,97	1,65	1,29	1,04	0,84	0,68	0,53	0,39	0,25	0,13	0,00	
300	2,59	2,34	2,18	2,06	1,97	1,65	1,28	1,04	0,84	0,68	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	
400	2,59	2,34	2,18	2,06	1,97	1,65	1,28	1,04	0,84	0,68	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	
1000	2,58	2,33	2,17	2,06	1,96	1,65	1,28	1,04	0,84	0,67	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	
10000	2,58	2,33	2,17	2,05	1,96	1,65	1,28	1,04	0,84	0,67	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	
100000	2,58	2,33	2,17	2,05	1,96	1,64	1,28	1,04	0,84	0,67	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	
1000000	2,58	2,33	2,17	2,05	1,96	1,64	1,28	1,04	0,84	0,67	0,52	0,39	0,25	0,13	0,00	

Tabla 12.A-1 Tabla de distribución t de student. Probabilidades acumuladas a diferentes grados de libertad.

GLn	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	25	30	40	60	100	∞
GLd	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	25	30	40	60	100	∞
	647,79	799,48	864,15	899,60	921,83	937,11	948,20	956,64	963,28	968,63	976,72	984,87	993,08	998,09	1001,4	1005,6	1009,8	1013,2	1018,3
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39	39,40	39,41	39,43	39,45	39,46	39,46	39,47	39,48	39,49	39,50
3	17,44	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,62	14,54	14,47	14,42	14,34	14,25	14,17	14,12	14,08	14,04	13,99	13,96	13,90
4	12,22	10,65	9,98	9,60	9,36	9,20	9,07	8,98	8,90	8,84	8,75	8,66	8,56	8,50	8,46	8,41	8,36	8,32	8,26
5	10,01	8,43	7,76	7,39	7,15	6,98	6,85	6,76	6,68	6,62	6,52	6,43	6,33	6,27	6,23	6,18	6,12	6,08	6,02
6	8,81	7,26	6,60	6,23	5,99	5,82	5,70	5,60	5,52	5,46	5,37	5,27	5,17	5,11	5,07	5,01	4,96	4,92	4,85
7	8,07	6,54	5,89	5,52	5,29	5,12	4,99	4,90	4,82	4,76	4,67	4,57	4,47	4,40	4,36	4,31	4,25	4,21	4,14
8	7,57	6,06	5,42	5,05	4,82	4,65	4,53	4,43	4,36	4,30	4,20	4,10	4,00	3,94	3,89	3,84	3,78	3,74	3,67
9	7,21	5,71	5,08	4,72	4,48	4,32	4,20	4,10	4,03	3,96	3,87	3,77	3,67	3,60	3,56	3,51	3,45	3,40	3,33
10	6,94	5,46	4,83	4,47	4,24	4,07	3,95	3,85	3,78	3,72	3,62	3,52	3,42	3,35	3,31	3,26	3,20	3,15	3,08
11	6,72	5,26	4,63	4,28	4,04	3,88	3,76	3,66	3,59	3,53	3,43	3,33	3,23	3,16	3,12	3,06	3,00	2,96	2,88
12	6,55	5,10	4,47	4,12	3,89	3,73	3,61	3,51	3,44	3,37	3,28	3,18	3,07	3,01	2,96	2,91	2,85	2,80	2,72
13	6,41	4,97	4,35	4,00	3,77	3,60	3,48	3,39	3,31	3,25	3,15	3,05	2,95	2,88	2,84	2,78	2,72	2,67	2,60
14	6,30	4,86	4,24	3,89	3,66	3,50	3,38	3,29	3,21	3,15	3,05	2,95	2,84	2,78	2,73	2,67	2,61	2,56	2,49
15	6,20	4,77	4,15	3,80	3,58	3,41	3,29	3,20	3,12	3,06	2,96	2,86	2,76	2,69	2,64	2,59	2,52	2,47	2,40
16	6,12	4,69	4,08	3,73	3,50	3,34	3,22	3,12	3,05	2,99	2,89	2,79	2,68	2,61	2,57	2,51	2,45	2,40	2,32
17	6,04	4,62	4,01	3,66	3,44	3,28	3,16	3,06	2,98	2,92	2,82	2,72	2,62	2,55	2,50	2,44	2,38	2,33	2,25
18	5,98	4,56	3,95	3,61	3,38	3,22	3,10	3,01	2,93	2,87	2,77	2,67	2,56	2,49	2,44	2,38	2,32	2,27	2,19
19	5,92	4,51	3,90	3,56	3,33	3,17	3,05	2,96	2,88	2,82	2,72	2,62	2,51	2,44	2,39	2,33	2,27	2,22	2,13
20	5,87	4,46	3,86	3,51	3,29	3,13	3,01	2,91	2,84	2,77	2,68	2,57	2,46	2,40	2,35	2,29	2,22	2,17	2,09
21	5,83	4,42	3,82	3,48	3,25	3,09	2,97	2,87	2,80	2,73	2,64	2,53	2,42	2,36	2,31	2,25	2,18	2,13	2,04
22	5,79	4,38	3,78	3,44	3,22	3,05	2,93	2,84	2,76	2,70	2,60	2,50	2,39	2,32	2,27	2,21	2,14	2,09	2,00
23	5,75	4,35	3,75	3,41	3,18	3,02	2,90	2,81	2,73	2,67	2,57	2,47	2,36	2,29	2,24	2,18	2,11	2,06	1,97
24	5,72	4,32	3,72	3,38	3,15	2,99	2,87	2,78	2,70	2,64	2,54	2,44	2,33	2,26	2,21	2,15	2,08	2,02	1,94
25	5,69	4,29	3,69	3,35	3,13	2,97	2,85	2,75	2,68	2,61	2,51	2,41	2,30	2,23	2,18	2,12	2,05	2,00	1,91
26	5,66	4,27	3,67	3,33	3,10	2,94	2,82	2,73	2,65	2,59	2,49	2,39	2,28	2,21	2,16	2,09	2,03	1,97	1,88
27	5,63	4,24	3,65	3,31	3,08	2,92	2,80	2,71	2,63	2,57	2,47	2,36	2,25	2,18	2,13	2,07	2,00	1,94	1,85
28	5,61	4,22	3,63	3,29	3,06	2,90	2,78	2,69	2,61	2,55	2,45	2,34	2,23	2,16	2,11	2,05	1,98	1,92	1,83
29	5,59	4,20	3,61	3,27	3,04	2,88	2,76	2,67	2,59	2,53	2,43	2,32	2,21	2,14	2,09	2,03	1,96	1,90	1,81
30	5,57	4,18	3,59	3,25	3,03	2,87	2,75	2,65	2,57	2,51	2,41	2,31	2,20	2,12	2,07	2,01	1,94	1,88	1,79
35	5,48	4,11	3,52	3,18	2,96	2,80	2,68	2,58	2,50	2,44	2,34	2,23	2,12	2,05	2,00	1,93	1,86	1,80	1,70
40	5,42	4,05	3,46	3,13	2,90	2,74	2,62	2,53	2,45	2,39	2,29	2,18	2,07	1,99	1,94	1,88	1,80	1,74	1,64
50	5,34	3,97	3,39	3,05	2,83	2,67	2,55	2,46	2,38	2,32	2,22	2,11	1,99	1,92	1,87	1,80	1,72	1,66	1,55
60	5,29	3,93	3,34	3,01	2,79	2,63	2,51	2,41	2,33	2,27	2,17	2,06	1,94	1,87	1,82	1,74	1,67	1,60	1,48
100	5,18	3,83	3,25	2,92	2,70	2,54	2,42	2,32	2,24	2,18	2,08	1,97	1,85	1,77	1,71	1,64	1,56	1,48	1,35
∞	5,15	3,80	3,23	2,89	2,67	2,52	2,39	2,30	2,22	2,16	2,05	1,94	1,82	1,75	1,69	1,61	1,53	1,45	1,31
	5,02	3,69	3,12	2,79	2,57	2,41	2,29	2,19	2,11	2,05	1,94	1,83	1,71	1,63	1,57	1,48	1,39	1,30	1,01

Tabla 12.A-2 Percentiles de la distribución F de Fisher ($F_{0,975}$).

Anexo B. Criterios de aceptación.

Tabla 12.B-1. Criterios de aceptación para la recuperación.

Prueba	Criterio de aceptación
Intervalo lineal	
Gráfico de linealidad	Confirmación visual de comportamiento lineal en el gráfico de respuesta analítica vs concentración
Gráfico de residuales	Distribución aleatoria de los puntos alrededor de la recta
Intervalo de trabajo	
Coeficiente de correlación	0.98 a 1.00
Intervalo de confianza de la pendiente	Debe incluir el valor de la unidad
Recuperación	
% de recuperación	Utilizar como guía la Tabla 12.B-2

Sesgo	
Intervalo de confianza del % de recuperación	Debe incluir el valor de 100%
Repetibilidad y precisión intermedia	
Valor de HorRat	≤2

Tabla 12.B-1. Criterios de validación para métodos analíticos (volumetría).

Concentración	Unidades	Recuperación (%)
100 mg/L	100 mg/L	85-110
10 mg/L	10 mg/L	80-115
1 mg/L	1 mg/L	75-120