



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

Introducción al desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de agua por cronoamperometría a potencial impuesto usando el reactivo de Karl Fischer.

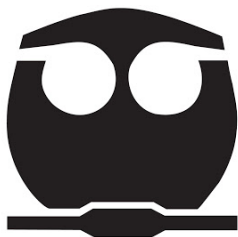
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Química

PRESENTA

ESPERANZA ELIZABETH VILCHIS BARRERA



Ciudad Universitaria, CDMX 2021



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: Profesor: José Alejandro Baeza Reyes

VOCAL: Profesor: Arturo de Jesús García Mendoza

SECRETARIO: Profesor: Allan Noé Domínguez Romero

1^{ER} SUPLENTE: Profesora: Tania Rojo Portillo

2^º SUPLENTE: Profesor: Adrián de Santiago Zárate

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO ANEXO 3E/F FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM EDIFICA A 3ER PISO.
CIRCUITO UNIVERSITARIO.**

ASESOR DEL TEMA: DR. JOSÉ ALEJANDRO BAEZA REYES

SUSTENTANTE: ESPERANZA ELIZABETH VILCHIS BARRERA

Contenido.

Hipótesis	- 7 -
Objetivo general.....	- 7 -
Objetivos particulares	- 8 -
1. Antecedentes generales.....	- 9 -
1.1. Importancia de la determinación de humedad.....	- 9 -
1.2. Métodos para la determinación de agua.....	- 9 -
1.3. Métodos generales para la determinación de agua	- 11 -
1.3.1. Determinación de agua por el método de Karl Fischer....	- 11 -
1.4. Reactivo de Karl Fischer.....	- 14 -
1.4.1. Antecedentes históricos, naturaleza del reactivo y formulación.....	- 14 -
1.4.2. Método volumétrico	- 15 -
1.4.3. Método coulombimétrico	- 15 -
1.4.4. Detección del punto final de la titulación.....	- 16 -
1.4.5. Influencia del pH	- 16 -
1.4.6. Aplicaciones.....	- 18 -
1.5. Principios de electroquímica	- 20 -
1.5.1. Reacciones de óxido-reducción.....	- 20 -
1.5.2. Celda electroquímica	- 21 -
1.5.3. Instrumentación básica	- 22 -
1.5.4. Cinética de transferencia de carga	- 23 -
1.5.5. Cinética de transferencia de masa	- 24 -
1.5.6. Reacciones químicas acopladas a la reacción electroquímica.....	- 27 -
1.6. Técnicas electroanalíticas	- 33 -
1.6.1. Voltamperometría cíclica	- 35 -
1.6.2. Cronoamperometría.....	- 39 -
1.7. Validación	- 40 -
1.7.1. Clasificación del método.....	- 41 -
1.7.2. Definiciones	- 42 -
.....	- 44 -

2.1. Reactivos.....	- 45 -
2.2. Materiales y equipo.....	- 45 -
2.3. Preparación de disoluciones.....	- 45 -
2.4. Sistema de análisis.....	- 46 -
2.5. Desarrollo del método.....	- 46 -
2.6. Validación	- 47 -
2.6.1. Linealidad del sistema	- 48 -
2.6.2. Precisión del sistema	- 48 -
2.6.3. Exactitud	- 48 -
2.6.4. Límites de detección y límites de cuantificación.....	- 48 -
.....	- 49 -
3.1. Desarrollo del método.....	- 50 -
3.2. Validación del método.....	- 54 -
3.2.1. Linealidad del sistema.	- 54 -
3.2.3. Exactitud y repetibilidad.....	- 59 -
3.2.4. Precisión intermedia.....	- 60 -
3.2.5. Límites de detección y cuantificación.....	- 63 -
.....	- 64 -
.....	- 66 -
Bibliografía.....	- 67 -
Anexo I. Validación. Criterios de aceptación	- 71 -
Anexo II. Cálculos y modelos matemáticos empleados	- 71 -
Linealidad	- 71 -
Precisión del sistema	- 72 -
Exactitud y repetibilidad.....	- 73 -

Símbolos, significado y unidades.

Pyr: Piridina	i_{c_p} : Intensidad de corriente de pico catódico / mA
KFS: Karl Fischer Solution	i_{a_p} : Intensidad de corriente de pico anódico / mA
k: Constante de velocidad	$E_{1/2}$: Potencial de media onda / mV
ET: Electrodo de trabajo	$t_{inicial}$: Tiempo inicial / segundos
EA: Electrodo auxiliar	t_{final} : Tiempo final / segundos
ER: Electrodo de referencia	i_d : Intensidad de corriente difusiva del pico / A
E: Potencial electroquímico o potencial de celda/ mV	n : Número de electrones transferidos
Eq: Potencial de equilibrio / mV	A : Área superficial del electrodo / cm ²
E^0 : Potencial normal de reducción del par redox, con respecto al electrodo de referencia.	D : Coeficiente de difusión de la especie electroactiva / cm ² s ⁻¹
n : Número de electrones en la reacción.	C : Concentración de la especie electroactiva / mol cm ⁻³
Ox : Concentración de la especie Ox al electrodo / molL ⁻¹	F : Constante de Faraday / 96485.34 C mol ⁻¹
Red : Concentración de la especie Red al electrodo / molL ⁻¹	t : Tiempo de electrólisis / segundos
EBS: Electrolito soporte	π : 3.1415
$E_{inicial}$: Potencial inicial / mV	MetOH : Metanol
E_{final} : Potencial final / mV	c.b.p : cuanto baste para
E_{c_p} : Potencial de pico catódico / mV	D.E : Desviación estándar
E_{a_p} : Potencial de pico anódico / mV	C.V : Coeficiente de variación
	%R : Porcentaje de recuperación

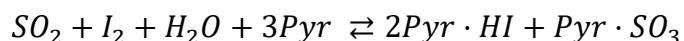
Introducción

En la enseñanza de la Química Analítica y en la iniciación temprana a la investigación, es conveniente estudiar medios no acuosos con el objetivo de comprender y mejorar algunos de los análisis previamente reportados en agua, así como ejemplificar reacciones químicas que no ocurren en medio acuoso. Así, el agua se considera como una impureza y es necesario determinar su contenido como un primer parámetro de control de reactividad en estos medios (A. Baeza, 2003).

En el análisis químico es de suma importancia conocer el porcentaje de humedad en muestras, ya sea para establecer un proceso de fabricación o prever la estabilidad de una forma farmacéutica o un producto alimenticio (Harris, 2016). El agua puede estar presente en diferentes formas, tales como diluyente o impureza. En el caso de muestras sólidas ésta se clasifica de dos maneras diferentes: (1) como agua libre, que está referida a la humedad absorbida en la superficie del sólido; y (2) el agua unida, que se refiere al agua de cristalización. Operativamente, el agua libre es considerada como impureza. Las metodologías empleadas para la determinación de agua pueden ser físicos o fisicoquímicos y su elección está en función de la naturaleza de las muestras (De Santiago, 2002).

El método más utilizado para la determinación de humedad, sobre todo en la industria farmacéutica, es el método de Karl Fischer. Está basado en la reacción que se produce entre el agua y el yodo presente en el reactivo de Karl Fischer, el cual es, en su formulación más simple, una mezcla de I_2 , SO_2 y piridina (Pyr) en metanol (S.A. Margolis, 2019)

Ecuación 1.



Las reacciones son de cinética lenta y no está satisfactoriamente demostrada en la literatura la influencia del nivel de acidez, del electrolito soporte así como el tiempo ventana electroanalítico para mejorar y proponer nuevas metodologías de análisis en condiciones de microescalamiento para minimizar tiempos de operación, costos y generación de desechos. Incluso, en algunos estudios recientes llevados a cabo en disolventes no acuosos, se ha optado por abandonar la valoración coulombimétrica de Karl Fischer para determinar el contenido de agua residual, debido a la falta de información sobre su uso en ambientes de volúmenes reducidos (García-Mendoza & Aguilar-Cordero, 2015)

Para demostrar que la metodología analítica ofrece confianza y consistencia en los resultados obtenidos a través de su uso es necesario realizar el estudio de validación, en el cual se evaluarán sistemáticamente los parámetros siguientes (Örnemark, 2014):

- Linealidad.
- Precisión.
- Exactitud.

Debe documentarse y comprobarse experimentalmente mediante un estudio de validación, que se cumplen con los requisitos especificados. Tales requisitos se encuentran en normas y guías emitidas por organizaciones nacionales e internacionales con el objetivo de asegurar la calidad de los resultados de los análisis y que la metodología satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.

Hipótesis

Un método analítico desarrollado para la cuantificación de agua en disolventes no acuosos utilizando el reactivo de Karl Fischer en ensayos cronoamperométricos en condiciones de microescalamiento, produce resultados seguros, confiables, precisos y reproducibles.

Objetivo general

Desarrollar una metodología basada en la valoración coulombimétrica de Karl Fischer en condiciones de microescalamiento para la cuantificación de agua en disolventes no acuosos, optimizando tiempo, recurso y minimizando residuos generados.

Objetivos particulares

- Obtener por voltamperometría cíclica el potencial de la oxidación de yoduro en la KFS.
- Determinar la eficiencia real del reactivo.
- Establecer las condiciones de validación para decir que el método es seguro, confiable y preciso.
- Realizar el estudio de validación del método propuesto.

1. Antecedentes generales.

1.1. Importancia de la determinación de humedad.

En análisis químico, es de suma importancia conocer el porcentaje de humedad en muestras, ya sea para establecer un proceso de fabricación o prever la estabilidad de una forma farmacéutica o un producto alimenticio. Además, el agua es un parámetro de calidad, ya que tiene efectos negativos en los productos, tales como (S.A. Margolis, 2019):

- Altera las propiedades físicas las propiedades de los productos, materias primas e intermediarios.
- Reduce la vida útil de los medicamentos y alimentos.
- Influye en las reacciones químicas y sus rendimientos.
- Agiliza las actividades enzimáticas en productos farmacéuticos.

El agua puede estar presente en diferentes formas, ya sea como diluyente o impureza. En el caso de muestras sólidas se clasifica como (1) agua libre, que está referida a la humedad absorbida en la superficie del sólido; y (2) como agua unida que se refiere al agua de cristalización. En este sentido, el agua libre es considerada como impureza química (MettlerToledo, Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1., 2012).

1.2. Métodos para la determinación de agua.

Los métodos de determinación de agua pueden ser físicos o fisicoquímicos y la elección del método a emplear está en función de la naturaleza de las muestras (Zambrano, 2019).

- **Primarios:** Se basan en la separación física del agua y permite determinar el verdadero contenido de agua. Tal es el caso de la destilación, secado, reacciones químicas cualitativas y cuantitativas con el agua.

- **Secundarios:** Son métodos basados en propiedades que dependen de la cantidad de agua, como las técnicas espectroscópicas. Principalmente se utilizan para una rápida evaluación.

Para seleccionar el método adecuado de análisis, es necesario tomar en cuenta las consideraciones listadas en la Tabla 1 (Armstrong, 2013).

Tabla 1. Factores a considerar para la elección de un método adecuado.

Factor	Ejemplo
Límite de detección.	10 mg/g o 1 µg/g de muestra.
Tipo de agua.	Agua superficial.
	Agua ocluida.
	Agua de cristalización.
	Agua azeotrópica.
Sustancias que sesgan el método de medición.	Componentes volátiles no acuosos.
	Materiales no acuosos que ocasionan una respuesta en el equipo de medición.
	Materiales no acuosos que interfieren con la determinación química.
	Agua generada o consumida por reacción colaterales.
Tipo de muestra.	Gas, líquido o sólido.

Solubilidad de la muestra.	Las muestras deben disolverse en los sistemas de análisis químico para asegurar que toda el agua está disponible para el análisis; cuando las muestras no son solubles la difusión de todas las moléculas de agua es un proceso que limita la determinación.
----------------------------	--

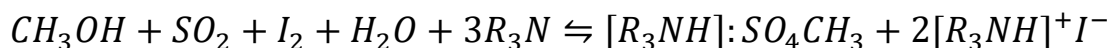
1.3. Métodos generales para la determinación de agua.

1.3.1. Determinación de agua por el método de Karl Fischer.

El método es adecuado para la determinación de agua libre o agua de cristalización en la mayoría de los productos químicos sólidos o líquidos, tanto orgánicos como inorgánicos.

El método visual se puede emplear cuando no se cuenta con equipo electrométrico disponible, pero solo es posible su aplicación en soluciones incoloras mediante una titulación directa, porque el último producto de la reacción de titulación, el metilsulfonato de piridinio evita que el complejo de piridina reaccione con otra molécula de agua u otro compuesto con hidrógeno activo, como se describe en la siguiente ecuación:

Ecuación 2.1



El método electroquímico, por otro lado, puede implicar una titulación directa o una titulación inversa, siendo el más preciso, y utilizado en la industria (MettlerToledo, Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1., 2012).

Método titulométrico con detección biamperométrica. Método FEUM.

Instrumento: Puede utilizarse cualquier instrumento que proporcione una adecuada exclusión de la humedad del ambiente y la determinación del punto final de la reacción. Por lo general, el punto final de la reacción se determina electrométricamente mediante un instrumento que emplea un circuito eléctrico simple que registra aproximadamente 200 mV de potencial aplicado entre un par de electrodos de platino sumergidos en la solución por titular.

En el punto final de la titulación, un ligero exceso del reactivo aumenta el flujo de la corriente entre 50 y 150 μA durante 30 s a 30 minutos, dependiendo de la cantidad de agua que se esté titulando. El tiempo es más corto para sustancias que se disuelven en el reactivo. Con algunos tituladores automáticos, el cambio abrupto en la corriente o en el potencial en el punto final sirve para cerrar una válvula operada por un solenoide que controle la liberación del titulante desde la bureta.

Los instrumentos comerciales generalmente constan de un sistema cerrado conformado por una o dos buretas automáticas y un vaso de titulación cubierto herméticamente, equipado con los electrodos necesarios y un agitador magnético. El aire en el sistema se mantiene seco con un desecante adecuado y el vaso de titulación se puede purgar mediante una corriente de nitrógeno o aire secos.

Las metodologías oficiales que aparecen en la Farmacopea se describen en los esquemas de las Figura XX (FEUM, 2018).

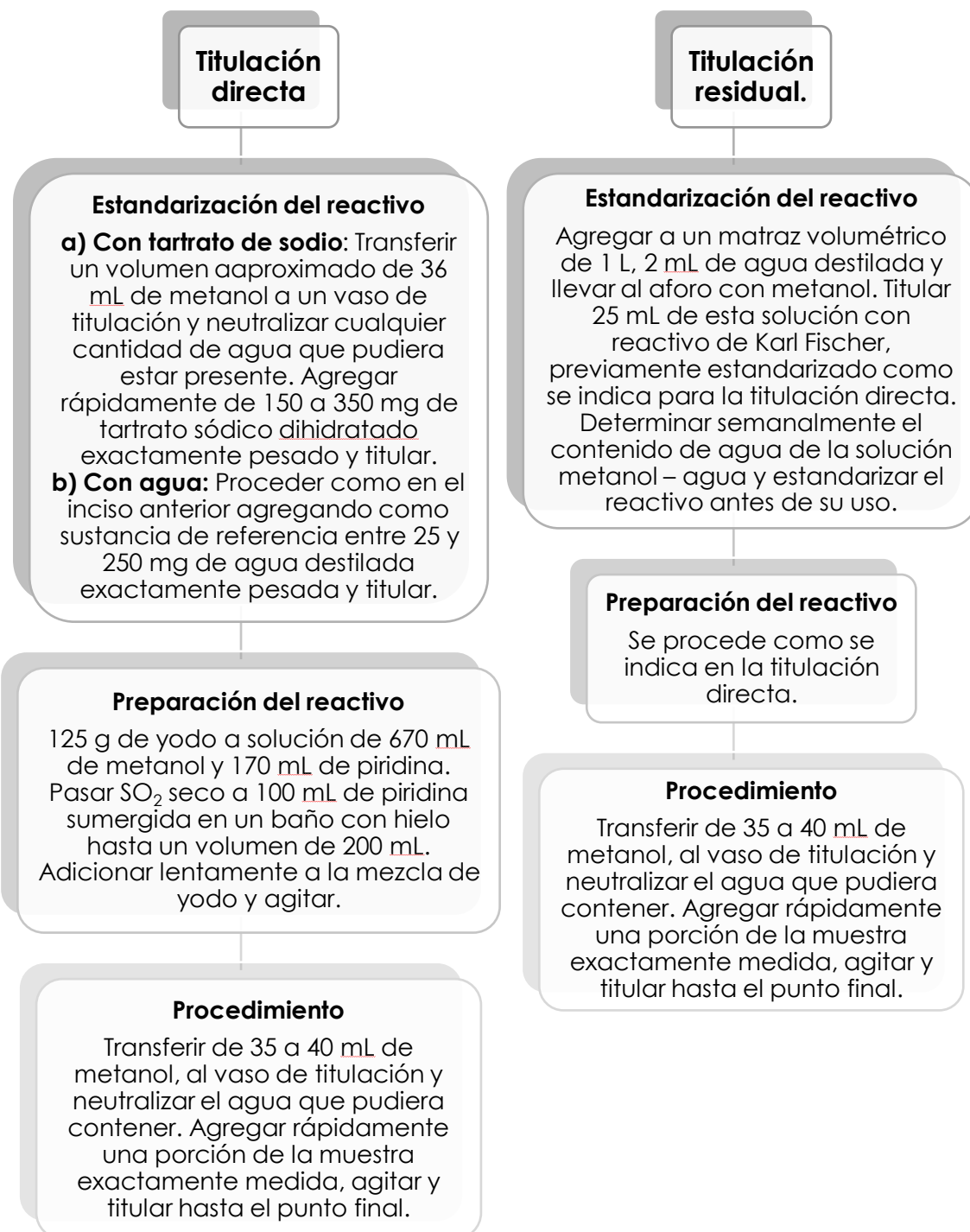


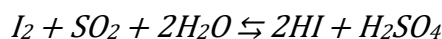
Figura 1.0 Metodologías oficiales de la FEUM.

1.4. Reactivo de Karl Fischer.

1.4.1. Antecedentes históricos, naturaleza del reactivo y formulación.

Bunsen demostró que a temperatura ambiente el yodo, así como el cloro y el bromo, reacciona con el agua en presencia de dióxido de azufre de acuerdo a la reacción de la Ecuación 2.2.

Ecuación 2.2.



Sin embargo, la reducción del yodo producida por el SO_2 es reversible cuando la concentración de ácido es mayor que 0.05 % por lo que el ácido yodhídrico se oxida a yodo libre.

La primera aplicación que tuvieron estas reacciones fue la de analizar dióxido de azufre en gases de horno. Se hacía pasar los vapores a través de un estándar de yodo en yoduro de potasio en almidón y continuaba hasta que el color del almidón indicador desaparecía. Conociendo el volumen del gas y la cantidad de yodo en la solución, se pudo calcular la concentración de dióxido de azufre en los gases.

En 1935 Karl Fischer, mientras trabaja en los laboratorios de Edeleabu Gesellschaft, describió un reactivo que involucraba yodo y dióxido de azufre y que era usado principalmente para la determinación de agua en dióxido de azufre y se descubrió que podía ser aplicado para el análisis de agua en general.

Inicialmente, con el objetivo de estudiar más a profundidad este reactivo, se realizaron titulaciones por retroceso en las cuales se colocó una cantidad del reactivo y se adicionaban cantidades de la muestra a analizar hasta que la tonalidad característica del reactivo desaparecía; sin embargo, se encontró que se presentaban muchos errores atribuidos a la naturaleza de la muestra y a la formación de productos ácidos, que provocaban que el equilibrio se desplazara hacia reactivos. Para evitar la formación de estos compuestos se realizaron estudios en aminas orgánicas débiles y se descubrió que la piridina funciona como la base ideal para este propósito pues al combinarse con el dióxido de azufre, reduce su presión de vapor.

Esta formulación permitió obtener un punto final de valoración más fácilmente y lo hizo más reproducible. Para asegurar un exceso continuo

de reactivos, además del yodo, se utilizaron las siguientes cantidades: 10 mol de piridina, 3 mol de dióxido de azufre, 1 mol de yodo disuelto en 5 L de disolvente (benceno o metanol). Con estas proporciones se logró titular 7.2 mg de agua por cada mililitro de mezcla reactante (John Mitchell, 1948).

Actualmente, los métodos volumétrico y coulombimétrico son utilizados de manera común en la industria para la determinación de agua utilizando el reactivo de Karl Fischer (S.A. Margolis, 2019).

1.4.2. Método volumétrico.

El método volumétrico se utiliza preferentemente para determinaciones cuyo contenido de agua se encuentre en el intervalo de 10 ppm a 100%, utilizando cantidades de muestra de 15 g y 0.02 g respectivamente. Muestras sólidas y líquidas pueden ser directamente introducidas en el recipiente en donde se llevará a cabo la titulación y el análisis se puede realizar con una variedad de disolventes orgánicos (Jones, 1951).

La muestra se disuelve o dispersa en metanol. Es de suma importancia neutralizar el agua presente en el disolvente y utilizarlo como blanco. Posteriormente se procede a hacer la determinación en la muestra.

Lamentablemente el método volumétrico requiere de evaluar constantemente la eficiencia de la KFS y se requieren grandes volúmenes de disolvente para el tratamiento de las muestras.

1.4.3. Método coulombimétrico

Este método consiste en medir la cantidad de corriente utilizada para generar yodo *in situ*, que posteriormente reaccionará con el agua. La celda de valoración consta de dos compartimientos, uno para el ánodo y el otro para el cátodo, separados por una membrana, la cual puede ser un sinterizado de cerámica. La muestra se coloca en el compartimiento anódico. Un exceso de yodo en el ánodo indica el fin de la valoración. Con este método se pueden determinar cantidades de agua del orden de ppm (V.C. Dominguez, 2010).

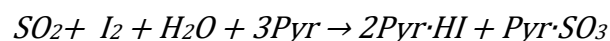
1.4.4. Detección del punto final de la titulación

Aunque el punto final de la titulación se indica cuando se presenta un exceso de yodo y la solución empieza a tornarse cada vez más amarilla hasta llegar a un tono marrón, la detección visual resulta inadecuada ya que la intensidad del color va a depender del tipo de disolventes que se utilicen y del espesor del recipiente empleado para la experimentación. Para darle solución a esta problemática se utilizan dos electrodos de platino polarizados y se determina el cambio de alguna propiedad eléctrica en el sistema (Clark, 2020).

1.4.5. Influencia del pH

Verhoef y Barendrecht fueron los primeros en estudiar la influencia que tiene el pH en la cinética de la reacción de Karl Fischer. Ellos monitorearon la concentración de triyoduro formado electroquímicamente con un electrodo de platino y la determinación del pH se realizó utilizando un electrodo combinado de vidrio y un potenciómetro digital. El pH se ajustó utilizando ácido perclórico, acetato de sodio, dicloroacetato y salicilato disueltos en metanol

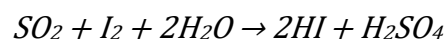
Con ello se encontró que el pH óptimo de trabajo es en el intervalo de 5 a 7.5. A valores menos de 5 la reacción es muy lenta o no hay reacción, ya que se favorece la formación del HI y H₂SO₄; mientras que a valores mayores de 7.5 ocurren reacciones de competencia:



Ecuación 2.3.

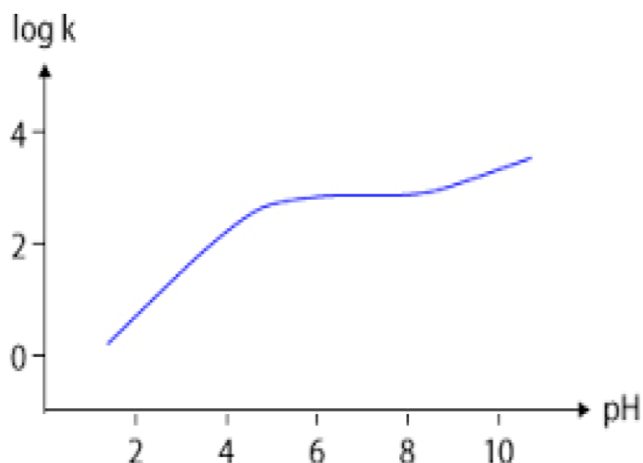


Ecuación 2.4.



Ecuación 2.5.

La velocidad de reacción, descrita por la constante de velocidad k, depende del pH del medio:

**Ecuación 2.6.**

$$-\frac{d[I_2]}{dt} = k * [I_2] * [SO_2] * [H_2O]$$

Figura 2.0 Dependencia del pH en la velocidad de reacción.

Fuente: (MettlerToledo, Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1, 2012)

En la figura anterior se aprecia que a valores de pH menores a 5 la velocidad de reacción incrementa linealmente; en el intervalo de pH de 5 a 8 la velocidad de reacción permanece constante y a valores superiores la velocidad incrementa, pero a una tasa menor.

Una posible explicación de la influencia que tiene el nivel de acidez es que no es el dióxido de azufre en sí lo que es oxidado por el yodo bajo la influencia del agua, sino más bien el ion metil sulfito.

Ecuación 2.7.

A valores de pH elevados hay una mayor formación de metil sulfito por la captura de protones y la velocidad de reacción es mayor.

En el intervalo de pH de 5.5 a 8, todo el dióxido de azufre se encuentra presente como metil sulfito; se alcanza la velocidad de reacción máxima. A valores de pH superiores a 8.5, la velocidad de reacción aumenta debido a reacciones secundarias entre el yodo y los iones hidróxido o metilato; en una titulación, esto da como resultado un punto final más lento y un mayor consumo de yodo.

Con base en el trabajo anterior, Grünke estudió la cinética de la reacción utilizando imidazol en vez de piridina. El monitoreo de las especies lo realizó mediante el uso de cromatografía de gases y llegó a la conclusión de que el imidazol en la formulación de la KFS funciona adecuadamente como buffer y puede ser utilizado en lugar de la piridina.

Con estas investigaciones se crearon nuevas formulaciones con imidazol y que resultan menos tóxicas. Además, también se ha demostrado que

es posible utilizar como buffer el ácido salicílico (MettlerToledo, Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1., 2012)

1.4.6. Aplicaciones

Productos farmacéuticos

La titulación de Karl Fischer, ya sea volumétrica o coulombimétrica, es un método selectivo, cuantitativo y preferido en farmacopeas para la determinación de agua en sustancias farmacológicas y productos farmacéuticos. Esto incluye la materia prima, las sales inorgánicas, los disolventes y los excipientes (MettlerToledo., 2012).

Productos derivados del petróleo

La titulación de Karl Fischer no se recomienda para aceites y lubricantes, ya que estos contienen añadidos como antioxidantes, mercaptanos, cetonas u óxidos metálicos que tienden a reaccionar con el yodo o generan agua, obteniéndose resultados mayores a los esperados. Sin embargo, se puede realizar utilizando mezcla de disolvente que contienen principalmente cloroformo o alcoholes de cadena larga y se homogeniza con un mezclador o con un baño ultrasónico.

Cuando se trabaja con petróleo crudo, el xileno o el tolueno se deben agregar al medio para que el alquitrán no se adhiera a la superficie de los electrodos y se mantenga en la solución (Armstrong, 2013).

Tabla 2. Tipo de muestra y método empleado para su análisis.

Muestra	Solubilizador	Método
Gasolina	Decanol	Vol./Coul.
Diesel	Decanol/cloroformo	Vol./Coul.
Aceite para motor	Hexanol/tolueno	Vol./Coul.
Aceite de silicona	Decanol	
Petróleo crudo	Decanol/Tolueno/Cloroformo	Vol.
Combustible para aviones	Decanol	Vol./Coul.
Aceite del transformador	Decanol o directo	Vol./Coul.
Petróleo	Decanol	Vol./Coul.

Productos alimenticios

En alimentos, el contenido de agua afecta la estabilidad de almacenamiento, aspecto, textura y sabor, así como otras características fisicoquímicas importantes, así como la aparición de agentes microbiológicos que pueden ser perjudiciales para la salud de los consumidores.

Plásticos

Los plásticos por lo general presentan cantidades pequeñas de agua, por lo que el método utilizado para su análisis es el coulombimétrico, añadiendo cloroformo o metilpirrolidina para disolverlos por completo. Otra opción es evaporar el agua en un horno de secado y conducirlo a

la celda utilizando un gas de purga seco. También puede extraerse metanol, si es necesario a 50°C (MettlerToledo., 2012).

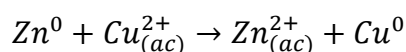
1.5. Principios de electroquímica

La electroquímica analítica es el estudio de los procesos de reacción que ocurren en la interfase solución – conductor con base en las mediciones de cantidades eléctricas tales como la corriente, el potencial o la carga, y su relación con los parámetros químicos. Estos procesos pueden ser generados espontáneamente o necesitar de una perturbación externa para poderse llevar a cabo (Bard & Faulkner, 2001).

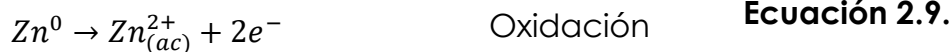
1.5.1. Reacciones de óxido-reducción

Una reacción de óxido – reducción es un proceso de transferencia de electrones en la cual participa un oxidante y un reductor. Se divide en dos semirreacciones, una es la oxidación y la otra la reducción (García-Mendoza, 2011).

Ecuación 2.8.



Las semirreacciones que dan lugar a la reacción total anterior son las siguientes:



El desplazamiento neto del equilibrio dependerá de la proximidad en los valores de los pK_r de los pares redox involucrados y de la imposición o no, de un estímulo externo (Pingarrón Cazarrón, 2003).

Las principales características de las reacciones de óxido – reducción son las siguientes:

- **Reacciones en sistemas heterogéneos:** Ocurren en una interfase conductor sólido - disolución de naturaleza acuosa o no.

- **Fuera del equilibrio:** Al paso del tiempo, las concentraciones de las especies que participan cambian en las cercanías de la interfase.
- **Unidireccionales:** el intercambio de electrones va de una especie hacia la otra, a través de conductores, y fluye del ánodo donde una especie cede electrones (ocurre la oxidación) al cátodo donde otra especie los recibe (ocurre la reducción).
- **Compartimentalizadas:** la interfase conductor sólido –disolución donde ocurre la reacción de interés, debe estar separada de la otra para evitar interferencias. Esto se logra utilizando membranas de vidrio poroso, geles iónicos (puentes salinos), o membranas de polímero semipermeable. También se pueden utilizar microelectrodos con una gran separación entre ellos utilizando volúmenes de disolución grandes.

1.5.2. Celda electroquímica

Una celda electroquímica es un conjunto de interfaces que requiere de por lo menos dos electrodos separados por una fase electrolítica (electrolito soporte).

Las celdas electroquímicas se clasifican en electrolíticas (consumen energía eléctrica de una fuente externa) y galvánicas (se utilizan para producir energía eléctrica). En ambas celdas el electrodo en el cual ocurre la oxidación se le llama ánodo; mientras que el electrodo en el que ocurre la reducción se le llama cátodo.

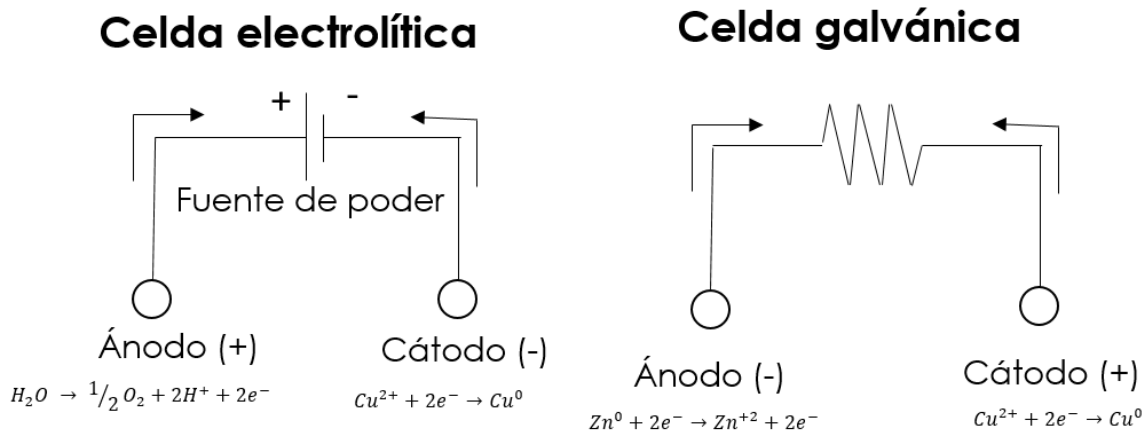


Figura 1. Esquema de celdas electroquímicas.

1.5.3. Instrumentación básica

Para el monitoreo de una reacción electroquímica es necesario utilizar un sistema de tres electrodos (Skoog, James, & Nieman, 2018):

- *Electrodo de trabajo (ET)*: Sobre él se realiza la imposición de potencial o de corriente y con ello es posible caracterizar las reacciones de interés. Es importante que el área del electrodo sea pequeña para asegurar condiciones de microanálisis y disminuir la corriente capacitiva.
- *Electrodo auxiliar (EA)*: Cierra el circuito eléctrico de la celda. Está conectado en serie con el electrodo de trabajo y sobre éste se lleva cabo el proceso electroquímico contrario.
- *Electrodo de referencia (ER)*: Mantiene un potencial constante durante la determinación electroquímica, por lo que su composición es constante y conocida. Con respecto a éste se controla el potencial del electrodo de trabajo.

En este contexto, al no haber reacción electroquímica predominante, $E = E_{eq}$, el sistema se encuentra en equilibrio electroquímico. Termodinámicamente se espera que al imponer un potencial diferente a E_{eq} , se produzca un cambio en la relación $[Ox]/[Red]$, hasta llegar

nuevamente al equilibrio. Se dice que corresponde a una reacción electroquímica reversible.

Para las reacciones rápidas, la ecuación de Nernst relaciona el potencial E y la concentración de las especies que participan en la semirreacción (Ox y Red) (Harris, 2016).

Ecuación 2.11.

$$E = E^{0'} + \frac{0.0591}{n} \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

Donde:

E = Potencial de celda o electroquímico.

$E^{0'}$ = Potencial normal de reducción del par redox, con respecto al electrodo de referencia.

n = Número de electrones en la reacción.

$[Ox]$ = Concentración de la especie Ox al electrodo.

$[Red]$ = Concentración de la especie Red al electrodo.

Si el potencial impuesto E es mayor a E_{eq} , se espera que la reacción de oxidación se vea favorecida; cuando el potencial impuesto E es menor que E_{eq} se espera que se favorezca la reacción de reducción.

1.5.4. Cinética de transferencia de carga

En una reacción electroquímica los parámetros que se registran son la intensidad de corriente y la diferencia de potencial. Cuando se mide este último parámetro, existen diferentes aportes:

Ecuación 2.12.

$$\Delta E_{medido} = (E_i + E_j + IR) - E_{ER}$$

Donde:

- E_i = potencial impuesto mediante un potenciostato.

- E_j = potencial de unión química, debido a la formación de las dos fases iónicas separadas en forma semipermeable cuando se ponen en contacto.
- IR = aporte en el potencial debido a la resistencia de todo el circuito (conductores, disolución, etc.).
- E_{ER} = potencial de ER.

Al emplear membranas de separación adecuadas o si se usan microelectrodos y en presencia de sales iónicas concentradas, se disminuye la resistencia de la disolución y con ello se logra que el aporte de IR y E_j sea pequeño.

La intensidad de corriente también presenta diferentes aportes:

Ecuación 2.13.

$$i_{medida} = i_{cap} + i_{far}$$

Ecuación 2.14.

$$i_{far} = i_{difusión} + i_{migración\ iónica} + i_{convectiva}$$

Donde:

- i_{cap} = corriente capacitiva que aparece al formarse la doble capa eléctrica.
- i_{far} = corriente faradaica o de electrólisis; indicativo de la velocidad de la reacción electroquímica. Debida a la contribución de tres fenómenos que conforman el transporte de masa.

La corriente de electrólisis y la velocidad de reacción dependen de la forma en que la especie llega al electrodo, la velocidad de transferencia electrónica, de las reacciones químicas acopladas, fenómenos de adsorción en la superficie del electrodo y, en algunos casos, a asociaciones supramoleculares en la vecindad del electrodo.

1.5.5. Cinética de transferencia de masa

La transferencia de masa hace referencia al movimiento de materia de un punto a otro en la disolución, ya sea por diferencias en potencial eléctrico o químico. La transferencia de masa puede llevarse a cabo de tres diferentes maneras:

1. Migración: Al imponer una diferencia de potencial se forma un campo eléctrico a través del cual las especies con carga eléctrica son transportadas.
2. Difusión: Al haber un gradiente de concentración entre la superficie del electrodo y el seno de la disolución se produce un movimiento de las especies de los medios más concentrados a los menos concentrados. Puede llegar a afectar sólo a una parte de la disolución.
3. Convección: Puede producirse el transporte de masa por la influencia de factores físicos al agitar una disolución, al girar o vibrar el electrodo de trabajo. Incluso, cuando el área del electrodo es muy pequeña (en el orden de micras) pueden producirse fenómenos de agitación molecular producto de la difusión radial durante la electrólisis.

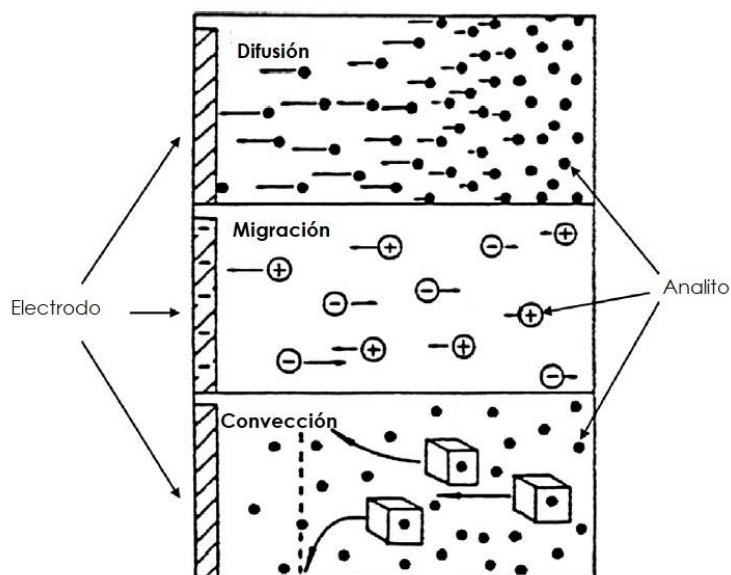


Figura 3. Representación esquemática de las tres diferentes maneras de transporte de masa. Fuente: (Wang, 2006)

La ecuación de Nernst – Planck describe la transferencia de masa de la disolución hacia el electrodo, ya que en ella se involucran los términos mencionados anteriormente:

Ecuación 2.15.

$$J(x, t) = -D \frac{\partial C(x, t)}{\partial x} - \left(\frac{zFD C}{RT} \right) \frac{\partial \phi(x, t)}{\partial x} + C(x, t)V(x, t)$$

En la ecuación anterior se describen los diferentes aportes en el flujo de materia, los cuales son:

- $\frac{\partial C(x, t)}{\partial x}$
- Aporte del transporte por migración debido al campo eléctrico, z y C son la carga y la concentración de la especie respectivamente.
- Contribución convectiva, donde $V(x, t)$ es la velocidad hidrodinámica en la dirección x , F es la constante de Faraday, D es el coeficiente de difusión de la especie, R es la constante de los gases ideales y T es la temperatura.

En una reacción electroquímica la corriente que se registra está en función de los aportes de difusión, migración y convección, ya que la corriente eléctrica es proporcional al flujo de materia.

Ecuación 2.16.

$$i = -nFAJ$$

- A = área del electrodo
- n = número de electrones intercambiados

A fin de relacionar el valor de la corriente con la concentración del analito o del compuesto de interés, se pueden realizar modificaciones experimentales y controlar o hacer muy pequeño el transporte por migración (exceso de electrolito soporte) y por convección (utilizando una disolución sin agitar o bien agitando constante y controladamente). Bajo estas condiciones el transporte de materia estará determinado únicamente por difusión.

Ecuación 2.17.

$$J(x, t) = -D \frac{\partial C(x, t)}{\partial x}$$

Finalmente, se llega a una nueva función en la que la corriente registrada estará determinada únicamente por la difusión de la especie y será directamente proporcional al gradiente de concentración de la especie electroactiva.

Ecuación 2.18.

$$i = nFAD \frac{\partial C(x, t)}{\partial x}$$

1.5.6. Reacciones químicas acopladas a la reacción electroquímica

El patrón de respuesta que se obtiene al aplicar un programa de perturbación sobre una interfase polarizada es característico de la magnitud y del tiempo de aplicación del programa, de la capacidad cinética de la interfase para intercambiar carga a través de ella y de la limitación por transferencia de masa en condiciones controladas generalmente por difusión hacia o desde la interfase (Baeza, 2011).

Además, el patrón de respuesta puede estar modificado por las reacciones químicas homogéneas acopladas a la reacción electroquímica manifestándose también al aplicar el programa de perturbación.

La combinación sistemática de los tiempos de perturbación y los tiempos en que estas reacciones químicas acopladas ocurren determinarán su grado de influencia y, por tanto, la capacidad de su detección experimental.

Clasificación de las reacciones químicas acopladas

Las reacciones pueden estudiarse en una amplia ventana de tiempo mediante técnicas electroquímicas (desde microsegundos a horas). Estos métodos tienen como característica especial de que las especies de interés se pueden sintetizar en la vecindad del electrodo mediante reacciones de transferencia de electrones y se pueden detectar y analizar electroquímicamente (Bard & Faulkner, 2001).

Los diferentes esquemas de reacción se suelen clasificar utilizando letras, las cuales indican la naturaleza de los pasos involucrados:

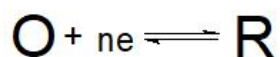
- E: reacción electroquímica.
- C: reacción química homogénea.
- EC: la secuencia involucra una reacción química después de una reacción electroquímica.
- X, Y y Z: representan especies que no son electroactivas en el intervalo de potencial de interés.

Reacciones que involucran una reacción electroquímica

a) Reacción CE

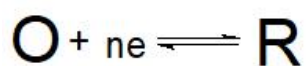


Ecuación 2.19.



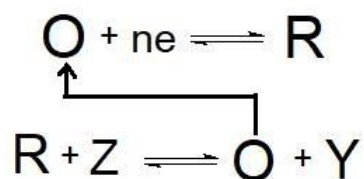
En esta secuencia primero ocurre la reacción química antes de la reacción electroquímica. La especie electroactiva es generada en una reacción previa.

b) Reacción EC

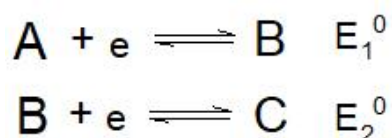


Ecuación 2.20.

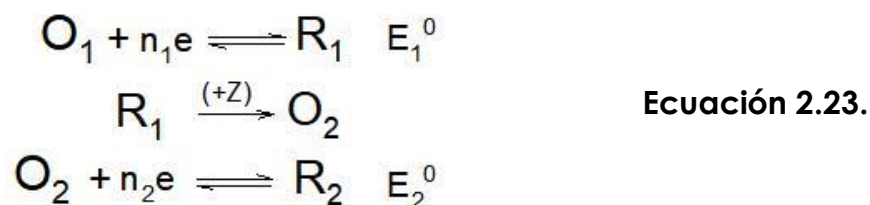
En este caso, la especie R reacciona para producir una especie no electroactiva al potencial en el cual se presenta la reducción del oxidante.

c) *Reacción catalítica (EC')***Ecuación 2.21.**

Este proceso involucra la reacción de R con una especie que no es electroactiva, Z, y se regenera la especie O. Si la especie Z está presente en un gran exceso en comparación con O, se trata de una reacción de pseudo – primer orden.

*Reacciones con dos o más pasos E*a) *Reacción EE***Ecuación 2.22.**

En este esquema de reacción se producen dos reacciones electroquímicas cada una a diferente valor de potencial. Es de interés particular el caso en el cual la segunda reacción procede de manera más espontánea que la primera. Generalmente, la especie que se forma al adicionar un electrón a una molécula o un átomo es más difícil de reducir en caso de considerar la electrostática; es decir, R⁻ es más difícil de reducir que R. Similarmente, R⁺ es más difícil de oxidar que R.

b) *Reacción ECE*

Cuando el producto de la reacción posterior a la electroquímica es una especie electroactiva al valor de potencial del par O_1/R_1 , ocurre una segunda reacción electroquímica.

c) *Reacción ECE*

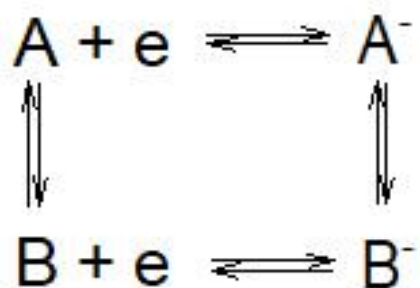
Este caso se presenta cuando el producto de una reacción química subsecuente a la reducción de A en el electrodo se oxida a potenciales donde A se reduce.

También existe la posibilidad de que ocurra la siguiente reacción:



En un potencial adecuado, el electrodo acelera una reacción que procede de manera lenta sin éste.

d) Esquemas cuadrados.



Ecuación 2.26.

Dos reacciones redox se acoplan a dos reacciones químicas en un patrón cíclico.

Este mecanismo se presenta con frecuencia cuando hay un cambio estructural en la reducción, como la isomerización cis – trans.

e) Otros esquemas de reacción.

Existe una gran variedad de esquemas de reacción, los cuales son combinaciones o variantes de los casos generales que se mencionaron anteriormente. En todos los esquemas, se observa dependencia de la reversibilidad de las reacciones electroquímicas y de las reacciones químicas acopladas. Por ejemplo, las subclases de las reacciones EC se pueden distinguir dependiendo de si son reversibles, quasirreversibles o irreversibles y se denotan como E_rC_r , E_rC_i , E_qC_i , etc.

El patrón de respuesta puede estar modificado por las reacciones químicas homogéneas acopladas a la reacción electroquímica manifestándose éstas también al ampliar el programa de perturbación. Así mismo, el grado de influencia de las reacciones químicas acopladas depende de la combinación sistemática de los tiempos de perturbación y los tiempos en que dichas reacciones ocurren (Baeza, 2011).

Tabla 3. Tiempos ventana aproximadas para las diferentes técnicas electroquímicas. Fuente: (Bard & Faulkner, 2001).

Técnica	Parámetro de tiempo	Intervalo del parámetro	Tiempo ventana(s)
Impedancia ac	$1/\omega = (2\pi f)^{-1} (s)$ $f = Hz$	$\omega = 10^{-2} - 10^5 s^{-1}$	$10^{-5} - 100$
Voltamperometría de disco rotatorio	$1/\omega = (2\pi f)^{-1} (s)^c$ $f = \text{velocidad de rotación, } r/s$	$\omega = 30 - 1000 s^{-1}$	$10^{-3} - 0.03$
Microscopía electroquímica de barrido	d^2/D	$d = 10 \text{ nm} - 10 \mu m$	$10^{-7} - 0.1$
Ultramicroelectrodo en estado estacionario	r_0^2/D	$r_0 = 0.1 - 25 \mu m$	$10^{-5} - 1$
Cronopotenciometría	$t(s)$	$10^{-6} - 50 s$	$10^{-6} - 50$
Cronoamperometría	$\tau(s)$	$10^{-7} - 10 s$	$10^{-7} - 10$
Cronocoulombimetría	$\tau(s)$	$10^{-7} - 10 s$	$10^{-7} - 10$
Voltamperometría de barrido lineal	$\frac{RT}{Fv} (s)$	$v = 0.02 - 10^6 V/s$	$10^{-7} - 1$
Voltamperometría cíclica	$\frac{RT}{Fv} (s)$	$v = 0.02 - 10^6 V/s$	$10^{-7} - 1$
Polarografía DC	$t_{\text{máx}} (\text{tiempo de goteo, } s)$	$1 - 5 s$	$1 - 5$
Coulombimetría	$t (\text{duración de electrólisis, } s)$	$100 - 3000 s$	$100 - 3000$
Electrólisis a microescala	$t (\text{duración de electrólisis, } s)$	$100 - 3000 s$	$100 - 3000$

Además, se ha reportado en la literatura las ecuaciones que relacionan el E, I y los parámetros cinéticos de la reacción química acoplada. Son útiles para hacer un análisis teórico de fitting, es decir, determinar información termodinámica y cinética de la reacción química acoplada ajustando las mediciones procesadas del patrón de respuesta a un comportamiento determinado para diversos valores de k, y sus respectivos parámetros de tiempo dependiendo de la técnica empleada.

1.6. Técnicas electroanalíticas

Las técnicas electroanalíticas se clasifican de acuerdo al programa de perturbación impuesto y al tipo de patrón de respuesta resultante el cual es utilizado con fines analíticos: cuantificar, monitorizar y caracterizar analitos y procesos químicos. Estas técnicas se dividen de acuerdo a la manera en que se realizan las mediciones y la perturbación de acuerdo al siguiente diagrama:

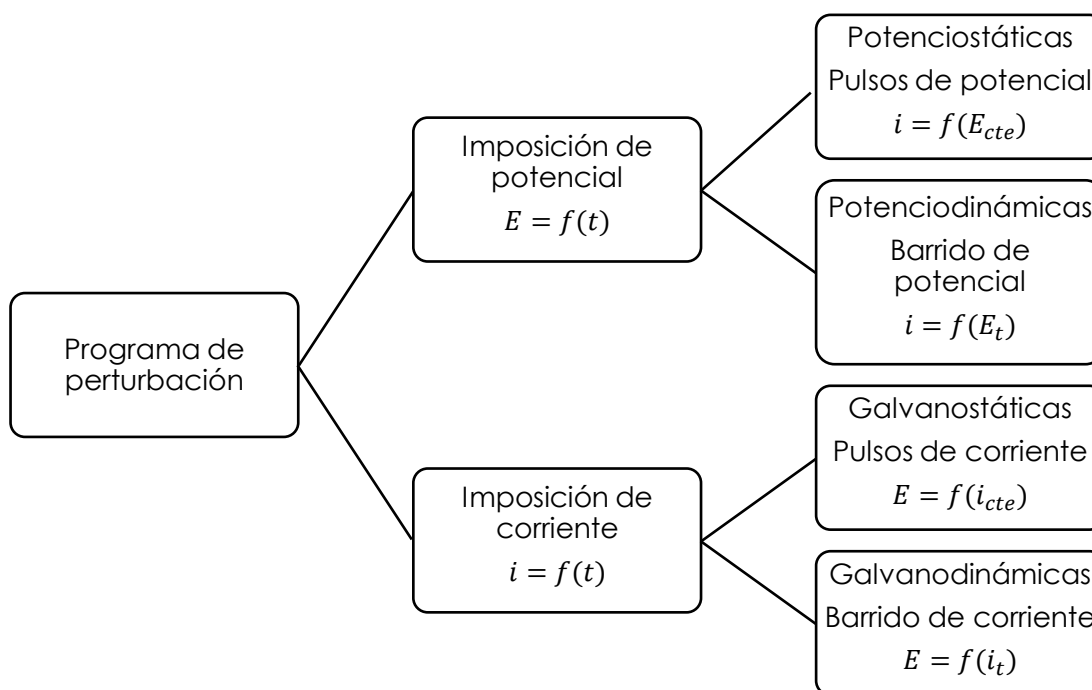


Figura 4. Programas de perturbación para diferentes técnicas electroanalíticas.

Para que una reacción electroquímica se lleva a cabo es necesario que se provoque una perturbación y se genere una respuesta de la cual se pueda obtener información que permitirá caracterizarla. Los tipos de patrones de perturbación que se tienen son los siguientes (Pingarrón Cazarrón, 2003):

- *Imposición de un pulso constante de potencial:* Mediante un potenciostato se impone una diferencia de potencial y se registra la corriente obtenida como función del tiempo. Para estas técnicas el transporte de masa se realiza por difusión, por lo que la curva $i - t$ refleja la disminución de la concentración del analito cerca del electrodo. En condiciones límite $i_d = kC_0$.

- *Imposición de un pulso constante de corriente:* Al imponer una corriente constante durante determinado tiempo se va a obtener como respuesta un cambio en la diferencia de potencial, el cual va a cambiar hacia valores característicos de del par redox. El potencial va a cambiar hacia valores en que otra especie pueda aportar los electrones (potencial y tiempo de transición) para seguir manteniendo la corriente constante y la concentración de la especie varía conforme ocurre la transferencia de electrones necesaria para para mantener la intensidad de corriente constante hasta que la cantidad de la especie se agota en las cercanías del electrodo. En condiciones límite $t_{transición} = kC_0$.
- *Variación lineal de potencial o corriente con el tiempo:* En este tipo técnicas se utiliza un barrido de potencial o de corriente que presenta una velocidad constante. La técnica más utilizada es la voltamperometría, ya que puede aportar información sobre los mecanismos de reacción de especie electroactivas.

En la **figura 5** se muestra gráficamente el programa de perturbación, así como la respuesta que se produce.

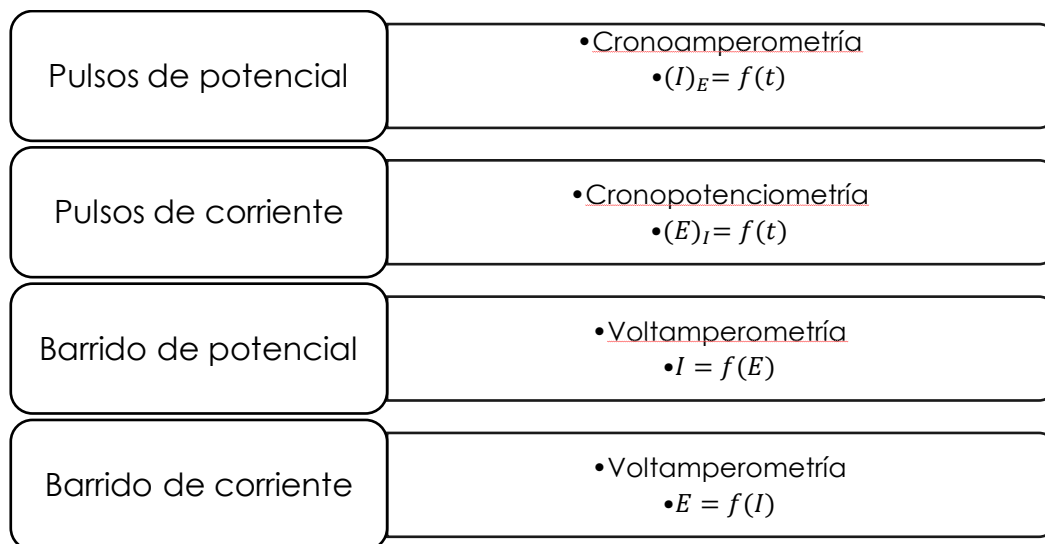


Figura 5. Respuestas obtenidas de diferentes programas de perturbación.

1.6.1. Voltamperometría cíclica

Esta es una de las técnicas potenciodinámicas que más se emplea para estudiar mecanismos de reacción, ya que rápidamente aporta información acerca del comportamiento redox de las especies, de las reacciones y en la determinación de parámetros termodinámicos. Suele ser el primer experimento que se lleva a cabo en un estudio electroquímico como primer diagnóstico. En el programa de perturbación para la VC, la señal es de tipo triangular, es decir, el potencial se barre linealmente desde un valor inicial $E_{inicial}$ hasta alcanzar un valor E_{final} . Aunque el barrido de potencial se termina al final del primer ciclo, puede continuarse hasta realizar un determinado número de ciclos sucesivos (Bard & Faulkner, 2001).

En la figura 6 se representa el programa de perturbación $E(t)$ triangular utilizada en voltamperometría cíclica.

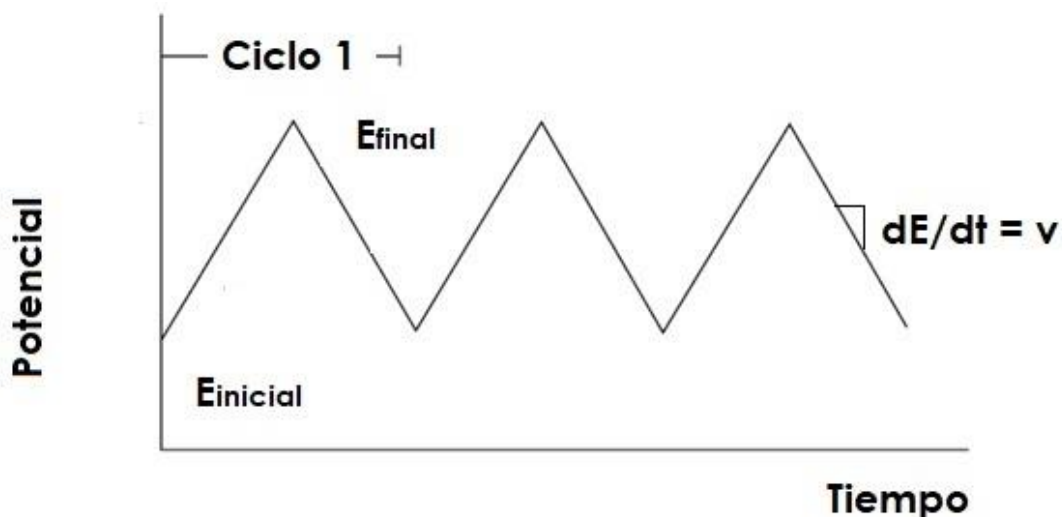


Figura 6. Programa de perturbación para voltamperometría de barrido triangular a n ciclos.

El patrón de respuesta obtenida de este programa de perturbación da origen a lo que se conoce como voltamperograma cíclico. Este se obtiene graficando la corriente leída al potencial asociado, en una curva de $E = f(i)$. En la figura 7 se muestra un voltamperograma cíclico así como las magnitudes físicas de respuesta (García-Mendoza, 2011).

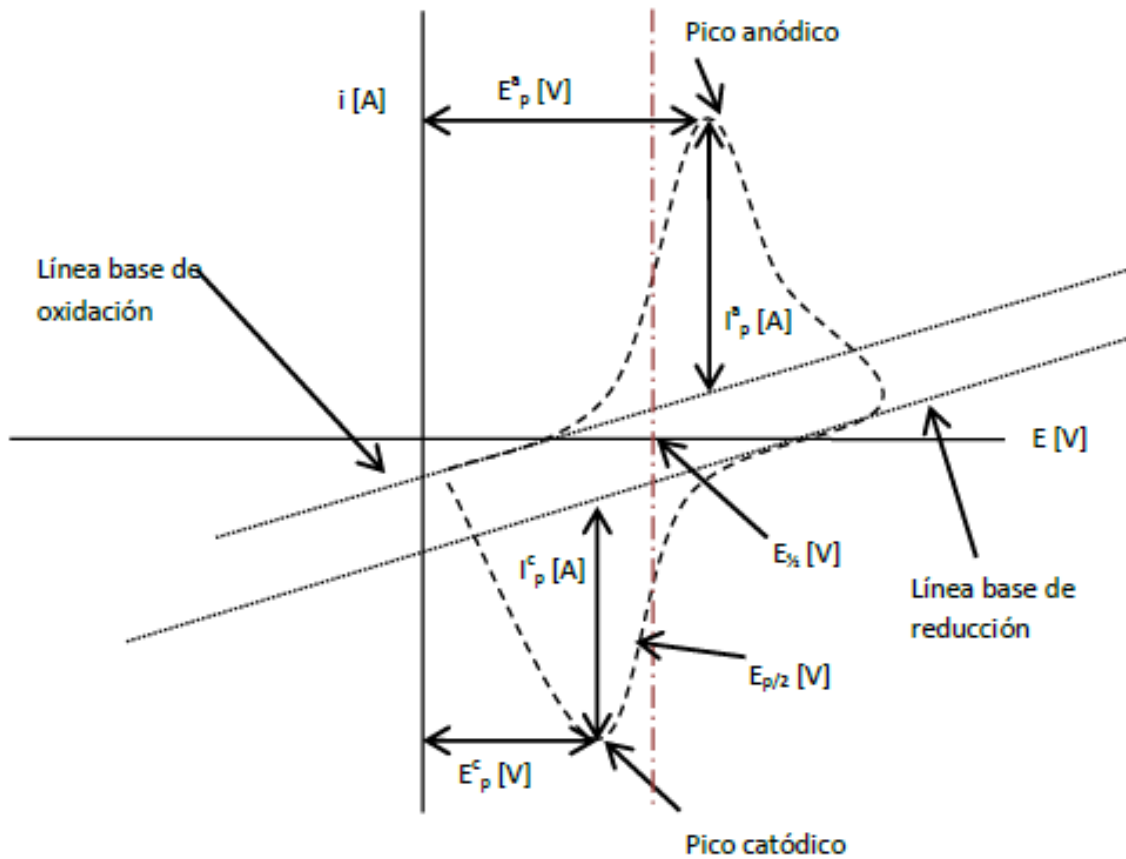


Figura 7. Componentes de un voltamperograma. Fuente: (Pingarrón Cazarrón, 2003)

- E_{pc} = potencial de pico catódico
- E_{pa} = potencial de pico anódico
- i_{pc} = intensidad de corriente de pico catódico
- i_{pa} = intensidad de corriente de pico anódico

Con esta técnica se puede electrolizar una especie e invertir el potencial para formar el par redox. Así, se puede estudiar la cinética de las reacciones o detectar la aparición de especies intermedias en los procesos variando el tiempo ventana determinado por la velocidad de barrido de potencial esencialmente.

En la figura 8 se muestra un voltamperograma cíclico típico, sin reacciones químicas acopladas, obtenido sobre un electrodo de pasta de carbono para una disolución de Fe^{2+} 10^{-3} mol/L en H_2SO_4 1 mol/L como electrolito soporte. La flecha indican la dirección del barrido de potencial (Pingarrón Cazarrón, 2003).

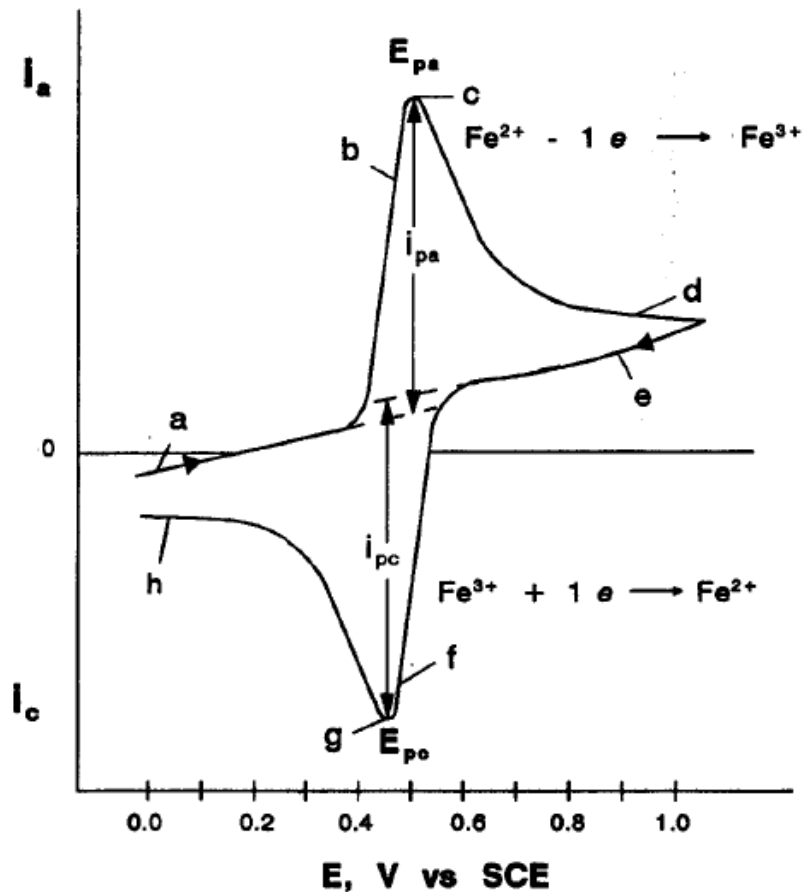


Figura 8. Voltamperograma obtenido evidencia un sistema rápido sin reacciones químicas acopladas evidentes. Fuente: (Pingarrón Cazarrón, 2003)

Durante el barrido directo, el potencial es lo suficientemente positivo como para producir la oxidación del Fe^{2+} , dando lugar a una corriente anódica que aumenta rápidamente hasta que la concentración de Fe^{2+} en la superficie del electrodo tiende a cero. Cuando se produce el agotamiento de Fe^{2+} en las cercanías del electrodo hay decaimiento en la corriente debido a su conversión en Fe^{3+} . Esto se ve ilustrado por medio de los perfiles de concentración – distancia (a-e).

Al invertir la dirección de barrido de potencial, la oxidación prosigue hasta que llega a un valor lo suficientemente negativo para proceder con la reducción del Fe^{3+} acumulado que viene señalada por la aparición de una corriente catódica. Así, la voltamperometría cíclica genera rápidamente una nueva especie en la interfase durante el barrido directo y a continuación probar su existencia en el barrido inverso.

En esta técnica, los parámetros de interés son las magnitudes de corrientes de pico, i_{pa} e i_{pc} y su relación i_{pa}/i_{pc} , y la separación entre los potenciales de pico, $E_{pa} - E_{pc}$. Para obtener las intensidades de pico hay que extrapolar una línea base que se suele tomar como la corriente existente antes de que el pico comience a desarrollarse en cada uno de los barridos. Para ello, hay que asegurarse de establecer una línea base correcta para la medida exacta de las corrientes de pico, lo que resulta complicado en sistemas complejos, ya que la línea base no es la misma que la corriente residual obtenida en un experimento idéntico.

Cuando se trata de un sistema reversible cuyo producto es estable, sin reacciones químicas acopladas, se puede identificar por voltamperometría cíclica midiendo la diferencia entre E_{pa} y E_{pc} . A 25 ° C:

Ecuación 2.27.

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} \approx \frac{59}{n} mV$$

En donde n es el número de electrones transferidos y E_{pa} y E_{pc} son los potenciales de pico anódico y catódico, respectivamente en mV. Esta separación de $\frac{59}{n} mV$ para ΔE_p es independiente de la velocidad de barrido de potencial.

El potencial intermedio entre los dos potenciales de pico es el valor del potencial formal del par redox (con respecto al electrodo de referencia).

Ecuación 2.28.

$$E^{0'} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2}$$

Los valores de i_{pa} e i_{pc} para un sistema reversible y en el cual no se presentan complicaciones cinéticas, son iguales y la relación $i_{pa}/i_{pc} \approx 1$, independientemente de la velocidad de barrido de potencial.

La voltamperometría cíclica es una técnica muy utilizada en todos los campos de la química como método de estudio de los estados redox, ya que permite barrer rápidamente un amplio intervalo de potenciales tanto para especies oxidables como reducibles gracias a la escala de tiempo variable de la técnica y su buena sensibilidad. El aspecto más útil de la voltamperometría cíclica es su aplicación al diagnóstico cualitativo de

reacciones electródicas así como evidenciar reacciones químicas homogéneas acopladas.

1.6.2. Cronoamperometría

La cronoamperometría es una técnica electroquímica en la cual se mantiene un potencial constante en un determinado tiempo (Donald T. Sawyer, 1995). La corriente fluye por el electrodo utilizado y se monitoriza en función del tiempo. La excitación consiste en un salto de potencial desde un valor inicial $E_{inicial}$ hasta un segundo potencial E_{final} cuyo valor es suficiente para efectuar el proceso redox de manera instantánea y un transporte de materia por difusión. Este cambio de potencial provoca la aparición de una corriente instantánea muy elevada, conocida como corriente capacitiva hasta que predomina la corriente farádica debida al gradiente de difusión (Pingarrón Cazarrón, 2003).

Considerando el caso en el que se tiene la especie electroactiva Ox, se va a iniciar con un valor de potencial $E_{inicial}$, en el cual no ocurre proceso electroquímico alguno. Al imponer un pulso de potencial E_{final} en donde la electrorreducción de Ox es tan rápida que no puede coexistir al electrodo, la concentración de Ox descenderá hasta tender a cero. El pulso se mantiene constante durante un tiempo determinado y la transferencia de masa es mediante difusión pura, limitando la región en la cual E_{final} es impuesto.

El modelo matemático que describe estos fenómenos es denominado como la ecuación de Cottrell y se aplica cuando el electrodo es de microdisco.

Ecuación 2.29.

$$i(t) = \frac{nFAC_{ox}D_{ox}^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} = kt^{-1/2}$$

Es posible apreciar que el efecto de la disminución de las especies electroactivas cercanas a la superficie es caracterizado por una función inversa de $t^{1/2}$.

Las principales ventajas que presenta esta técnica, en condiciones controladas, son las siguientes (Goycochea, 2016):

- Alta sensibilidad
- Selectividad hacia especies electroactivas
- Amplio intervalo de linealidad
- Instrumentación de bajo costo
- Capacidad de especiación
- Se pueden utilizar diversos electrodos para ensayos en medios poco comunes
- Bajo límite de detección

Esta técnica, presenta además las siguientes limitaciones (Wang, 2006):

- Limitaciones potencioestáticas: La ecuación de Cottrell predice muy altas corrientes para tiempos muy cortos, pero la corriente máxima actual puede ser dependiente de la corriente y voltaje de salida características del potencioestato.
- Limitaciones debidas a la convección: Se presentan gradientes de densidad y desviaciones por las vibraciones, causando ruptura de la capa de difusión y produciendo corrientes más grandes que aquellas determinadas por la ecuación de Cottrell.

Teniendo esto en cuenta se puede decir que por lo general las mediciones realizadas a tiempos mayores de 300 segundos son difíciles y que mediciones menores de 20 segundos pueden mostrar algunos efectos convectivos. Así, el tiempo-ventana adecuado dentro de las mejores condiciones experimentales es aproximadamente entre 20 microsegundos 200 segundos (Bard & Faulkner, 2001).

1.7. Validación

La validación de un método analítico es el proceso mediante el cual queda establecido que la capacidad de un método analítico satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. (Criterios para la validación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos., 2017)

Este proceso es precedido por la fase desarrollo, la cual puede involucrar la adaptación de un método ya existente haciendo pequeñas

modificaciones que resulten adecuadas para una aplicación nueva (Örnemark, 2014).

Un laboratorio debe validar (Guadarrama, 2001):

- ✓ Métodos no estándar.
- ✓ Métodos diseñados por el mismo laboratorio.
- ✓ Métodos estándar utilizados fuera de alcance previsto.
- ✓ Amplificaciones y modificaciones de métodos estándar.
- ✓ Cuando se necesite demostrar la equivalencia de resultados obtenidos por dos métodos diferentes.

1.7.1. Clasificación del método.

Método normalizado.

Se considera que un método es normalizado cuando se encuentra publicado en:

- Normas Oficiales Mexicanas (NOM).
- Normas Mexicanas (NMX).
- Métodos oficiales del AOAC.
- Standard Methods.
- Environmental Protection Agency (EPA).
- Pesticide Analytical Manual (PAM).
- Collaborative International Pesticides Analytical Council (CIPAC).
- American Society for Testing Materials (ASTM).
- International Standard Organization (ISO).
- Codex Alimentarius.
- Food and Drug Administration (FDA).
- Food and Agriculture Administration (FAO).
- European Commission (CE).
- United States Department of Agriculture (USDA).

Método no normalizado.

Un método no normalizado es aquel desarrollado por el laboratorio o un método nuevo publicado en revistas científicas o notas técnicas.

Para realizar el estudio de validación de un método diseñado por un laboratorio, primero se establece el objetivo de aplicación evaluando exactitud, repetibilidad y reproducibilidad (Farmacéuticos, 2002).

1.7.2. Definiciones.

- **Linealidad.** La linealidad de un sistema o método analítico es su capacidad para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Estos resultados pueden ser obtenidos de manera directa o por medio de un tratamiento matemático bien definido.
- **Intervalo.** Se define por las concentraciones comprendidas entre los niveles de concentración superior e inferior de las sustancias en el cual el método es preciso, exacto y lineal.
- **Exactitud.** La exactitud de un método analítico es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y un valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de cantidades conocidas de analito.
- **Precisión.** Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea.
 - a) Precisión intermedia: 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.
 - b) Repetibilidad: Es una medida de la variabilidad de los resultados cuando un analista lleva a cabo las mediciones, utilizando el mismo equipo bajo las mismas condiciones y en un periodo corto de tiempo.

Condiciones de repetibilidad:

- ✓ El mismo procedimiento, analista/observador, ubicación, instrumento y condiciones de medición.
- ✓ Mediciones repetidas dentro de un corto período de tiempo.

c) Reproducibilidad: Es una medida de la variabilidad de los resultados en determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

- **Límite de detección.** Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.
- **Límite de cuantificación.** Es la menor concentración de una sustancia en una muestra que puede ser detectada con precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones de operación establecidas.
- **Recuperación.** La recuperación es el cociente entre la cantidad de analito medida y el contenido en la muestra. En el caso ideal, se obtiene un 100%. En mediciones experimentales puede perderse analito especialmente en el caso de tratamientos complejos de muestras con analito en cantidades traza, dando lugar a porcentajes de recuperación menores (Criterios para la validación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos., 2017).

Capítulo 2.

Desarrollo experimental

2. Desarrollo experimental.

2.1. Reactivos.

- Disolución estándar de agua en metanol 0.38 mol/L.
- Reactivo de Karl Fischer comercial (MERCK®) Lote 9050317/02 con un título nominal de 1 mL KFS / 5 mg H_2O (1 mL KFS / 0.27 mmol H_2O).
- Disolución de nitrato de amonio 0.5 mol/L en metanol (EBS)
- Metanol Anhidro (Karat®) Lote 18077 con una pureza del 99.8%

2.2. Materiales y equipo.

A continuación, se mencionan los materiales y el equipo utilizado. En la figura 7 se muestra el montaje del sistema de análisis.

- Jeringa de 10 mL contenedora de disolución estándar.
- Jeringas de 20 mL contenedoras de disolución de Karl Fischer
- Desecador para almacenar las disoluciones y reactivos.
- Jeringas de Insulina de 1 mL.
- Jeringa de 3 mL sin émbolo rellena de $CaCl_2$ y tapada con algodón como desecador.
- Botella de plástico etiquetada para el almacenamiento de residuos.
- Agitador magnético.
- Barra de agitación magnética.
- Potenciostato/Galvanostato PGP201 Radiometercopenhagen
- Celda de vidrio de capacidad de 8 mL
- Electrodo de platino de disco
- Barra de grafito
- Electrodo de referencia $Ag^0 | AgCl_{(s)} | NH_4NO_3$ 0.5 M en MetOH | |

2.3. Preparación de disoluciones

- La solución estándar se preparó pesando una masa de 1.6 g de agua tipo I en una jeringa de insulina. Metanol c.b.p 10 mL.
- El electrolito soporte (EBS) se preparó pesando 0.24 g de NH_4NO_3 . Metanol c.b.p 10 mL.

2.4. Sistema de análisis

EA: Barra de grafito

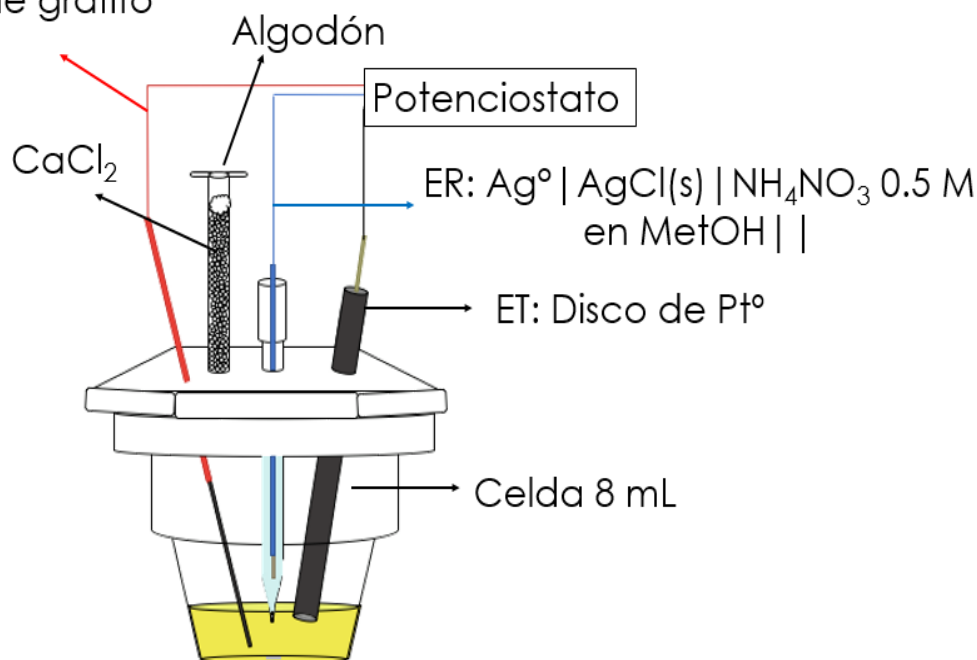


Figura 9. Sistema de análisis.

2.5. Desarrollo del método

Para el desarrollo del método primero se obtuvieron los potenciales de oxidación y de reducción del yodo en la KFS por voltamperometría cíclica bajo el siguiente patrón de perturbación:

- $E_1 = -1000 \text{ mV vs. ER}$
- $E_2 = 1000 \text{ mV vs. ER}$
- $v = 500 \text{ mV/s}$

Se colocó 1 mL de la solución EBS en la celda electroquímica y se agregaron 500 μL de KFS. Se procedió a medir bajo las condiciones ya mencionadas.

Una vez obtenidos los potenciales de oxidación y de reducción del yodo se procedió a realizar el análisis cronoamperométrico a régimen de difusión pura por imposición un pulso constante de potencial impuesto por el equipo descrito, $E_{\text{impuesto}} = f(t)$. Se obtiene así un registro en el cual la pendiente del perfil de concentración en la superficie disminuye con el tiempo, y del mismo modo ocurre con la corriente.

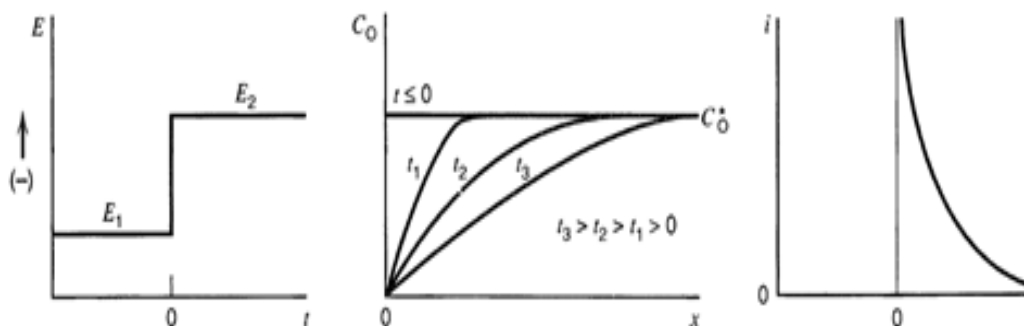


Figura 10. De izquierda a derecha: programa de perturbación, perfil de concentración y patrón de respuesta para un experimento básico de imposición de potencial.

- Se colocó 1 mL de EBS en la celda y se agregaron 100 μL de KFS (EBST) para neutralizar el agua presente en el medio, se trazó su cronoamperograma a un potencial de 370 mV y después se agregaron 500 μL de la solución estándar. Se hizo la titulación con KFS haciendo adiciones de 50 μL hasta completar 1 mL.

La titulación se hizo por triplicado y se determinó el título de la solución de KFS.

2.6. Validación

Una vez que se obtuvo el título del reactivo en el medio propuesto, se impusieron las condiciones adecuadas para llevar a cabo la validación.

Se prepararon las siguientes soluciones:

- La solución estándar se preparó pesando una masa de 0.7 g de agua Tipo I en una jeringa de insulina. Metanol c.b.p 10.0 mL.
- El electrolito soporte (EBS) se preparó pesando 0.24 g de NH_4NO_3 . Metanol c.b.p 10.0 mL.

2.6.1. Linealidad del sistema

Para comprobar que el sistema da una respuesta proporcional a la cantidad de analito, se preparó una curva de calibración adicionando volúmenes crecientes de una solución estándar de agua tipo I 0.7% m/v en metanol agregando la cantidad de KFS necesaria para neutralizar el agua. Se registró la corriente en $t=60$ s. El experimento se ejecutó por triplicado.

2.6.2. Precisión del sistema

Repetibilidad

Se determina por el análisis sextuplicado una alícuota de la solución estándar de 500 μL .

Precisión intermedia

Dos analistas diferentes del mismo laboratorio analizan por triplicado una alícuota de estándar de agua.

2.6.3. Exactitud

Se analizan por sextuplicado tres alícuotas diferentes de la solución estándar.

2.6.4. Límites de detección y límites de cuantificación

Se obtienen a partir de los datos obtenidos de la curva de calibración. El tratamiento matemático correspondiente se presenta en el anexo I.

Capítulo 3.

Resultados

3. Resultados

3.1. Desarrollo del método

A continuación, se muestra el voltamperograma que se obtuvo de la voltamperometría cíclica para fijar el valor del pulso potencial para el estudio cronoamperométrico.

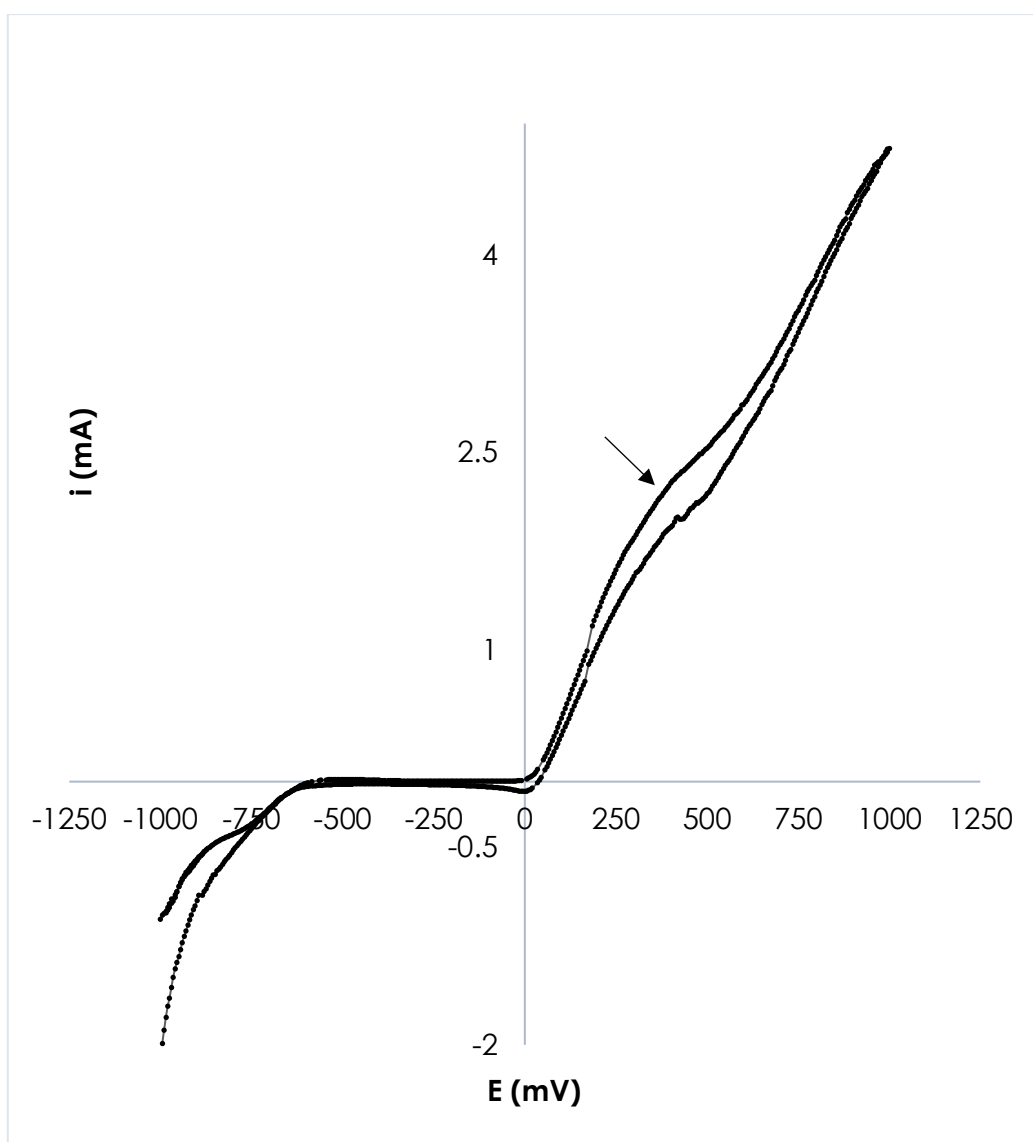


Figura 11. Voltamperograma de las especies presentes en KFS. En 370 mV se encuentra la señal de oxidación del yodo. ET: Pt^o; ER: Ag^o | AgCl_(s) | NH₄NO₃ 0.5 M en MeOH | | ; EA: Grafito.

El potencial de oxidación obtenido en la voltamperometría cíclica coincide con el que se reporta en la literatura (Guiñón, Grima, & García-Anton, 1991)

Posteriormente, se presentan los cronoamperogramas obtenidos de cada una de las mediciones, así como la curva de titulación y los resultados de la determinación de la eficiencia de la KFS.

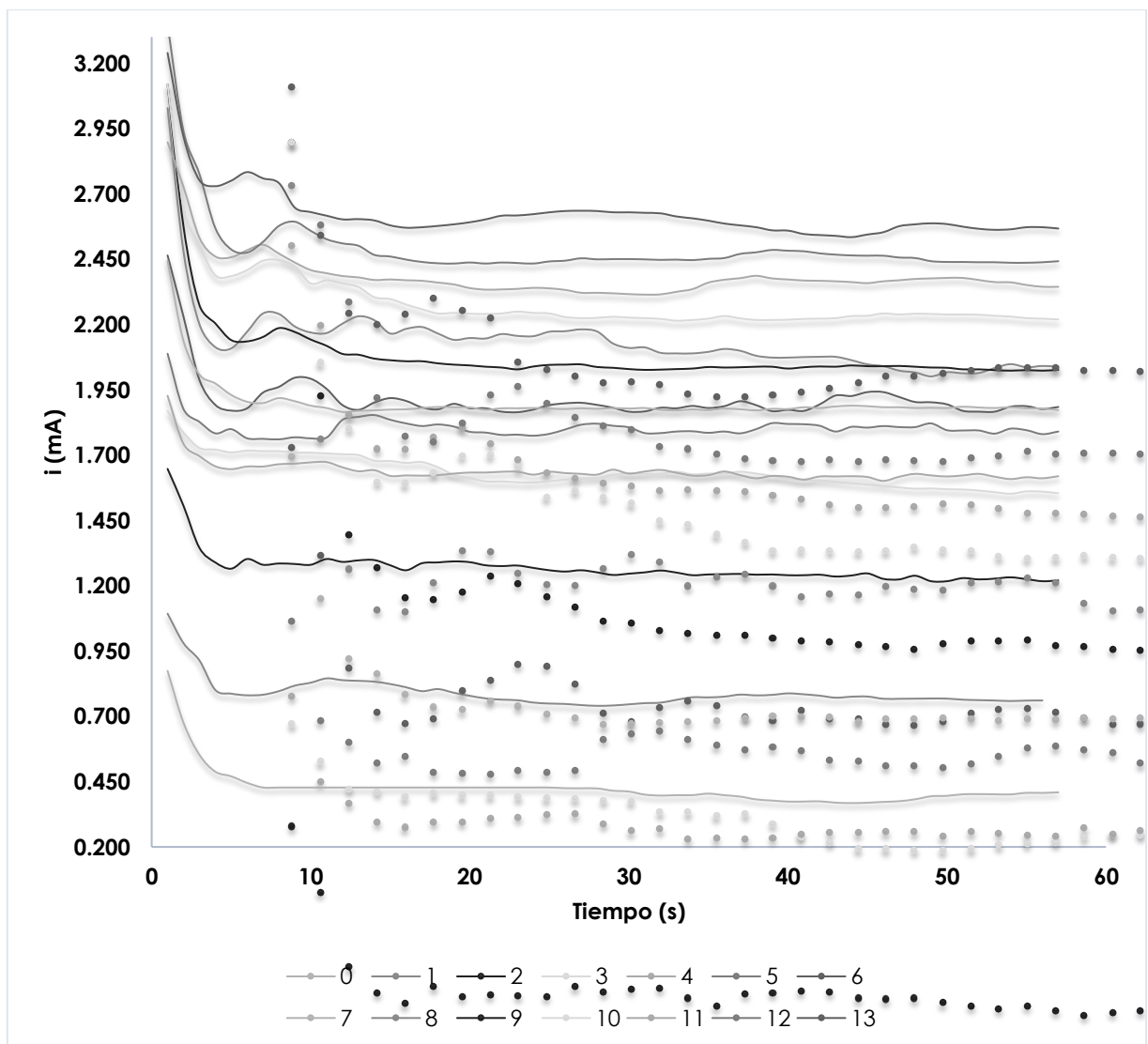


Figura 12. Cronoamperogramas de la curva de titulación. ET: Pt^o; ER: Ag^o | AgCl(s) | NH₄NO₃ 0.5 M en MeOH | | ; EA: Grafito.

En los cronoamperogramas mostrados en la figura anterior se aprecia que la corriente obtenida como respuesta aumenta proporcionalmente al aumentar la cantidad de agua.

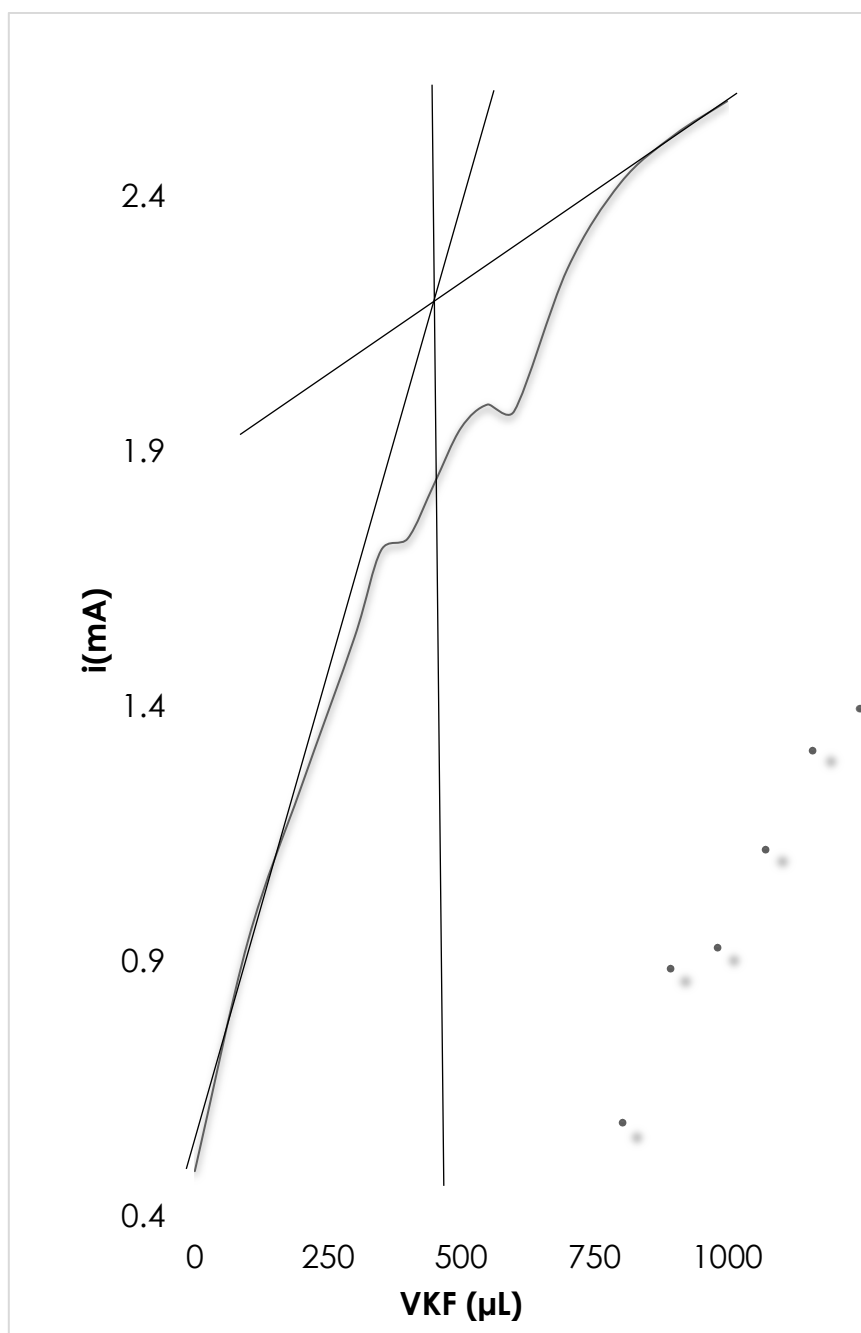


Figura 13. Curva de titulación cronoamperométrica.

El punto final de la titulación se obtuvo mediante la intersección de las líneas tangentes.

Tabla 4. Resultado de la determinación de la eficiencia de la KFS.

Ensayo	V_{KFS}(μL)	Eficiencia de KFS (mg H₂O/mL KF)
1	450	5.7
2	450	5.7
3	400	6.4
4	450	5.7
5	450	5.7
Promedio	440	5.84
D.E		0.31
C.V(%)		5.4

El coeficiente de variación presentado en la tabla anterior si bien no está en el intervalo que indican las normas oficiales de validación, es un valor aceptable por las condiciones en las que se trabajó, que fueron en microescala y tomando en cuenta que la humedad atmosférica es una fuente de error importante.

3.2. Validación del método

3.2.1. Linealidad del sistema.

Se muestran los valores de la cantidad de agua en mg, la cantidad de KFS agregada en μL y los valores de la intensidad de corriente registrados. Se corrigió el valor de la corriente de electrólisis restando el valor que se obtuvo para el blanco.

Tabla 3. Valores obtenidos de la prueba de linealidad.

Cantidad de agua (mg)	VKF (μL)	Corriente (mA)				Corriente corregida (mA)			
		1	2	3	Media	1	2	3	Media
0.000	0	1.402	1.445	1.490	1.446	0.000	0.000	0.000	0.000
0.690	120	1.590	2.028	2.059	1.892	0.188	0.583	0.569	0.447
1.380	240	2.196	2.239	2.233	2.223	0.794	0.794	0.743	0.777
2.070	350	2.535	2.553	2.585	2.558	1.133	1.108	1.095	1.112
2.760	470	2.864	2.788	2.714	2.789	1.462	1.343	1.224	1.343
3.450	600	3.082	3.053	3.082	3.072	1.680	1.608	1.592	1.627
DE	0.1540								
CV (%)	27.66								
r^2	0.989								

En este primer ensayo se obtuvo evidencia de que el sistema es lineal, responde proporcionalmente al incrementar la cantidad de agua y con ello es posible cuantificarla.

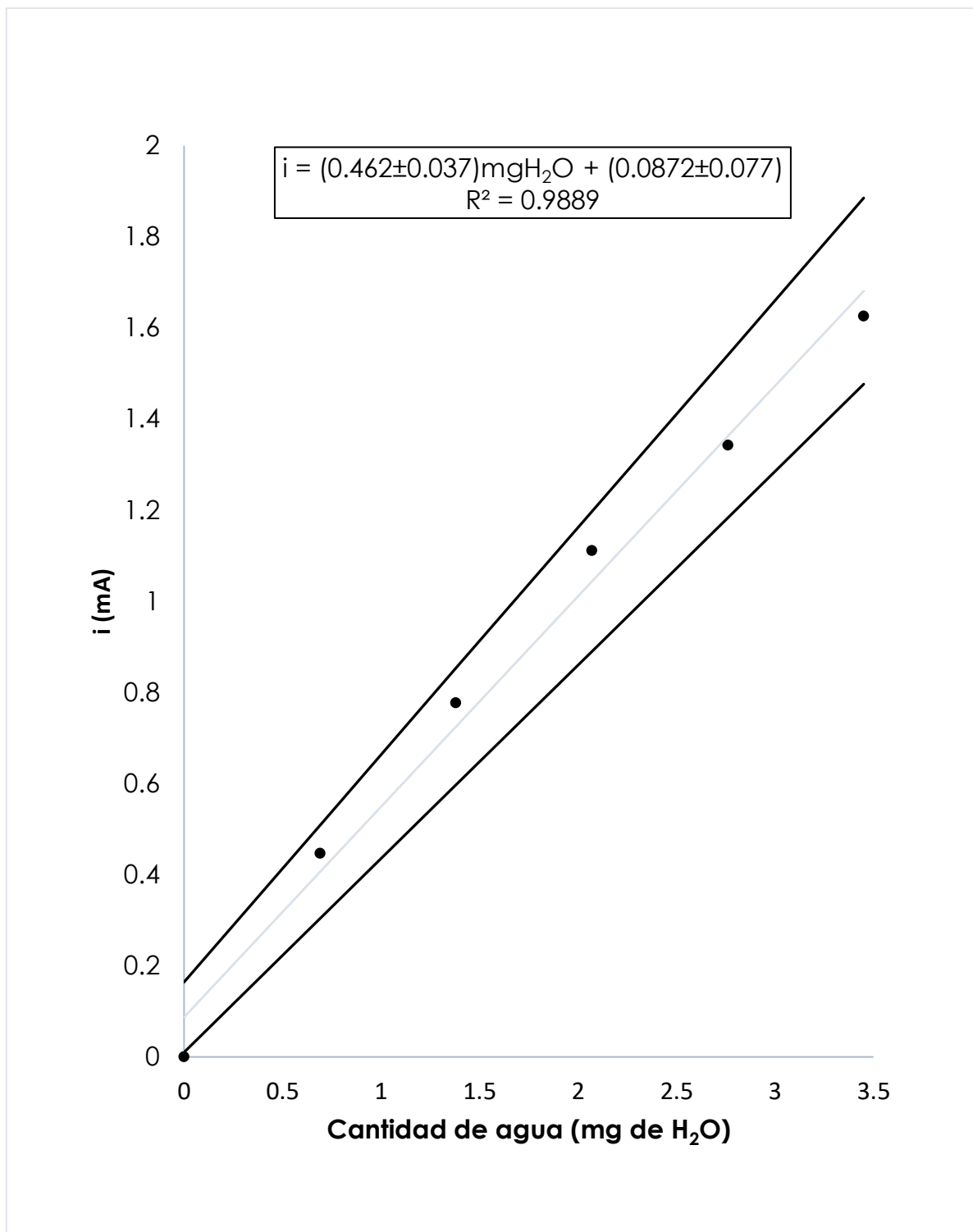


Figura 14. Curva de calibración con cinturón de confianza. Intervalo de confianza al 95%.

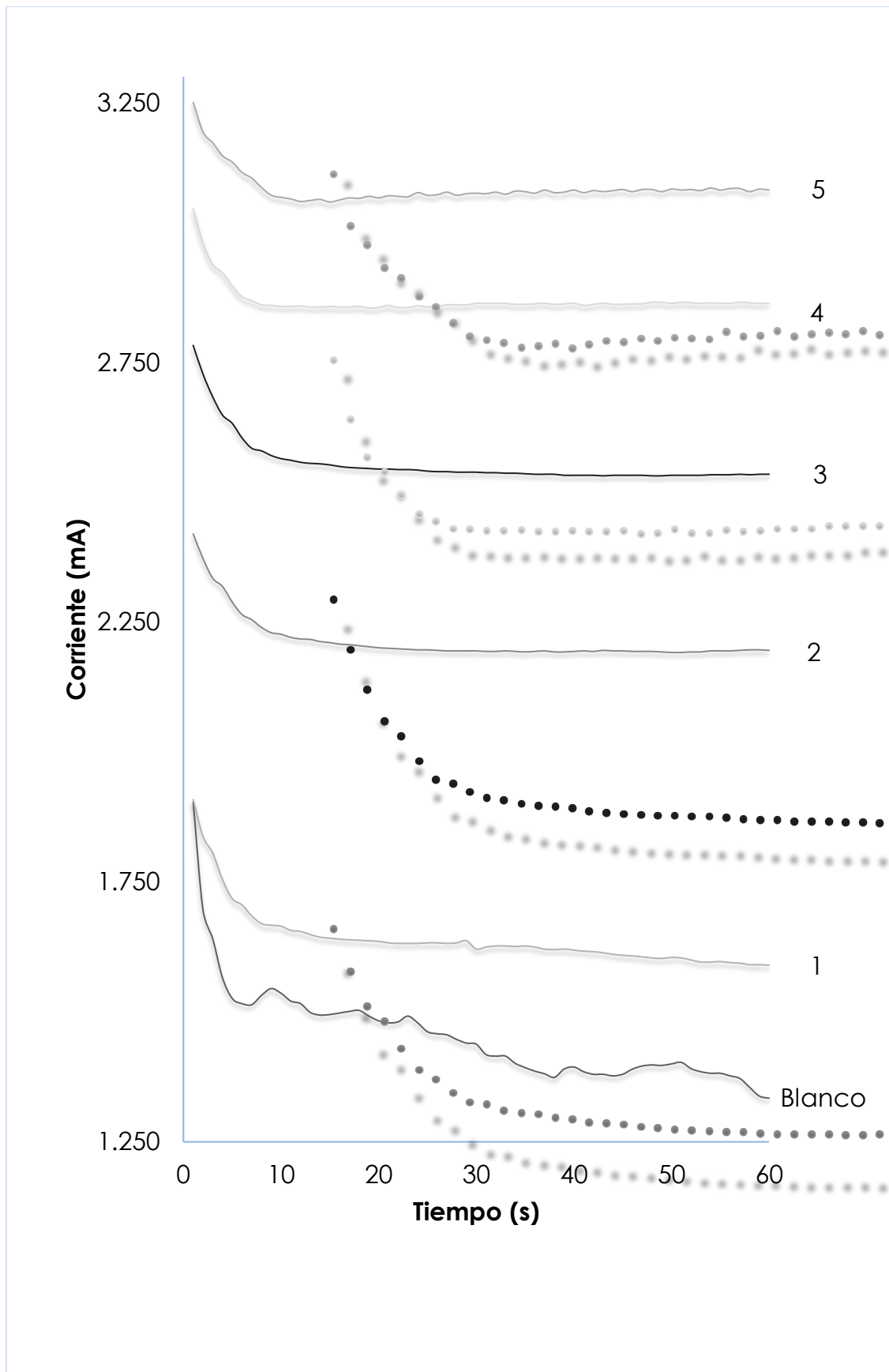


Figura 15. Cronoamperogramas obtenidos para la linealidad del sistema.

3.2.2. Precisión del sistema.

Tabla 6. Resultados de la evaluación estadística para la precisión del sistema.

Réplica	Corriente
1	3.187
2	2.819
3	3.114
4	2.924
5	2.911
6	2.879
<hr/>	
Media	2.972
DE	0.145
CV (%)	4.863

El coeficiente de variación obtenido, aunque fue mayor al establecido en las referencias, nos indica que este método es preciso en las condiciones de trabajo.

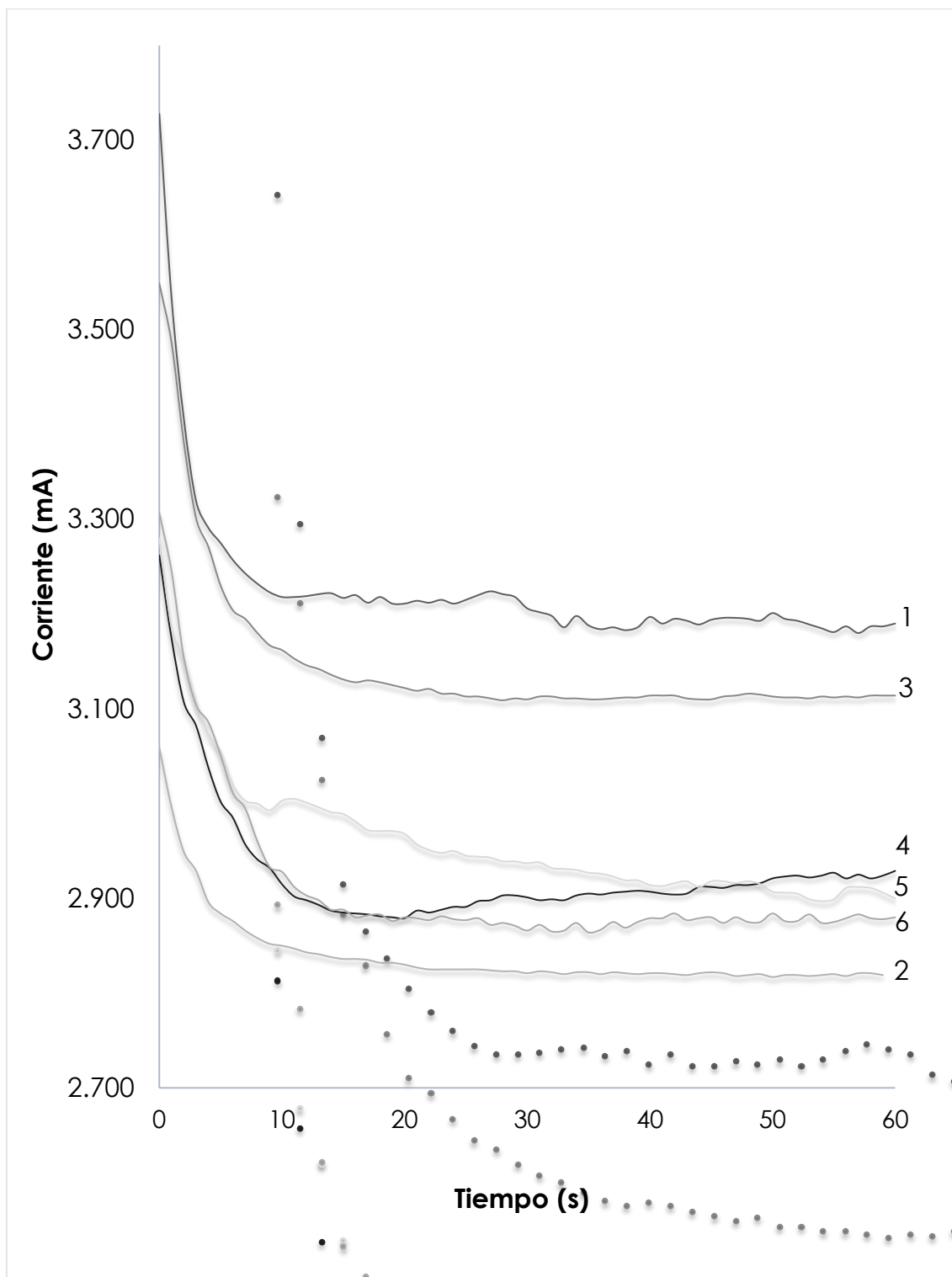


Figura 16. Cronoamperogramas obtenidos en la evaluación de la precisión del sistema.

3.2.3. Exactitud y repetibilidad

Tabla 7. Datos de mg de agua y mA para la evaluación de la precisión del sistema.

	Cantidad de agua(mg)	1.92	3.40	4.92
Corriente mA	Réplica 1	2.19	3.45	3.93
	Réplica 2	1.87	3.39	4.75
	Réplica 3	1.48	3.40	4.99
	Réplica 4	2.28	3.50	4.62
	Réplica 5	2.28	3.57	5.06
	Réplica 6	1.77	3.47	4.43

Tabla 8. Porcentaje recuperado para el ensayo de exactitud del método.

Réplica 1	114.44	101.39	79.90
Réplica 2	97.75	99.75	96.55
Réplica 3	77.02	99.98	101.51
Réplica 4	118.89	103.00	94.06
Réplica 5	119.10	105.11	102.97
Réplica 6	92.19	102.07	90.04
D.E	11.18		
C.V	10.90%		

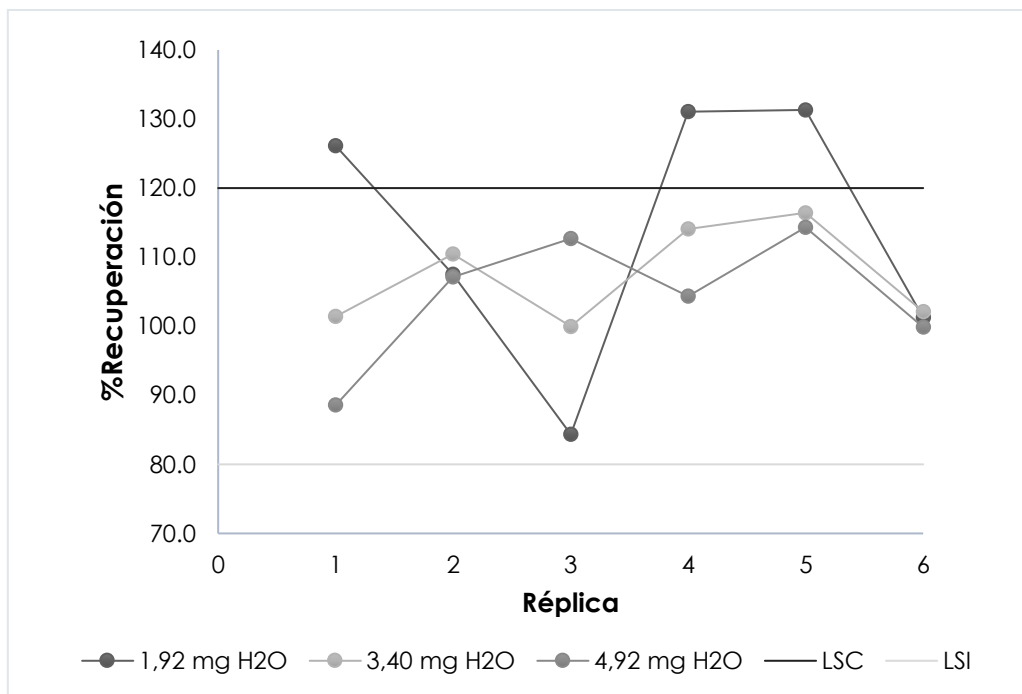


Figura 17. Diagrama de control de exactitud para los porcentajes recuperados.

De manera gráfica, en la figura 15 se observa que a cantidades muy pequeñas de agua el método pierde exactitud, ya que en tres réplicas el porcentaje de recuperación obtenido está muy por arriba del límite superior (Montgomery, 2009).

3.2.4. Precisión intermedia

Ensayo de reproducibilidad. Se expresan los porcentajes recuperados con respecto a la cantidad de agua en la alícuota de estándar.

Concentración de la solución estándar: 0.7%

Volumen de la alícuota: 500 μ L

Cantidad de agua en la alícuota: 3.5 mg

Tabla 9. Porcentajes recuperados.

	Analista 1 (%)	Analista 2 (%)
	137.46	123.80
Día 1	113.84	110.32
	99.68	85.02
	96.22	120.95
Día 2	112.79	102.89
	108.83	108.83

$$CV(\%) = 12.4$$

El coeficiente de variación en este ensayo nos indica que el método no es idealmente reproducible. Se pueden hacer mejores en cuanto al aislamiento del sistema de la humedad del ambiente como del uso de un electrodo de referencia adecuado para este tipo de análisis.

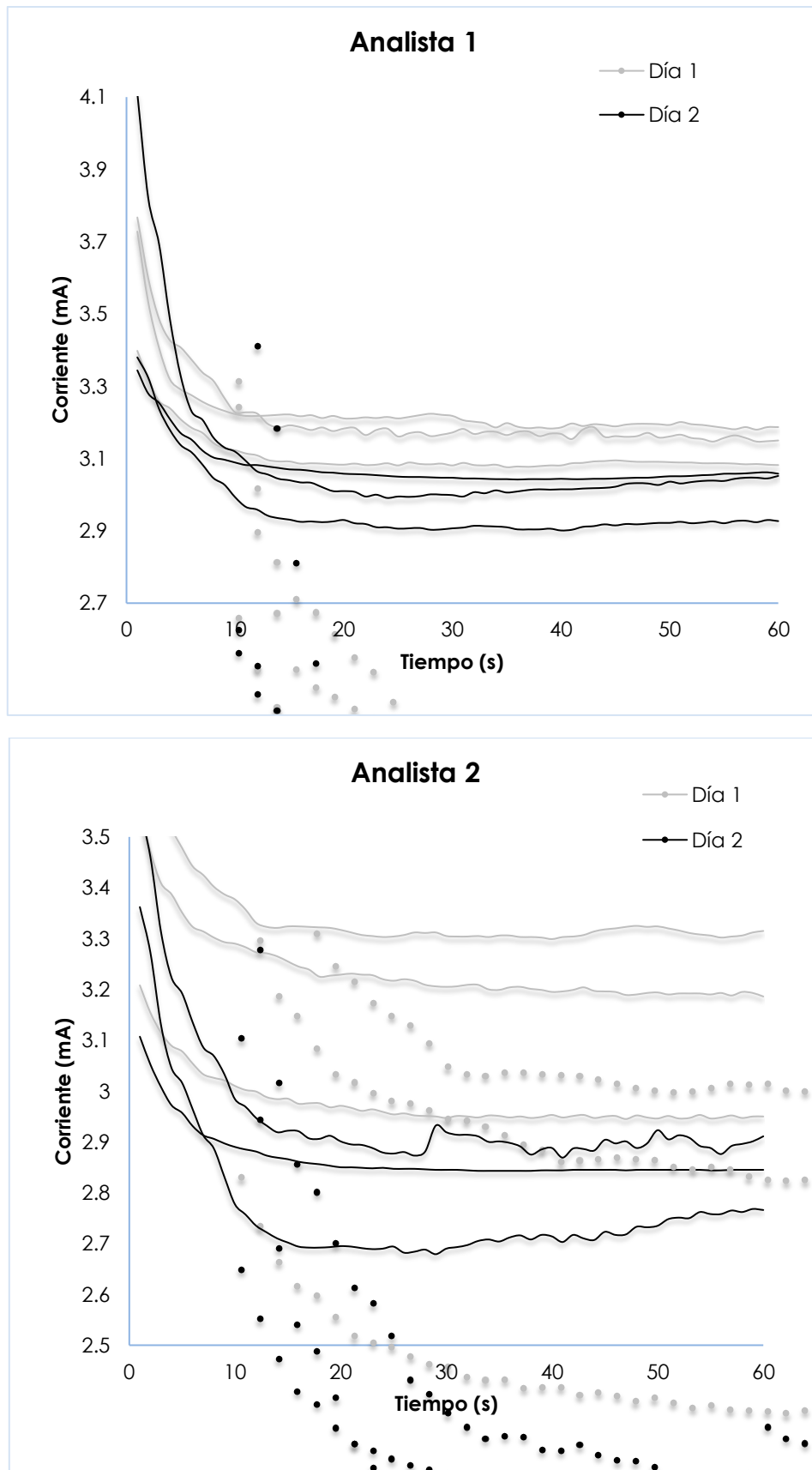


Figura 18. Cronoamperogramas obtenidos del ensayo de precisión intermedia.

3.2.5. Límites de detección y cuantificación.

Los límites de detección se determinaron a partir de la estadística de la curva de calibración sin restar el valor de corriente que se obtuvo del blanco. La cantidad mínima de agua que es posible detectar con este método es de 0.51 mg y la mínima que se puede cuantificar es de 1.70 mg. Con esto, el tipo de muestras que es posible analizar

Límite de detección (mg H ₂ O)	Límite de cuantificación (mg H ₂ O)
0.51	1.70

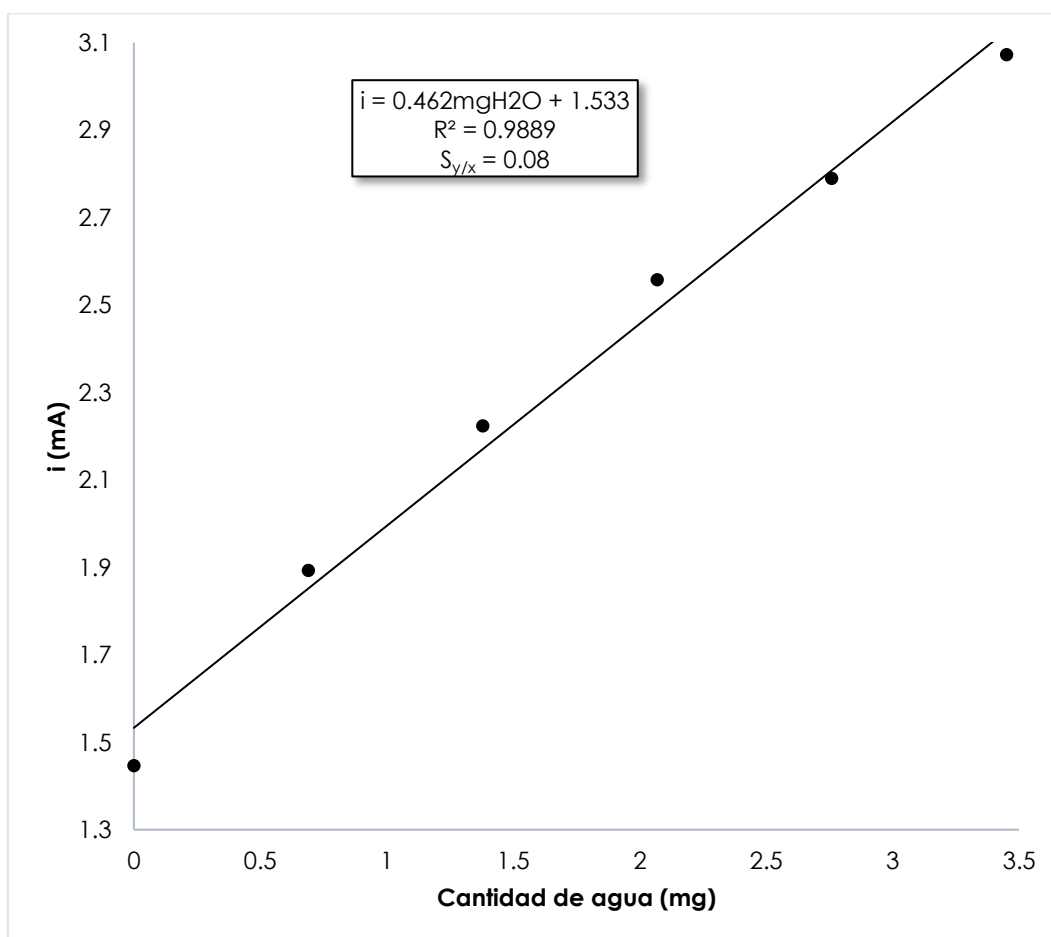


Figura 19. Curva de calibración para la determinación del límite de detección y cuantificación.

Capítulo 4.

Conclusiones

4.1. Conclusiones

- A condiciones de microescalamiento fue posible realizar la determinación de agua mediante el método de Karl Fischer por cronoamperometría. Los cronoamperogramas obtenidos son evidencia de que la respuesta analítica es satisfactoria para el objetivo del método, ya que con base en el estudio de validación se obtienen resultados lineales, exactos y precisos bajo las condiciones establecidas. Tanto la celda como los electrodos son apropiados para esta metodología de análisis, a excepción del electrodo de referencia por los inconvenientes mencionados anteriormente.
- Para mejorar los resultados se propone el diseño y caracterización de un electrodo de referencia cuyo uso sea exclusivo para este tipo de análisis, además de una mejora en el sistema en cuanto a un mejor aislamiento de la humedad.

4.2. Perspectivas

Teniendo como antecedente los resultados de este trabajo, se propone que este método sea aplicado en análisis de diferentes muestras, tales como alimentos, fármacos, sales inorgánicas u otros productos en los cuales la determinación de agua sea importante.

Así mismo, se propone la construcción y caracterización de un electrodo de referencia exclusivo para este tipo de análisis, ya que como se mencionó anteriormente, el electrodo de $\text{Ag}^\circ | \text{AgCl}_{(s)} | \text{NH}_4\text{NO}_3 \text{ 0.5 M en MetOH} |$ tuvo inconvenientes.

Capítulo 5.

Bibliografía

Bibliografía

- A. Baeza, A. G.-M. (2003). Microscale Analytical Potentiometry. Experimental Teaching with Local Produced Low-Cost Instrumentation. *J.Mod.Edu.Rev*, 3, 407-415.
- Armstrong, D. &. (2013). *Water Determination*.
- Baeza, A. (2011). *Caracterización de Sistemas Electroactivos. Documento de apoyo. Reacciones Químicas Acopladas a la reacción electroquímica*. Obtenido de <https://tinyurl.com/y2j9ta8r>
- Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical Methods. Fundamentals and applications. Second Edition*. United States of America: John Wiley & Sons.
- Clark, D. (30 de Enero de 2020). Impact of Human Error in Karl Fischer Titration. Estado Unidos: C&EN Webinars; Metrohm USA Inc. Obtenido de <https://cutt.ly/Mt44Mrv>
- Criterios para la validación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos. (2017). Ciudad de México, México: Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
- De Santiago, Z. A. (2002). *Miniaturización, diseño y caracterización de metodologías electroanalíticas y ópticas para el área de química farmacéutica biológica. Tesis de licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Donald T. Sawyer, A. S. (1995). *Electrochemistry for Chemists*. New York: Wiley-Interscience Publication.
- Farmacéuticos, C. N. (2002). *Guía de Validación de Métodos Analíticos*.
- García-Mendoza, A. (2011). *Estudio electroanalítico de ferroceno y p-benzoquinona bajo la influencia del nivel de acidez en cinco líquidos iónicos. Tesis de maestría*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Goycochea, P. R. (2016). *Estudio de técnicas electroquímicas : cronoamperometría. Tesis de licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Grünke, S. (2001). Main and side reaction in the Karl Fischer solution. *Food Control*, 12, 419-426.
- Guadarrama, M. D. (2001). *Introducción al desarrollo y validación de un método analítico por polarografía diferencial de pulsos para la cuantificación de metronidazol en materia prima y producto terminado. Tesis de Licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Guiñón, J., Grima, R., & García-Anton, J. (1991). Electrochemical study of the components of Karl Fischer reagent on platinum rotating disk electrode. *Electrochimica Acta*, 36(5), 1057-1061.

- Harris, D. C. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (Novena ed.). United States of America: W. H. Freeman and Company.
- J.C. Verhoef, E. (1976). Mechanism and reaction rate of the karl-fischer titration reaction: Part I. Potentiometric measurements. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 71 (3), 305-315.
- John Mitchell, D. M. (1948). *Aquametry: application of the Karl Fischer reagent to quantitative analyses involving water*. Interscience Publishers.
- Jones, A. G. (1951). A Review of Some Developments in the use of the Karl Fischer Reagent. *The Royal Society of Chemistry*, 76, 5-10.
- Méndez, A. (2002). *Determinación electroanalítica de peróxido de hidrógeno a nivel trazas*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- MettlerToledo. (2012). *Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1*. Obtenido de www.mt.com/karl-fischer
- MettlerToledo. (2012). *Introduction to Karl Fischer Titration. KF Guide 1*. Obtenido de Equipos & Soluciones METTLER TOLEDO México: www.mt.com/karl-fischer
- MettlerToledo. (2012). *Good Titration Practice in KF Titration. 1*. Obtenido de <https://www.mt.com/dam/LabDiv/Campaigns/TestingLabs2013/moisture/package/gtp-karl-fischer-EN.pdf>
- Mexicanos, C. P. (2018). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (duodécima ed., Vol. I). Ciudad de México, México: Secretaría de Salud.
- Miller, J. C., & Miller, N. J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (Cuarta ed.). Madrid: Pearson Education.
- Montgomery, C. D. (2009). *Introduction to Statistical Quality Control, Sixth Edition*. Arizona: John Wiley & Sons, Inc.
- Örnemark, B. M. (2014). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Obtenido de Eurachem: www.eurachem.org
- Pingarrón Cazarrón, J. M. (2003). *Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones*. España: Síntesis .
- S.A. Margolis, P. H. (2019). *Water Determination*. Encyclopedia of Analytical Science.
- Skoog, D. A., James, H. F., & Nieman, T. A. (2018). *Principios de Análisis Instrumental*. Quinta edición. (Séptima ed.). Cengage Learning.

- V.C. Dominguez, C. M. (2010). The Characterization of a Custom-Built Coulometric Karl Fischer Titration Apparatus. *J. Chem. Educ.*, 87, 987-991.
- Vilasó, J. E., Aranda, M. A., Baeza, J. A., & Céspedes, A. (2016). Construction and Metrological Characterization of a Minimal Instrumentation Micropolarograph. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 34(5), 309-320.
- Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry*. New Jersey: Wiley-VCH.
- Zambrano, V. D. (2019). 2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 484.496.

Capítulo 6.

Anexos

Anexo I. Validación. Criterios de aceptación

Linealidad

$$CV \leq 1.5\% \quad r \geq 0.99 \quad r^2 \geq 0.98$$

Precisión

$$CV \leq 1.5\%$$

Exactitud y repetibilidad

Promedio de recobro: 98 – 102%

$$CV \leq 2\%$$

Precisión intermedia

$$CV \leq 3\%$$

Anexo II. Cálculos y modelos matemáticos empleados

Linealidad

Los datos obtenidos se registran en una tabla con base en el siguiente formato

Concentración de la disolución patrón	Propiedad medida
X1	Y11, Y12, Y13
X2	Y21, Y22, Y33
.	.
.	.
.	.
Xt	Yt1, Yt2, Yt3

t = número de disoluciones

n = número de réplicas (propiedad medida) de cada dilución de la solución patrón.

$$\sum x = n (X1 + X2 + \dots + Xt)$$

$$\sum y = Y11, Y12, \dots, Y1n + Y21, Y22, \dots, Y2n + \dots + Yt1, Yt2, \dots, Ytn$$

$$\sum X^2 = n (X1^2 + X2^2 + \dots + Xt^2)$$

$$\sum y^2 = Y11^2, Y12^2, \dots, Y1n^2 + Y21^2, Y22^2, \dots, Y2n^2 + \dots + Yt1^2, Yt2^2, \dots, Ytn^2$$

$$\sum xy = X1(Y11, Y12, \dots, Y1n) + X2(Y21, Y22, \dots, Y2n) + \dots + Xt(Yt1, Yt2)$$

$$r^2 = \left[\frac{[nt(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)]^2}{[nt(\sum X^2) - (\sum x)^2][nt(\sum y^2) - (\sum y)^2]} \right]$$

Coeficiente de variación

$$F = \frac{\text{Propiedad medida}}{\text{Conc. de la disolución patrón}}$$

F11 = Y11/X1	Ft1 = Yt1/Xt
F12 = Y12/X1	Ft2 = Yt2/Xt
F1n = Y1n/X1	Ft3 = Yt3/Xt

$$\sum F = F11 + F12 + F1n + \dots + Ft1 + Ft2 + Ftn$$

$$\sum F^2 = F11^2 + F12^2 + F1n^2 + \dots + Ft1^2 + Ft2^2 + Ftn^2$$

$$F = \frac{\sum F}{N}$$

N = número de puntos de la linealidad del sistema.

$$DE = \left[\frac{N(\sum F^2) - (\sum F)^2}{N(N - 1)} \right]^{1/2}$$

DE = Desviación estándar

$$CV = \frac{DE}{F} * 100$$

CV = Coeficiente de variación.

Precisión del sistema

Tabular los resultados: Y1, Y2, Y3, ..., Yn

$$\sum Y = Y1 + Y2 + Y3 + \dots + Yn$$

$$\sum Y^2 = Y1^2 + Y2^2 + Y3^2 + \dots + Yn^2$$

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

$$DE = \left[\frac{n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2}{n(n - 1)} \right]^{1/2}$$

$$CV = \frac{DE}{y} * 100$$

Exactitud y repetibilidad

$$\%Recuperado = \left(\frac{X}{Y}\right) * 100$$

Tabular los resultados: R1, R2, R3..., Rn

$$\sum R = R1 + R2 + R3 + \dots + Rn$$

$$\sum R^2 = R1^2 + R2^2 + R3^2 + \dots + Rn^2$$

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

$$DE = \left[\frac{n(\sum R^2) - (\sum R)^2}{n(n-1)} \right]^{1/2}$$

$$CV = \frac{DE}{y} * 100$$