



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN
DE DUREZA TOTAL EN AGUA POTABLE: POR TITULACIÓN
COMPLEJOMÉTRICA INDICADO EN LA NMX-AA-072-SCFI-2001 Y UN KIT
PARA DETERMINACIÓN RÁPIDA DE DUREZA (MARCA HACH)**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO-BIÓLOGA**

PRESENTA

LETICIA VILLAGRÁN RUBIO



CIUDAD DE MÉXICO

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: GEORGINA MARGARITA MAYA RUIZ

VOCAL: BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ

SECRETARIO: NATIVIDAD GARCÍA ESCAMILLA

1er. SUPLENTE: VILLANUEVA MARTINEZ NORMA ANGELICA

2° SUPLENTE: ALVAREZ LIMÓN CARLOS ALBERTO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO FARMACÉUTICO BRISTOL MYERS-SQUIBB DE MÉXICO S. DE R.L DE C.V.

PLANTA TLALPAN

ASESOR DEL TEMA:

Georgina Margarita Maya Ruiz

SUPERVISOR TÉCNICO:

Iliana Mendiola García

SUSTENTANTE

Leticia Villagrán Rubio

ÍNDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	2
2. GENERALIDADES.....	3
3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	16
4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO.....	24
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	50
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	57
7. CONCLUSIONES.....	71
8. APÉNDICE 1. FÓRMULAS.....	72
9. REFERENCIAS.....	76

INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los compuestos químicos que más funciones desempeña. Esto se debe a las propiedades fisicoquímicas que presenta, como: su poder solvente, su estado eléctricamente neutro, además de que permite la ionización de diversos materiales con mayor libertad que en cualquier otro medio.

Desde el punto de vista industrial se debe tomar en cuenta la presencia de impurezas en el agua, debido a que alteran la calidad de los productos. Prácticamente en todos los sectores de producción industrial la utilizan, pero ninguno de ellos está exento de los efectos de sus componentes naturales, como la dureza.

La dureza del agua se define como la suma de las concentraciones de calcio y de magnesio. Estos iones pueden provocar la formación de depósitos de carbonato de calcio y magnesio, los cuales disminuyen el diámetro interno en las tuberías ocasionando la pérdida en la capacidad de caudal.

Además reducen la eficiencia de la transferencia de calor en calderas y torres de enfriamiento (debido a que los depósitos de carbonato de calcio son mecánicamente difíciles de remover y térmicamente muy aislantes).

La consecuencia es el exceso de consumo de energía para producir calentamiento o enfriamiento y la posible falla en maquinarias sobrecalentadas, por lo que resulta muy relevante monitorear la dureza del agua constantemente.

La determinación de la suma de las concentraciones de iones calcio y magnesio (dureza total) es de gran importancia para el control de la calidad del agua, por lo general se ha determinado por un método volumétrico que consiste en su titulación con EDTA disódico y negro de Eriocromo T como indicador; éste procedimiento aparentemente sencillo también resulta laborioso y lento, consume y desecha grandes cantidades de residuos químicos.

La demanda creciente para la determinación rápida de la dureza del agua ha dado paso a la creación de “métodos listos para uso”, comercializados como kit's, los

cuales permiten la supervisión en tiempo real de los parámetros de calidad del agua, tal es el caso del kit marca Hach para determinación rápida de la dureza del agua.

Sin embargo, antes de poder emplear el método del kit es necesario evaluar su desempeño para garantizar la confiabilidad de los resultados.

En el presente trabajo se lleva a cabo la validación de un kit comercial marca Hach para la determinación rápida de dureza total, comparándolo estadísticamente con un método de referencia indicado en la NMX-AA-072-SCFI-2001 (Análisis de Agua- Determinación de Dureza Total en Aguas Naturales, Residuales y Residuales tratadas), para su posible uso en el análisis de rutina del agua potable en un laboratorio farmacéutico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Revisar las metodologías para determinar la dureza total en agua.

OBJETIVO PARTICULAR:

- Realizar un análisis comparativo entre las metodologías para determinar dureza total en agua potable, según el método por titulación complejométrica descrito en NMX-AA-072-SCFI-2001 (Análisis de Agua- Determinación de Dureza Total en Aguas Naturales, Residuales y Residuales tratadas) y un kit para determinación rápida de dureza marca Hach.

AGUA

En el contexto mundial, los diferentes usos del agua se distribuyen en un 65% en agricultura (riego), 25% en procesos industriales y 10% en abastecimiento para consumo humano. ^[13]

Los minerales contenidos en el agua como calcio, magnesio, hierro, zinc, etc. dependen de la composición geológica de la zona donde se ubica la fuente.

El suministro de buena calidad para consumo humano es fundamental para la salud y el bienestar de la población, por ello la Secretaría de Salud ha emitido normas para establecer las características del agua para uso y consumo humano, así como las condiciones para demostrar su cumplimiento y los requisitos que deben cumplir los sistemas de abastecimiento para consumo humano públicos y privados:

MODIFICACIÓN a la NOM-127-SSA1-1994.” Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”.

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-179-SSA1-2017. “Agua para uso y consumo humano. Control de la calidad del agua distribuida por los sistemas de abastecimiento de agua”.

NOM-230-SSA1-2002. “Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistema de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo”.

La Secretaría de Salud y los demás niveles de gobierno en sus respectivos ámbitos de competencia y en coordinación con la Comisión Nacional del Agua, son los encargados de vigilar el cumplimiento de dichas normas. El agua subterránea contiene un mayor número de iones disueltos, entre los que se encuentran cationes (calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro y manganeso) y aniones (carbonatos, bicarbonatos, sulfatos y cloruros).

AGUA PARA USO FARMACÉUTICO^[11]

El agua es la sustancia más utilizada en la industria farmacéutica, ya sea como disolvente o ingrediente para los preparados farmacéuticos, en el lavado de envases o en las operaciones de limpieza de áreas y equipos durante los procesos de fabricación.

La práctica usual es utilizar agua potable como punto de partida para la obtención de cualquier tipo de agua.

Existen diferentes tipos de agua para uso farmacéutico, cuyas características se detallan en las monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). Los tipos de agua para uso farmacéutico son:

- 1) Agua purificada nivel 1
- 2) Agua purificada nivel 2
- 3) Agua para la fabricación de inyectables
- 4) Agua estéril para uso inyectable
- 5) Agua bacteriostática estéril para uso inyectable
- 6) Agua estéril para irrigación
- 7) Agua estéril para inhalación
- 8) Agua potable

La FEUM no incluye una monografía relativa al agua potable, pero ésta debe cumplir con las especificaciones de calidad establecidas en la versión vigente de la Norma Oficial Mexicana *NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.*

En dicha Norma se indican los límites permisibles de las características microbiológicas, químicas, radioactivas, físicas y organolépticas del agua potable. Los límites permisibles de características químicas se describen en la siguiente tabla 2.1

Tabla 2.1 Características químicas del agua potable

CARACTERÍSTICA	LÍMITE PERMISIBLE
Aluminio	0.20 mg/L
Arsénico	0.05 mg/L
Bario	0.70 mg/L
Cadmio	0.005 mg/L
Cianuros (como CN ⁻)	0.07 mg/L
Cloro residual libre	0.2-1.50 mg/L
Cloruros (como Cl ⁻)	250.00 mg/L
Cobre	2.00 mg/L
Cromo total	0.05 mg/L
Dureza total (como CaCO₃)	500.00 mg/L
Fenoles o compuestos fenólicos	0.3 mg/L
Hierro	0.30 mg/L
Fluoruros (como F ⁻)	1.50 mg/L
Benceno	10.00 µg/L
Etilbenceno	300.00 µg/L
Tolueno	700.00 µg/L
Xileno (tres isómeros)	500.00 µg/L
Manganeso	0.15 mg/L
Mercurio	0.001 mg/L
Nitratos (como N)	10.00 mg/L
Nitritos (como N)	1.00 mg/L
Nitrógeno amoniacal (como N)	0.50 mg/L
pH (potencial de hidrógeno) en unidades de pH	6.5-8.5
Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03 µg/L

Tabla 2.1 Características químicas del agua potable (continuación)

Clordano (total de isómeros)	0.20 µg/L
DDT (total de isómeros)	1.00 µg/L
Gamma-HCH (lindano)	2.00 µg/L
Hexaclorobenceno	1.00 µg/L
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03 µg/L
Metoxicloro	20.00 µg/L
Plomo	0.01 mg/L
Sodio	200.00 mg/L
Sólidos disueltos totales	1000.00 mg/L
Sulfatos (como SO ₄ ⁼)	400.00 mg/L
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	0.50 mg/L
Trihalometanos totales	0.20 mg/L
Yodo residual libre	0.2-0.5 mg/L
Zinc	5.00 mg/L

Para la característica de Dureza Total se especifica un límite de 500.00 mg/L expresado como CaCO₃. Y el método de prueba se describe en la NMX-AA-072-SCFI-2001 Análisis de Agua- Determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

Es responsabilidad del fabricante verificar la potabilidad del agua y en su caso tomar las medidas necesarias para que cumpla con esta calidad.

DUREZA DEL AGUA^[1]

Históricamente, la “dureza” del agua se definió en términos de la capacidad de los cationes del agua para sustituir a los iones sodio y potasio en los jabones y formar productos poco solubles.

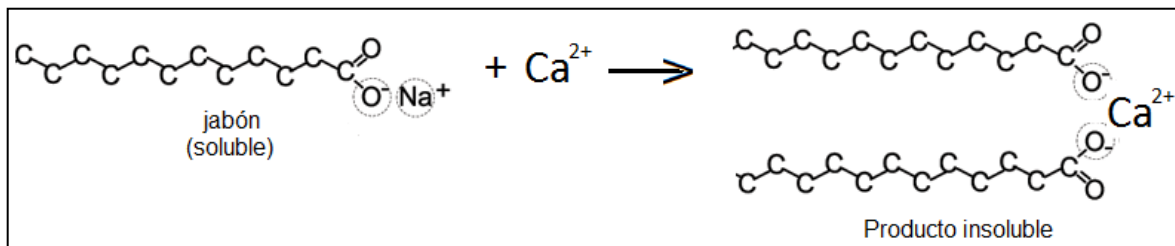


Figura 2.1 Intercambio de iones sodio por iones calcio en la molécula de jabón

La dureza total se define como la suma de las concentraciones de calcio y de magnesio, ambas expresadas como carbonato de calcio, en miligramos por litro. ^[6]

Las guías de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la calidad del agua potable no han establecido valores límite para el contenido de calcio en cuanto a su aceptabilidad para la salud. Tampoco la Unión Europea ni las legislaciones de Estados Unidos han establecido valores límite.

La OMS ha publicado una monografía sobre la importancia de la dureza del agua para la salud pública, en el que se discuten los beneficios y los riesgos. Sin embargo, ningún valor de referencia basado en la salud, se propone para la dureza en el agua potable.

Tabla 2.2 Clasificación de la dureza por CaCO₃ en el agua, de acuerdo con la OMS

Concentración de CaCO ₃ (mg/L)	Tipo
0 - 60	Blanda
61 - 120	Moderadamente dura
121 - 180	Dura
180	Muy dura

La dureza puede variar de cero a cientos de miligramos por litro, dependiendo de la fuente y el tratamiento al cual el agua se haya sometido. Las formas más comunes de calcio son carbonato de calcio (calcita) y carbonato de calcio y magnesio (dolomita).

DUREZA TEMPORAL Y DUREZA PERMANENTE

En la dureza total del agua se puede hacer una distinción entre dureza temporal (dureza de carbonatos) y dureza permanente (dureza de no-carbonatos) generalmente de sulfatos y cloruros.

La dureza temporal puede ser eliminada del agua, debido a que los bicarbonatos están en equilibrio con los carbonatos y el CO₂, según las siguientes reacciones:



La solubilidad del carbonato de calcio depende de la temperatura, el pH y CO₂ disuelto. El bicarbonato de calcio es más soluble en agua que el carbonato de calcio, el calentamiento o una simple aireación, provoca el desprendimiento del CO₂, desplazando el equilibrio de la reacción hacia la derecha, favoreciendo la formación del carbonato, el cual al ser poco soluble en agua, precipita, dejando el agua menos dura. Este fenómeno ocurre para la mayoría de las aguas naturales alrededor de los 60⁰C, se acelera a los 80⁰C y es total al alcanzar la ebullición.

La dureza permanente no puede ser eliminada al hervir el agua porque se debe a la presencia de sulfatos y cloruros, de calcio y magnesio, sales que son más solubles según se eleva la temperatura, hasta cierto valor dependiendo de la sal.

La determinación de la dureza es un ensayo analítico útil, que da una medida de la calidad del agua. La necesidad del control y monitoreo del contenido de calcio en el agua está fuertemente relacionada con el uso al que se destinará. En agua potable el límite máximo permisible de dureza total es de 500 mg/L, ^[9] mientras que en el agua para calderas el límite es de 0 mg/L de dureza. ^[14]

MÉTODOS ANALÍTICOS EMPLEADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DUREZA TOTAL DEL AGUA.

Determinaciones de calcio de rutina pueden ser realizadas por diferentes procedimientos analíticos, los métodos instrumentales son menos laboriosos ya que permiten determinaciones directas y son más sensibles, pero son también más caros. Entre ellos: espectrometría de absorción atómica (AAS), espectrometría de absorción molecular, espectrometría de emisión atómica (AES), la espectrometría de emisión atómica junto a un plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES), potenciometría, cromatografía iónica, diversos métodos fotométricos, ensayos fluorescentes, sensores químicos ópticos y electrodos ion-selectivos. [20]

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE FLAMA (FAAS) [19]

En este tipo de métodos las sustancias presentes en la muestra, se convierten en átomos o iones elementales en estado gaseoso, para la posterior medida de la propiedad analítica.

Siguiendo la ley de Lambert-Beer, la cantidad de luz absorbida después de pasar a través de la flama determina la cantidad de analito existente en la muestra.

El calcio se determina en la flama de aire-acetileno a 239.9 nm, fue y sigue siendo uno de los elementos que se determinan por FAAS.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR [20]

La espectrofotometría de absorción molecular permite la determinación de calcio y magnesio en el UV-Visible después de desarrollar complejos coloreados con reactivos metalocrómicos.

El magnesio y el calcio pueden determinarse en agua por un método espectrofotométrico automático. A 571 nm con un exceso de negro de eriocromo T

(NET) como agente metalocrómico, la variación de absorbancia es proporcional a la concentración de magnesio y calcio.

SISTEMA FOTOMÉTRICO- INYECCIÓN DE FLUJO^[22]

Se basa en el seguimiento de la reacción cuantitativa de los iones de calcio y magnesio con EDTA, en presencia del indicador Negro de eriocromo T, mediante el control de la absorbancia del medio a 650 nm después de la adición de cantidades fijas de reactivo de valoración.

ANÁLISIS POR DISPERSIÓN DE LUZ^[23]

El método propuesto se basa en la formación de una fase rica en coloides lamelares¹ inducida por metales alcalino-térreos (Ca y Mg) con dodecanoato de sodio. Esta reacción resulta en la formación de una fase vesicular dispersa en el medio. Basándose en este principio, la absorbancia de la fase vesicular formado por Ca^{2+} y Mg^{2+} con dodecanoato de sodio se monitorea espectrofotométricamente a 350 nm produciendo una respuesta dependiente de la concentración del ión metálico.

La clasificación de la muestra en agua blanda, moderadamente dura y dura después de la formación de la fase vesicular, puede lograrse mediante inspección visual directa, incluso sin ninguna experiencia previa en el método.

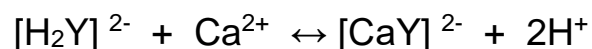
Por lo tanto, el método es directamente aplicable para el ensayo cualitativo de la dureza del agua mediante inspección visual, que no es ofrecido por ninguno de los métodos usuales para la determinación de la dureza del agua.

1 Coloide lamelar: consiste en un grupo interno de moléculas coloidales rodeadas por agua, la molécula se pliega de tal manera que su parte hidrofílica se orienta hacia el exterior y la parte hidrófoba se orientan hacia el interior de la vesícula, formando una gota.

MÉTODO POTENCIOMÉTRICO [24]

El método consiste en realizar una titulación por inyección de flujo, utilizando EDTA como solución portadora y un detector sensible al pH.

La concentración de iones de calcio y magnesio se determina mediante el uso de un pequeño exceso de sal disódica de EDTA $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ y la valoración por retroceso de los protones liberados, acorde a la siguiente reacción:



FLUORESCENCIA MOLECULAR [25]

Este método se basa en la emisión de fluorescencia del oligonucleótido TBA-FMB (nucleótido de unión a trombina-carboxifluoresceína) después de reconocer y unirse de forma específica y con alta afinidad a los cationes Ca^{2+} y Mg^{2+} , mediante un plegamiento tridimensional de su cadena.

La muestra diluida es adicionada a la solución del TBA-FMB, la emisión de fluorescencia del nucleótido, se mide antes y después de la adición de la muestra a 518 nm. El ensayo se lleva a cabo a 70°C , de esta manera se detecta selectivamente calcio y magnesio.

La emisión de fluorescencia detectada es proporcional a la concentración de calcio y magnesio en la muestra.

MÉTODOS DE PRUEBA PARA ANÁLISIS FUERA DEL LABORATORIO^[27]

Los métodos instrumentales, son altamente precisos para el análisis de laboratorio pero no pueden ser utilizados para los estudios de campo. Por lo que fue necesaria la creación de “métodos listos para uso” (“ready to use methods”).^[27]

Los métodos de campo son métodos químicos de prueba basados en reacciones Químicas. Los reactivos y diferentes aditivos se presentan como soluciones listas para uso (en ampolletas o goteros) o inmovilizado sobre un soporte sólido, tal como papel, gel de sílice, o espuma de poliuretano. Entre los materiales de prueba están papeles indicadores, tubos de indicador, tabletas y polvos.

Los métodos de prueba rápidos se usan en el medio ambiente, área clínica, forense, industrial y otras, lo que permite un análisis rápido, sencillo y rentable cualitativo, semicuantitativo y cuantitativo para ser realizado por personal profesional y técnico.

Las ventajas del análisis “*in situ*” es que el tiempo y costo disminuyen debido a que no es necesario transportar la muestra al laboratorio para que se lleve a cabo un análisis costoso. Por otra parte, el personal que realiza el trabajo no requiere ser altamente calificado, porque los materiales son simples y fáciles de usar. Pero, lo más importante es que existen casos en los que la muestra es inestable después del muestreo, y que no puede ser estabilizada. Como el análisis “*in situ*” es en tiempo real, se eliminan inmediatamente las fuentes de riesgo y los resultados se obtienen al momento.^[27]

El papel estratégico de este tipo de métodos ha sido reconocido por los fabricantes más importantes de sustancias químicas. Así como por la Organización Internacional de Normalización (ISO).^[28]

ISO ha reconocido la importancia de los métodos listos para uso, en particular, en el análisis de agua del medio ambiente, y ha publicado una guía importante:

La ISO 17381: Calidad del agua- Selección y aplicación de los métodos de prueba en kit “listos para usar” en el análisis de agua.^[7]

A continuación se exponen las generalidades descritas en la norma ISO 17381:

Esta norma internacional es una guía sobre la selección de métodos listos para usar en el análisis del agua y los pasos necesarios para demostrar la aptitud del método para una determinada aplicación. Enlista los requisitos para los fabricantes de estas pruebas, relativas a la seguridad y aspectos ambientales.

Las evaluaciones estadísticas para establecer la equivalencia entre los métodos listos para usar y los métodos estándar se mencionan brevemente.

Los métodos “listos para usar” que hay disponibles en el mercado se basan en diferentes principios analíticos y también muestran diferentes grados de precisión.

El papel de los análisis de laboratorio tiende a disminuir, mientras que el de análisis “*in-situ*” tiende a crecer. Es importante tener en cuenta que los avances en química analítica e instrumental y áreas relacionadas hacen posible el análisis “*in-situ*” y logran que sea muy eficaz.

Las herramientas para la realización de análisis “*in-situ*” incluyen laboratorios móviles e instrumentos analíticos portátiles.

Los métodos de prueba deben proporcionar respuestas inmediatas, por lo que las reacciones químicas que se utilizan deben ser reacciones rápidas.

Como los métodos de prueba están destinados para ser usados por personal técnico capacitado, la prueba debe contener el menor número posible de pasos y la interpretación del resultado debe ser contundente sin dar paso a la ambigüedad.

Los diseñadores y fabricantes de kits de prueba dedican sus esfuerzos a la búsqueda de una combinación óptima de los reactivos, la estabilización de mezclas de reactivos y soluciones, y a la disminución de interferencias mediante el

enmascaramiento. Su propósito principal es desarrollar sistemas de pruebas rápidos y fáciles de usar.

Los requisitos básicos para las reacciones empleadas en los procedimientos de prueba se pueden resumir de la siguiente manera:

1. Selectividad para uno o varios analitos.
2. Sensibilidad suficiente para que el problema sea resuelto.
3. Las reacciones de color deben caracterizarse por un alto contraste y rapidez en presencia del analito.
4. Los reactivos deben ser fácilmente transformados y deben ser estables almacenados en la forma en la cual se emplean en el procedimiento de prueba.
5. El efecto analítico (de color, luminiscencia, etc) debe ser estable durante suficiente tiempo.

VALIDACIÓN DE KITS

Los denominados métodos de prueba en kits (KT, por sus siglas en inglés *kit's test*) han surgido como una opción para el análisis, sobre todo del agua, cuando el análisis debe ser efectuado al momento o en el lugar de la toma de muestra. Sin embargo, la precisión, exactitud y otros parámetros de rendimiento analítico deben evaluarse.^[26]

El aspecto metrológico es muy importante en el desarrollo y uso de estos métodos de prueba. Los resultados deben ser confiables especialmente cuando concentraciones pequeñas de los analitos de interés están siendo determinadas. La exactitud de los métodos de prueba es validada por comparación con métodos instrumentales de análisis, este procedimiento es usado siempre en el desarrollo de los kits por el fabricante, pero los usuarios deben llevar a cabo una verificación.

En la práctica cuando se desea validar un kit, se suele comparar su desempeño con el de un método estándar empleado como referencia. Para lo cual se necesita de un tratamiento estadístico para evaluar si hay diferencia estadísticamente significativa entre los resultados dados por ambos métodos.

Hay una serie de comparaciones reportados entre Kit's Test y procedimientos estándar Boyd y Daniels^[33] (1988); Rosenthal y Gershey^[34] (1989), han demostrado que algunos KT satisfacen las demandas analíticas de monitoreo de calidad de agua y que son adecuados para una rápida verificación en campo.

Se han realizado diversas validaciones de kits: Flanklin I. Ormaza^[26] (1994); Ballesteros^[30] (2003); Nalini Sankararamakrishnan^[29] (2008) por citar solo algunos ejemplos.

Siguiendo el procedimiento de éstos autores, en el presente trabajo se valida un kit para determinación de Dureza Total en agua potable por comparación con un método estándar. Los parámetros de desempeño evaluados se realizaron paralelamente para cada método, bajo las mismas condiciones de operación. Posteriormente, los resultados de ambos métodos se sometieron a un tratamiento estadístico para evaluar si había diferencia estadísticamente significativa.

Con base en la Guía de Validación de Métodos Analíticos CIPAM, se evaluaron los siguientes parámetros: especificidad, límite de detección y adecuabilidad del sistema. Tomando en cuenta que el método a validar es un método límite.

Adicionalmente, también se realizaron los parámetros de: precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud del método y linealidad del sistema.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Un método analítico se define como la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra, denominado analito; por lo que un método analítico mide a este (analito) en una muestra y como todo proceso de medición, debe ser confiable para ser utilizado con un propósito definido.^[2]

De acuerdo con las Buenas Prácticas tanto de Fabricación como de Laboratorio, es necesario que todos los métodos analíticos empleados estén validados.

La validación de métodos analíticos se define como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas.^[2]

Los métodos analíticos se incluyen como un sistema crítico en el Aseguramiento de Calidad en una empresa farmacéutica, ya que impactan de manera directa en la calidad de un producto.^[2]

REGULACIÓN

El Reglamento de Insumos para la Salud publicado referente a los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos (medicamentos, fármacos, materias primas y aditivos), establece en el artículo 15 lo siguiente:

“Los establecimientos que se destinen a la fabricación de insumos, llevarán el control analítico de estos. Dicho control deberá incluir:

III. La validación de las técnicas empleadas.”

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, “*Buenas Prácticas de fabricación de medicamentos*”, establece los siguientes puntos en referencia a la validación de métodos analíticos.

NUMERAL DE LA NORMA	CONTENIDO
7.3 7.3.5	El responsable de la Unidad de fabricación debe: Asegurar que se realizan las calificaciones y validaciones programadas a los sistemas, procesos, equipos y servicios.
7.4 7.4.7	El responsable de la Unidad de Calidad debe: Asegurar que se efectúen: la validación y transferencia de métodos analíticos no farmacopeicos, los estudios de aplicabilidad de métodos farmacopeicos, la calificación de equipos y calibración de instrumentos analíticos.
9.1 9.12.1	Un elemento esencial para el cumplimiento de las BPF es la calificación y la validación, que nos permite demostrar que la fabricación de los medicamentos cumple las características fundamentales de funcionalidad, consistencia y robustez, para asegurar la calidad de los medicamentos. Los métodos analíticos no farmacopeicos deben validarse conforme a sus protocolos considerando lo indicado en la FEUM.
11 11.7	Laboratorio de Control de calidad Los métodos analíticos deben estar validados, cuando se realicen cambios en la metodología se debe realizar una nueva validación.

ETAPAS DE LA VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO

El proceso típico que se sigue al validar un método se menciona cronológicamente:

1. Planear y decidir las pruebas en la validación del método
2. Escribir y aprobar el protocolo de validación
3. Llevar a cabo el protocolo de validación del método
4. Analizar la información de la validación
5. Reportar la validación analítica del método
6. Finalizar el procedimiento del método analítico

Los parámetros de validación que se deberán evaluar dependen del tipo de método que se desea validar. Los métodos analíticos se clasifican bajo los siguientes criterios:

1. Estado regulatorio
2. Aplicación
3. Naturaleza de la respuesta analítica
4. Propósito analítico
5. Naturaleza del sistema de medición

1. En función de su estado regulatorio^[2]

- Métodos farmacopeicos (FEUM, USP, BP).
- Métodos no farmacopeicos (métodos no compendiados en una farmacopea)

2. En función de su aplicación^[2]

- Métodos para producto a granel.
- Métodos para producto terminado.
- Métodos para materia prima.
- Métodos indicadores de estabilidad.

3. En función de la naturaleza de la respuesta analítica^[2]

- Métodos fisicoquímicos. Respuesta de carácter físico (absorción de luz, emisión de luz, voltaje, etc.).
- Métodos biológicos. Respuesta de carácter biológico (crecimiento de un microorganismo, protección, muerte, etc.).

4. En función de su propósito analítico^[11]

- Métodos para cuantificar el analito.
- Métodos para establecer la presencia del analito a un límite. Pruebas límite.
- Métodos para identificar al analito.

5. En función de la naturaleza del sistema de medición^[2]

- Métodos en los cuales el instrumento de medición de la respuesta analítica, permite medir una señal de ruido: cromatógrafo de gases o de líquidos, espectrofotómetros, etc.
- Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido: Buretas, medidor de halos, etc.

Los parámetros a tomar en cuenta para la validación de métodos analíticos son: ^[11]

Adecuabilidad: verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.

Especificidad: capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

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

Límite de cuantificación: concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.

Límite de detección: concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

Linealidad: habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

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

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.

Repetibilidad: precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método, bajo las mismas condiciones.

Reproducibilidad: precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.

Robustez: capacidad del método de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.

Tolerancia: reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación como pueden ser equipos, columnas. 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.

Las siguientes tablas son tomada de la Guía Q2A de la ICH^[35] y de la Guía de Métodos Analíticos CIPAM (2002) ^[2], respectivamente. En éstas se enlistan los parámetros de validación recomendados para métodos de identificación, impurezas y ensayo.

Tabla 3.1 Parámetros de validación necesarios para Identificación, impurezas y ensayo. (ICH Q2A- 1995)

Tipo de procedimiento analítico	Identificación	Pruebas para impurezas		Ensayo: Disolución, Contenido/Potencia
		Cuantificación	Límite	
Parámetro				
Exactitud	-	+	-	+
Precisión				
Repetibilidad	-	+	-	+
Precisión intermedia	-	^a +	-	^a +
Especificidad ^b	+	+	+	+
Límite de detección (LOD)	-	^c -	+	-
Límite de cuantificación (LOQ)	-	+	-	-
Linealidad	-	+	-	+
Rango	-	+	-	+
Estabilidad de la solución	-	+	-	+

^aLa precisión intermedia no es necesaria en casos donde ya se lleva a cabo la reproducibilidad
^bLa falta de especificidad de un procedimiento analítico se puede compensar con un procedimiento secundario
^cPuede que no sea necesario en algunos casos
 *-*Significa que esta característica no es comúnmente validada

Tabla 3.2 Parámetros de validación necesarios para Identificación, impurezas y ensayo. CIPAM

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/POTENCIA VALORACIÓN	PRUEBAS DE IMPUREZAS		IDENTIFICACIÓN
		CONTENIDO	LÍMITE	
Adecuabilidad del sistema	sí	sí	sí	*
Linealidad del sistema	sí	sí	no	no
Especificidad	sí	sí	sí	sí
Exactitud y repetibilidad	sí	sí	no	no
Linealidad del método	sí	sí	no	no
Precisión intermedia	sí	sí	no	no
Estabilidad analítica de la muestra	*	*	no	no
Límite de Detección	no	no	sí	no
Límite de cuantificación	no	sí	no	no
Robustez	*	*	*	no
Tolerancia	*	*	*	no

*puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método

Las pruebas para la validación del método se deben planear bien y establecer para asegurar el uso eficiente de tiempos y de los recursos durante la validación del método.

Normalmente un protocolo de validación tiene como mínimo los siguientes puntos^[36]

- Objetivo del protocolo.
- Parámetros de validación que serán evaluados.
- Criterios de aceptación para los parámetros evaluados.
- Borrador del procedimiento analítico.

Una vez terminada la parte experimental, todos los datos se recopilan en un reporte de validación detallado, el cual permitirá decidir el éxito o fallo de la misma.

Una ejecución satisfactoria de la validación conlleva a un procedimiento analítico final que puede ser utilizado por el laboratorio para futuros análisis.

La información mínima que debe incluir el procedimiento final es: ^[36]

- Explicación del procedimiento analítico. Si es revalidación se debe incluir las ventajas y mejoras que ofrece la nueva versión.
- Propuesta del método analítico: contiene una descripción completa del procedimiento a gran detalle para aumentar la posibilidad de su repetibilidad por medio de los analistas. El escrito debe incluir todos los parámetros operacionales importantes e instrucciones específicas, por ejemplo, la preparación de reactivos, pruebas de adecuabilidad, precauciones y fórmulas explícitas para el cálculo de los resultados de la prueba.
- Datos de la validación: se incluye un grupo detallado de datos o un resumen de los mismos.
- Historial de revisiones.
- Firma del autor, revisor, jefe y aseguramiento de la calidad.

MÉTODOS VOLUMÉTRICOS DE ANÁLISIS^[1]

En las valoraciones volumétricas se determina el volumen de una solución de concentración conocida, que se necesita para reaccionar, de forma completa con el analito.

Una solución valorada es una solución de reactivo de concentración conocida, que se usa para realizar un análisis volumétrico. Una valoración se hace añadiendo lentamente una solución valorada, desde una bureta u otro dispositivo volumétrico de medida, a una solución de analito, hasta que la reacción entre los dos sea completa. El volumen gastado para llevar a cabo la valoración se determina por diferencia entre las lecturas final e inicial de la bureta.

El punto de equivalencia de una valoración se alcanza cuando la cantidad de valorante añadido es químicamente equivalente a la cantidad de analito que hay en la muestra, es decir por la relación estequiométrica entre valorante y analito.

El punto de equivalencia de una valoración es un punto teórico que no se puede determinar experimentalmente. Sólo podemos estimarlo observando algún cambio físico que acompañe a la condición de equivalencia, éste cambio se llama punto final de la valoración.

Se debe ser muy cuidadoso para asegurar que la diferencia de volúmenes entre el punto de equivalencia y el punto final sea pequeña, ésta diferencia es denominada error de valoración y existe como resultado de las limitaciones de los cambios físicos y de nuestra capacidad para observarlos.

En los métodos volumétricos, el error de valoración E_v viene dado por:

$$E_v = V_{pf} - V_{pe}$$

V_{pf} =es el volumen real utilizado para llegar al punto final

V_{pe} =es el volumen teórico de reactivo necesario para alcanzar el punto de equivalencia.

Con frecuencia se añade un indicador a la disolución del analito, con el fin de obtener un cambio físico observable en o cerca del punto de equivalencia.

Cerca de la región del punto de equivalencia ocurren grandes cambios de la concentración relativa del analito y valorante, estos cambios de concentración hacen que el indicador cambie de aspecto. Cambios típicos de indicador son la aparición o desaparición de color, un cambio de color, y la aparición o desaparición de turbidez.

A menudo se usan ciertos instrumentos para detectar puntos finales, estos instrumentos responden a ciertas propiedades de la disolución, que cambian de forma característica durante la valoración. Entre estos instrumentos, están los voltímetros, amperímetros, conductímetros, colorímetros, registradores de temperatura y refractómetros.

En las valoraciones se presentan dos tipos de errores de valoración. El primero es un error determinado, que se comete cuando el pH de viraje del indicador no coincide con el pH de equivalencia química. Este tipo de error, se puede minimizar mediante una selección juiciosa del indicador, o mediante una corrección de blanco.

El segundo tipo es un error indeterminado, que se debe a la capacidad limitada del ojo humano para distinguir de forma reproducible el color intermedio del indicador. La magnitud de este error depende del cambio del pH por mililitro de reactivo en el punto de equivalencia, de la concentración del indicador y de la sensibilidad del ojo a los colores del indicador.

Existen variables que influyen en el comportamiento de los indicadores. El intervalo de pH a que vira un indicador dado varía con la temperatura, con la fuerza iónica del medio y con la presencia de disolventes orgánicos y partículas coloidales.

PATRONES PRIMARIOS^[1]

Todos los métodos volumétricos están basados en un estándar primario cuya composición química y pureza se conocen exactamente.

Un patrón o estándar primario es un compuesto de elevada pureza, que sirve como material de referencia en todos los métodos volumétricos, la exactitud de estos métodos depende críticamente de las propiedades de este compuesto.

Los requisitos de un estándar primario son:

1. Elevada pureza. Deben existir métodos establecidos para confirmar su pureza.
2. Estabilidad al aire.
3. Que no tenga moléculas de hidratación, de tal manera que su composición no varíe con los cambios de humedad relativa.
4. Fácil de adquirir y a un costo moderado.
5. Tener una razonable solubilidad en el medio de la valoración.
6. Que tenga un peso molecular razonablemente elevado, a fin que sean mínimos los errores de pesada.

SOLUCIONES ESTÁNDAR^[1]

Las disoluciones estándar juegan un papel central en todos los métodos volumétricos de análisis. La disolución estándar ideal para un método volumétrico debe:

1. Ser suficientemente estable de forma que sólo se necesite determinar una vez su concentración.
2. Reaccionar rápidamente con el analito, a fin de minimizar la demora entre adiciones sucesivas de valorante.
3. Reaccionar lo más íntegramente posible con el analito, con objeto de obtener puntos finales bien definidos.
4. Reaccionar selectivamente con el analito, de acuerdo a una ecuación ajustada sencilla.

MÉTODOS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE DISOLUCIONES ESTÁNDAR

La estandarización es un proceso por el que se determina la concentración real de una solución, usando ésta para valorar una cantidad conocida de otro reactivo.

Preparación de la solución valorante: consiste en disolver una cantidad cuidadosamente pesada de reactivo, y diluirla a un volumen exactamente conocido en un matraz volumétrico.

Estandarización

Consiste en valorar la solución con:

- (1) una cantidad pesada de estándar primario
- (2) un volumen medido de otra disolución estándar.

Un valorante que se estandariza frente a otra solución estándar suele llamarse *solución estándar secundaria*. Una solución estándar secundaria es menos deseable que una solución estándar primaria, porque la concentración de la primera está sujeta a mayor incertidumbre.

El ácido etilendiamino tetracético libre simbolizado como H_4Y y la sal sódica dihidratada, $Na_2H_2Y \cdot 2 H_2O$, están disponibles comercialmente con calidad de reactivo.

REACCIONES DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS^[1]

La mayoría de los iones metálicos reaccionan con los dadores de pares de electrones para formar compuestos de coordinación, o iones complejos. Las especies dadoras o ligandos, deben tener al menos un par de electrones no compartidos, disponibles para la formación del enlace.

El número de enlaces covalentes que un catión tiende a formar con los dadores de electrones es el número de coordinación, las especies formadas como resultado de la coordinación pueden ser eléctricamente positivas, neutras o negativas.

Los métodos de valoración basados en la formación de complejos han sido utilizados durante más de un siglo, sin embargo, el aumento verdaderamente notable de sus aplicaciones analíticas comenzó en 1940, y se debe a unos compuestos de coordinación particulares llamados quelatos. Se forma un quelato cuando un ion metálico se combina con dos o más grupos dadores de un único ligando para formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros.

Un ligando que tiene un único grupo donador se llama unidentado, y si tiene dos grupos disponibles para enlace covalente, es bidentado.

Los ligandos tetradentados y hexadentados son mejores valorantes que los ligandos con un número menor de grupos dadores. Los ligandos multidentados por lo general reaccionan de forma más completa con los cationes, y por lo tanto dan puntos finales más agudos, además reaccionan con iones metálicos en un proceso de un solo paso, mientras que la formación de un complejo con ligandos unidentados implica dos o más especies intermedias.

Las aminas terciarias que contienen además grupos ácido carboxílico forman quelatos notablemente estables con muchos iones metálicos. El ácido etilendiaminotetraacético, comúnmente abreviado EDTA tiene seis puntos potenciales de enlace con un ion metálico: los cuatro grupos carboxílicos y los dos grupos amino.

Así pues, el EDTA es un ligando hexadentado.

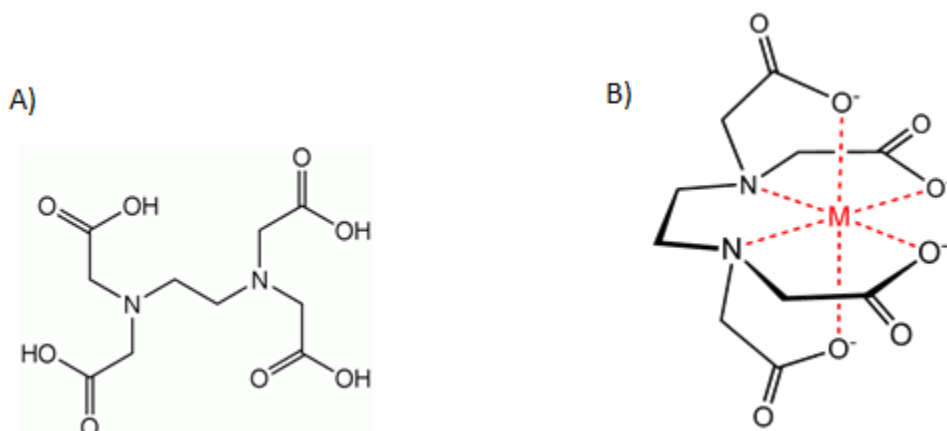
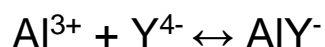
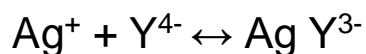


Figura 4.1 A) Estructura de EDTA, B) Estructura de un quelato metal/EDTA

COMPLEJOS DEL EDTA CON IONES METÁLICOS

Las soluciones de EDTA son especialmente valiosas como valorantes, ya que el reactivo se combina con los iones metálicos en proporción 1:1 independientemente de la carga del catión. Por ejemplo, los complejos de plata y aluminio se forman mediante las reacciones siguientes:



El EDTA es un reactivo notable no sólo porque forma quelatos con todos los cationes, salvo los metales alcalinos, sino también porque muchos de esos quelatos tienen la estabilidad suficiente para llevar a cabo valoraciones, esa considerable estabilidad resulta de los diversos sitios complejantes de la molécula que dan lugar a una estructura en forma de jaula, en la que el catión queda rodeado de manera efectiva y aislado de moléculas de solvente, como se observa en la figura 4.1 B), donde se aprecia que intervienen los seis grupos ligandos en el enlace con el ión metal divalente.

PROPIEDADES ÁCIDAS DEL EDTA^[1]

Cuando el EDTA se disuelve en agua, se comporta como un aminoácido. Donde la carga neta de esta especie es 0, y que contiene cuatro protones disociables, dos asociados con los dos grupos carboxilos y otros dos con los dos grupos amino. La especie Y^{4-} es el ion totalmente desprotonado como se observa en la figura 5.2 (e)

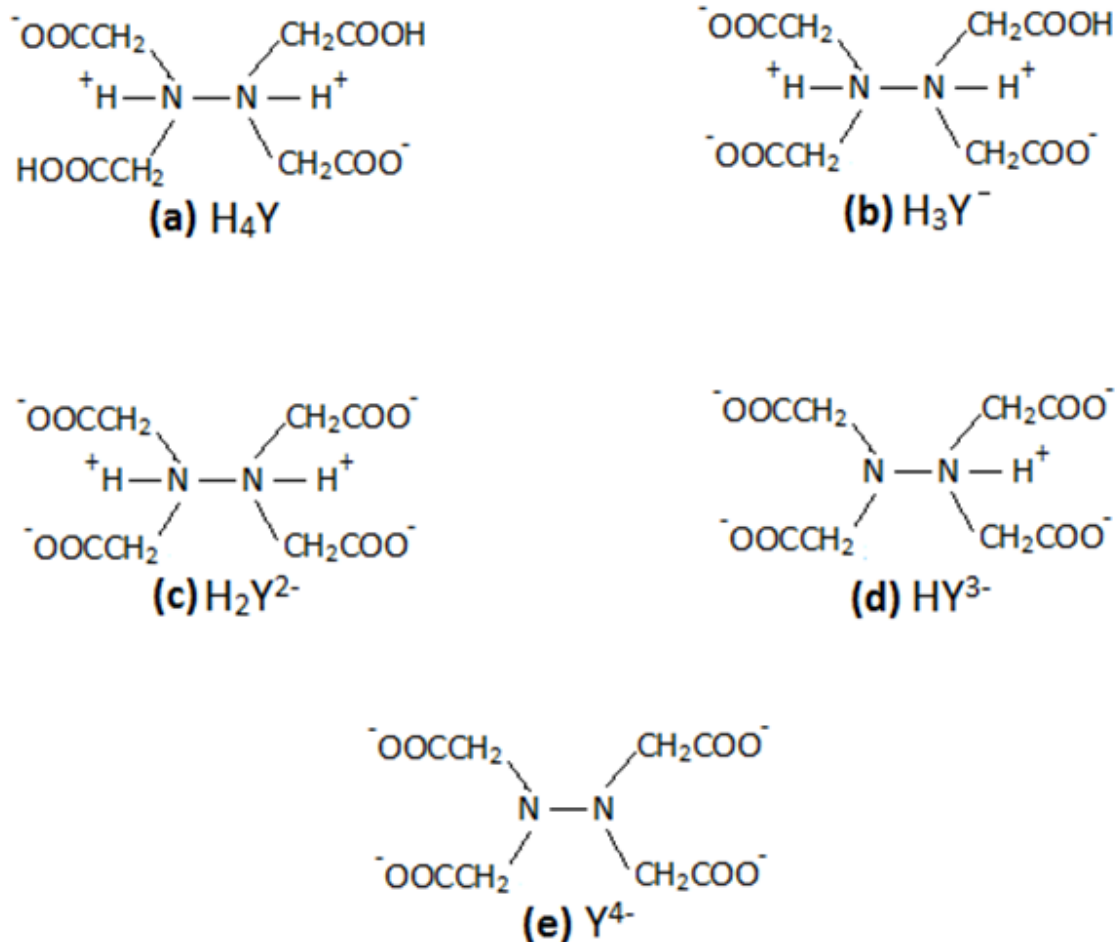


Figura 4.2 Estructura de H_4Y y sus productos de disociación.

Las múltiples especies del EDTA se abrevian habitualmente como H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} y Y^{4-} .

La figura 4.3 ilustra como varían las cantidades relativas de las especies formadas a partir del EDTA en función del pH.

La especie H_2Y^{2-} predomina en medios moderadamente ácidos (pH 3 a 6).

La especie Y^{4-} solo llega a ser el componente mayoritario de las disoluciones de EDTA a partir de pH 10, como se aprecia en la figura 4.3

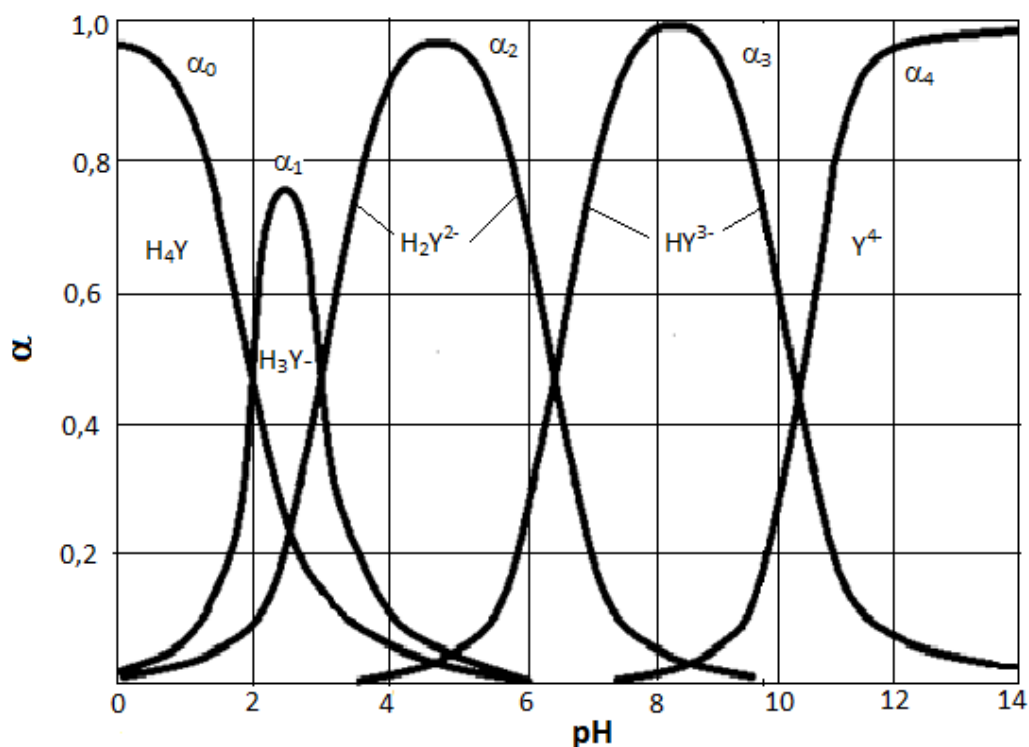


Figura 4.3 Composición de las disoluciones de EDTA en función del pH

Los puntos finales de las valoraciones con EDTA son cada vez menos agudos a medida que disminuye el pH, porque en estas circunstancias es menos completa la formación del complejo.

Una curva de valoración basada en la reacción de un catión con EDTA consiste en una representación de pM ($-\log [M]$) en función del volumen del reactivo.

La figura 4.4 muestra las curvas de valoración del ion calcio en disoluciones amortiguadas a varios niveles de pH. En la figura se ve claramente que para tener un punto final adecuado en la valoración del calcio se requiere un pH igual o mayor que 8, aproximadamente.

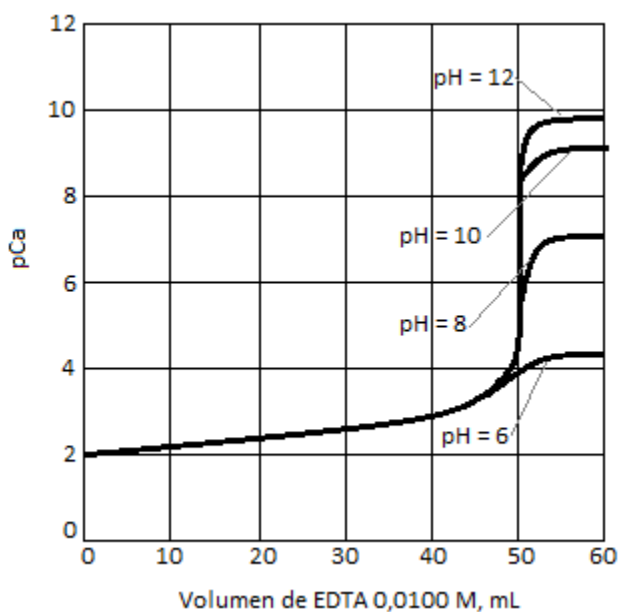
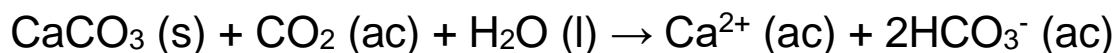


Figura 4.4 Influencia del pH en la valoración de Ca^{2+} 0,0100 M con EDTA 0.0100 M.

La nitidez del punto final de la valoración complejométrica de los iones calcio y magnesio con EDTA aumenta al aumentar el pH, como ya se observó en la figura 4.4, sin embargo, el pH no se puede aumentar indefinidamente debido al peligro de precipitación de carbonato de calcio, CaCO_3 , o hidróxido de magnesio $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

El carbonato de calcio es prácticamente insoluble en agua, en presencia de dióxido de carbono disuelto, el CaCO_3 se transforma en bicarbonato de calcio soluble:

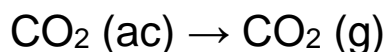


donde HCO_3^- es el ión bicarbonato.

Cuando el agua que contiene iones calcio y bicarbonato se calienta o hierva, se invierte la reacción de disolución para producir el precipitado carbonato de calcio. En realidad, al calentar y evaporar el agua, estamos disminuyendo la solubilidad del carbonato de calcio, generando su precipitación:



y el dióxido de carbono gaseoso es expulsado de la disolución:



Por otro lado en medio ácido ocurre la siguiente reacción:



De esta forma, el carbonato de calcio se convierte en cloruro de calcio soluble. También es sabido que un elevado pH provoca que el indicador cambie de color. El pH especificado de $10,0 \pm 0,1$ garantiza un resultado satisfactorio. Se establece un límite de 5 minutos para la duración de la titulación para minimizar la tendencia a la precipitación de CaCO_3 .

Para mantener un valor de pH adecuado durante la titulación se emplean las soluciones amortiguadoras.

SOLUCIONES AMORTIGUADORAS DE pH^[1]

Por definición, una solución amortiguadora es aquella que opone resistencia a cambios de pH cuando se le agrega un ácido o un álcali, o se diluye con un disolvente. La mayoría de los indicadores constan de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado. Se emplean amortiguadores

siempre que se requiere mantener el pH de la solución a un nivel constante y predeterminado.

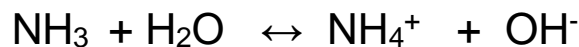
Se forma una solución amortiguadora siempre que un ácido débil se neutraliza parcialmente con una base fuerte, o una base débil se neutraliza parcialmente con un ácido fuerte.

Si se agrega un ácido o una base al agua, el pH de esta última varía bruscamente, porque el agua no es capaz de resistir el cambio de pH: está totalmente desprovista de acción amortiguadora. Aún un ácido muy débil como el dióxido de carbono disminuye el pH del agua de 7 a 5.7 cuando la pequeña concentración del gas presente en el aire se equilibra con el agua pura, ésta susceptibilidad extrema del agua destilada para cambiar el pH con pequeñas cantidades de ácidos o bases es a menudo de mucha importancia en las operaciones farmacéuticas.

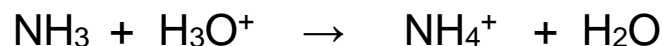
Las soluciones de sales neutras, como el cloruro de sodio, de manera similar, carecen de la capacidad de resistir los cambios de pH cuando se agrega un ácido o una base, tales soluciones se denominan *no amortiguadas*.

En la determinación de la dureza del agua, para mantener constante el pH se emplea el siguiente sistema: cloruro de amonio- hidróxido de amonio ($\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_4\text{OH}$). El hidróxido de amonio también es conocido como agua de amoníaco.

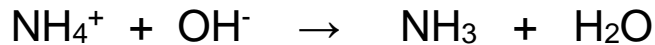
En soluciones acuosas, el amoníaco desprotona una pequeña fracción del agua para dar iones de amonio e hidróxido según el siguiente equilibrio:



El par amoníaco-cloruro de amonio funciona como una solución amortiguadora, porque el amoníaco se combina con el ión hidronio que se agrega para formar ion amonio y agua, así:



El ion amonio (del cloruro de amonio), que es un ácido, se combina con el ion hidroxilo agregado para formar amoníaco y agua, como sigue:



Nuevamente el cambio de pH es pequeño si la cantidad de ion hidronio u hidroxilo no excede la capacidad del sistema para neutralizarlo.

INDICADORES PARA VALORACIONES CON EDTA

Se han investigado alrededor de 200 compuestos orgánicos como indicadores de iones metálicos en valoraciones con EDTA, por lo general, se trata de indicadores orgánicos que forman quelatos coloreados con iones metálicos en un intervalo de pM (-log [M]) que es característico de cada catión y cada indicador.

Es habitual que los complejos tengan un color intenso y sean discernibles a simple vista en concentraciones molares que van de 10^{-6} a 10^{-7} M.

El negro de eriocromo T es un indicador característico de iones metálicos que se utiliza en la valoración de diversos cationes comunes, como se muestra en la figura 4.5 este compuesto contiene un grupo ácido sulfónico, que está totalmente disociado en agua, y dos grupos fenólicos que se disocian solo parcialmente.

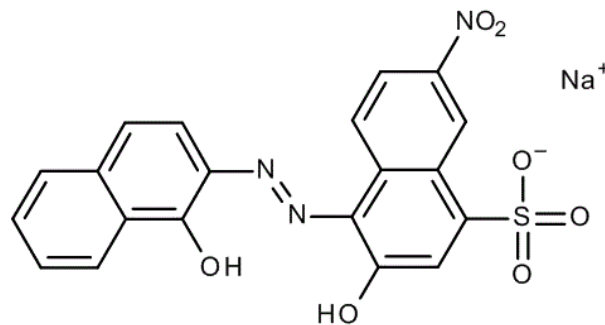
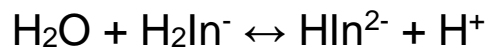
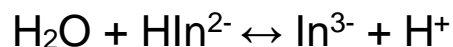


Figura 4.5 Estructura Negro de eriocromo T

Su comportamiento como ácido débil se describe mediante las ecuaciones:



rojo azul



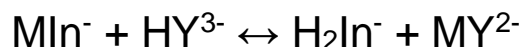
azul anaranjado

Cabe señalar que los ácidos y sus bases conjugadas tienen colores distintos. Así pues, el negro de eriocromo T se comporta como indicador ácido-base, y también como un indicador del ion metálico.

Los complejos metálicos del negro de eriocromo T por lo general son rojos, como el caso del H_2In^- . Por tanto, para la detección de iones metálicos es necesario ajustar el pH a 7 o mayor, de modo que la forma azul de la especie, HIn^{2-} , predomine en ausencia de un ión metálico.

Hasta el punto de equivalencia en una valoración, el indicador compleja el exceso de ion metálico de forma que la solución es roja.

Ante el primer leve exceso de EDTA, la solución se torna azul como consecuencia de la reacción:



rojo azul

El negro de eriocromo T forma complejos rojos con más de dos decenas de iones metálicos, pero sólo unos pocos tienen las constantes de formación apropiadas para la detección del punto final.

La constante de formación del complejo EDTA de magnesio es menor que la del complejo de calcio, en consecuencia, la reacción del ion calcio con EDTA es más

completa, y presenta un mayor cambio de la función pM en la región del punto de equivalencia.

Los intervalos de magnesio y calcio, a los que se produce el viraje del indicador negro de eriocromo T, están señalados en las curvas de valoración de la figura 4.6, es evidente que el negro de eriocromo T es un indicador ideal para el magnesio, pero totalmente insatisfactorio para el calcio.

Considerando que la constante de formación del CaIn^- es tan solo unas cuarenta veces menor, aproximadamente, que la de magnesio, en consecuencia bastante antes del punto de equivalencia una parte significativa del CaIn^- se convierte en HIn^{2-} .

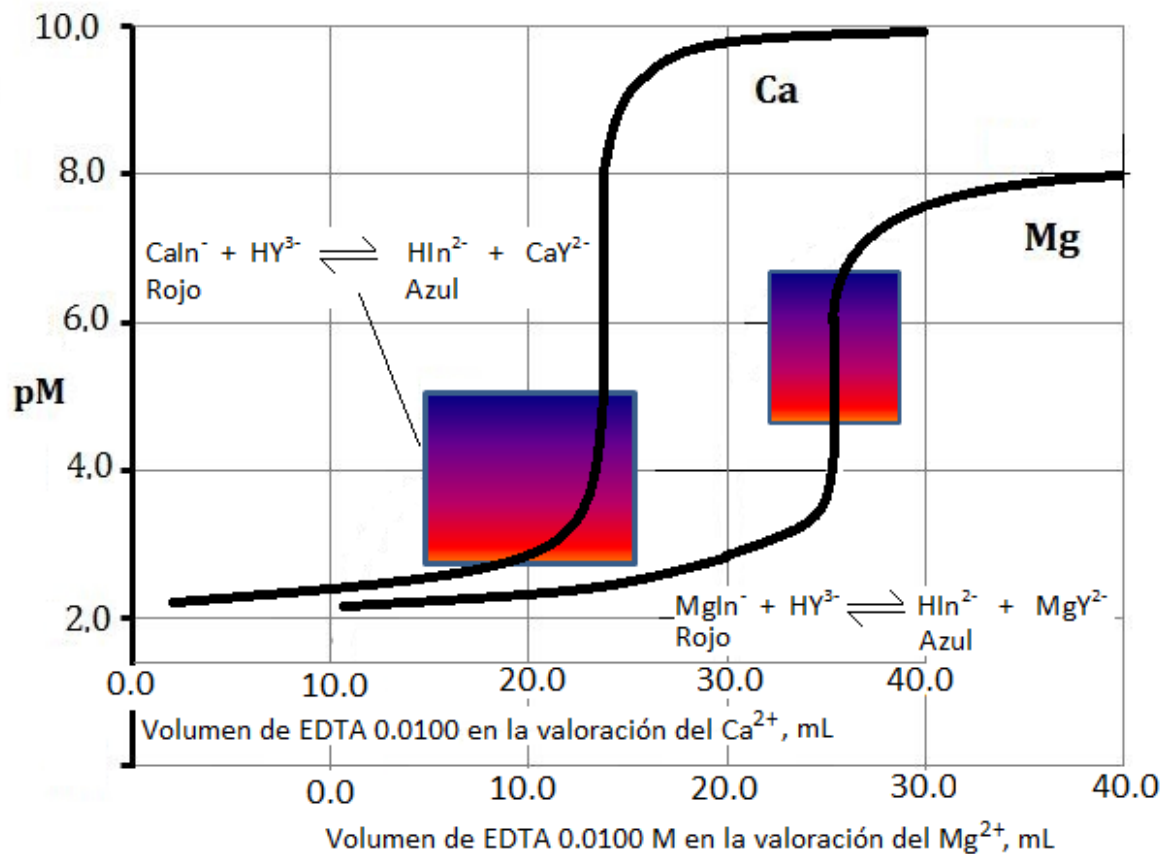


Figura 4.6 Curvas de valoración con EDTA de 50 mL de Ca^{2+} 0.005M (K' de $\text{CaY}^{2-} = 1,75 \times 10^{10}$) y Mg^{2+} 0.005M (K' de $\text{MgY}^{2-} = 1,72 \times 10^8$) a pH 10

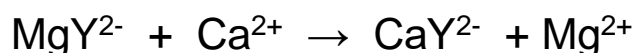
Para obtener un punto final satisfactorio en la valoración del calcio se emplea un método basado en indicadores de un ion metálico auxiliar, en este caso el magnesio.

Este método consiste en introducir en la disolución de EDTA una pequeña cantidad de un catión (Mg^{2+}) que forma con el EDTA un complejo que es menos estable que el complejo del analito (Ca^{2+}) y para el cual existe un buen indicador.

Los indicadores del ión calcio son, en general, menos satisfactorios que para el magnesio, en consecuencia se añade cloruro de magnesio.

En las primeras fases de valoración, los iones calcio desplazan a los iones magnesio del complejo de EDTA, quedando libres para combinarse con el negro de eriocromo T, y dando así un color rojo a la disolución, sin embargo, cuando los todos los iones calcio se han complejado, los iones magnesio se combinan de nuevo con EDTA, liberándose el indicador y observándose el punto final.

Reacción de desplazamiento:



El magnesio, que forma con el EDTA los complejos menos estables de todos los cationes multivalentes en muestras de agua típicas, no se valora hasta no haber añadido reactivo suficiente para que se formen los complejos con todos los demás cationes de la muestra. Por lo tanto, un indicador de iones magnesio, como la calmagita o negro de eriocromo T, puede servir como indicador en las valoraciones de la dureza del agua.

Es frecuente incorporar una pequeña concentración del quelato magnesio – EDTA a la solución amortiguadora o al valorante, a fin de garantizar que los iones magnesio sean suficientes para el funcionamiento apropiado del indicador y así obtener un punto final satisfactorio; esto introduce automáticamente suficiente magnesio y evita la necesidad de una corrección por blanco.

PRECAUCIONES PARA LA TITULACIÓN

Limpieza del material

Se debe realizar la valoración a temperatura ambiente.

El cambio de color se vuelve muy lento a medida que la muestra se aproxima a la temperatura de congelación.

La descomposición del indicador se vuelve un problema en agua caliente.

El pH especificado puede producir un entorno propicio para la precipitación de CaCO_3 , aunque el valorante redisuelve lentamente tales precipitados.

Procurar terminar la titulación dentro de los 5 minutos posteriores a la adición de la solución amortiguadora, de este modo se minimiza la tendencia del CaCO_3 a precipitar.

Los tres métodos siguientes también pueden ayudar a reducir la pérdida por precipitación.

Diluir la muestra con agua destilada para reducir la concentración de CaCO_3 .

Este simple recurso se ha incorporado en el procedimiento. Si la precipitación se produce a esta dilución de 1:1 no diluir más la muestra. Utilizar una muestra demasiado pequeña contribuye a un error sistemático debido al error de lectura de la bureta.

Si la dureza aproximada se conoce o se determina por una titulación preliminar, añadir 90% o más de reactivo de valoración a la muestra antes de ajustar el pH con la solución amortiguadora.

Acidificar la muestra y agitar durante 2 minutos para expulsar el CO_2 antes de ajustar el pH.

El método más utilizado para determinar dureza total de agua es el de valoración con EDTA, que es un método volumétrico, basado en una reacción de complejometría. El método de prueba para determinar Dureza Total en agua potable se describe en la NMX-AA-072-SCFI-2001 ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS.

El ácido etilendiaminotetraacético y sus sales de sodio (abreviado EDTA) forman un complejo soluble quelado cuando se añade a una solución de ciertos cationes metálicos. Si se añade una pequeña cantidad de un indicador tal como negro de eriocromo T o calmagita a una solución acuosa que contiene iones de calcio y de magnesio a un pH de $10,0 \pm 0,1$, la solución se vuelve de color rojo vino. Si se adiciona EDTA como reactivo de valoración, se complejan el calcio y el magnesio, y cuando todo el magnesio y el calcio se ha complejado la solución cambia de rojo vino a azul, que marca el punto final de la titulación.

Para la titulación de la muestra se sugiere seleccionar un volumen de muestra que requiera menos de 15 mL de solución valorante EDTA y que la titulación sea completa en 5 minutos, medido desde el momento de adición de la solución amortiguadora.

Diluir 25.0 mL de muestra hasta aproximadamente 50 mL con agua destilada en un recipiente adecuado. Añadir 1-2 mL de solución amortiguadora. Por lo general, 1 mL será suficiente para dar un pH de 10.0-10.1. Añadir de 1 a 2 gotas de solución indicadora o una cantidad apropiada del indicador en polvo seco. Agregar valorante estándar EDTA lentamente, con agitación continua, hasta que el último tinte rojizo desaparezca. Agregar las últimas gotas en intervalos de 3 a 5 segundos. En el punto final la solución es de color azul. Si hay muestra suficiente

disponible y la interferencia está ausente, mejorar la precisión mediante el aumento de tamaño de la muestra, como se describe a continuación: Para

muestras de baja dureza; para agua ablandada por un intercambiador de iones u otra fuente y para aguas naturales de dureza baja (menos de 5 mg/L), tomar una muestra más grande, de 100 a 1000 mL, para la titulación y añadir cantidades proporcionalmente más grandes de solución amortiguadora, inhibidor, e indicador.

Añadir reactivo de valoración EDTA estándar lentamente de una microbureta y correr un blanco, utilizando agua desionizada, redestilado, o destilada, de el mismo volumen que la muestra, a la cual se han añadido cantidades idénticas de solución amortiguadora, inhibidor, e indicador. Restar el volumen de EDTA, utilizado para el blanco, de volumen de EDTA utilizados para la muestra. [6]

MÉTODO DEL KIT HACH HA-DT Hardness Total (MÉTODO DE COMPARACIÓN)

El kit Hach que a continuación se describe es uno de los métodos denominados “listos para uso”. El Titulador digital Hach es un nuevo concepto en el análisis volumétrico. Es un dispositivo de dosificación precisa equipado con cartuchos compactos que contienen valorantes concentrados. Se hacen valoraciones precisas sin la fragilidad de las buretas convencionales y sin la necesidad de montar un sistema de valoración (lo que implica una superficie plana, un soporte universal, bureta, además de aparatos adicionales, reactivos y material de vidrio).



Figura 4.7 Kit Hach modelo HA DT Total Hardness

Las partes que componen el titulador digital se ilustran en la figura 4.8

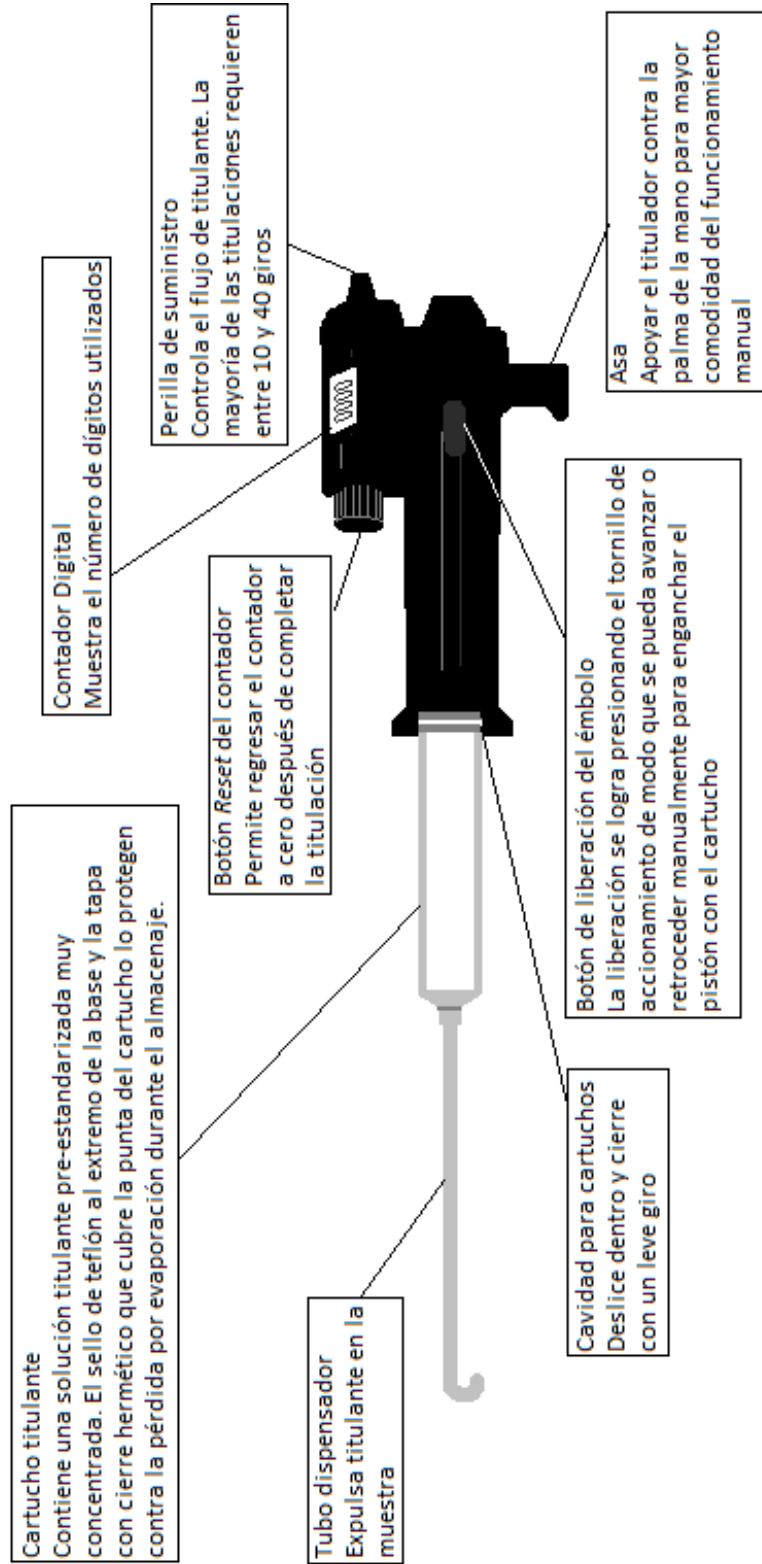


Figura 4.8 ESQUEMA DEL TITULADOR DIGITAL HACH

En el titulador digital un tornillo de accionamiento principal es el que controla el flujo. Mediante un émbolo que presiona un cartucho que contiene al valorante concentrado, de este modo se obtiene un flujo cuidadosamente regulado.

El cuerpo del titulador está construido de plástico acetal¹ resistente al impacto, de alta resistencia química y moldeo preciso. La exactitud se calcula en $\pm 1\%$ o mejor para una valoración de más de 100 dígitos. Para valoraciones de menos de 100, la precisión es ± 1 dígito.

CONTENIDO DEL KIT



Figura 4.9 Contenido del Kit:

Soluciones amortiguadoras para dureza de agua pH 10.1

Cartucho de EDTA 0.0800 M

Cartucho de EDTA 0.800 M

Indicador de Dureza

Tubos dispensadores

1 Plástico acetal: un acetal es una molécula con dos grupos alcoxi, unidos a un mismo átomo de carbono. Se utiliza para preparar polímeros plásticos y presentan ventajas, son resistentes químicamente, absorben muy poca agua y resisten a la hidrólisis por bases.

Capítulo 4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las soluciones valorantes se envasan en recipientes de polipropileno desechable (cartuchos) o Kynar® recubierto con Teflón, sellos de neopreno y cierres resellables de polietileno para cubrir la punta del cartucho, que contiene aproximadamente 13 mL de la solución valorante, suficiente para un promedio de 50 a 100 titulaciones.

Las soluciones valorantes están controladas normalmente a $\pm 0.5\%$ de concentración con la normalidad y tolerancia listados en la etiqueta. Las concentraciones de valorante están diseñadas para valoraciones de 10 a 40 vueltas (100 a 400 dígitos) de la perilla de dispensación. Para los intervalos de concentración más comúnmente utilizados, los dígitos que aparecen en la ventana del contador corresponden a la concentración de la muestra.

El número de dígitos necesarios suele oscilar entre 100 y 400. En casi todos los procedimientos, si los dígitos necesarios son inferiores a 100 o superiores a 400, se deben utilizar un volumen de muestra o cartucho de reactivo de valorante alternativo.

El titulador digital dispensa 800 dígitos/mL o 0.00125 mL/dígito.

Entonces si se usa el cartucho 0.800M, en 0.00125 mL de solución de EDTA se tendrán 1×10^{-6} moles de EDTA.

Por lo tanto 1 dígito equivale a 1×10^{-6} moles de EDTA, y se sabe que la reacción entre el EDTA y los iones no importando su carga es de 1 a 1. Entonces se requiere de un dígito por cada 1×10^{-6} moles de CaCO_3 .

Pero como el peso molecular del CaCO_3 es de 100.0869 g/mol. Y a su vez convirtiendo los gramos en miligramos tenemos que un dígito consume ~ 0.1 mg CaCO_3 . Por lo que de este modo la lectura de la dureza es casi directa, solo hace falta tomar en cuenta el volumen de muestra a analizar.

En la tabla 4.1 el valor denominado dígito multiplicador está asociado a la dilución de la muestra. Y el volumen de muestra a tomar depende de la dureza del agua.

MANUAL DEL TITULADOR DIGITAL HACH ^[8]

Paso a paso.

1. Seleccionar un volumen de muestra y el cartucho de titulación correspondiente a la concentración esperada de la muestra, según la tabla 4.1. Si no se conoce la concentración esperada de la muestra, comenzar con uno de los volúmenes de muestra más pequeños y determinar la concentración aproximada. Volver a probar con el tamaño de la muestra apropiado.
2. Deslizar el cartucho dentro de la cavidad del titulador y fijar su posición con un ligero giro. Ver figura 4.10



Figura 4.10 Colocación correcta del cartucho en el titulador

3. Quitar el tapón de polietileno e insertar un tubo de dispensación limpio en el extremo del cartucho hasta que esté apretada. No inserte el tubo dispensador más allá de la extensión del cartucho, como se muestra en la figura 4.11.

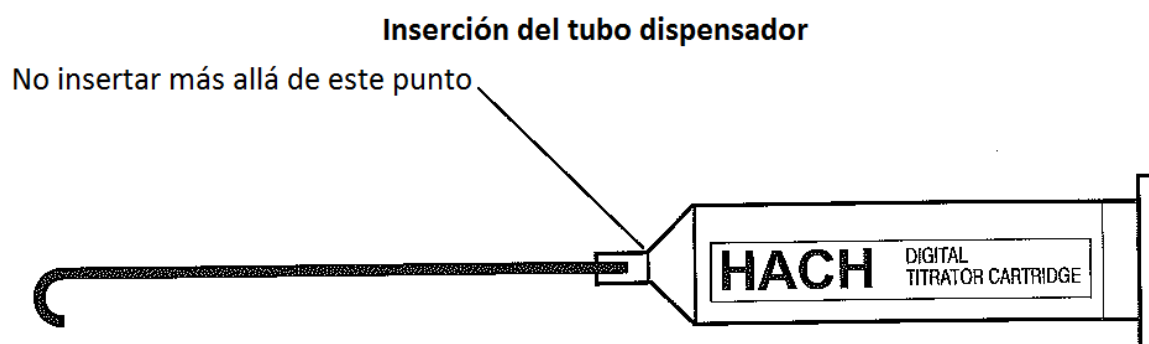


Figura 4.11 Inserción correcta del tubo de dispensación en el cartucho

4. Para que el valorante comience a fluir y enjuague el tubo de dispensación, mantenga la punta del cartucho hacia arriba. Haga avanzar el botón de liberación del émbolo para enganchar el pistón con el cartucho (pulse el botón adentro y hacia el cartucho). No expulsar solución cuando se empuja el pistón hacia el cartucho. Gire la perilla de dispensación hasta que el aire sea expulsado y varias gotas de la solución fluyan de la punta. Al girar la perilla un tornillo de accionamiento empuja un pistón contra el sello del cartucho y presiona al líquido a través del tubo de dispensación.

Tabla 4.1 Selección de cartuchos y volumen de muestra

Rango (mg/L)	Volumen (mL)	Concentración del Cartucho (M EDTA)	Dígito Multiplicador
10-40	100	0.0800	0.1
40-160	25	0.0800	0.4
100-400	100	0.800	1.0
200-800	50	0.800	2.0
500-2000	20	0.800	5.0
1000-4000	10	0.800	10.0

5. Use una probeta o pipeta adecuada para medir el volumen de muestra según se muestra en la tabla 4.1. Transferir la muestra a un matraz Erlenmeyer. Si el volumen de muestra es menor a 100 mL, diluir a un volumen final de 100 mL

con agua desionizada. El volumen de muestra medido y las diluciones debe ser exacto. Sin embargo, el volumen final total de solución valorada no es crítico.

El valor del dígito multiplicador es relativo a la dilución de la muestra, si no se realizó dilución, el dígito multiplicador es 1, y por lo tanto la lectura de dígitos mostrada en el titulador digital equivale directamente a la Dureza Total de la muestra.

6. Adicionar los reactivos necesarios a la muestra y agitar para mezclar.
 - 6.1. Adicionar 2 mL de solución amortiguadora del kit y agitar para mezclar
 - 6.2. Agregar el contenido de un sobre de indicador y agitar para mezclar.
7. Antes de iniciar la titulación, con ayuda de la perilla regresar el contador a ceros. Mantener bajo agitación constante la muestra y sumergir la punta del tubo de liberación de solución de EDTA en el matraz. Valorar girando la perilla de liberación. Seguir girando la perilla y agitando la muestra hasta alcanzar el punto final, identificado por el cambio de color de la solución de rojo a azul. Registrar el número de dígitos que aparezcan en la ventana del contador digital. Resultados inexactos ocurrirán si la punta del tubo de liberación se sostiene fuera de la solución en lugar de bajo la superficie de la solución. Ver figura 4.12
8. Después de completar la prueba, pulse el botón de liberación del émbolo y retire manualmente el émbolo del cuerpo del titulador. Retire el cartucho y tubo dispensador y vuelva a sellar el cartucho con el tapón de polietileno.



Figura 4.12 Titulando la muestra

El manual sugiere coleccionar al menos 100 mL de muestra en un contenedor de vidrio o polietileno. Las muestras pueden mantenerse hasta siete días antes del análisis si se almacenan a 4°C y se acidifican a pH 2 con ácido nítrico concentrado. El día del análisis neutralizar a pH 7 la muestra acidificada, con hidróxido de amonio antes de la prueba. Permitir que la muestra se atempere antes del análisis, ya que la reacción en la titulación es lenta cerca del punto final, especialmente en muestras frías.

PARTE EXPERIMENTAL

TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra se realizó en un solo punto de la planta farmacéutica. Los contenedores empleados para recolectar la muestra de agua fueron bolsas estériles de polietileno WHIRL-PAK® de 120 mL de capacidad. Se abrió la llave de la toma y se dejó correr el agua aproximadamente 3 minutos. Las muestras de agua que requerían ser almacenadas para pruebas posteriores fueron resguardadas en refrigeración a 4°C, hasta su análisis, sin la adición de ninguna sustancia.

Los parámetros de validación realizados para cada método fueron: especificidad, exactitud del método, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y linealidad. Las pruebas de desempeño para ambos métodos se determinaron paralelamente, bajo las mismas condiciones.

1. MÉTODO DE REFERENCIA (MÉTODO NMX-AA-072-SCFI-2001)

PARÁMETROS DE OPERACIÓN

Solución de EDTA 0.01 M. Transferir 3.72 g de EDTA sal disódica a un matraz volumétrico de 1 L, disolver y aforar con agua. Resguardar en frasco de polietileno.

HCl al 10% (m/v). Adicionar en un matraz volumétrico de 100.0 mL conteniendo 50 mL de agua, 27 mL de ácido clorhídrico fumante al 37%, dejar enfriar y llevar a volumen con agua.

NaOH Solución Reactivo. Transferir aproximadamente 4 g de hidróxido de sodio a un matraz volumétrico de 100.0 mL, disolver con 50 mL de agua y dejar enfriar. Llevar a volumen con agua.

Valoración de la solución de EDTA. Preparar por triplicado. Pesar con exactitud 40 mg de carbonato de calcio estándar quelométrico previamente secado a 110° C por 2 horas y transferir a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, agregar 10 mL de agua y 2 mL de HCl al 10% y agitar hasta disolver, adicionar 90 mL de agua y titular con aproximadamente 30 mL de EDTA 0.01 M. Agregar 15 mL de la SR de NaOH y unos cristales de azul de hidroxinaftol. Titular con EDTA 0.01 M hasta el cambio de color magenta a azul.

DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL EN MUESTRAS DE AGUA POTABLE.

Transferir 50 mL de la muestra de agua potable a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, ajustar el pH a 10 con buffer comercial para dureza de agua y adicionar 2 gotas de SI de Negro de Eriocromo T y titular con EDTA 0.01 M hasta el cambio de color de rojo a azul.

Determinar la dureza total del agua en mg/L con la siguiente fórmula:

$$\text{Dureza Total expresada como CaCO}_3 = \frac{\text{M EDTA} \times \text{mL de EDTA} \times 100.09 \times 1000}{50 \text{ mL de la muestra}}$$

Donde:

M EDTA= Molaridad real de la solución de EDTA

mL de EDTA= Volumen de la solución de EDTA gastados

100.09= Peso molecular del CaCO₃

1000= factor de conversión a miligramos

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN MÉTODO NMX-AA-072-SCFI-2001

1.1 ESPECIFICIDAD

Se colocaron 50 mL de agua desionizada libre de iones calcio y magnesio en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se ajustó el pH a 10 con buffer comercial para

dureza y se adicionaron 2 gotas de SI de Negro de Eriocromo T (se realizó por triplicado).

1.2 PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Se prepararon seis muestras de agua potable y se determinó la dureza total en mg/L por titulación con EDTA 0.01 M

1.3 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se realizó una curva de calibración de 5 niveles de concentración a partir de diluciones de la solución estándar comercializada de dureza de 1000 mg/L (Hach). Cada nivel se preparó por triplicado, se tomó un volumen de 50 mL de cada preparación y se analizó por titulación con EDTA 0.01 M, siguiendo el método. Se evaluó volumen consumido de solución EDTA en función de la concentración del estándar.

La curva de calibración se preparó como se describe a continuación:

Tabla 5.1 Preparación de la Curva de calibración Estándar de dureza

Nivel %	mg/L de dureza total	Alícuota Estándar	Volumen Final
20	100.0	10	100.0
50	250.0	25	100.0
100	500.0	50	100.0
120	600.0	60	100.0
150	750.0	75	100.0

1.4 PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Se realizaron seis preparaciones correspondientes al nivel del 100% (500 mg/L) a partir de la solución estándar de dureza de 1000 mg/L, del mismo modo que para linealidad del sistema. Se tomó un volumen de 50 mL de cada preparación y se

tituló con EDTA 0.01 M. Se determinó la cantidad recuperada de analito y se calculó el porcentaje de recobro.

1.5 LINEALIDAD DEL MÉTODO

Se determinó la linealidad del método con base en los resultados obtenidos en linealidad del sistema de los niveles 50%, 100% y 150%. Se evaluó la cantidad adicionada en función de la cantidad recuperada.

1.6 PRECISIÓN INTERMEDIA

Tres muestras de agua potable fueron analizadas tres días consecutivos, por titulación con EDTA 0.01 M conforme al método.

2. MÉTODO DE COMPARACIÓN (MÉTODO KIT HACH HA-DT Hardness Total)

PÁRAMETROS DE OPERACIÓN DEL KIT

Preparación del contador de gotas:

Seleccionar el cartucho de solución de EDTA con la concentración necesaria requerida para determinar la cantidad esperada de dureza total de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 5.2 Selección de cartuchos y volumen de muestra

Rango (mg/L)	Volumen	Concentración del Cartucho (M EDTA)	Dígito Multiplicador
10-40	100	0.0800	0.1
40-160	25	0.0800	0.4
100-400	100	0.800	1.0
200-800	50	0.800	2.0
500-2000	20	0.800	5.0
1000-4000	10	0.800	10.0

Remover la tapa del cartucho y colocarle un tubo dispensador. Colocar el cartucho con el dispensador en el gotero y girar la perilla de dispensación hasta que se liberen unas cuantas gotas de la solución. Regresar el contador de gotas a cero.

PRUEBA DE EXACTITUD DEL KIT

Seleccionar el cartucho de EDTA 0.0800 M y ocupar un volumen de 25 mL del estándar de 100 mg/L de acuerdo con la tabla 5.2 debido a que la cantidad de dureza total esperada es 100 mg/L.

Transferir 25 mL del estándar de Dureza Total de 100 mg/L a un Matraz Erlenmeyer de 250 mL y llevar a 100 mL con agua desionizada. Agregar 2 mL del buffer de dureza del kit y agitar para mezclar. Agregar el contenido de un sobre de indicador de dureza y agitar para disolver.

Colocar el tubo dispensador dentro de la solución y girar la perilla del contador de gotas para dispensarla solución de EDTA hasta el cambio de color de rojo a azul. Registrar el número de dígitos requeridos.

Calcular la exactitud multiplicando el número de dígitos requeridos para el cambio de color por 0.4 de acuerdo con la tabla 5.2. El porcentaje de recobro deberá encontrarse entre el 98.0% y el 102.0%. Realizar esta prueba por cada día de análisis.

DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL MÉTODO KIT HACH HA-DT Hardness Total

Seleccionar el cartucho de EDTA 0.800 M y ocupar un volumen de 50 mL de la muestra de acuerdo con la tabla 5.2 debido a que la cantidad máxima esperada de dureza total es de 500 mg/L.

Transferir 50 mL de agua potable a un matraz Erlenmeyer de 250mL y llevar a 100 mL con agua desionizada. En una parrilla de agitación magnética colocar la

muestra y mantener bajo agitación. Agregar 2 mL del buffer de dureza del kit. Agregar el contenido de un sobre de indicador de dureza y agitar para disolver.

Colocar el tubo dispensador dentro de la solución y girar la perilla del contador de gotas para dispensar la solución de EDTA 0.800 M hasta el cambio de color de rojo a azul. Registrar el número de dígitos requeridos.

Calcular los mg/L de dureza total multiplicando el número de dígitos requeridos para el cambio de color por 2.0 de acuerdo con la Tabla 5.2.

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN MÉTODO KIT HACH HA-DT Hardness Total

2.1 ESPECIFICIDAD

Se colocó, por triplicado, 100 mL de agua desionizada libre de iones calcio y magnesio en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 2 mL de buffer para dureza del kit y se adicionó un sobre de indicador de dureza del kit.

2.2 PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Se prepararon seis muestras de agua potable y se determinó la dureza total en mg/L con el kit Hach de dureza total.

2.3 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Se realizó una curva de calibración de cinco niveles de concentración de la solución estándar de dureza de 1000 mg/L. Cada nivel se preparó por triplicado y se analizó con el kit Hach de dureza total. Se titularon 100 mL de cada preparación usando el cartucho de EDTA 0.800 M. Se evaluaron los dígitos requeridos en función de la concentración del estándar. El manual del kit indica que cuando las muestras contengan alta dureza, se debe hacer una dilución, en este caso las concentraciones se prepararon tomando las alícuotas según la tabla 5.3 y se pasaron a un matraz volumétrico de 20 mL y posteriormente ésta solución

se pasó cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con agua desionizada. Dicha dilución se toma en cuenta, para calcular la dureza en las determinaciones analíticas, cuando se multiplica por 5 según la tabla 5.2

Tabla 5.3 Preparación de la curva de calibración

Nivel %	dureza total (mg/L)	Alícuota Estándar	Volumen 1 (mL)	Volumen Final (mL)	Dígito multiplicador
20	100.0	2.0	20	100.0	5
50	250.0	5.0	20	100.0	5
100	500.0	10.0	20	100.0	5
120	600.0	12.0	20	100.0	5
150	750.0	15.0	20	100.0	5

2.4 PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Se realizaron seis preparaciones correspondientes al nivel del 100% (500 mg/L) a partir de la solución estándar de dureza de 100 mg/L, del mismo modo que para linealidad del sistema. Se analizaron utilizando el kit Hach de dureza. Se calculó el porcentaje de recobro.

2.5 LINEALIDAD DEL MÉTODO

Se determinó la linealidad del método con base en los resultados obtenidos en linealidad del sistema de los niveles 50%, 100% y 150%. Se evaluó la cantidad adicionada en función de la cantidad recuperada.

2.6 PRECISIÓN INTERMEDIA

Tres muestras de agua potable fueron analizadas por tres días consecutivos mediante titulación con el kit de dureza Hach.

ESPECIFICIDAD

Empleando el método de referencia, al adicionar las gotas de solución indicadora de negro de Eriocromo T a la muestra de agua desionizada libre de iones calcio y magnesio, previamente ajustada a pH 10, se observó la presencia de un color azul. Una coloración azul indica la ausencia de iones calcio y magnesio; un color rojo indicaría la presencia de estos iones.

Por lo tanto el método es específico para iones calcio y magnesio.

En el método de comparación, se adicionó un sobre de indicador de dureza del kit a una muestra de agua desionizada libre de iones calcio y magnesio, a la que previamente se le adicionaron 2 mL de buffer para dureza del kit.

Después de unos segundos de agitación magnética se observó en principio una coloración morada, debido a la presencia de Mg en la composición del amortiguador, que como ya se mencionó anteriormente en el capítulo 4, la presencia de una pequeña cantidad de magnesio es necesaria para garantizar un punto final óptimo en la titulación.

La solución se tornó azul al dispensar una gota de solución de EDTA del cartucho 0.0800 M con el titulador digital Hach. Lo anterior indica que el método es específico para iones calcio y magnesio.

PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Empleando el método de referencia, los resultados de Dureza Total para seis muestras de agua potable, obtenidos por titulación con EDTA 0.01 M fueron los siguientes:

Tabla 6.1 Evaluación de la precisión del método NMX-AA-072

Dureza total (mg/L)	
Muestra	NMX-AA-072
1	136.8
2	136.8
3	134.8
4	136.8
5	136.8
6	138.8
Promedio	136.8
SD	1.3
CV	0.9%

Debido a que se trata de un método volumétrico, el coeficiente de variación para las seis lecturas de la muestra de trabajo debe ser $\leq 2.0\%$. Como se puede observar en la tabla 6.1 el valor de coeficiente de variación obtenido fue de 0.9%. Por lo tanto el método es preciso y repetible para la lectura de diferentes muestras de la misma toma de agua potable.

Utilizando el método de comparación se determinó la dureza total de seis muestras de agua potable con el kit Hach de dureza total y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6.2 Evaluación de la precisión del método del KIT comercial

Dureza total (mg/L)	
Muestra	KIT HACH
1	136.0
2	136.0
3	134.0
4	138.0
5	138.0
6	136.0
Promedio	136.3
SD	1.5
CV	1.1%

Para considerar que el método es preciso, el coeficiente de variación para las seis lecturas de las muestras de trabajo debe ser $\leq 2.0\%$, por tratarse de un método volumétrico. En la tabla 6.2 puede observarse que el coeficiente de variación obtenido fue de 1.1%. Por lo tanto el método es preciso y repetible para la lectura de diferentes muestras de la misma toma de agua potable.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Para evaluar la linealidad del sistema, se realizó una curva de calibración de 5 niveles de concentración.

Tabla 6.3 Volumen de EDTA 0.01 M consumido por 50 mL de estándar de Dureza en cinco niveles de concentración

NMX-AA-072			
Nivel	Muestra	Estándar Dureza (mg/L)	Volumen EDTA 0.01M (mL)
20%	1	99.40	5.0
	2	99.40	5.0
	3	99.40	5.0
50%	1	248.50	12.4
	2	248.50	12.4
	3	248.50	12.5
100%	1	497.00	24.8
	2	497.00	24.8
	3	497.00	24.7
120%	1	596.40	29.7
	2	596.40	29.8
	3	596.40	29.7
150%	1	745.50	37.1
	2	745.50	37.2
	3	745.50	37.2

Se preparó cada nivel por triplicado y se titularon 50 mL de cada preparación. La respuesta observada fue el volumen de EDTA 0.01 M consumido en la titulación en función de la concentración del estándar de dureza. Los resultados del volumen consumido en las titulaciones se encuentran en la tabla 6.3

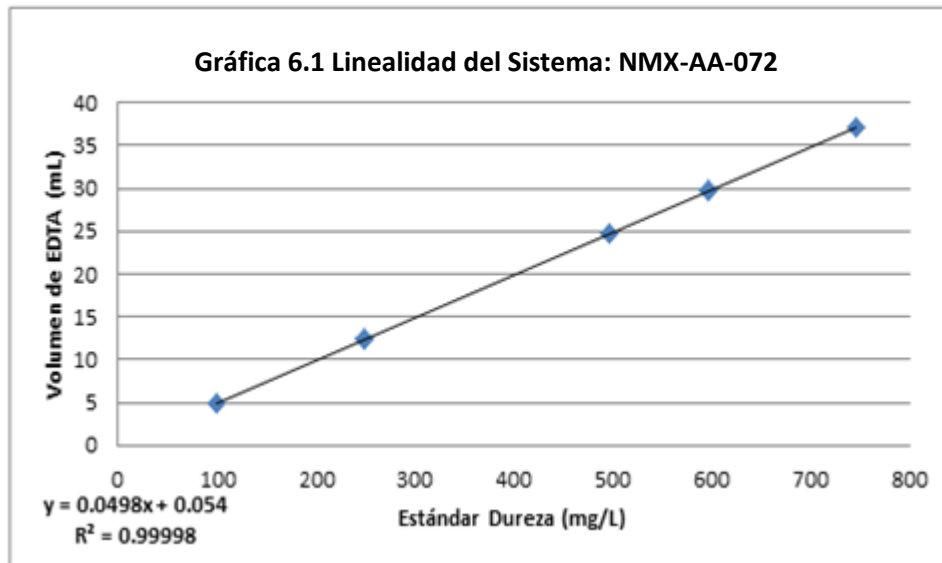


Tabla 6.4 Resultados estadísticos para linealidad del sistema

	NMX-AA-072	KIT HACH
r^2	0.99998	0.99992
Intercepto	0.0540	0.0986
Pendiente	0.0497	0.2004
Intervalo de confianza de la pendiente	0.0496, 0.0498	0.1999, 0.2014
Intervalo de confianza de la ordenada al origen	-0.0017, 0.1098	-0.4052, 0.6026

Para evaluar la linealidad del sistema se utilizó el método estadístico de mínimos cuadrados. En el gráfico 6.1 se puede observar el comportamiento directamente proporcional entre el volumen de EDTA 0.01 M consumido en la titulación y la concentración del estándar de calcio. En la tabla 6.4 se encuentran los valores del coeficiente de correlación y del intervalo de confianza para la pendiente, que describen dicho comportamiento lineal, además del valor de la pendiente y de la ordenada al origen.

Para considerar que la relación entre la respuesta y la concentración del estándar de calcio es lineal el coeficiente de correlación debe ser ≥ 0.995 , además de que el intervalo de confianza de la pendiente no debe incluir el cero y el intervalo de confianza para la ordenada al origen debe incluir el cero. Como puede observarse

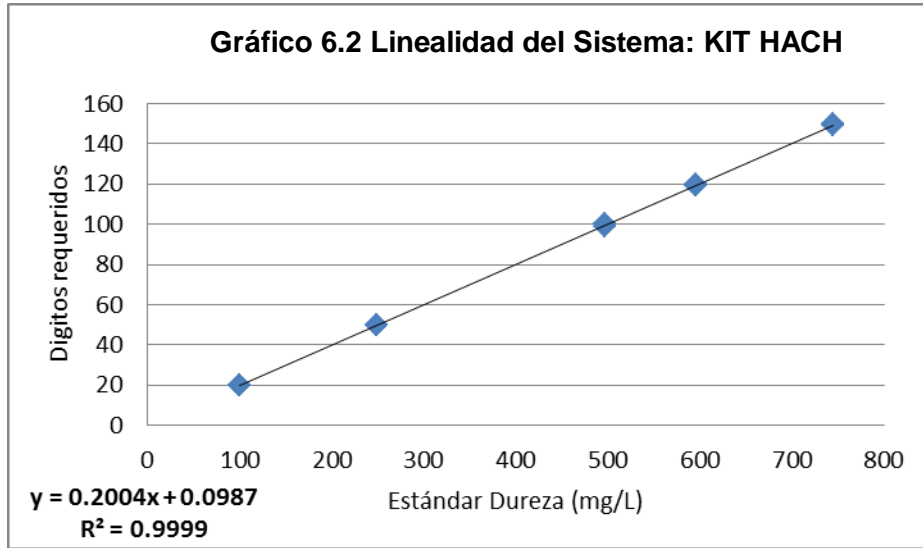
en los resultados de la tabla 6.4 los criterios se cumplen. Por lo tanto el sistema es lineal dentro del intervalo de prueba.

Para evaluar la linealidad del sistema del método de comparación, se realizó una curva de calibración de cinco niveles.

Cada nivel se preparó por triplicado y se titularon 100 mL de cada preparación con el titulador digital Hach. La respuesta observada fue el número de dígitos requeridos en el titulador digital para llegar al punto final de cada titulación. Los resultados obtenidos se describen en la tabla 6.5

Tabla 6.5 Dígitos requeridos por el titulador digital Hach para titular 100 mL de estándar de dureza en cinco niveles de concentración.

KIT HACH			
Nivel	Muestra	Estándar Dureza (mg/L)	Dígitos requeridos
20%	1	99.40	20
	2	99.40	20
	3	99.40	20
50%	1	248.50	50
	2	248.50	50
	3	248.50	50
100%	1	497.00	100
	2	497.00	99
	3	497.00	100
120%	1	596.40	119
	2	596.40	119
	3	596.40	120
150%	1	745.50	150
	2	745.50	149
	3	745.50	150



Del mismo modo que para el método de referencia, el método de comparación cumple con los criterios para considerar que el sistema es lineal. Como se observa en los valores del coeficiente de correlación y el intervalo de confianza mostrados en la tabla 6.4

PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Para determinar la exactitud se evaluó la cantidad recuperada de analito, de 6 preparaciones correspondientes al nivel 100% y se calculó el porcentaje de recobro. Además para evaluar la precisión se calculó el coeficiente de variación con respecto a los datos de porcentaje de recobro obtenidos. Los promedios de porcentaje de recobro y el coeficiente de variación obtenidos en el método de referencia y de comparación se muestran en las tablas 6.6 y 6.7, respectivamente.

El método se considera exacto si el promedio del porcentaje de recobro, de los seis datos obtenidos en el nivel del 100%, se encuentra entre el 98.0 y 102.0%. Empleando el método de referencia se obtuvo un promedio de recobro de 99.9% y de 99.6% con el método de comparación. Ambos resultados cumplen con la especificación del criterio de aceptación.

Con respecto a la precisión, el coeficiente de variación correspondiente a las seis lecturas del nivel del 100% debe ser menor o igual que 2.0%. En el método de referencia se obtuvo un CV de 0.2% y con el método de comparación se obtuvo un CV de 0.9%. Los métodos de referencia y de comparación son precisos y exactos cumpliendo con los parámetros establecidos.

LINEALIDAD DEL MÉTODO

Se determinó la linealidad del método con base en los resultados obtenidos en linealidad del sistema de los niveles 50%, 100% y 150%. Se evaluó la cantidad recuperada en función de la cantidad adicionada para ambos métodos, como se muestra en los gráficos 6.3 y 6.4, respectivamente. Los miligramos adicionados y los recuperados se muestran en las tablas 6.6 y 6.7

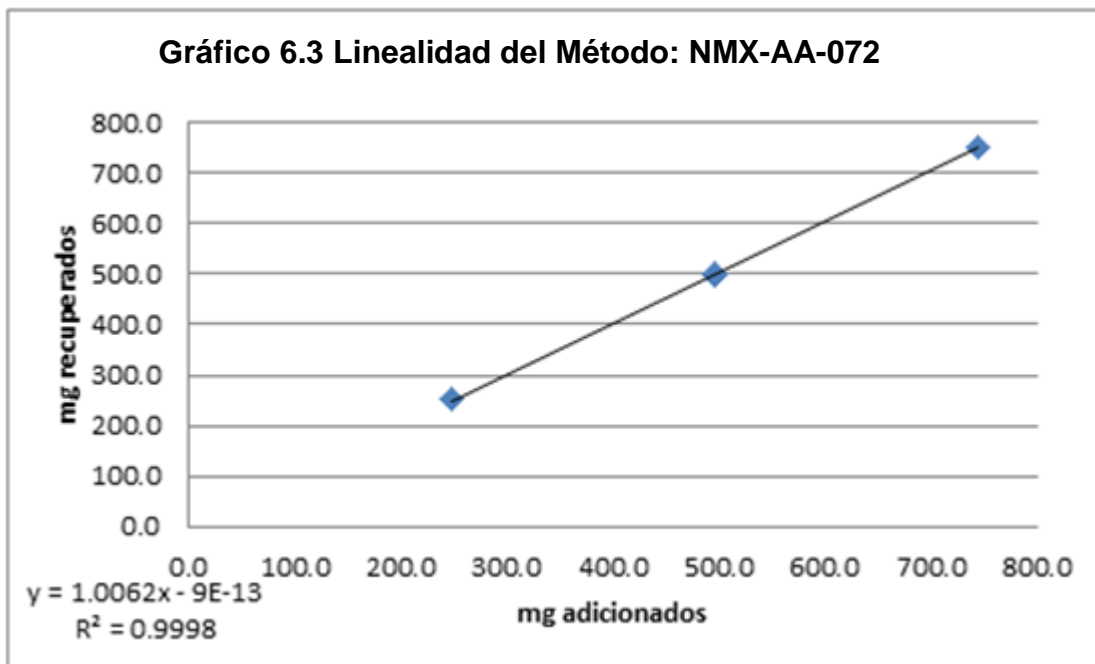
Tabla 6.6 mg recuperados empleando el método de referencia

NMX-AA-072							
Nivel	Muestra	mg adicionados	mg recuperados	Recobro (%)	PROMEDIO	SD	CV
50%	1	248.5	250.7	100.9	101.2	0.47	0.5 %
	2	248.5	250.7	100.9			
	3	248.5	252.7	101.7			
100%	1	497.0	501.4	100.9	99.9	0.23	0.2 %
	2	497.0	501.4	100.9			
	3	497.0	499.4	100.5			
	4	497.0	497.4	100.1			
	5	497.0	495.3	99.7			
	6	497.0	497.4	100.1			
150%	1	745.5	750.1	100.6	100.8	0.16	0.2 %
	2	745.5	752.1	100.9			
	3	745.5	752.1	100.9			

Tabla 6.7 mg recuperados empleando el método de comparación

KIT HACH							
Nivel	Muestra	mg adicionados	mg recuperados	% de recobro	PROMEDIO	SD	CV
50%	1	248.5	250.0	100.6	100.6	0.00	0.0%
	2	248.5	250.0	100.6			
	3	248.5	250.0	100.6			
100%	1	497.0	500.0	100.6	99.6	0.90	0.9%
	2	497.0	495.0	99.6			
	3	497.0	500.0	100.6			
	4	497.0	490.0	98.6			
	5	497.0	490.0	98.6			
	6	497.0	495.0	99.6			
150%	1	745.5	750.0	100.6	100.4	0.39	0.4%
	2	745.5	745.0	99.9			
	3	745.5	750.0	100.6			

Gráfico 6.3 Linealidad del Método: NMX-AA-072



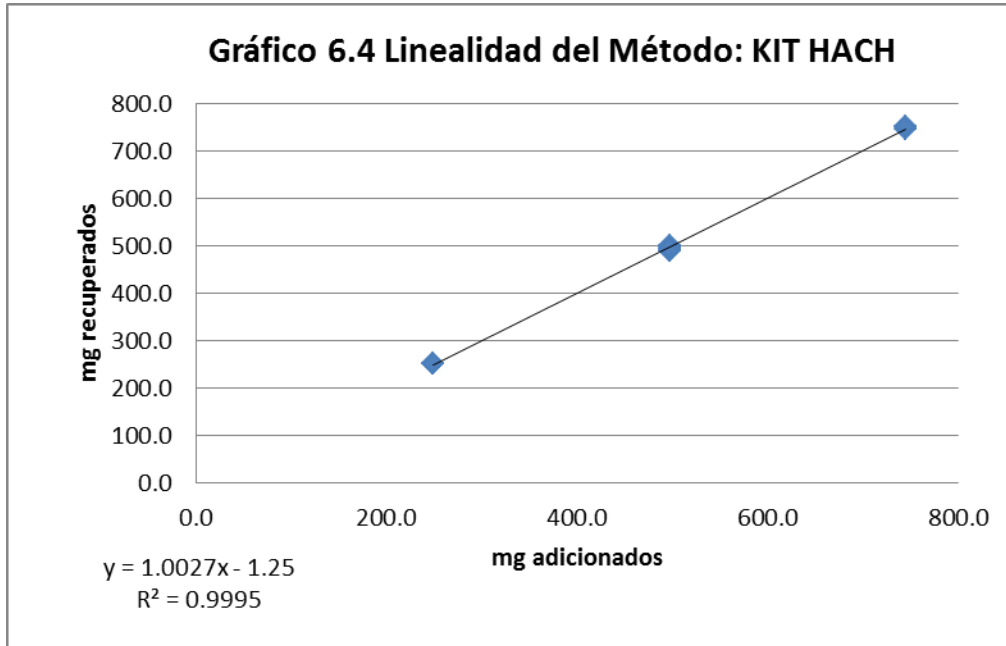


Tabla 6.8 Resultados estadísticos para linealidad del método

	NMX-AA-072	KIT HACH
r^2	0.9998	0.9995
Intercepto	9×10^{-13}	-1.2500
Pendiente	1.0062	1.0027
Intervalo de confianza para la pendiente	0.9974, 1.0149	0.9876, 1.0177
Intervalo de confianza para la ordenada al origen	-4.6161, 4.6161	-9.1767, 6.6767

El criterio de aceptación indica que el coeficiente de correlación debe ser mayor o igual que 0.995, además de que el intervalo de confianza de la pendiente debe incluir el valor de 1 y el intervalo de confianza de la ordenada al origen debe incluir el valor de cero. Como se puede observar en la tabla 6.8, los criterios se cumplen para ambos métodos. Por lo tanto los métodos son lineales dentro del intervalo de prueba.

PRECISIÓN INTERMEDIA

Para determinar la precisión intermedia se partió de tres muestras que fueron analizadas por los dos métodos por tres días consecutivos. Los resultados de dureza total de los dos métodos se describen en la tabla 6.9, donde puede observarse que en ambos casos el coeficiente de variación de la tercia de preparaciones es menor al 2%, así como el coeficiente de variación entre días también es menor al 2%.

Por lo tanto el método de referencia es preciso en los tres días diferentes de análisis demostrando su reproducibilidad al realizar la prueba.

Del mismo modo, con base en los resultados obtenidos, se puede aseverar que el método de comparación es reproducible.

Tabla 6.9 Resultados de dureza total obtenidos en 3 muestras analizadas tres días consecutivos

NMX-AA-072				KIT HACH			
	DUREZA (mg/L)				DUREZA (mg/L)		
Muestra	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	Muestra	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3
1	137.5	133.4	135.5	1	136.0	134.0	136.0
2	135.5	135.5	135.5	2	136.0	136.0	136.0
3	135.5	135.5	133.4	3	134.0	134.0	136.0
Promedio	136.1	134.8	134.8	Promedio	135.3	134.7	136.0
SD	1.2	1.2	1.2	SD	1.2	1.2	0.0
CV	0.9	0.9	0.9	CV	0.9	0.9	0.0
Promedio	135.2			Promedio	135.3		
SD	0.8			SD	0.7		
CV	0.6			CV	0.5		

COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Para la prueba de precisión y repetibilidad se llevó a cabo un análisis de razones de varianza de los resultados obtenidos entre el método de referencia y el método comparativo. Para aseverar que los métodos son estadísticamente comparables para esta prueba, en las condiciones de uso, el intervalo de confianza debe incluir el valor de 1. Todas las fórmulas empleadas en este análisis estadístico se describen en el apéndice 1.

Tabla 6.10 Análisis de razones de varianza entre el método de referencia y el método comparativo

PRECISION Y REPETIBILIDAD			
KIT HACH		NMX-AA-072	
Muestra	Dureza Total (mg/L)	Muestra	Dureza Total (mg/L)
1	136.0	1	136.8
2	136.0	2	136.8
3	134.0	3	134.8
4	138.0	4	136.8
5	138.0	5	136.8
6	136.0	6	138.8
S_2^2	2.3	S_1^2	1.7
$F_{0.025,n2-1,n1-1}$	0.14	$F_{0.975,n2-1,n1-1}$	7.15
Intervalo de confianza para las razones de varianza			
S_2^2 / S_1^2	1.4		
$S_2^2 / S_1^2 F_{0.025,n2-1,n1-1}$	0.1903	$S_2^2 / S_1^2 F_{0.975,n2-1,n1-1}$	9.7183
(0.1903, 9.7183) El intervalo incluye el valor de 1			

El intervalo de confianza obtenido incluye el valor de 1, lo que indica que en la exactitud entre los métodos no hay diferencia estadística significativa.

Para la prueba de precisión y exactitud del método se llevó a cabo un análisis de razones de varianza de los resultados obtenidos de porcentaje de recobro para el nivel del 100% entre el método de referencia y el método comparativo. Además se

calculó el intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales del porcentaje de recobro.

Tabla 6.11 Análisis de razones de varianza entre el método de referencia y el método comparativo en la prueba de exactitud

MÉTODO KIT HACH		MÉTODO NMX-AA-072	
Muestra	% Recobro	Muestra	% Recobro
1	100.6	1	100.9
2	99.6	2	100.9
3	100.6	3	100.5
4	98.6	4	100.1
5	98.6	5	99.7
6	99.6	6	100.1
S_2^2	0.81	S_1^2	0.24
$F_{0.025, n2-1, n1-1}$	0.14	$F_{0.975, n2-1, n1-1}$	7.15
Intervalo de confianza para las razones de varianza			
S_2^2 / S_1^2	3.34		
$S_2^2 / S_1^2 F_{0.025, n2-1, n1-1}$	0.4670	$S_2^2 / S_1^2 F_{0.975, n2-1, n1-1}$	23.8384
(0.47, 23.84) El intervalo incluye el valor de 1			
Intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales del porcentaje de recobro			
-0.1856			
1.6806	(-0.1856, 1.6806) El intervalo de confianza incluye el cero		

Como se puede observar en la tabla 6.11 el intervalo de confianza para las razones de varianza incluye el valor de 1, lo que sugiere que estadísticamente no hay diferencia significativa entre los recobros obtenidos por un método respecto al otro. Y el intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales del porcentaje de recobro incluye el cero, lo que indica que no hay diferencia significativa entre los promedios de recobro obtenidos entre el método de referencia y el comparativo.

Para la prueba de linealidad del método se realizó un análisis estadístico de las pendientes y ordenadas al origen obtenidas, de cantidad recuperada-cantidad adicionada, entre ambos métodos.

Como puede observarse en la tabla 6.12 el intervalo de confianza para la diferencia de las dos pendientes incluye el cero, lo que sugiere que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las pendientes de la linealidad entre ambos métodos. Asimismo, el cero también se incluye en el intervalo de confianza para la diferencia de las ordenadas al origen, lo que indica que no hay diferencia significativa entre estos valores.

Tabla 6.12 Intervalos de confianza para la diferencia de pendientes y ordenadas al origen entre el método comparativo y el de referencia en la prueba de linealidad del método.

Intervalo de confianza para la diferencia de las 2 pendientes		
b_1-b_2	0.0035	el intervalo incluye el cero
IC -	-0.0128	
IC +	0.0198	
Intervalo de confianza para la diferencia de las ordenadas al origen		
$b_{01}-b_{02}$	1.2500	el intervalo incluye el cero
IC-	-7.3377	
IC+	9.8377	

La validación para la comparación de los Métodos Analíticos: Método por Titulación Complejométrica con EDTA indicado en la Norma Mexicana NMX-AA-072-SCFI-2001 (Análisis de Agua- Determinación de Dureza Total en Aguas Naturales, Residuales y Residuales tratadas) y el Método de Determinación Rápida de Dureza Total: Kit Hach HA-DT Hardness Total para determinación de Dureza Total en Agua potable cumplió satisfactoriamente con todos los parámetros evaluados bajo las condiciones de operación establecidas.

La siguiente tabla, explica brevemente los resultados obtenidos en la validación

Tabla 6.13 Resumen de los resultados de la validación realizada.

Parámetro	Criterio de Aceptación	Resultado		
			Método NMX-AA-072	Método Kit-Hach
Especificidad	El agua deionizada deberá de presentar un color azul al agregar la SI de negro de Eriocromo T		CUMPLE	CUMPLE
Precisión Repetibilidad	El CV de seis lecturas de la muestra de trabajo debe ser $\leq 2.0\%$	CV	0.9%	1.1%
Linealidad del Sistema	$r^2 \geq 0.995$. El intervalo de confianza de la pendiente no debe incluir el cero y el intervalo de confianza de la ordenada al origen debe incluir el valor de cero.	R ²	0.99998	0.99992
		Intercepto	0.0540	0.0987
		Pendiente	0.0498	0.2004
		IC pendiente	(0.0496, 0.0499)	(0.1994, 0.2014)
		IC ordenada	(-0.0017, 0.1098)	(-0.4052, 0.6026)
Exactitud y Precisión del Método	Promedio de recobro: (98.0 – 102.0%) El coeficiente de variación de recobro debe ser $\leq 2.0\%$.	Nivel 50% CV	101.2% 0.5%	100.6% 0.0%
		Nivel 100% CV	99.9% 0.2%	99.6% 0.9%
		Nivel 150% CV	100.8% 0.2%	100.4% 0.4%
Linealidad del Método	$r^2 \geq 0.995$; el intervalo de confianza de la pendiente debe incluir el valor de 1 y el intervalo de confianza de la ordenada debe incluir el valor de cero.	R ²	0.9998	0.9995
		Intercepto	9×10^{-13}	-1.2500
		Pendiente	1.0062	1.0027
		IC pendiente	(0.9974, 1.0149)	(0.9876, 1.0177)
		IC ordenada	(-4.6161, 4.6161)	(-9.1767, 6.6767)
Precisión Intermedia	El coeficiente de variación de la tercia de preparaciones deberá ser $\leq 2.0\%$. El coeficiente de variación entre días debe ser $\leq 2.0\%$.	Día 1 CV	0.9%	0.9%
		Día 2 CV	0.9%	0.9%
		Día 3 CV	0.9%	0.0%
		Entre días CV	0.6%	0.5%
Comparación de Métodos Analíticos	Para Precisión y Repetibilidad El intervalo de confianza para la razón de varianzas debe incluir el valor de 1.	CUMPLE Intervalo de Confianza = 0.1903, 9.7183		
	Para Precisión y Exactitud del Método El intervalo de confianza para las razones de varianza del porcentaje de recobro debe incluir el valor de 1. El intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales del porcentaje de recobro debe incluir el valor de 0.	CUMPLE Intervalo de Confianza = 0.4670, 23.8384 Intervalo de Confianza = -0.1856, 1.6806		
	Para Linealidad del Método El intervalo de confianza para la diferencia de las pendientes de cantidad adicionada- cantidad recuperada debe incluir el valor de 0. El intervalo de confianza para la diferencia de las ordenadas al origen adicionada- cantidad recuperada debe incluir el valor de 0.	CUMPLE Intervalo de Confianza para diferencia de pendientes (-0.0128, 0.0198) Intervalo de Confianza para diferencia de ordenadas (-7.3377, 9.8377)		

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta validación aseguran que tanto el Método por Titulación Complejométrica con EDTA descrito en la Norma Mexicana NMX-AA-072-SCFI-2001 como el Método de Determinación Rápida de Dureza Total: Kit Hach HA-DT Hardness Total, cumplen de manera adecuada, precisa y exacta en la cuantificación de la dureza total en agua potable. Asimismo, el análisis de razones de varianza, demuestra que los resultados del método del kit son comparables a los obtenidos con el método de referencia por lo que se concluye que no hay diferencia estadística significativa entre ambos métodos.

Con base en los resultados obtenidos se puede afirmar que es posible usar el método rápido para determinación de dureza total del Kit Hach HA-DT Hardness Total, en lugar, del método por Titulación Complejométrica con EDTA indicado en la norma NMX-AA-072-SCFI-2001 en el análisis de rutina, de la dureza Total en agua potable, en un laboratorio farmacéutico.

El método Kit Hach HA-DT Hardness Total presentó varias ventajas respecto al método NMX-AA-072-SCFI-2001. El método del kit permite un análisis en menor tiempo, facilidad en su operación, físicamente ocupa poco espacio, es de bajo peso, por lo que es fácilmente transportable y no requiere de una fuente de alimentación.

El uso del kit permite obtener resultados en tiempo real mientras que anteriormente el resultado era obtenido semanalmente como consecuencia del tiempo de análisis que requería el método de la Norma. Los residuos generados disminuyen por lo que el impacto al ambiente también se reduce.

El diseño del kit permite realizar análisis de campo y obtener un resultado casi inmediato. Y debido a la facilidad en el manejo del kit, el personal que lo opera no requiere ser altamente calificado, el análisis puede ser efectuado por personal técnico después de una capacitación adecuada; por lo que el costo de análisis se ve reducido.

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA RAZÓN DE VARIANZAS

Para calcular el intervalo de confianza para la razón de varianzas se utilizaron las siguientes fórmulas:

VARIANZA

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

Dónde:

S^2 = varianza

n= número de muestras

y= valor obtenido de dureza en mg/L

INTERVALO DE CONFIANZA

$$\frac{S_2^2}{S_1^2} \times F_{0.025, n_2-1, n_1-1} \leq \frac{\sigma_2^2}{\sigma_1^2} \leq \frac{S_2^2}{S_1^2} \times F_{0.975, n_2-1, n_1-1}$$

Dónde:

S_1^2 = varianza menor

S_2^2 = varianza mayor

n_2-1 = grados de libertad del numerador

n_1-1 = grados de libertad del denominador

F = valor de la F de Fisher

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA DE DOS MEDIAS POBLACIONALES

Para calcular el intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales del porcentaje de recobro se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$IC(\mu_1 - \mu_2) = (\bar{y}_1 - \bar{y}_2) + t_{0.975, n_1+n_2-2} \sqrt{\frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{n_1+n_2-2} \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}$$

Dónde:

S_1^2 = varianza menor

S_2^2 = varianza mayor

n = número de muestras

y_1 = valor promedio de dureza obtenido en Método de Referencia en mg/L

y_2 = valor promedio de dureza obtenido en Método de Comparación en mg/L

$t_{0.975, n_1+n_2-2}$ = valor de *t de student*

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA DIFERENCIA DE LAS PENDIENTES

Para calcular el intervalo de confianza para la diferencia de las pendientes de cantidad adicionada- cantidad recuperada se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$IC(\beta_{11} - \beta_{12}) = (b_{11} - b_{12}) \pm t_{0.975, n_1+n_2-4} S_{b_{11}-b_{12}}$$

Dónde:

b_{11} = pendiente del método de Referencia

b_{12} = pendiente del método de Comparación

n = número de muestras

t = valor de *t de student*

$$S_{b_{11}-b_{12}} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1}} + \frac{1}{\sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}}}$$

Donde:

x= mg adicionados

n = número de muestras

$S_{y/x}$ = Desviación Estándar de la regresión

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y_1^2 - b_{11} \sum xy_1 - b_{01} \sum y_1 + \sum y_2^2 - b_{12} \sum xy_2 - b_{02} \sum y_2}{n_1 + n_2 - 4}}$$

Dónde:

x_1 = mg adicionados método referencia

y_1 = mg recuperados método de referencia

x_2 = mg adicionados método de comparación

y_2 = mg recuperados método de comparación

n = número de muestras

b_{11} = pendiente del método de referencia

b_{12} = pendiente del método de comparación

b_{01} = ordenada al origen del método de referencia

b_{02} = ordenada al origen del método de comparación

INTERVALO DE CONFIANZA PARA LAS ORDENADAS AL ORIGEN

Para calcular el intervalo de confianza para la diferencia de las ordenadas al origen adicionada- cantidad recuperada se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$IC(\beta_{01}-\beta_{02}) = (b_{01}-b_{02}) \pm t_{0.975, n_1+n_2-4} S_{b_{01}-b_{02}}$$

Donde:

b_{01} = ordenada al origen del método de Referencia
 b_{02} = ordenada al origen del método de Comparación
 n = número de muestras
 t = valor de *t de student*

$$S_{b_{01}-b_{02}} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{(\bar{X}_1)^2}{\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1}} + \frac{(\bar{X}_2)^2}{\sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}}}$$

Donde:

x = mg adicionados
 n = número de muestras
 $S_{y/x}$ = Desviación Estándar de la regresión

-
- [1] D. A. Skoog, Química Analítica, 4a. ed. España, Editorial Reverté, 1996.
- [2] Guía de Validación de Métodos Analíticos. CNQFB. 2002
- [3] Comisión Nacional del Agua. Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento. Secretaría de medio ambiente y Recursos Naturales, México, 2007.
- [4] WHO. Guidelines for drinking water quality, 4ª. Edición, Suiza 2011
- [5] Cotruvo J, Bartram J, eds. Calcium and Magnesium in drinking water: Public Health significance, Geneva, World Health Organization, 2009.
- [6] 2340 C "Hardness EDTA Titrimetric Method", Standard Methods for examination of water and wastewater American Public Health Association (APHA), American Water Association (AWWA) Water Pollution Control Federation (WPCF), 19a ed., 1995.
- [7] International Standard, ISO17381:2003, Water quality—Selection and application of ready-to-use test kit methods in water analysis, Geneva, 2003.
- [8] MANUAL KIT HACH HA-DT Hardness Total: para Determinación Rápida de Dureza Total
- [9] Modificación NOM 127-SSA1-1994, *“Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”*.
- [10] NMX-AA-072-SCFI-2001 Análisis de Agua- Determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas- Método de prueba
- [11] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 11ª. Edición, 2014
- [12] García Garrido, José. Agua para la Industria. España. Universidad politécnica de Valencia. 1988
- [13] Darner, M.A. “Agua”. San José, C. R. EUNED, 2009. 352 p.
- [14] Análisis de riesgos del tratamiento del agua para calderas. Alba González, Margarita. Sandoval Carrillo, Alberto. México. Plaza y Valdéz, 1999.
- [15] Tratamiento de las aguas. Redes de distribución de aguas potables e industriales, alimentación de calderas de vapor y circuitos de refrigeración. L. Germain, L. Colos, J. Raquet. Ediciones Omega. España. 1982.
- [16] Manual de Mineralogía. Cornelis Klein, 4ª. España. Ed., Reverté. 2003. Pág 448
- [17] Purificación del agua. Romero Rojas, Jairo A. 2ª. Ed., Escuela Colombiana de Ingeniería. Colombia. 2006.

-
- [18] Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización. Rodríguez Vidal, Francisco Javier. Editorial Diaz de Santos, España. 2003.
- [19] B. Welz, M. Sperling, Flame Atomic Absorption Spectrometry, 3a. ed. Weinheim, Alemania. Editorial Wiley-VCH. 1999.
- [20] S. Impedovo, A. Traini, P. Papoff, "Automatic determination of calcium and magnesium in water". Talanta 18 (1971) 97.
- [21] M. P. Cañizares, "Análisis por inyección en flujo: herramienta clave para la automatización analítica". Journal of the Mexican Chemical Society, Vol. 46, No. 2 (2002) pp. 167-174
- [22] R.A.Z.Lima, S.R.B.Santos, R.S.Costa, G.P.S.Marccone, R.S.Honorato, V.B. Nascimento, M.C.U.Araujo. "Hardness screening of water using a flow-batch photometric system". Anal. Chim. Acta 518 (2004) 25.
- [23] G.Z. Tsogas, D.L. Giokas, A.G. Vlessidis. "A fast assay of water hardness ions based on alkaline earth metal induced coacervation (HALC)". Talanta, Vol. 80 (2010) 2049.
- [24] K. Vahl, H. Kahlert, F. Scholz. "Rapid Automatic Determination of Calcium and Magnesium in Aqueous Solutions by FIA Using Potentiometric Detection". Electroanalysis, Vol.22 (2010) 2172.
- [25] T.M. Lerga, C. K. O'Sullivan, "Rapid determination of total hardness in water using fluorescent molecular aptamer beacon". Anal. Chim. Acta 610 (2008) 105.
- [26] Ormaza-González Franklin I., Villalba Flor A. Patricia, "The measurement of nitrite, nitrate and phosphate with test kits and standard procedures: a comparison". Wat. Res. Vol. 28, No. 19, 1994. pp. 2223-2228
- [27] Yu.A. Zolotov, V.M. Ivanov, V.G. Amelin. "Test methods for extra-laboratory analysis". Trends in analytical chemistry. Vol. 21, no. 4 (2002) pp. 302-320
- [28] BC Gordalla. Standardized Methods for Water-Quality Assessment. Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe, Germany. 2011 Elsevier
- [29] N. Sankaramakrishnan, D. Chauhan, R.T. Nickson. "Evaluation of two commercial field test kits used for screening of groundwater for arsenic in Northern India". Science of the Total Environment 401 (2008) 162-167
- [30] B. Ballesteros, D. Barceló, Andrea Dankwardt, P. Schneider "Evaluation of a field-test kit for triazine herbicides (SensioScreen® TR500) as a fast assay to detect pesticide contamination in water samples". Analytica Chimica Acta 475 (2003) 105-115

-
- [31] NOM-059-SSA1-2013, “*Buenas Prácticas de fabricación de medicamentos*”.
- [32] G. Schwarzenbach: *Schweiz. Chem. Ztg. Tech. Ind.*, 28:377 (1945)
- [33] Boyd C. E. and Daniels H. V. (1988) Evaluation of hatch fish farmer's water quality test kits for saline waters. *J. Wild Aquacult. Soc.* 19, 21-26.
- [34] Rosenthal H. and Gershey R. M. (1989) a preliminary study on the reliability of field test kits for the determination of inorganic nitrogen species in waters from aquaculture facilities. *Int. J. Aquat. Fish. Technol.* 1, 50-63.
- [35] International Conference of Harmonization. Guideline for industry, Text on Validation of Analytical Procedures, ICH-Q2A. Estados Unidos, 1995
- [36] Riley, Christopher. Development and validation of analytical methods, Vol. 3, Elsevier Science. 1996