



Reporte Final de Estadía

Brenda Ishel Loaiza Celis

Validación del método de determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas bajo la NMX-AA-077-SCFI-2001.



Programa Educativo
Ingeniería en Procesos Bioalimentarios.

Reporte para obtener título de
Ingeniero en Procesos Bioalimentarios.

Proyecto de estadía realizado en el laboratorio de Servicios
Ambientales S.A.

Nombre del proyecto
“Validación del método de determinación de fluoruros en aguas
naturales, residuales y residuales tratadas bajo la NMX-AA-077-
SCFI-2001”

Presenta
Brenda Ishel Loaiza Celis.

Cuitláhuac, Ver., a 10 de Abril de 2018.



Programa Educativo
Ingeniería en Procesos Bioalimentarios.

Nombre del Asesor Industrial
MC. Nicthe Ilizaliturri Flores.

Nombre del Asesor Académico
MC. Ismael Alatraste Pérez.

Jefe de Carrera
MC. En IBQ. Darney Citlalli Martínez Flores.

Nombre del Alumno
Brenda Ishel Loaiza Celis.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

Por darme la fortaleza para superar cada obstáculo, en cada paso que di siempre estuviste presente.

A mis padres.

A mis padres que siempre estuvieron dándome ánimos y me apoyaron incondicionalmente, en especial a ti mamá que siempre fuiste la que me motivaba a seguir adelante y nunca me dejaste rendirme, gracias a ti soy lo que soy.

A mi novio

Por tenerme paciencia y darme siempre lo que necesite: consejos, ánimos y algunos regaños cuando todo lo que me ayudó a llegar hasta aquí.

A mi hijo.

Por ser mi motivación para terminar mi carrera. Eres el motor de mi vida.

RESUMEN

El presente Trabajo de investigación ha sido realizado en el Laboratorio de Servicios Ambientales S.A. Con el propósito de desarrollar y validar el método de determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas mediante una metodología ya establecida y estandarizada dentro del laboratorio utilizando el espectrofotómetro Thermo Scientific.

En la parte bibliográfica se descifraron criterios importantes sobre calidad, validación, calibración y conceptos estadísticos, los cuales fueron un soporte para el correcto tratamiento de los datos y así obtener los parámetros de desempeño de los métodos.

Se validó método para el análisis de determinación de fluoruros, determinándose un intervalo de 0.20 hasta 1.0 mg/l. La exactitud, precisión e incertidumbre que se obtuvieron cumplieron con los objetivos establecidos. En todos los niveles de concentración se obtuvieron porcentajes de recuperación del 98.87% cumpliendo con los criterios de aceptación del laboratorio.



Índice

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Estado del Arte.....	3
1.2 Planteamiento del Problema	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo General.	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Definición de variables.....	5
1.5 Hipótesis.....	6
1.6 Justificación del Proyecto.....	6
1.7 Limitaciones y Alcances.....	7
1.8 Laboratorio de Servicios Ambientales.....	8
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA	11
2.1 Realización De La Curva.	13
2.2 Procedimiento.....	13
2.3 Recuperacion.	13
2.5 Reproducibilidad.	14
2.6 Pruebas De R (Repetibilidad) Y R (Reproducibilidad).	14
2.7 Exactitud Inicial Del Método.	15
2.8 Intervalo De Confianza De La Exactitud % Recuperación:.....	15
2.9 Comprobación Del Intervalo Lineal.	16
2.10 Límite Práctico De Cuantificación Del Método	16
2.11 Comprobacion Del Límite Practico De Cuantificación Del Metodo.....	16
2.12 El Sesgo:	16
2.13 Intervalo Lineal De Trabajo.	17

CAPÍTULO 3. DESARROLLO DEL PROYECTO	18
3.1 Principio del método.	21
3.2 Desarrollo del método.	21
3.2.1 Materiales Y Equipos	21
3.2.2 Reactivos Y Patrones	22
3.2.3 Recolección, Preservación Y Almacenamiento De Muestras.....	22
3.2.4 Procedimiento Del Análisis.....	22
CAPÍTULO 4. RESULTADOS.	24
4.1 Resultados.....	24
4.1.1 Recuperación.....	24
4.1.2 Repetibilidad.	25
4.1.3 Reproducibilidad.	26
4.1.4 Pruebas de Reproducibilidad y Repetibilidad (R y R)	26
4.1.5 Exactitud Inicial del Método.....	26
4.1.6 Intervalo de confianza de la Exactitud.	27
4.1.7 Intervalo Lineal.....	27
4.1.8 Comprobación del Límite Práctico de Cuantificación del Método.	29
4.1.9 Sesgo.	29
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES.	31
4.1 Recomendaciones.....	32
6. BIBLIOGRAFÍA	33

Tabla de ilustraciones

Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología del proyecto.....	11
Figura 2. Área de Cromatografía de gases.....	18
Figura 3. Área de Absorción Atómica.....	18
Figura 4. Área de Fisicoquímica.....	19
Figura 5. Área de Parasitología.....	19
Figura 6. Área de Microbiología.....	19
Figura 7. Área de Fisicoquímica.....	20
Figuro 8. Área de Fisicoquímica.....	20
Figura 8. Espectrofotómetro UV-VIS.....	21
Figura 10. Soluciones de fluoruro de sodio para curva de calibración.....	22
Figura 11. Soluciones con reactivo de zirconilo.....	22
Figura 12. Grafica de curva de calibración 1.....	27
Figura 13. Gráfica de curva de calibración 2.....	28
Figura 14. Grafica de curva de calibración 3.....	28

Índice de Tablas

Tabla1 . Cuadro del estado del arte.....	3
--	---

Tabla 2. El porcentaje de recuperación de los estándares.....	24
Tabla 3. Porcentaje de recuperación día 1.....	25
Tabla 4. Porcentaje de recuperación día 2.....	25
Tabla 5. Resultados de Repetibilidad.....	25
Tabla 6. Resultados de prueba F de Fisher.....	26
Tabla 7. Resultados de Prueba R y R.....	26
Tabla 8. Resultados de la Exactitud Inicial del Método.....	26
Tabla 9. Resultados del porcentaje de recuperación del LPC.....	29
Tabla 10. Concentraciones obtenidas de la Prueba Inicial de Desempeño.....	29

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento esencial para la vida, el ser humano la ha utilizado desde la antigüedad para cubrir muchas de sus necesidades: preparación de alimentos, limpieza, transporte, obtención de energía, ocio, refrigeración de máquinas, conservación de alimentos, agricultura etc. La salubridad y la calidad del agua son fundamentales para el desarrollo y el bienestar humano.

Los fluoruros están presentes de manera natural en el agua y en el suelo a distintas concentraciones. El fluoruro es el nombre que se da a un grupo de compuestos que contienen flúor, un elemento que se encuentra en la naturaleza, junto con uno o más elementos..

El ion fluoruro forma compuestos y reacciona con la mayoría de moléculas orgánicas e inorgánicas. El esmalte y la dentina están formados por hidroxiapatita (fosfato de calcio) que es disuelta por los ácidos de la descomposición bacteriana, de los alimentos ingeridos. Los iones fluoruro forman fluoroapatita con el esmalte dental, que es menos soluble en los ácidos que la hidroxiapatita, otorgando mayor resistencia al esmalte. (Romero, y otros, 2017)

En la década de los años cuarenta Estados Unidos se convierte en el primer país que empezó con la fluoración del agua potable en la comunidad de Grand Rapids con una concentración 1 mg/L. (Romero, y otros, 2017).

Como autoridad internacional en materia de salud pública y de calidad del agua, la OMS dirige los esfuerzos mundiales por prevenir la transmisión de enfermedades transmitidas por el agua. Con ese fin, promueve la adopción por los gobiernos de reglamentación sanitaria y trabaja con sus asociados para fomentar las prácticas de gestión de riesgos eficaces entre los proveedores de agua, las comunidades y los hogares. Es por ello que la OMS recomienda el valor de referencia para el fluoruro en el agua potable es de 1,5 mg /L. (Boischio, 2013)

La validación de un método es aquel proceso por el cual se establece mediante estudios de laboratorio que su capacidad satisface los requisitos para las aplicaciones deseadas; esta capacidad se expresa en términos de parámetros de análisis, donde se tiene en cuenta la linealidad, precisión (Repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, especificidad, sensibilidad.

En la actualidad tiene gran importancia la validación de métodos, procesos, etc., que permitan mayor confiabilidad en los resultados, fundamentalmente cuando se trabaja con productos naturales, donde es necesario obtener datos y resultados experimentales que demuestren la aptitud para el uso que se destina; es por ello, que nos trazamos como objetivo la validación del método de determinación de fluoruros.

1.1 Estado del Arte

Autor(es)	Año	Lugar	Tipo de documento	Aporte tecnológico
Luis Galicia Chacón, Nelly Molina Frechero, Anastacio Oropeza Oropeza, Enrique Gaona, Lilia Juárez López	2011	México, DF.	Artículo de revista científica	Se realizó un estudio descriptivo del agua de dieciocho zonas de Tláhuac, Cd. de México, con el objetivo de determinar la concentración de fluoruro en el agua potable
Melina del Carmen Uribe, López, Rocío López Vidal; Claudia Paloma Ramos Mayo	2013	Tabasco, México	Artículo de revista científica	En este artículo se discute el concepto de validación, las ventajas y beneficios que proporciona, y la metodología que deben seguir los laboratorios para validar sus métodos.
Rubén J. Lazos Martínez e Ignacio Hernández Gutiérrez	2004	Querétaro, México.	Artículo de revista científica	El propósito de este trabajo es aclarar el concepto y su importancia para obtener resultados confiables planteando al objeto de la validación como una herramienta para cubrir una determinada función.
M. Adrián Ortega-Guerrero	2009	México	Artículo de revista científica	Estudio de la presencia, distribución, hidrogeoquímica y origen de arsénico, fluoruro y otros elementos traza disueltos en agua subterránea, a escala de cuenca hidrológica tributaria de Lerma-Chapala, México

Tabla 1. Cuadro del Estado del Arte

1.2 Planteamiento del Problema

El gobierno junto con la Secretaría de Salud emite normas para controlar y vigilar la calidad del agua y es por eso que se emitió la NOM-127-SSA1-199, que establece los límites permisibles de calidad y los tratamientos de potabilización del agua para uso y consumo humano, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados que la distribuya, en todo el territorio nacional.

El Laboratorio de Servicios Ambientales recibe muestras de agua para su análisis de acuerdo a los límites permisibles establecidos en la norma y el cliente solicita los parámetros que desee que se le analicen a su muestra en el caso de Determinación de Fluoruros al ser un método con el que no cuenta el laboratorio hay que contratar el servicio lo que genera un costo adicional, por tal motivo

se decidió emplear el método. Pero ¿Cómo se garantiza la confiabilidad de los resultados de esta determinación?

La Acreditación es un acto por el cual una entidad de acreditación reconoce la competencia técnica y confiabilidad de los laboratorios de ensayo, laboratorios de calibración, laboratorios clínicos etc. y organismos de certificación para la Evaluación de la Conformidad.

La Entidad Mexicana de Acreditación A. C. Es la primera entidad de gestión privada en nuestro país, que tiene como objetivo acreditar a los Organismos de la Evaluación de la Conformidad que son los laboratorios de ensayo, laboratorios de calibración, laboratorios clínicos etc. Y la autorización de las Buenas Prácticas de Laboratorio. Es por ello que se busca la acreditación ante esta organización.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General.

Validar el método de determinación de fluoruros para garantizar la confiabilidad y veracidad de los resultados obtenidos por este método de acuerdo a la NMX-EC-17025-IMNC-2006

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Recopilar la información bibliográfica del método analítico.
- Realizar la curva de calibración para la determinación de fluoruros.
- Establecer los criterios de calidad para el método.

1.4 Definición de variables

Determinar los parámetros analíticos de validación:

- **Linealidad:** Capacidad para arrojar resultados del análisis que sean proporcionales ya sea de manera directa o mediante la transformación matemática bien definida a la concentración del analito en muestras, dentro de un intervalo determinado (Moreno, 2008)
- **Sensibilidad:** Es la relación entre la señal obtenida de un sistema de medición y la correspondiente concentración de analito, es decir, la pendiente de la función de calibración y no es sinónimo de límite de detección. Cuando la función de calibración es una recta, la sensibilidad analítica es constante en todo el intervalo de medida. (Acurio, 2011)
- **Límite de detección del método:** Es la mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.(NMX-AA-077-SCFI-2001)
- **Límite de cuantificación:** Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.
- **Exactitud:** Expresa la cercanía entre un valor que es aceptado, sea como un valor convencional verdadero, sea como valor de referencia aceptado y el valor encontrado obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces. (Moreno, 2008)
- **Precisión:** Grado de concordancia entre resultados analíticos de pruebas individuales cuando el procedimiento se aplica de manera repetida a muestras múltiples de una muestra homogénea. (Moreno, 2008)

1.5 Hipótesis

La hipótesis nula (H_0): Los resultados del análisis del tratamiento estadístico cumple con los criterios de aceptación del laboratorio.

La hipótesis alternativa (H_1): Los resultados del análisis del tratamiento estadístico no cumple con los criterios de aceptación del laboratorio.

1.6 Justificación del Proyecto

Millones de medidas analíticas son realizadas diariamente en miles de laboratorios alrededor del mundo. Son innumerables las razones para realizar estas mediciones, por ejemplo: como una manera de analizar un producto con el fin comercial, apoyo al cuidado de la salud, control de la calidad del agua de consumo. (Acurio, 2011)

La realización de un análisis de laboratorio no es un proceso que se efectúe en forma aislada, en la mayoría de los casos se requiere de materiales, reactivos, instrumentos y personal calificado, realizando las pruebas a través de métodos o procedimientos estandarizados.

Todo laboratorio requiere de métodos analíticos fiables para cumplir con las normativas nacionales e internacionales, estableciendo así un sistema de control, para mejorar la calidad de sus servicios. Por lo tanto, es indispensable que un laboratorio deba tomar las medidas pertinentes para asegurarse de que es capaz de producir, y de que produce efectivamente, datos con el nivel necesario de incertidumbre.

Así, la validación de métodos es un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables. Al mismo tiempo que es necesaria ya que permite conocer los parámetros de desempeño del método y proporcionar un alto grado de seguridad en el análisis y confianza en los resultados que se obtienen al aplicarlo.

De este modo surge la necesidad de parte del Laboratorio de Servicios Ambientales, de desarrollar un sistema de validación en sus parámetro de determinación de fluoruros, con el fin de cumplir con las estándares de calidad establecidas en la normativa nacional, el cual contribuirá a tener mayor competitividad y garantizar a sus clientes la calidad de sus servicios, entregando los resultados en forma oportuna y segura, además que a esto se agrega la asistencia técnica e interpretación de los datos, para la debida toma de decisiones por parte del usuario final

1.7 Limitaciones y Alcances

La metodología para validación de métodos se encuentra establecida en el laboratorio y está basada en el NMX-EC-17025-MNC-2006. De acuerdo a la metodología del laboratorio la validación del método se hace con los resultados generados por dos analistas diferentes, y por políticas de confidencialidad solo se mostraron los resultados generados por un solo analista.

Además la culminación de la validación es mediante una auditoría realizada en el laboratorio por un Grupo Evaluador designado por el organismo de acreditación en este caso la EMA, el cual otorga la acreditación al laboratorio, pero por cuestiones de tiempo solo se reportó hasta la obtención de resultados estadísticos.

A través de la validación se asegura la certeza de las mediciones que se realizan en el laboratorio y corroborar ante las autoridades correspondientes, la competencia técnica de los analistas de cada área; por lo tanto, se presenta en este trabajo para la validación del método de determinación de fluoruros.

1.8 Laboratorio de Servicios Ambientales

El laboratorio Servicios Ambientales es una empresa mexicana que se dedica a realizar análisis a aguas purificadas, potables y residuales que cuenta con personal calificado y capacitado, equipos e instrumentos calibrados, instalaciones adecuadas con áreas bien definidas, trabaja con normatividad vigente bajo un sistema de gestión implantado y bien estructurado, lo que proporciona veracidad a los resultados que se emiten y confianza a los clientes. Se encuentra ubicada en la ciudad de Orizaba en la región centro del estado de Veracruz con domicilio en Norte 6 No. 316 Col. Abelardo L. Rodríguez.

Servicios Ambientales es especialista en tecnología para el tratamiento de aguas residuales, proveedor de análisis, servicios y consultoría a diferentes organizaciones gubernamentales y privadas. El laboratorio de Servicios Ambientales es de gran impacto en la sociedad, ya que es indispensable el monitoreo y control del agua de consumo, así como de riego, y residuales.

Alcance del laboratorio ante la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA):

Determinación	Norma Oficial Vigente
Sólidos Sedimentables	NMX-AA-004-SCFI-2013
Temperatura en Aguas Naturales y Residuales.	NMX-AA-007-SCFI-2013
pH	NMX-AA-008-SCFI-2016
Acidez y Alcalinidad	NMX-AA-036-SCFI-2001
Oxígeno Disuelto	NMX-AA-012-SCFI-2001
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	NMX-AA-028-SCFI-2001
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	NMX-AA-030/1-SCFI-2012
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	NMX-AA-030/2-SCFI-2011
Nitrógeno Total Kjeldahl	NMX-AA-026-SCFI-2010

Dureza Total	NMX-AA-072-SCFI-2001
Cloruros Totales	NMX-AA-073-SCFI-2001
Grasas y Aceites	NMX-AA-005-SCFI-2013
Sólidos y Sales Disueltas	NMX-AA-034-SCFI-2015
Fósforo Total	NMX-AA-029-SCFI-2001
Ion Sulfato	NMX-AA-074-SCFI-2014
Cianuros Totales	NMX-AA-058-SCFI-2001
Conductividad Electrolítica	NMX-AA-093-SCFI-2000
Materia Flotante	NMX-AA-006-SCFI-2010
Nitratos	NMX-AA-079-SCFI-2001
Nitrógeno de Nitritos	NMX-AA-099-SCFI-2006
Cromo Hexavalente	NMX-AA-044-SCFI-2014
Sustancias Activas al Azul de Metileno	NMX-AA-039-SCFI-2001
Muestreo en Aguas Residuales	NMX-AA-003-1980
Muestreo en Cuerpos Receptores	NMX-AA-014-1980
Coliformes Fecales, Termo Tolerantes y Escherichia Coli Presuntiva en Aguas Residuales	NMX-AA-42-SCFI-2015
Arsénico	NMX-AA-051-SCFI-2016
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2016
Cobre	NMX-AA-051-SCFI-2016
Cromo Total	NMX-AA-051-SCFI-2016

Mercurio	NMX-AA-051-SCFI-2016
Níquel	NMX-AA-051-SCFI-2016
Plomo	NMX-AA-051-SCFI-2016
Zinc	NMX-AA-051-SCFI-2016
Huevos de Helminto	NMX-AA-113-SCFI-2012
Volátiles aromáticos y halogenados mediante cromatografía usando detectores de foto ionización y conductividad electrolítica	EPA 8021B
Determinación de Vibrio Cholerae	METODOS ESTANDAR EDICION 17 PUNTO 9260 H

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

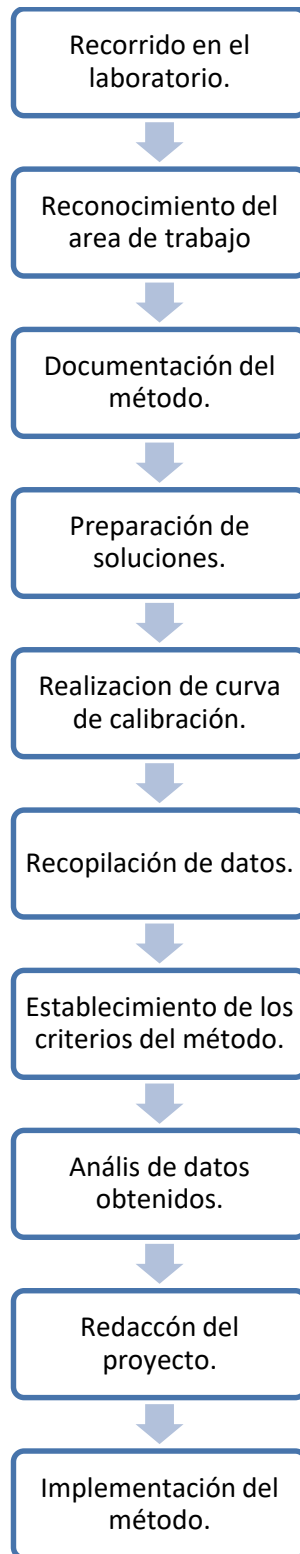


Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología del proyecto

El procedimiento para la validación del método se siguió el procedimiento ya establecido en el laboratorio, el cual está basado y sustentado bajo la NMX-EC-17025-MNC-2006

Re corrido en el laboratorio.

Se identifican los diferentes análisis que se realizan en el laboratorio así como en sus diferentes áreas de trabajo. Se identifican los diferentes equipos que se utilizan como las medidas de seguridad necesarias para cada área de trabajo.

Reconocimiento del área de trabajo.

Se identifica al departamento de Físicoquímica como el área de trabajo para realizar el proyecto.,

Documentación del método.

Búsqueda de información acerca del método de fluoruros, técnica empleada y la normatividad aplicable, los reactivos que se emplean durante el análisis y los equipos y materiales de laboratorio necesarios para llevar a cabo el análisis.

Preparación de soluciones.

Se preparan las soluciones para la curva de calibración como lo es la Solución Madre de Fluoruros y de ella se partió para preparar las soluciones de la curva con las concentraciones requeridas por el método. Se preparó la solución de SPANDS, el reactivo de Zirconilo en medio ácido. Y el Reactivo de Zirconilo en medio ácido- SPANDS y la disolución de referencia, de acuerdo al procedimiento de la NMX-077-SCFI-2001.

A partir de una solución patrón de fluoruro de sodio, se preparan una serie de puntos de intervalo de concentración de 0.2 mg/L a 1.0 mg/L para la elaboración de una curva de calibración. Se trabajó con un blanco reactivo y un estándar.

2.1 Realización de la curva.

Se prepararon los cinco puntos de la curva más el blanco reactivo y el estándar donde se realizaron tres curvas de calibración en diferentes días para analizar los datos obtenidos. Se analizaron las soluciones de acuerdo al procedimiento de la NMX-077-SCFI-2001 y se leen inmediatamente en el espectrofotómetro.

2.2 PROCEDIMIENTO.

Se analizó en las condiciones que indicó el método de ensayo de acuerdo a la norma, durante 2 días diferentes, el mismo analista, siete réplicas de un estándar de concentración.

2.3 RECUPERACION.

Con los datos obtenidos se calcula el % Recuperación obtenido de los 14 datos, mediante la siguiente formula:

$$\% \text{Recuperación obtenido} = (\text{Conc. Obt.} / \text{Valor de referencia}) * 100$$

Criterio de aceptación de los porcentos de recuperación:

90 al 110% de recuperación para métodos espectrofotométricos U.V. visible

2.4 REPETIBILIDAD:

Con los datos de % de recuperación obtenidos se calcula la media, la desviación estándar y el % de CV.

El % CV (Coeficiente de variación) de las siete replicas mediante la siguiente formula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum(X_o - X_c)^2}{n-1}}$$

La desviación estándar relativa y/o coeficiente de variación expresada en porciento:

$$\text{DER} = \%CV = \frac{S}{X} \times 100$$

S= Desviación estándar

X= Promedio de los % Recuperación entre días

Criterios de aceptación de la Repetibilidad en % CV:

En el caso de fluoruros el % de Repetibilidad debe de ser DER=CV a 4.54% y la Reproducibilidad DER=CV a 4.54%

2.5 REPRODUCIBILIDAD.

Se considera la Repetibilidad de diferentes analistas o del mismo analista en diferentes condiciones, con los datos obtenidos

Se obtiene la F de Fisher de tablas para un nivel de confianza entre el 95 y 98%, los grados de libertad (gl), se calculan con el número de datos para cada analista menos uno, (gln) del numerador y (gld) del denominador.

Se calcula la F de Fisher a través de la desviación estándar entre días del analista, mediante la siguiente fórmula

$$F \text{ de Fisher} = S2 \text{ mayor} / S2 \text{ menor}$$

Criterio de aceptación: F de Fisher calculada \leq F de Fisher de Tablas 0,98; gln; gld

2.6 PRUEBAS DE R (REPETIBILIDAD) Y R (REPRODUCIBILIDAD).

Se calcula con los datos obtenidos del cálculo de la repetitividad. Calcular la desviación estándar combinada y el promedio de las medias de cada analista.

$$Sp = \sqrt{S1^2 + S2^2 + \dots + Sn^2} \quad Sp = \text{Desviación estándar combinada}$$

Sn = desviación estándar del analista

$$X = (X1 + X2 + \dots + Xn) / n \quad X = \text{Gran media.}$$

Xn = promedio del analista

Con los datos obtenidos de Repetibilidad y reproducibilidad calcular el coeficiente de variación (%CV), entre analistas.

$$DER = \%CV = (S_p / \bar{X}) * 100$$

2.7 EXACTITUD INICIAL DEL MÉTODO.

Con los datos obtenidos de % Recuperación en el inciso 6.1 (14 datos), calcular el promedio, desviación estándar y la t de student.

$$T_{student} = \frac{\bar{X} - \mu_0}{S / \sqrt{n}}$$

μ_0 = Valor convencionalmente verdadero expresado en 100% de recuperación o en el valor de referencia.

\bar{X} = Promedio de los resultados de %Recuperación obtenidos de los n valores de muestra independientes.

n = el número de mediciones.

S = desviación estándar de los de los resultados de %Recuperación obtenidos de los n valores de muestra independientes.

La t student calculada es comparada con la t student de tablas para un intervalo de confianza del 95%, 98% al 99% y los grados de libertad se calculan con el número de datos menos uno.

Criterio de aceptación: t de student calculada \leq t de student de tablas, para un nivel de confianza del 95%, 98% al 99% y n-1 gl

2.8 INTERVALO DE CONFIANZA DE LA EXACTITUD % RECUPERACIÓN:

Se consideran los datos obtenidos en el inciso 6.5.1, utilizando la siguiente ecuación.

$$\bar{X} \pm t * S / \sqrt{n}$$

n = número de mediciones.

S/ \sqrt{n} = Error estándar o error experimental.

t= t de student de tablas.

Criterio del Intervalo de confianza: Se determina si el valor del porcentaje de recuperación obtenido se encuentra dentro de dicho intervalo.

2.9 COMPROBACIÓN DEL INTERVALO LINEAL.

Se analizan conforme al procedimiento del método de la norma de fluoruros, y se realizan tres curvas de calibración en el intervalo establecido para el método de fluoruros.

Se calculó por el método de regresión lineal los valores de la pendiente (m), ordenada al origen (b), y el coeficiente de correlación cuadrático (r²).

Criterios de aceptación de la linealidad:

Coefficiente de determinación "r²" ≥ 0,99, coeficiente de correlación r= 0,995 para Físicoquímica.

2.10 LÍMITE PRÁCTICO DE CUANTIFICACION DEL MÉTODO.

Límite de cuantificación del método es considerado como el primer punto de curva de calibración establecido en cada uno de los diferentes métodos espectrofotométricos U.V.

2.11 COMPROBACION DEL LÍMITE PRACTICO DE CUANTIFICACION DEL METODO.

Se prepara una solución estándar de material de referencia de naturaleza diferente al empleado para curva de calibración calidad de concentración igual o cercana (no mayor), al primer punto de la curva de calibración, se analiza siete veces en las condiciones indicadas por el método de ensayo.

Criterio de aceptación: El promedio del % Recuperación de los 7 datos debe encontrarse dentro del intervalo de confianza de la exactitud.

Para considerar el uso de curva de calibración para cálculo se toman los siguientes criterios en orden decreciente de prioridades.

2.12 EL SESGO:

La evaluación práctica del sesgo se fundamenta en la comparación de la media de los resultados obtenidos de un método con relación a valores conocidos, es decir, el sesgo se determina contra un valor de referencia (un valor verdadero o un valor verdadero convencional). El sesgo puede ser definido como % de Recuperación o % de Error Relativo al método.

El sesgo inicial del analista se calcula con los datos de concentración obtenidos en % de recuperación.

Se compara el promedio del valor obtenido de la Media (X) con el valor de referencia certificado (μ).

$$s = (X - \mu)$$

Donde:

X= Gran media (promedio de los valores obtenidos)

μ = Valor de referencia certificado.

s= sesgo (+,-)

2.13 INTERVALO LINEAL DE TRABAJO.

La evaluación práctica del intervalo de Trabajo, se fundamenta en la relación lineal existente entre la señal analítica (y), y la concentración (X), calculándose el coeficiente de correlación "r", el cual nos proporciona la relación lineal existente entre "y" y "X", (r = 0, significa que no están linealmente relacionados cuando más próximo este "r" de 1 mayor es la relación lineal existente entre "y" y "X")

Se establece el método para calcular y comprobar el Intervalo de Trabajo en el método de ensayo, de la siguiente manera:

Intervalo de Trabajo para métodos espectrofotométricos U.V. Visible se utilizan muestras adicionales en los niveles de la curva de calibración establecida para cada método de ensayo, de 5 a 6 niveles diferentes de concentración.

Con los datos obtenidos de la curva se calculó la ordenada al origen (b), pendiente (m) y el coeficiente de correlación (r),

CAPÍTULO 3. DESARROLLO DEL PROYECTO

Recorrido en el laboratorio.

Se hizo un recorrido por las diferentes áreas del laboratorio: Microbiología, Absorción Atómica, Cromatografía de gases y Físicoquímica durante el mismo se identificaron los accesorios adecuados para cada una de las áreas. El laboratorio cuenta con instalaciones apropiadas para llevar a cabo los análisis que ahí se realizan.



Figura 2. Área de Cromatografía de gases.



Figura 3 Área de Absorción Atómica.



Figura 4. Área de Físicoquímica



Figura 5. Área de Parasitología.



Figura 6. Área de Microbiología.

Reconocimiento del área de trabajo.

El área en la cual se llevó a cabo el proyecto es el área de Físicoquímica. En ella se realizan los análisis de: Nitritos, Nitratos, Grasas y Aceites, Cromo Hexavalente, Cianuros entre otros.



Figura 7. Área de Físicoquímica

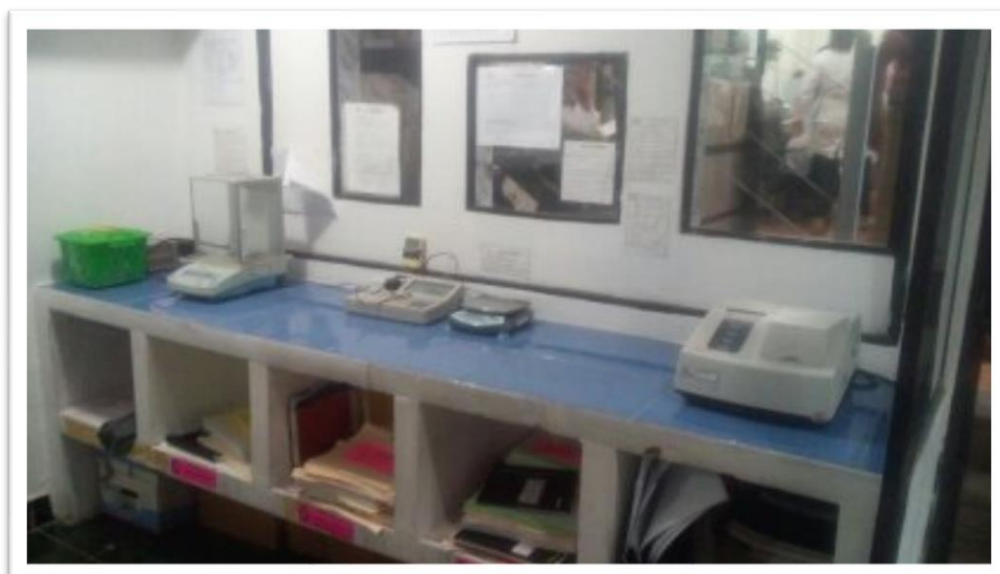


Figura 8. Área de Físicoquímica.

3.1 Principio del método.

El principio de este método se basa en la reacción entre los iones fluoruro y el complejo colorido de Zirconilo-SPADNS. Este método cubre la determinación de fluoruros en un intervalo de 0 mgF⁻/L a 1,4 mgF⁻/L.

El fluoruro reacciona con el Zirconilo del complejo Zr-SPANNS formando otro anión complejo incoloro (ZrF₆²⁻). Al aumentar el contenido de fluoruro, la intensidad del color disminuye. Siendo por lo tanto la absorbancia inversamente proporcional a la concentración de fluoruros. La reacción se lleva a cabo en medio ácido. La selección del colorante para este método rápido está regido en gran parte por la tolerancia a esos iones.

3.2 Desarrollo del método.

3.2.1 Materiales Y Equipos

Espectrofotómetro UV- VIS Marca Thermo Scientifics. Modelo Genesys 20



Figura 9. Espectrofotómetro UV-VIS.

3.2.2 Reactivos Y Patrones

Disolución madre de fluoruro (100 mg F-/L). Pesar aproximadamente y con precisión 0,221 0 g de fluoruro de sodio anhidro y aforar a 1 L con agua.

Disolución patrón de fluoruro: Diluir 100 mL de la disolución Madre con 1 L de agua (10.0 mf F-/L)

Reactivo de zirconilo en medio ácido. Pesar aproximadamente y con precisión 133,0 mg de cloruro de zirconilo octahidratado y disolver en 25 mL de agua. Añadir 350 mL de ácido clorhídrico concentrado y aforar a 500 mL con agua.

Disolución de SPADNS. Pesar aproximadamente y con precisión 958,0 mg del reactivo SPANDS y disolver en agua y aforar a 500 ml. Esta disolución es estable por tiempo indefinido, si se protege de la luz solar. Almacenar en frasco ámbar.

Reactivo de zirconilo en medio ácido-SPANDS. Mezclar volúmenes iguales de disolución de SPANDS y reactivo de zirconilo en medio ácido.

Tomar una alícuota de 10 mL de la disolución de Reactivo de Zirconilo en medio ácido-SPADNS y aforar a 100 mL con agua. Diluir 7 mL de ácido clorhídrico concentrado aforando a 10 mL con agua y agregar a la disolución de SPANDS diluido anteriormente. La disolución resultante, es usada para ajustar el punto de referencia (cero) del espectrofotómetro, la cual es estable durante un año, por lo menos.

3.2.3 Recolección, Preservación Y Almacenamiento De Muestras

Tomar un mínimo de 300 mL de muestra en un envase de polietileno o teflón, pueden ser muestras simples o compuestas.

No se requiere de ningún tratamiento especial en campo.

Mantener refrigeración a 4 °C.

El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días.

3.2.4 Procedimiento Del Análisis

Tomar una alícuota de 50 mL de la muestra. Colocar la muestra en un tubo de 50 mL o 100 mL con tapa. Adicionar 10 mL de la disolución Zirconilo- SPANDS tapar y mezclar diez veces (es importante mezclar siempre igual todas las muestras, la de referencia y los estándares) leer inmediatamente a 570 nm.

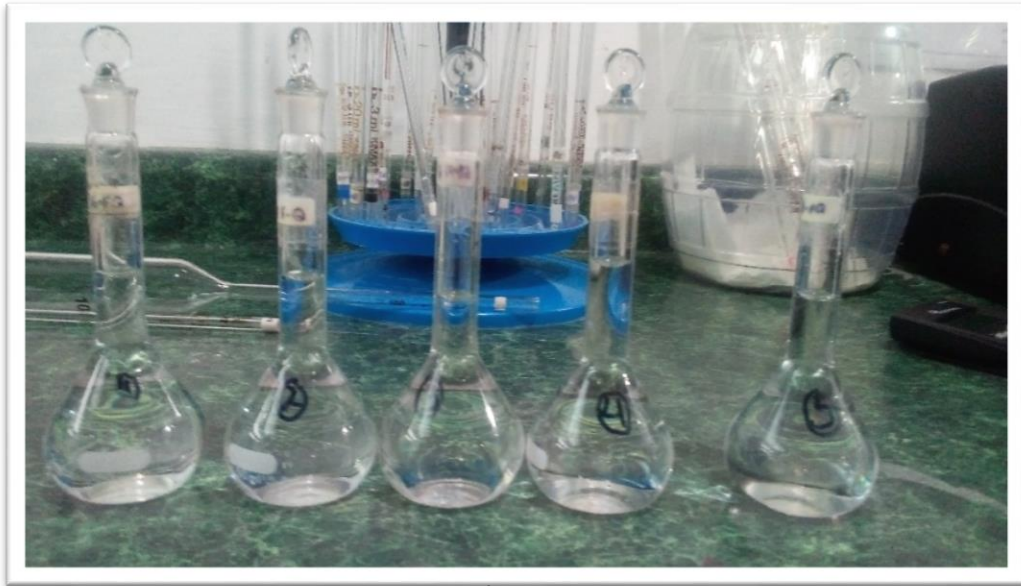


Figura 10 Soluciones de fluoruro de sodio para curva de calibración.



Figura 11. Soluciones con reactivo de zirconio.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS.

4.1 Resultados

4.1.1 Recuperación

No.	Conc. Obt.(mg/L)	% Recuperación
1	0.64	103.27
2	0.61	97.86
3	0.65	104.05
4	0.65	105.59
5	0.64	102.50
6	0.60	97.08
7	0.65	104.30
8	0.60	97.08
9	0.60	96.31
10	0.59	95.54
11	0.62	100.18
12	0.60	96.31
13	0.56	90.90
14	0.58	93.22

Tabla 2. El porcentaje de recuperación de los estándares.

El porcentaje de recuperación se acepta ya que se encuentra dentro de los criterios de aceptación (90%-110%).

4.1.2 Repetibilidad.

No.	Conc. Obt.	% Recuperación
1	0.64	103.27
2	0.61	97.86
3	0.65	104.05
4	0.65	105.59
5	0.64	102.50
6	0.60	97.08
7	0.65	104.30

No.	Conc. Obt.	% Recuperación
1	0.60	97.08
2	0.60	96.31
3	0.59	95.54
4	0.62	100.18
5	0.60	96.31
6	0.56	90.90
7	0.58	93.22

Tabla 3. Porcentaje de recuperación Día 1.

Tabla 4. Porcentaje de recuperación Día 2.

Día 1	
X=	102.09
S=	3.31
% CV =	3.24
Día 2	
X=	95.65
S=	2.94
% CV =	3.08
1° y 2° Día	
X=	98.87
S=	3.12
% CV =	3.16

Tabla 5. Resultados de Repetibilidad.

En la tabla 5 se observan los resultados del cálculo de Repetibilidad donde se muestran aceptables los resultados obtenidos ya que el criterio de aceptación donde $< 4.54\%$

4.1.3 Reproducibilidad.

F Calculada	F Tablas
1.27	4.28

Tabla 6. Resultados de Prueba F de Fisher.

Por lo tanto, la F de Fisher cumple con los criterios de aceptación dentro del laboratorio.

4.1.4 Pruebas de Reproducibilidad y Repetibilidad (R y R)

Sp	2.5
X	98.87
% CV	2.53

Tabla 7 Resultados de las pruebas R y R.

Por lo tanto el % CV se encuentra dentro de los rangos de aceptación del laboratorio $< 4.54\%$

4.1.5 Exactitud Inicial del Método.

T de Student Calculada	T de Student Tablas (95 %)	T de Student Tablas (98 %)	T de Student Tablas (99 %)
1.9931	2.16	2.65	3.012

Tabla 8. Resultados de la Exactitud inicial del Método.

La T de student calculada \leq t de student de tablas, para un nivel del 95%, 98% y 99%. Por lo tanto la T de Student se encuentra dentro de los criterios de aceptación del laboratorio.

4.1.6 Intervalo de confianza de la Exactitud.

$$98.87\% \pm 1.9931 * 3.12 / \sqrt{14} = 84.11\% \text{ a nivel de confianza del } 95\%$$

El valor de porcentaje obtenido no se encuentra dentro de los criterios de aceptación del laboratorio.

4.1.7 Intervalo Lineal

4.1.7.1 Curva de Calibración.

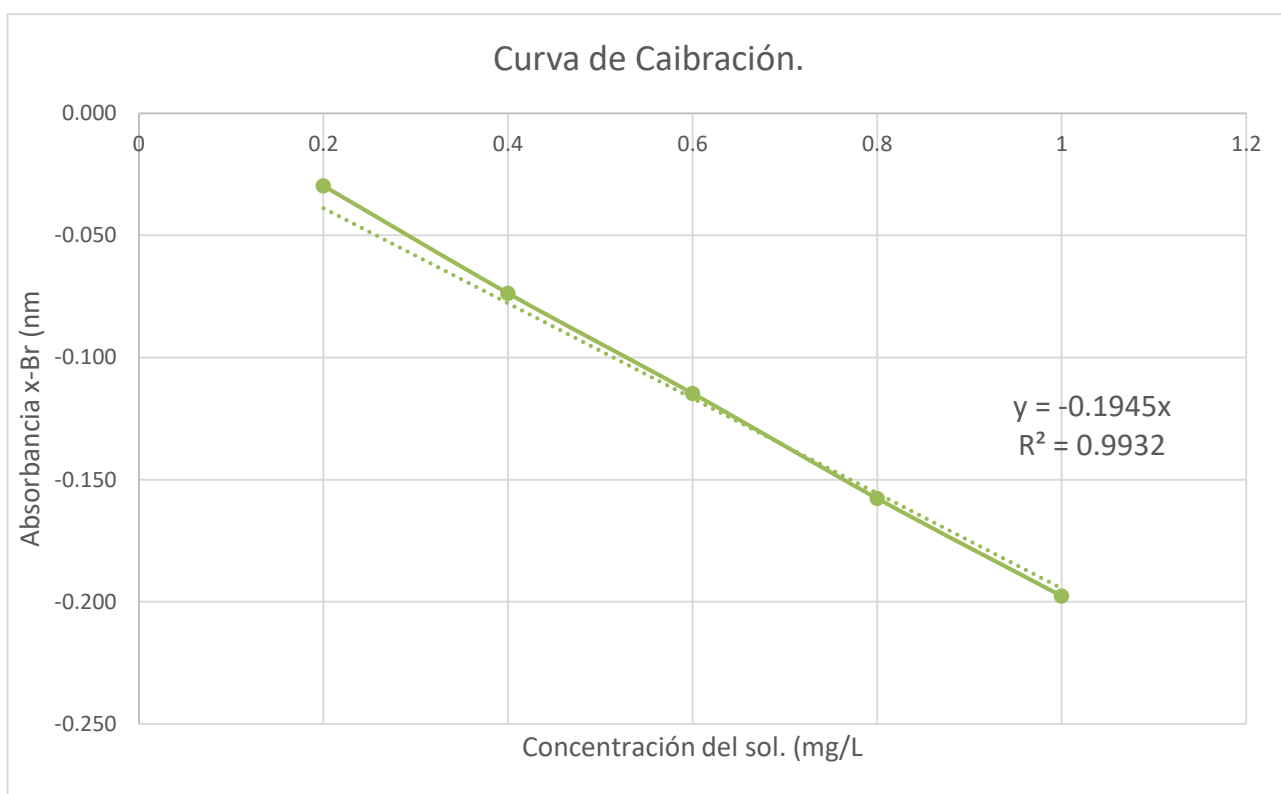


Figura 12. Grafica de a curva de Calibración 1.

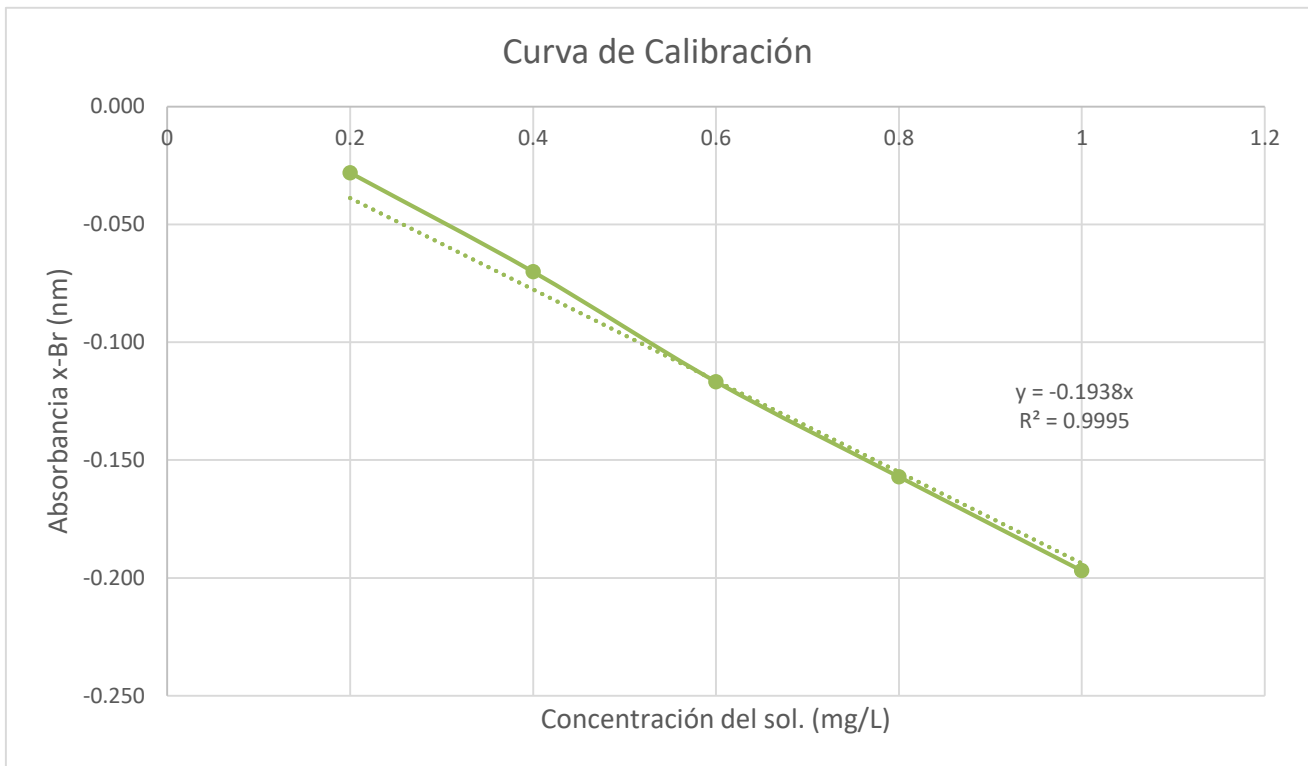


Figura 13. Grafica de la curva de calibración 2.

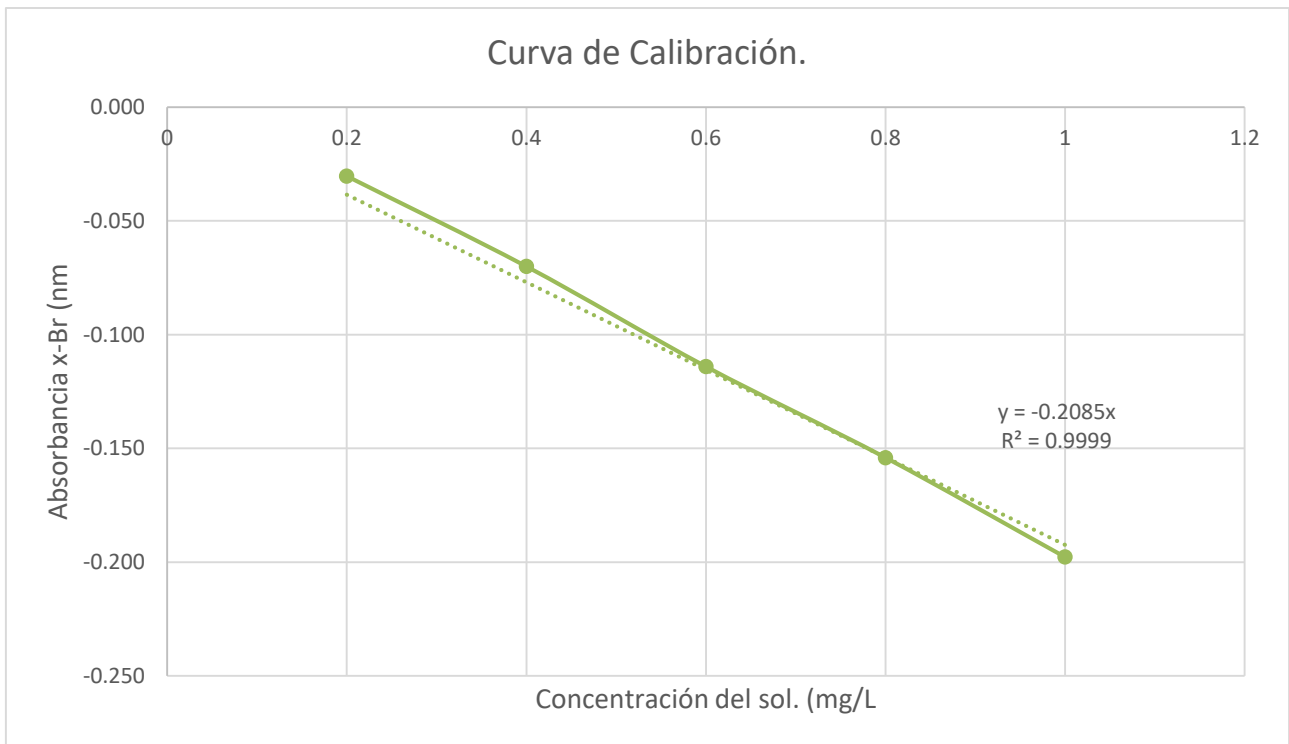


Figura 14. Grafica de la curva de calibración 3.

En la figura 12 13, 14, se observan las curvas de calibración cumple con los criterios de aceptación del laboratorio así como por lo establecido en la norma.

4.1.8 Comprobación del Límite Práctico de Cuantificación del Método.

No.	Conc. Obtenida	% Recuperación
Br	-	-
1	0.19	94.72
2	0.20	101.12
3	0.18	90.73
4	0.19	93.92
5	0.18	90.73
6	0.19	94.72
7	0.20	98.72
		$\bar{x}= 94.95$

Tabla 9. Resultados del % Recuperación del LPC.

Los resultados se pueden observar que el porcentaje de recuperación no cumple con los criterios para el Intervalo de Confianza, pero si cumple con el criterio de aceptación del % de Recuperación del estándar del área de Físicoquímica.

4.1.9 Sesgo.

No.	Conc. Obt.	No.	Conc. Obt.
1	0.64	1	0.60
2	0.61	2	0.60
3	0.65	3	0.59
4	0.65	4	0.62
5	0.64	5	0.60
6	0.60	6	0.56
7	0.65	7	0.58

Tabla 10. Concentraciones obtenidas de la Prueba Inicial de Desempeño.

La media de la tabla 8 es de 0.61 mg/L, y el estándar evaluado su concentración fue de 0.62, g/L por lo que el sesgo es de -0.01 mg/L.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES.

Se validó el método de determinación de fluoruros con en el análisis de muestras de aguas potables utilizando espectrofotometría visible, en el Laboratorio de Servicios Ambientales S. A. Se decidió trabajar con método espectrofotométrico por la experiencia del laboratorio trabajando este tipo de métodos, con lo cual se cumplieron con los objetivos impuestos y por consiguiente se aceptó la validación en el laboratorio para fluoruros.

Se desarrolló la metodología para la validación de los métodos establecida por el laboratorio la cual establece que dos analistas realizan la validación, aunque se cumplió con el procedimiento por políticas de la empresa solo se mostraron los resultados obtenido por la autora del presente trabajo Se hace mención que los resultados generado por la segunda analista cumplieron con los criterios de aceptación del laboratorio. La función de respuesta obtuvo un coeficiente de correlación de igual a 0,999 estableciéndose así la linealidad en el intervalo trabajo. El límite de cuantificación fue de 0,2 mg/. Se demostró poseer una exactitud que cumple con los criterios de aceptación del laboratorio. Se obtuvo un porcentaje de recuperación del 98.87% cumpliendo con los criterios de aceptación.

Los resultados del intervalo de Confianza del método no cumplieron con los criterios porque el cálculo se hace en base a los resultados de dos analistas y por ello no hubo punto de comparación para cumplir con el cálculo.

En base a los datos obtenidos y a los cálculos estadísticos y matemáticos efectuados se registraron en las bitácoras de trabajo del laboratorio con el fin de proveer al laboratorio de evidencia objetiva que le permita demostrar el cumplimiento de los requisitos particulares, que servirán como soporte para la defensa en las auditorías internas y externas, para los tramites respectivos en la acreditación del parámetro y para la mejora continua del Sistema de Gestión de calidad del laboratorio

4.1 Recomendaciones

- Es importante que para obtener resultados más confiables y exactos se realice la recta de calibración y realizar las verificaciones periódicas del equipo para el análisis de fluoruros en el periodo de tiempo designado.
- Los estándares de control calidad de fluoruros por ser inestables a concentraciones bajas, se recomienda que se realicen cada 28 días.
- Dada la alta concentración de ácido clorhídrico en el reactivo de color es importante manejar los desechos del análisis con las medidas de seguridad pertinentes además de conservar los desechos hasta que el personal autorizado retire los desechos con el fin de reducir el impacto ambiental al ecosistema.
- Es importante realizar verificaciones periódicas a fin de controlar la estabilidad de los métodos en función del tiempo y seguir con la mejora continua del Sistema de Calidad del laboratorio

6. BIBLIOGRAFÍA

Acurio, A. J. (2011). *Validación de métodos analíticos para la determinación de cloro libre residual, cromo hexavalente, cromo total y nitritos en muestras de agua, en el Centro de Investigaciones y Control Ambiental "CICAM"*. Ambato, Ecuador: Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Boischio, A. (21 de Enero de 2013). *Organización Panamericana de la Salud*. Obtenido de Organización Panamericana de la Salud: <http://www.paho.org/>

Galicia, L., Molina, N., Oropeza, A., Gaona, E., & Juárez, L. (2011). Análisis de la concentración de fluoruros de la delegación Tlahuac, CDMX. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 283-289.

Lazos, R., & Hernández, I. (2004). Validación de Métodos: Un enfoque Práctico. *Simposio de Metrología*, 25-30.

Moreno, A. V. (2008). *Validación de Método Analíticos*. México, DF: Instituto Politécnico Nacional.

Moreno, A. V. (2008). *Validación de Métodos Analíticos*. México, DF: Instituto Politécnico Nacional.

Romero, V., Norris, F., Ríos, J., Cortés, I., González, A., Gaete, L., & Tchernitchin, A. (2017). Consecuencias de la fluoración del agua potable en la salud humana. *Revista Medellín Chile*, 240-249.

Ryczel, M. E. (2006). Fluor y agua de consumo – Su relación con la salud –. *Boletín de la ATA*, 21-26.

Uribe, M., López, R., & Ramos, C. (2001). Validación de métodos analíticos en laboratorios de ensayo de aguas de residuales. *Kuxulkab, Revista de Divulgación*, 3-18.