



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA
DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM
C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON
ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA
ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)**

Ana Sylvia Avila Calvillo

Asesorado por el Ing. Oscar Humberto Jiménez García

Guatemala, agosto de 2016

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA
DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM
C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON
ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA
ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

ANA SYLVIA AVILA CALVILLO

ASESORADO POR EL ING. OSCAR HUMBERTO JIMÉNEZ GARCÍA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, AGOSTO 2016

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Raúl Eduardo Ticún Córdova
VOCAL V	Br. Henry Fernando Duarte García
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

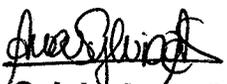
DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADORA	Inga. Lorena Victoria Pineda Cabrera
EXAMINADORA	Inga. Adela María Marroquín González
EXAMINADORA	Inga. Mercedes Esther Roquel Chávez
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química con fecha 18 de septiembre de 2014.


Ana Sylvia Avila Calvillo

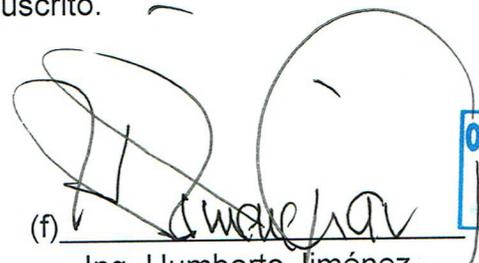
Guatemala, 30 de septiembre del 2014

Ing. Víctor Monzón Valdéz
Director Escuela de Ingeniería Química
USAC
Presente

Respetable Ingeniero Monzón:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para informarle que he asesorado y aprobado el Informe Final del Ejercicio Profesional Supervisado titulado: "VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)" Elaborado por la estudiante de Ingeniería Química Ana Sylvia Avila Calvillo con número de carné 2009-14896. Considero que el Informe Final desarrollado satisface los requisitos establecidos; por lo que solicito se sirva remitirlo para su respectiva revisión.

Por lo anterior quedo suscrito.

(f) 
Ing. Humberto Jiménez
No. Colegiado 306
Asesor

OSCAR HUMBERTO JIMÉNEZ GARCÍA
INGENIERO QUÍMICO
COLEGIADO 306



Guatemala, 27 de octubre de 2015.
Ref.EPS.DOC.728.10.15.

Ing. Silvio José Rodríguez Serrano
Director Unidad de EPS
Facultad de Ingeniería
Usac.

Ing. Rodríguez Serrano:

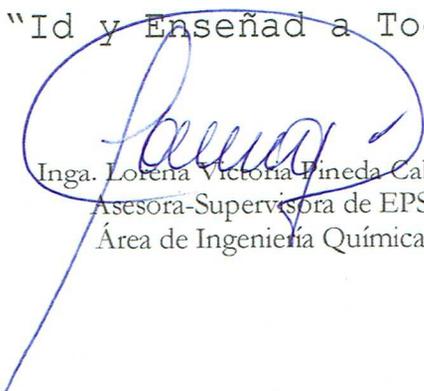
Por este medio atentamente le informo que como Asesora-Supervisora de la Práctica del Ejercicio Profesional Supervisado (E.P.S.), de la estudiante universitaria **Ana Sylvia Ávila Calvillo** de la Carrera de Ingeniería Química, con carné No. **200914896**, procedí a revisar el informe final, cuyo título es **“VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)”**.

En tal virtud, **LO DOY POR APROBADO**, solicitándole darle el trámite respectivo.

Sin otro particular, me es grato suscribirme.

Atentamente,

“Id y Enseñad a Todos”


Inga. Lorena Victoria Pineda Cabrera
Asesora-Supervisora de EPS
Área de Ingeniería Química



c.c. Archivo
LVPC/ra



Guatemala, 27 de octubre de 2015.
Ref.EPS.D.570.10.15.

Ing. Victor Manuel Monzón Valdéz
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente

Estimado Ingeniero Monzón Valdéz.

Por este medio atentamente le envío el informe final correspondiente a la práctica del Ejercicio Profesional Supervisado, (E.P.S) titulado **"VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)"** que fue desarrollado por la estudiante universitaria Ana Sylvia Ávila Calvillo, quien fue debidamente asesorada y supervisada por la Ingeniera Lorena Victoria Pineda Cabrera.

Por lo que habiendo cumplido con los objetivos y requisitos de ley del referido trabajo y existiendo la aprobación del mismo por parte de la Asesora-Supervisora de EPS, en mi calidad de Director apruebo su contenido solicitándole darle el trámite respectivo.

Sin otro particular, me es grato suscribirme.

Atentamente,
"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Silvio José Rodríguez Serrano
Director Unidad de EPS



SJRS/ra



Guatemala, 16 de mayo de 2016.
 Ref. EIQ.TG-IF.030.2016.

Ingeniero
 Carlos Salvador Wong Davi
 DIRECTOR
 Escuela de Ingeniería Química
 Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Wong:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **061-2014** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
-Modalidad Ejercicio Profesional Supervisado-

Solicitado por la estudiante universitaria: **Ana Sylvia Avila Calvillo**.
 Identificada con número de carné: **2009-14896**.
 Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **Oscar Humberto Jiménez García**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Adeja M. Marroquín G.
 Inga. Adeja María Marroquín González
 COORDINADORA DE TERNA
 Tribunal de Revisión
 Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.042.2016

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Ejercicio Profesional Supervisado (**EPS final**) de la estudiante **ANA SYLVIA AVILA CALVILLO** titulado: **"VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)"** Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



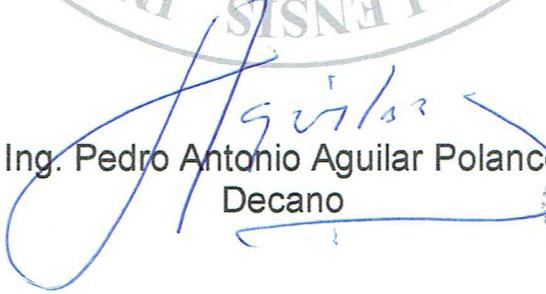
Guatemala, mayo de 2016

Cc: Archivo
CSWD/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **“VALIDACIÓN Y VERIFICACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO, MAGNESIO Y AZUFRE CON BASE A LA NORMA ASTM C-25 EN MATERIALES UTILIZADOS COMO ENMIENDAS AGRÍCOLAS QUE SON ANALIZADOS EN EL LABORATORIO DE SUELOS, PLANTAS Y AGUAS DE LA ASOCIACIÓN NACIONAL DEL CAFÉ (ANACAFÉ)”**, presentado por la estudiante universitaria: **Ana Sylvia Avila Calvillo**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.


Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
Decano



Guatemala, agosto de 2016

/cc

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Por bendecirme con la oportunidad de estudiar, por su infinito amor, sabiduría y entendimiento a lo largo de mi vida.
- Mis padres** Leonel Avila y Sylvia Calvillo, por el esfuerzo que cada día hacen para que pueda cumplir mis sueños. Hoy puedo decir lo logramos.
- Mis hermanos** Andrea, Andrés, Leonel Avila Calvillo y Ana Lucía Avila Zepeda, por ser mi ejemplo y mis mejores amigos, mi apoyo y fuente de amor incondicional.
- Mis abuelos** En especial a mi abuelo Edgar Avila (q. e. p. d.) con tu amor me enseñaste a luchar cada día por mis sueños y no rendirme. A mis abuelas Mary de Avila y Carmen Herrera que cada día me inspiran a ser mejor persona.
- Mi familia** Por estar al pendiente de mí en todo momento, por su cariño y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad de San Carlos de Guatemala	Por ser mi casa de estudios y formar mi carrera profesional.
Facultad de Ingeniería	En especial a la Escuela de Ingeniería Química y a cada catedrático que ha aportado valiosas enseñanzas a mi carrera profesional.
Mis amigos	Luis Paiz, Esther López, Kimberlyn Ramírez, Gabriela Coyoy, Marvin Gutiérrez, William Abdalla, Julián Chamalé, Roberto García y todos los compañeros con los que compartimos risas, alegrías, lágrimas y algunas veces enojos y frustraciones.
Mis compañeros de trabajo	Por su apoyo y por ser parte de mi formación profesional.
Asesores y revisores	A cada uno de los ingenieros que de una forma u otra se han visto involucrados en este proceso.
Asociación Nacional del Café (Anacafé)	En especial al Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab), por aportar conocimientos a mi carrera profesional y permitirme realizar mi trabajo de graduación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VII
GLOSARIO.....	IX
RESUMEN.....	XI
OBJETIVOS	XIII
Hipótesis	XV
INTRODUCCIÓN.....	XVII
1. ANTECEDENTES.....	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Métodos de ensayo.....	3
2.2. Selección de métodos de ensayo	4
2.2.1. Método normalizado	4
2.2.2. Método no normalizado	4
2.2.3. Métodos elaborados por el laboratorio	5
2.3. Verificación de métodos.....	5
2.4. Validación de métodos.....	5
2.4.1. Parámetros de validación	7
2.4.2. Pasos para la validación de métodos	9
2.5. Características edáficas del suelo para el cultivo de café .	10
2.5.1. Fertilidad del suelo.....	10
2.5.2. Acidez del suelo.....	11
2.5.3. Textura del suelo	12
2.5.4. Profundidad.....	12

2.6.	Corrección de acidez del suelo: encalado	13
2.6.1.	Calidad de las enmiendas.....	15
2.7.	Métodos de cuantificación	16
2.7.1.	Análisis volumétrico	16
2.7.1.1.	Reacciones de formación de iones complejos.....	17
2.7.2.	Espectrofotometría.....	18
2.7.2.1.	Transmitancia y absorbancia	20
2.7.2.2.	Ley de Lambert-Beer	21
2.7.2.3.	Espectrofotómetros.....	22
2.7.2.3.1.	Espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente	23
3.	DISEÑO METODOLÓGICO	27
3.1.	Variables	27
3.2.	Delimitación de campo de estudio	28
3.3.	Recursos humanos disponibles	28
3.4.	Recursos materiales disponibles	28
3.5.	Técnica cuantitativa	30
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	30
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	30
3.7.1.	Verificación de la metodología para la determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25	31
3.7.1.1.	Preparación de muestras.....	31
3.7.1.2.	Procedimiento.....	31

	3.7.1.3.	Resultados esperados	32
	3.7.2.	Validación del método de ensayo para la determinación	33
	3.7.2.1.	Preparación de muestras.....	33
	3.7.2.2.	Procedimiento.....	33
	3.7.2.3.	Resultados esperados	34
3.8.		Análisis estadístico	34
	3.8.1.	Promedio.....	34
	3.8.2.	Desviación estándar	35
	3.8.3.	Coeficiente de variación.....	35
	3.8.4.	Prueba de t-Student.....	36
4.		RESULTADOS	37
	4.1.	Verificación de metodología para determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25	37
	4.1.1.	Veracidad.....	37
	4.1.2.	Precisión	38
	4.1.3.	Exactitud	40
	4.1.4.	Incertidumbre	40
	4.2.	Validación de los métodos de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.....	41
	4.2.1.	Veracidad.....	41
	4.2.2.	Precisión	45
	4.2.3.	Exactitud	46
	4.2.4.	Límites	47
	4.2.5.	Linealidad.....	48
	4.3.	Comparación de métodos de ensayo	52

5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	55
6.	LOGROS OBTENIDOS	59
	CONCLUSIONES.....	61
	RECOMENDACIONES	63
	BIBLIOGRAFÍA	65
	APÉNDICES.....	67
	ANEXOS	81

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Esquema de elementos minerales de la planta de café	11
2.	Espectro electromagnético	19
3.	Esquema del funcionamiento del ICP-OES.....	24
4.	Curva de calibración – calcio.....	49
5.	Curva de calibración – magnesio	50
6.	Curva de calibración – azufre	51
7.	Comparación de métodos - %Ca.....	52
8.	Comparación de métodos - %Mg	53

TABLAS

I.	Determinación de sesgo	37
II.	Análisis de t-Student para sesgo.....	38
III.	Repetibilidad	39
IV.	Reproducibilidad	39
V.	Análisis de exactitud	40
VI.	Incertidumbre.....	41
VII.	Análisis de sesgo para cal dolomita	42
VIII.	Análisis de sesgo para yeso agrícola	43
IX.	Análisis de porcentaje de recuperación para cal dolomita	44
X.	Análisis de porcentaje de recuperación para yeso agrícola	44
XI.	Análisis de repetibilidad para cal dolomita.....	45
XII.	Análisis de repetibilidad para yeso agrícola	46

XIII.	Análisis de exactitud	47
XIV.	Resultados de límites	48
XV.	Curva de calibración planteada	48
XVI.	Curva de calibración – calcio.....	49
XVII.	Curva de calibración – magnesio	50
XVIII.	Curva de calibración – azufre	51
XIX.	Análisis de varianza para comparación de métodos	53

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
cm	Centímetro
g	Gramos
L	Litros
mL	Mililitros
M	Molaridad
nm	Nanómetro
ppm	Partes por millón

GLOSARIO

ASTM	Sociedad Americana para Pruebas y Materiales.
Coguanor	Comisión Guatemalteca de Normas.
Complejometría	Técnica para la determinación analítica directa o indirecta de elementos o compuestos por medición del complejo soluble formado.
Constante dieléctrica	Constante física que describe cómo un campo eléctrico afecta y es afectado por un medio.
Cromóforo	Sustancia que tiene muchos electrones capaces de absorber energía o luz visible, y excitarse para así emitir diversos colores, dependiendo de las longitudes de onda de la energía emitida por el cambio de nivel energético de los electrones, de estado excitado a estado basal.
Edáfica	Proveniente de edafología, que es una rama de la ciencia que estudia la composición y naturaleza del suelo en su relación con las plantas y el entorno que le rodea.

Enmiendas	En la agricultura, el término es utilizado para nombrar a los materiales utilizados para la corrección de la acidez en el suelo.
ICP-OES	<i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometer</i> , por sus siglas en inglés.
iones complejos	Se componen de un átomo central que actúa como receptor de pares electrónicos y de grupos ligandos que actúan como donadores de pares electrónicos formando enlaces coordinados.
ISO	International Organization of Standardization, por sus siglas en inglés.
Ligandos	Ion o molécula que se une a un átomo de metal central para formar un complejo de coordinación.
Titulación	Método de análisis químico cuantitativo en el laboratorio que se utiliza para determinar la concentración desconocida de un reactivo conocido.

RESUMEN

El objetivo principal de este proyecto es la validación del método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y la verificación de la metodología para la determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica, ambas metodologías con base a la Norma ASTM C-25. Ambos métodos de ensayo son aplicables a muestras que son utilizadas como en enmiendas agrícolas para corregir la acidez del suelo y que ingresan al Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).

Se tomaron dos tipos de enmiendas agrícolas, cal dolomítica, que está compuesta por carbonato de calcio y carbonato de magnesio, y sulfato de calcio, comúnmente conocido como yeso. Estas muestras fueron tratadas mediante una digestión ácida, como lo describe la Norma ASTM C-25, de esta forma quedan disueltos los iones de calcio, magnesio y azufre presentes para ser cuantificados. Por medio de una titulación complejométrica, se determinó la concentración de calcio y magnesio; asimismo se analizaron las muestras por espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente para la cuantificación de calcio, magnesio y azufre.

Para poder determinar la aceptabilidad de cada método de ensayo, se estableció una serie de parámetros a evaluar. Al tener los resultados de las pruebas, se realizó un análisis estadístico para verificar el cumplimiento de los parámetros establecidos.

En el caso de la validación del método espectrofotométrico, se evaluó la linealidad, repetibilidad, exactitud, porcentaje de recuperación, límite de detección y cuantificación; cada uno de los parámetros evaluados cumplió con los criterios de aceptabilidad establecidos.

Para el método volumétrico, se evaluó únicamente la repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre; cumpliendo con los criterios de aceptabilidad establecidos.

Al estar evaluando dos métodos de cuantificación de calcio y magnesio, se realizó un análisis del porcentaje de variación, determinando que no existe diferencia significativa entre la utilización de cada método, ya que no exceden el 10 % de criterio establecido.

Tanto el método para la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente, como el método para la determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica, fueron validados y verificados respectivamente. Por lo tanto se concluye que ambos métodos cumplen con los requisitos técnicos de la norma y que Analab es capaz de reproducirlos sin presentar inconvenientes.

OBJETIVOS

General

Validar los métodos de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y verificar la metodología para la determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25 para muestras de enmiendas utilizadas con fines agrícolas que ingresan al Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas de la Asociación Nacional del Café (Anacafé)

Específicos

1. Determinar los parámetros de verificación, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre, para el ensayo de calcio y magnesio por titulación complejométrica.
2. Determinar los parámetros de validación, linealidad, repetibilidad, exactitud, porcentaje de recuperación, límite de detección y de cuantificación, para el ensayo de calcio, magnesio y azufre, para ser analizados en el espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

3. Implementar la metodología para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio del espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) con base en la Norma ASTM C-25.

4. Determinar los porcentajes de variación entre los métodos de ensayo de calcio y magnesio por titulación complejométrica, y calcio y magnesio por medio del espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

Hipótesis

- Hipótesis de trabajo

Es posible implementar la validación de los ensayos de determinación de calcio, magnesio y azufre por medio espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente mediante la digestión de las muestras con ácido clorhídrico, y la verificación de la metodología de determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25 inciso 31.

- Hipótesis estadística
 - Hipótesis de Investigación (H_{i1})

Existe diferencia significativa para los parámetros de validación evaluados (linealidad, repetibilidad, exactitud, porcentaje de recuperación, límite de detección y de cuantificación) en la metodología de determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.

- Hipótesis nula (H_{o1})

No existe diferencia significativa para los parámetros de validación evaluados (linealidad, repetibilidad, exactitud, porcentaje de recuperación, límite de detección y de cuantificación) en la metodología de determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente.

- Hipótesis de investigación (H_2)

Existe diferencia significativa para los parámetros de verificación evaluados (repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre) en la metodología de determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica con base a la Norma ASTM C-25.

- Hipótesis nula (H_0)

No existe diferencia significativa para los parámetros de verificación evaluados (repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre) en la metodología de determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica con base a la Norma ASTM C-25.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los laboratorios buscan implementar sistemas de gestión de calidad que cumplan con requisitos de normativos nacionales e internacionales, con el fin de aumentar la confiabilidad de sus resultados, de forma que puedan demostrar la capacidad y competencia técnica que les permita fortalecer su posición competitiva en el área de trabajo en la cual se especializan.

La Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025 (*Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*) establece los requisitos técnicos y administrativos que deberán cumplir los laboratorios de ensayo. El inciso 5.4 de la Norma establece que el laboratorio debe aplicar los métodos de ensayos apropiados para su alcance y que satisfagan las necesidades del cliente. El laboratorio deberá utilizar, de preferencia, métodos de ensayos publicados como normas nacionales o internaciones, pueden ser utilizados también métodos desarrollados o modificados por el laboratorio previo a una validación de los mismos, en donde se evidencie que el laboratorio es capaz de realizar el método de ensayo propuesto y cuenta con los materiales necesarios.

En la actualidad, el Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab) se encuentra implementando el sistema de gestión de la calidad, por lo que es necesario que cumpla con los requisitos técnicos regulados en la Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025.

Por lo tanto, el presente trabajo busca validar los métodos de ensayo que son utilizados por el Laboratorio para determinación de calcio, magnesio y azufre

en muestras que son utilizadas con fines agrícolas, con base a la Norma ASTM C-25 (*Métodos estándar de análisis para piedra caliza, cal viva y cal hidratada*).

1. ANTECEDENTES

De acuerdo a la Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025 en el laboratorio se deberá trabajar con métodos de ensayo validados con los que puedan avalar la confiabilidad y reproducibilidad de sus resultados; por lo que dentro de la ingeniería química es importante poner en práctica estas herramientas.

Actualmente, en la Escuela de Ingeniería Química se han realizado una serie de trabajos en los que se expone la validación de métodos de ensayo en diferentes laboratorios, siendo algunos de ellos los siguientes:

- Edwin Cancinos junto con César García, en el 2012, trabajaron el proyecto de *Evaluación e implementación para la validación técnica de los ensayos de galvanizado bajo las normas ASTM A90-81 y ASTM A239-89, que se realizan en el laboratorio de análisis fisicoquímico de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería.*
- Luis Castro y Jorge Estrada, en el 2010, realizaron el proyecto denominado *Diagnóstico de la aplicación de un sistema de gestión de calidad a través de la Norma ISO/IEC 17025:2005 en el Laboratorio de Fisicoquímica y validación del ensayo: Determinación de la constante de disociación ácida del rojo de metilo.*
- Nildred Montufar y Lorena Pineda, en el 2009, trabajaron el proyecto de *Validación de cinco métodos analíticos utilizados en el Laboratorio de Control de Calidad, de una planta de envasado de rones añejos.*

- Edgard Godínez y Ana Haessler, en el 2008, realizaron el proyecto bajo el título de *Validación de la metodología analítica en el proceso de fabricación de una crema antimicótica y la cuantificación de clotrimazol como ingrediente activo.*

Por su parte, Analab en la actualidad trabaja con algunos métodos de ensayos que han sido desarrollados o modificados por el Laboratorio, sin embargo, cuenta únicamente con la documentación de la validación del método empleado para la extracción de calcio, magnesio, potasio y fósforo por resina de intercambio iónico para muestras de suelo. Debido a la implementación de un sistema de gestión de calidad, se han iniciado los proyectos tanto de validación retrospectiva, en la que se realiza la validación a partir de datos históricos con los que cuente el laboratorio, como de validación prospectiva, que se refiere a las validaciones de métodos de ensayos nuevos con los que el laboratorio trabaja.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Métodos de ensayo

Para obtener resultados trazables, el laboratorio deberá utilizar métodos de ensayo adecuados al propósito, los cuales deben estar adecuadamente validados y documentados previo a su utilización, para asegurar la confiabilidad de los resultados que se obtengan.

De acuerdo a la Norma Coguanor/ISO/IEC 17025, el laboratorio no solo deberá seleccionar los métodos de ensayos apropiados para el analito analizado, sino también deberá asegurar la competencia de las personas que operan equipos específicos, realizan ensayos, revisan y firman los informes finales de los ensayos.

Para la determinación de cierto analito en un tipo específico de muestra pueden existir varios métodos analíticos disponibles, ya sean nacionales o internacionales, por lo que el laboratorio deberá evaluar los métodos y seleccionar el que cumpla con las necesidades y recursos, de acuerdo al alcance establecido

Una vez hayan sido seleccionados los métodos de ensayo, deberán ser validados previo a la implementación dentro del laboratorio, esto servirá para verificar el desempeño contra las especificaciones de la validación.

2.2. Selección de métodos de ensayo

El laboratorio podrá utilizar métodos normalizados, no normalizados o desarrollados por el propio laboratorio, según sea el alcance requerido.

2.2.1. Método normalizado

Se define como un método de ensayo publicado por organismos de normalización internacional, nacional o regional como ISO, ASTM, DIN, entre otras. También pueden ser publicados por organizaciones reconocidas como la AOAC.

Los métodos normalizados que el laboratorio utilice deben ser practicados exactamente como han sido publicados; únicamente podrán ser utilizados los que corresponden a la última edición o deberá demostrar que ha sido posible la utilización de una versión anterior.

2.2.2. Método no normalizado

Es aquel en el que no existe una publicación por organismos nacionales o internacionales; Sin embargo, pueden ser métodos de ensayos que han sido elaborados por otros laboratorios, por lo que deberán ser validados por el laboratorio usuario para comprobar que se adecúan a las necesidades y al alcance establecido.

2.2.3. Métodos elaborados por el laboratorio

Para la implementación de métodos de ensayo desarrollados por el laboratorio, deberá existir una actividad planificada en la que se haga un estudio en el que el laboratorio certifique que tiene el personal calificado y los recursos adecuados para su desarrollo.

2.3. Verificación de métodos

Tiene como objetivo comprobar que el laboratorio domina el método de ensayo normalizado y lo utiliza adecuadamente. Si el laboratorio ha modificado un método normalizado, requerirá únicamente que se realicen pruebas que indican que la variación realizada no afecta el ensayo.

Los pasos a seguir serán los mismos que para una validación, especificando que el método de ensayo está únicamente siendo verificado, así como las variables que serán analizadas.

2.4. Validación de métodos

Se define la validación de métodos de ensayo como el procedimiento por el que se establece, a través de una serie de estudios, una base de datos en la que se demuestre científicamente que un método analítico cuenta con las características de desempeño que son adecuadas para cumplir con los requisitos para un uso específico previsto.

En el proceso de validación del método deberán utilizarse equipos que estén trabajando correctamente dentro de su especificación y adecuadamente calibrados. Asimismo, el personal a cargo de la validación de métodos analíticos

deberá ser competente y tener un amplio conocimiento en el campo de trabajo, lo que permitirá facilitar la toma de decisiones a partir de los resultados obtenidos durante el tiempo del estudio.

El inciso 5.4.5 de la Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025, en su primer inciso, establece que “La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencia objetiva, de que se cumple los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

Asimismo, en el inciso 5.4.5.2 menciona que “El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el uso previsto. La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dado. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración acerca de si el método es apto para el uso previsto”.

El laboratorio será el encargado de demostrar su competitividad técnica a través de la validación de sus métodos de ensayo, por lo que será el encargado de decidir qué parámetros de desempeño deberán ser caracterizados para validar el método.

2.4.1. Parámetros de validación

Son los criterios cuantitativos utilizados para decidir si un método cumple con los requisitos para el uso específico del método de ensayo estudiado. Entre los parámetros de validación se encuentran:

- Especificidad: se refiere a la capacidad de un método analítico para distinguir un analito de todo lo que pueda existir además de él en una muestra.
- Exactitud: grado de concordancia entre los resultados obtenidos y el valor de referencia verdadero. Está compuesta por la veracidad y la precisión del método de ensayo.
 - Precisión: es el el grado de concordancia entre los resultados obtenidos independientemente bajo las mismas condiciones. Este se puede obtener midiendo la reproducibilidad y la repetibilidad del método de ensayo a validar.
 - Reproducibilidad: capacidad del método de ensayo para reproducir el experimento bajo las mismas condiciones y producir los mismos resultados.
 - Repetibilidad: grado de concordancia entre resultados de sucesivas mediciones del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de operación, es decir, un mismo analista y en el mismo equipo

- Veracidad: se refiere al grado de coincidencia que existe entre el promedio de los resultados de una serie de muestras analizadas y un valor de referencia aceptado.
 - Porcentaje de recuperación: es la fracción de la sustancia agregada a la muestra (muestra fortificada) antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar. La recuperación evalúa el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original.
 - Sesgo: es la diferencia entre los resultados de un ensayo o una medición y el valor verdadero.

- Linealidad: se refiere a la obtención de resultados directamente proporcionales a la concentración o contenido del analito en muestras dentro del rango dado.

- Robustez: mide la capacidad que un procedimiento analítico tiene para no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método; indica la fiabilidad del procedimiento en un uso normal.

- Límite de detección: se refiere a la menor concentración o cantidad de analito detectable.

- Límite de cuantificación: se define como la magnitud mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud.

- Incertidumbre: es el parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando. Incluye errores sistemáticos y aleatorios.

2.4.2. Pasos para la validación de métodos

Para la validación de métodos de ensayo es recomendable seguir los siguientes pasos:

- Plan de validación: etapa en la que se documentan las pruebas o parámetros de validación necesarios y el diseño experimental a desarrollar con base en los requerimientos del método. El plan de validación deberá contener:
 - Alcance de la validación, es decir, el método analítico y requisitos del método.
 - Diseño experimental; indicando la(s) muestra(s) a analizar.
 - Parámetros y pruebas a desarrollarse.
 - Número de análisis requeridos para cada prueba o parámetro.
 - Criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación.
 - Analista responsable de realizar la prueba analítica.
 - Materiales, insumos y equipos necesarios.
- Desarrollo de pruebas experimentales: se refiere a la etapa de realización de pruebas experimentales de acuerdo a los parámetros de validación establecidos. Es necesario que los analistas a cargo conozcan y estén familiarizados con el procedimiento de método de ensayo y número de mediciones a realizar de acuerdo a lo establecido en el plan de validación.

- Evaluación de resultados: se deberá evaluar para cada parámetro de validación, si los resultados de las pruebas experimentales son satisfactorios, si se cumplen con los criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación establecido en el plan, se considera que el método es aceptable
- Informe de validación: el analista responsable deberá realizar un informe, presentando la documentación de los resultados obtenidos y las conclusiones. Asimismo, deberá contener la declaración de la aplicabilidad del método. El informe deberá ser revisado por una persona ajena al proceso de validación que tenga conocimientos en el área, con el objetivo de establecer si los criterios de aceptabilidad en el plan son admisibles y si el método cumple con los requisitos para el uso específico del método validado.

2.5. Características edáficas del suelo para el cultivo de café

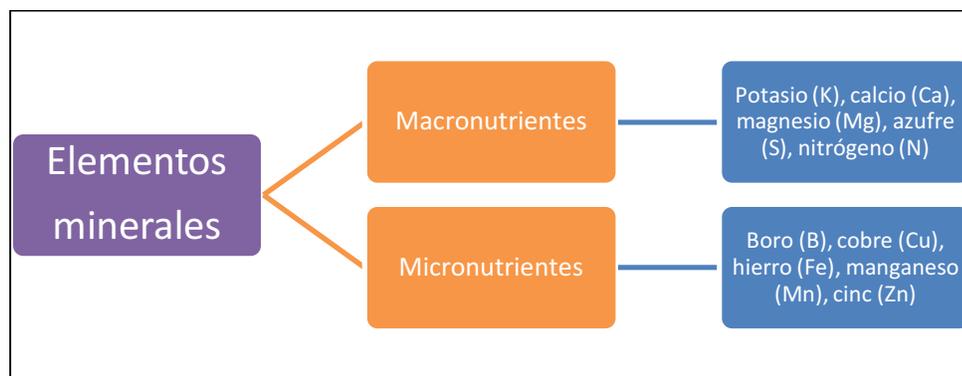
Alrededor del mundo, las condiciones físicas y químicas del suelo varían respecto a la región de cultivo. El cafeto debe plantarse en regiones de suelo fértiles, sin embargo, estas pueden ser acondicionadas artificialmente.

2.5.1. Fertilidad del suelo

La planta de café necesita alrededor de 16 nutrientes esenciales para su desarrollo. De acuerdo a su origen pueden clasificarse en minerales, que se encuentran principalmente en el suelo y son absorbidos a través de las raíces de la planta en sus formas inorgánicas, y no minerales, que son los que obtiene la planta a través del agua y el medio ambiente.

Los elementos minerales, a su vez, se clasifican con base en la cantidad que la planta necesita, están los macronutrientes y los micronutrientes. La figura 1 muestra un esquema de la clasificación de estos elementos.

Figura 1. **Esquema de elementos minerales de la planta de café**



Fuente: elaboración propia

La cantidad requerida de nutrientes varía de acuerdo a las características de la planta, factores climáticos, propiedades del suelo y manejo de la plantación.

2.5.2. Acidez del suelo

La importancia del pH radica en que los nutrientes del suelo y los organismos biológicos que transforman los minerales para que el cafeto pueda absorberlos necesitan estar en un rango de pH adecuado. Cuando el pH es menor de 4,0 es nominado extremadamente ácido (EA) y cuando tiene el valor entre 4,1 y 4,9 muy fuertemente ácido (MFA), en ambos casos el fósforo (P) se combina con el hierro (Fe) y el aluminio (Al) para formar compuestos minerales

insolubles que el cafeto no puede utilizar, debido a que es una acumulación tóxica que afecta el crecimiento vegetativo de raíces, tallos y ramas.

El suelo para el cultivo del café tiene rango adecuado de pH entre 5,5 y 6,5, que se conoce como de mediano a ligeramente ácido, y es en este rango que la mayor parte de los elementos minerales están disponibles para la su nutrición.

De forma que la acidez afecta algunas de las características químicas y biológicas del suelo, reduce el crecimiento de las plantas y ocasiona la disminución de la disponibilidad de algunos nutrientes como calcio, magnesio, potasio y fósforo; además, da paso a la propagación de elementos tóxicos para las plantas como el aluminio.

2.5.3. Textura del suelo

Los suelos para café deberán ser francos (con una composición de 45 % de arena, 40 % de limo y 15 % de arcilla) con una buena aireación que permite el buen crecimiento de raíces. Deben evitarse suelos arcillosos, ya que estos no permiten una adecuada aireación del suelo, y los suelos arenosos evitan la retención de agua y nutrientes

2.5.4. Profundidad

Es la capa que permite la penetración de las raíces de la planta para el cafeto, es recomendable contar con un suelo con aproximadamente un metro de profundidad.

2.6. Corrección de acidez del suelo: encalado

La acidez del suelo puede ser representada también por el aluminio intercambiable que se determina mediante la extracción del suelo con una sal no tamponada como el cloruro de potasio (KCl). Este análisis constituye el aluminio e hidrógeno intercambiable y el de la solución del suelo que pueden perjudicar el crecimiento de las planta de café.

El pH del suelo está directamente relacionado con el porcentaje de saturación de acidez, ya que el aluminio intercambiable precipita entre pH 5,5 y 6,0. Cuando el pH es menor de 5,5 el aluminio se solubiliza y, por lo tanto, resulta más abundante y tóxico para las plantas.

Por lo tanto se puede indicar que los problemas de acidez aumentan cuando se presentan las siguientes condiciones en el suelo:

- pH < 5,5
- Acidez o aluminio intercambiable > 0,5 cmol(+)/L
- Suma de bases (Ca + Mg + K) < 5 cmol(+)/L
- Saturación de acidez >20 %

El encalado consiste en la aplicación directa al suelo de compuestos de calcio o magnesio capaces de reducir la acidez del suelo e incrementar pH. Los productos más utilizados son los carbonatos, óxidos, hidróxidos, silicatos de calcio o magnesio. La acción de las enmiendas consiste en desplazar el aluminio intercambiable en fase sólida del suelo y neutralizar el ión Al^{+3} libre en solución de suelo.

Al ponerse en contacto la cal con el agua del suelo surge la reacción que da paso a la neutralización de la acidez del suelo. El calcio que proviene de la disolución de la cal no interviene en la reacción de incremento de pH, este únicamente pasa a ocupar sitios en la superficie de las partículas del suelo y servirá como nutriente para las plantas.

Los iones hidrógeno (H^+) y aluminio (Al^{+3}), que se liberan en la solución de suelo por el intercambio con calcio, reaccionan con los iones bicarbonato (HCO_3^-) que provienen de la hidrólisis de la cal, formando agua y precipitando el aluminio con liberación de dióxido de carbono que se disipa en estado gaseoso. El aluminio tóxico del suelo entonces queda neutralizado e inerte químicamente.

Al utilizar cal dolomítica, la hidrólisis del material reacciona de la misma forma que lo hace la cal, con la única variación en el incremento de magnesio en el suelo, en función de la concentración que presenta la cal dolomítica. Es de considerar que el efecto correctivo de las cales calcínicas o dolomíticas requieren de un tiempo extenso para reflejar los resultados significativos, debido a la baja solubilidad del material y lenta reacción con el suelo.

En el caso del sulfato de calcio, se señala erróneamente como un material corrector de la acidez del suelo, que se tiende a confundir como material alcalinizante por el hecho que aporta calcio, sin embargo, esto no le permite neutralizar los iones hidrógeno (H^+) y aluminio (Al^{+3}) de la solución del suelo.

El sulfato de calcio, en cambio, puede resultar más efectivo para reducir el aluminio intercambiable en el subsuelo, comparándolo con el carbonato de calcio, esto se debe a que el sulfato de calcio tiende a ser más soluble y los iones de calcio (Ca^{+2}) remplazan a los iones de Al^{+3} del complejo de intercambio, reaccionando con los iones de SO_4^{-2} , dando paso a la formación de AlSO_4^+ un compuesto que no es tóxico.

2.6.1. Calidad de las enmiendas

La selección de un material encalante está relacionada directamente con la calidad que el material posea. Para evaluar la calidad del material, debe basarse en la pureza del material, forma química, tamaño de partículas, poder relativo de neutralización y contenido de humedad.

- Pureza del material: evalúa la composición química del material y la presencia de contaminantes (materia orgánica, otros minerales). El poder de neutralización (PDN) del material depende de la composición química y pureza del material.
- Tamaño de partícula: se refiere a la fineza del material, que a su vez mide indirectamente la velocidad de reacción con el suelo. Mientras más fino sea el material, mayor velocidad de reacción tendrá con el suelo. El tamaño de partícula se determina por medio de un análisis granulométrico y da como resultado la eficiencia relativa del material (ER).

- Poder relativo de neutralización total (PRNT): Este parámetro asocia tanto la composición química como el grado de finura del material. Se calcula con la siguiente ecuación:

$$PRNT = \frac{PDN \times E}{100} \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde

PRNT: poder relativo de neutralización total

PDN: poder de neutralización

E: eficiencia granulométrica

2.7. Métodos de cuantificación

Existen diversas técnicas para el análisis de muestras, estas permiten obtener información necesaria de los elementos que la componen. Los métodos de cuantificación pueden ser químicos o fisicoquímicos, dependiendo de la naturaleza de la muestra a analizar.

2.7.1. Análisis volumétrico

Se utiliza para determinar la cantidad de una sustancia desconocida de forma indirecta, midiendo el volumen de una solución de concentración conocida que reacciona con el constituyente que se analiza o con otra sustancia químicamente equivalente. Al proceso de adición de volumen medido de una solución de concentración conocida para que reaccione con el constituyente buscado, se le conoce como valoración o titulación.

El punto final de la valoración se observa por un cambio brusco de alguna propiedad del sistema reaccionante estimado por un indicador, este cambio se presenta en el momento en el que se ha adicionado una cantidad de reactivo

equivalente a la de la sustancia analizada. El análisis volumétrico se clasifica en tres grupos principales de acuerdo a su reacción:

- Reacciones de neutralización
- Reacciones de óxido-reducción (redox)
- Reacciones de precipitación y de formación de iones complejos

2.7.1.1. Reacciones de formación de iones complejos

En la actualidad, las reacciones de formación de iones complejos tienen una amplia aplicación, sin embargo, los quelatos son los que más comúnmente se utilizan, ya que tienen capacidad para separar iones metálicos en solución o para la determinación de los mismos en muestras. Un complejo es una molécula formada por un ion o átomo central rodeado por un conjunto de ligantes, donde el ligante o ligando es cualquier átomo o molécula capaz de actuar como donante en uno o más enlaces coordinados.

Algunos ligantes solo tienen un único par de electrones donador y únicamente un punto de enlace con el metal, denominados monodentados. Los ligantes que tienen más de un punto de enlace se clasifican como polidentados. Existen ligandos que se ven afectados por el pH de la solución, un caso particular son los aniones de ácidos débiles o cationes de bases débiles.

En el caso de los aniones de ácidos débiles, al estar presente una cantidad significativa de ion hidrógeno reacciona con el ligando formando una o más etapas para generar especies no disociadas del ácido débil del que se generó el ligando.

En las titulaciones con ligandos polidentados existen varios ligandos polidentados que forman complejos hidrosolubles con iones metálicos y se les conocen como del tipo 1:1. Estas reacciones de formación de complejos ocurren en una sola etapa y en general presentan una alta estabilidad.

Los ligandos polidentados de este tipo utilizados como titulantes tienen la capacidad de proporcionar cambios significativos en la concentración del ion metálico alrededor del punto de equivalencia. A estas titulaciones se les conoce como titulaciones quelométricas debido a que en muchos casos los ligandos son quelonas. El ligando comúnmente utilizado es el ácido etilendiamintetracético (EDTA) y al ser utilizado las titulaciones se efectúan en soluciones amortiguadoras del ion metálico involucrado. Es importante emplear el pH adecuado ya que el EDTA puede existir en uno de sus estados iónicos protonados.

2.7.2. Espectrofotometría

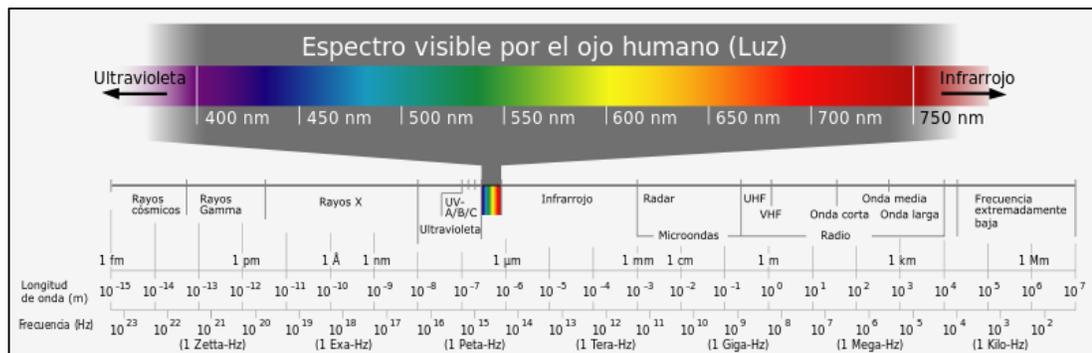
Se basa en la capacidad que poseen las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica).

Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Esto permite poner en funcionamiento ciclos vitales como la fotosíntesis en plantas y bacterias.

Cuando la luz (considerada como energía) es absorbida por una molécula, se origina un salto desde un estado energético basal o fundamental, E1, a un estado de mayor energía (estado excitado), E2, sólo se absorberá la energía que permita el salto al estado excitado. Cada molécula tiene una serie de estados excitados que la distingue del resto de moléculas. Como consecuencia, la absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula, esto es, su espectro de absorción, constituye una señal de identidad de la misma. Por último, la molécula en forma excitada libera la energía absorbida hasta el estado energético fundamental.

En espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195-400 nm) y el visible (400-780 nm).

Figura 2. **Espectro electromagnético**



Fuente: *Estructura atómica*.

http://essaucasciencias10.blogspot.com/2014_02_01_archive.html. Consulta: 18 de septiembre de 2014.

La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400 nm. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, por lo que esta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos.

Diversos factores (pH, concentración de sal y el disolvente) alteran la carga de las moléculas, provocando desplazamientos de los espectros UV. La fuente de radiación ultravioleta es una lámpara de deuterio.

En la región visible se aprecia el color visible de una solución que corresponde a las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que transmite, de forma que, para realizar mediciones de absorción, es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe luz la solución coloreada. La fuente de radiación visible suele ser una lámpara de tungsteno y no proporciona suficiente energía por debajo de 320 nm.

2.7.2.1. Transmitancia y absorbancia

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad (I_o) incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple:

$$I_o = I_a + I_t \quad [\text{Ec. 2}]$$

La transmitancia (T) de una sustancia en solución se define como la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra (I_t) y la cantidad de luz que incidió sobre ella (I_o) y se representa normalmente en tanto por ciento:

$$\% T = \frac{I_t}{I_o} \times 100 \quad [\text{Ec. 3}]$$

Esto indica una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa.

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de 1/T, en consecuencia:

$$A = \log 1/T = -\log T = -\log I_t/I_o \quad [\text{Ec. 4}]$$

2.7.2.2. Ley de Lambert-Beer

Esta ley expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución:

$$A = \log I/I_o = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad [\text{Ec. 5}]$$

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, de forma que a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas. También depende de la distancia que recorre la luz por la solución, a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará.

Por último, depende de ϵ , una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción que es específica de cada cromóforo. Como A es adimensional, las dimensiones de ϵ dependen de las de c y l .

La segunda magnitud (l) se expresa siempre en centímetros mientras que la primera (c) se hace, siempre que sea posible, en moles, con lo que las dimensiones de ϵ resultan ser 1 dividido moles por centímetro. Este coeficiente así expresado, en términos de unidades de concentración molar (o un submúltiplo apropiado), se denomina coeficiente de extinción molar (ϵ_M). Cuando, por desconocerse el peso molecular del soluto, la concentración de la disolución se expresa en otras unidades distintas de molaridad, por ejemplo gramos dividido litros, las dimensiones de ϵ resultan ser distintas, por ejemplo 1 dividido gramos por litro por centímetro, y al coeficiente así expresado se denomina coeficiente de extinción específico (ϵ_s).

La ley de Lambert-Beer se cumple para soluciones diluidas; para valores de c altos, ϵ varía con la concentración, debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas, cambios del medio, entre otros.

2.7.2.3. Espectrofotómetros

Son equipos que se utilizan para medir la luz a una longitud de onda específica, permiten comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

El espectrofotómetro está compuesto por:

- Fuente de luz: ilumina la muestra química o biológica, pero para que realice su función debe cumplir con las siguientes condiciones: estabilidad, direccionalidad, distribución de energía espectral continua y larga vida.
- Monocromador: aísla las radiaciones de longitud de onda deseada, logrando obtener luz monocromática. Está constituido por aberturas de entrada y salida, colimadores y el elemento de dispersión.
- Colimador: es un lente que lleva el haz de luz entrante con una determinada longitud de onda hacia un prisma, el cual separa todas las longitudes de onda de ese haz logrando que se redireccione hacia la abertura de salida.
- Compartimiento de muestra: es donde se lleva a cabo la interacción radiación electromagnética (REM) con la materia.
- Detector: se encarga de evidenciar una radiación para que posteriormente sea estudiada y saber a qué tipo de respuesta se enfrentarán (fotones o calor).
- Registrador: convierte el fenómeno físico en números proporcionales al analito en cuestión.

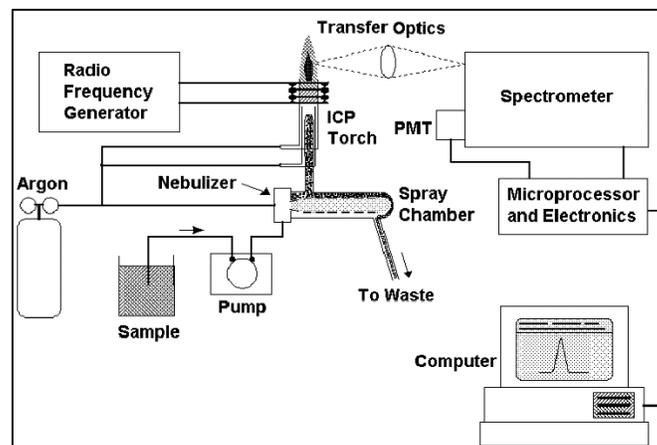
2.7.2.3.1. Espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente

Este tipo de espectrofotómetro está compuesto de dos partes importantes, la primera es el plasma acoplado inductivamente (ICP) y la segunda es el espectrofotómetro de emisión óptica (OES).

La muestra líquida es introducida al equipo con ayuda de una bomba peristáltica y un sistema de nebulización forma un aerosol que es transportado por el argón a la antorcha del plasma, acoplado inductivamente por radiofrecuencia.

En el plasma, debido las altas temperaturas generadas, los analitos son atomizados e ionizados generándose los espectros de emisión atómicos de longitudes de onda específicas. Los espectros son dispersados por la red de difracción y el detector sensible a la luz se encarga de medir las intensidades de las líneas. La información es procesada por el sistema informático.

Figura 3. **Esquema del funcionamiento del ICP-OES**



Fuente: *Inductive coupled plasma optical emission spectrometer.*

<http://analyticalprofessional.blogspot.com/2013/06/inductive-coupled-plasma-optical.html>.

Consulta: 18 de septiembre de 2014.

Este equipo es capaz de analizar hasta 73 elementos de la tabla periódica y 23 elementos simultáneamente de la misma muestra. Las ventajas al utilizar este tipo de espectrofotómetro es que permite desde lecturas trazas de los elementos, hasta concentraciones elevadas, asimismo, el equipo toma un minuto para analizar una muestra. Es de fácil uso, por lo que en la actualidad muchos laboratorios cuentan con uno de estos para la realización de sus análisis.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Las variables a desarrollar durante la realización del proyecto están relacionadas con la validación y verificación de métodos de ensayos. A continuación se describe cada una de ellas según el caso a estudiar:

- Para la validación se determinarán los siguientes parámetros:
 - Linealidad
 - Precisión
 - Exactitud
 - Porcentaje de recuperación
 - Límite de detección
 - Límite de cuantificación

- En el caso de la verificación las variables a determinar serán:
 - Exactitud
 - Precisión
 - ✓ Repetibilidad
 - ✓ Reproducibilidad
 - Veracidad
 - Sesgo
 - Incertidumbre

3.2. Delimitación de campo de estudio

El estudio se llevará a cabo únicamente para los parámetros de validación antes mencionados para la metodología utilizada en la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente. Además, los parámetros establecidos para la verificación del método de ensayo para la determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica en materiales que se utilizan como enmiendas en el sector agrícola y que son analizados en el Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).

3.3. Recursos humanos disponibles

- Director de la Unidad de EPS: Ing. Silvio Rodríguez
- Director de la Escuela de Ingeniería Química: Ing. Víctor Monzón
- Asesor-supervisor-docente: Inga. Lorena Pineda
- Asesor en la empresa fuente de la práctica: Ing. Humberto Jiménez
- Epesista: Br. Ana Sylvia Avila Calvillo.
- Analistas del laboratorio

3.4. Recursos materiales disponibles

- Equipos
 - Espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
 - Buretas digitales
 - Pipetas automáticas

- Dispensadores automáticos
- Agitador automático
- Plato caliente
- Balanza analítica

- Reactivos
 - Ácido clorhídrico 37% grado reactivo
 - Cloruro de estroncio grado reactivo
 - Indicador murexida
 - Indicador negro de eriocromo T
 - Hidróxido de potasio o hidróxido de sodio
 - Solución *buffer* de amonio pH 11
 - Solución patrón 1 000 ppm para Ca trazable a NIST
 - Solución patrón 1 000 ppm para Mg trazable a NIST
 - Solución patrón 1 000 ppm para S trazable a NIST

- Cristalería
 - Balones aforados (100 mL, 250 mL)
 - *Beaker* (200 mL, 50 mL)
 - *Erlenmeyer* (250 mL)
 - Viales para ICP-OES (15 mL)
 - Agitador magnético

3.5. Técnica cuantitativa

- Norma ASTM C-25 (inciso 31) Métodos estándar de análisis para piedra caliza, cal viva y cal hidratada.
- Método de ensayo modificado por el laboratorio con base a la preparación de la muestra de la Norma ASTM C-25, inciso 31.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

La información se recolectó y ordenó utilizando las siguientes herramientas:

- Documentación previa y final de la validación y verificación de la metodología.
- Hojas de registros de los resultados obtenidos en el laboratorio.
- Fotografías del proceso de validación.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

El proyecto está compuesto por dos partes, la primera trata de la verificación del método de ensayo para la determinación calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25 inciso 31 y la segunda trata de la validación del método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente, para ello se tomó como base la extracción de los iones estudiados de la Norma ASTM C-25.

3.7.1. Verificación de la metodología para la determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25

Se presenta el procedimiento general definido por la Norma ASTM, donde se define la preparación de las muestras y su tratamiento, asimismo, se describe el manejo de los productos y desechos, y los resultados esperados.

3.7.1.1. Preparación de muestras

Para la realización de la verificación se tomaron muestras de cal dolomítica y yeso como materiales representativos de las enmiendas agrícolas.

Se secaron las muestras en horno de convección forzada a 105 °C por dos horas y luego fueron colocadas en una desecadora hasta que alcanzaron temperatura ambiente.

3.7.1.2. Procedimiento

Este método aplica a la determinación de óxido de calcio y óxido de magnesio por titulación complejométrica con EDTA 0,01 M, método alternativo de la Norma ASTM C-25.

Para su realización, se pesaron 0,5000 g de muestra en balanza analítica y se añadieron 50 mL de ácido clorhídrico (1+1). Se colocaron en un plato caliente a 250 °C y se evaporó a sequedad, teniendo cuidado, se añadieron 25 mL de ácido clorhídrico (1+9) y 100 mL de agua desmineralizada, se dejaron hervir por 15 minutos. Esta solución se filtró en un balón aforado de 250 mL con papel filtro Whatman núm. 42 y se aforó con agua desmineralizada.

Para la determinación de óxido de calcio, se tomó una alícuota de 20 mL de la solución anterior, se colocó en un *erlenmeyer* de 250 mL y se añadieron 150 mL de agua desmineralizada. La solución debe tener un pH 12 que fue corregido agregando 10 mL de hidróxido de sodio 1 N. Una vez corregido el pH se añadió alrededor de 1 g de indicador murexida y se procedió a valorar la solución con EDTA 0,01 M.

En el caso del óxido de magnesio, de igual forma se tomó una alícuota de 20 mL de la solución preparada al inicio, colocándolos en un *erlenmeyer* de 250 mL y se agregaron 100 mL de agua desmineralizada; el pH de la solución debería estar en 11, por lo que se agregaron 10 mL de solución *buffer* de amonio. El volumen gastado para el óxido de calcio se agregó a esta solución, luego se agregaron 2 gotas de indicador negro de eriocromo T y se valoró la solución con EDTA 0,01 M.

El manejo de desechos lo trabaja una empresa ajena a Analab, por lo que los desechos obtenidos únicamente son colocados en un recipiente dispuesto para los desechos generados por todo el Laboratorio.

3.7.1.3. Resultados esperados

Con el volumen gastado en ambas valoraciones se procedió a calcular estequiométricamente el porcentaje de óxido de calcio y óxido de magnesio, y posterior a eso el porcentaje de calcio y magnesio. Con todos los datos obtenidos, se procedió a evaluar cada uno de los parámetros de verificación establecidos.

3.7.2. Validación del método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente

Se presenta el procedimiento general definido por la Norma ASTM para la extracción de los iones de calcio y magnesio, se define entonces la preparación de las muestras y su tratamiento, asimismo, se describe el manejo de los productos y desechos, y los resultados esperados.

3.7.2.1. Preparación de muestras

Como en el caso anterior, se tomaron muestras de cal dolomítica y yeso como materiales representativos de las enmiendas agrícolas. Se secaron las muestras en horno de convección forzada a 105 °C por dos horas y luego fueron colocadas en una desecadora hasta que alcanzaron temperatura ambiente.

3.7.2.2. Procedimiento

La extracción de los iones calcio, magnesio y azufre se basó en el tratamiento de la Norma ASTM C-25. Se pesaron 0,5000 g de muestra en balanza analítica y se añadieron 50 mL de ácido clorhídrico (1+1). Se colocaron en un plato caliente a 250 °C y se evaporó a sequedad, teniendo cuidado se añadieron 25 mL de ácido clorhídrico (1+9) y 100 mL de agua desmineralizada y se dejaron hervir por 15 minutos. Esta solución se filtró en un balón aforado de 250 mL con papel filtro Whatman núm. 42, por último se aforó con agua desmineralizada.

De la solución obtenida se tomaron 10 mL y se colocaron en un balón aforado de 100 mL, se agregaron 5 mL de ácido clorhídrico (1+1) y 2 gotas de cloruro de estroncio 10 %, terminando de aforar con agua desmineralizada. De esta dilución preparada se tomaron aproximadamente 10 mL, se colocaron en los viales propios del equipo y, una vez calibrado el espectrofotómetro ICP-OES para calcio, magnesio y azufre, se procedió a realizar las lecturas.

3.7.2.3. Resultados esperados

El software propio del espectrofotómetro muestra los resultados obtenidos de las lecturas, estos son trasladados sin conversión a una hoja de cálculo de Excel para luego ser analizados para cada uno de los parámetros de validación.

3.8. Análisis estadístico

Para cada uno de los parámetros de validación y verificación estudiados se realizó el análisis estadístico respectivo.

3.8.1. Promedio

El promedio o media aritmética de los resultados obtenidos se calculó con la siguiente ecuación:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad [\text{Ec. 6}]$$

Donde

\bar{x} = media aritmética

x_i = valor lectura

n = número de lecturas

3.8.2. Desviación estándar

También conocida como desviación típica, es una medida de dispersión respecto del promedio y se calcula de la siguiente forma:

$$S = \frac{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}}{n-1} \quad [\text{Ec. 7}]$$

Donde

S = desviación estándar

\bar{x} = media aritmética

x_i = valor lectura

n = número de lecturas

3.8.3. Coeficiente de variación

Es representando por la división entre la desviación estándar y el promedio de los resultados obtenidos, expresado en porcentaje.

$$\%CV = \left(\frac{S}{\bar{x}}\right) \times 100 \quad [\text{Ec. 8}]$$

Donde

CV = coeficiente de variación

S = desviación estándar

\bar{x} = media aritmética

3.8.4. Prueba de t-Student

Permite comparar las medias de grupos de datos de manera que pueda establecerse si existen diferencias estadísticamente significativas.

Con los resultados obtenidos en la experiencia analítica se determina el valor de t de Student calculado y este valor se compara posteriormente con el valor crítico o t-crítico que se obtiene de la tabla de t-Student para un determinado porcentaje de confiabilidad. Si no existen diferencias significativas entonces el t-calculado deberá ser inferior al t-crítico.

Para la comparación de datos cuando se conoce o cuenta con un valor de referencia el t-Student se calcula de la siguiente forma:

$$t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{S}{\sqrt{n}}} \quad [\text{Ec. 9}]$$

Donde

t_{calc} = t calculado

\bar{x} = media aritmética

μ = valor de referenica

S = desviación estándar

n = número de lecturas

Al obtener el t_{calc} se procede a buscar en la tabla de t-Student el t_{crit} , para un porcentaje de confiabilidad que se requiera y con el grado de libertad correspondiente a las mediciones realizadas.

4. RESULTADOS

4.1. Verificación de metodología para determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25

La verificación de la metodología de ensayo de determinación de calcio (Ca) y magnesio (Mg) por titulación complejométrica con EDTA se realizó con base a la Norma ASTM C25-2011, inciso 31, obteniendo los siguientes resultados, para cada uno de los parámetros de verificación establecidos.

4.1.1. Veracidad

Determina el grado de coincidencia existente entre el valor promedio obtenido y el valor de referencia aceptado. Puede representarse por el sesgo, en este caso los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla I. **Determinación de sesgo**

Parámetro	%Ca	%Mg
Valor Teórico	21,734	13,181
Valor Promedio	21,324	12,770
Sesgo	0,411	0,410

Fuente: elaboración propia.

Tabla II. **Análisis de t-Student para sesgo**

Parámetro	%Ca	%Mg	Conclusión
Sesgo	0,411	0,410	$t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$, ya que $0,122 < 1,699$ para el porcentaje de calcio y $0,386 < 1,699$ para el porcentaje de magnesio, por lo que se concluye que para la determinación de calcio y magnesio el sesgo es aceptable para el método utilizado, y por lo tanto su veracidad también es aceptable.
Desviación Estándar	0,614	0,194	
t-calculado (t_{calc})	0,122	0,386	
t-crítico (t_{crit})	1,699	1,699	

Fuente: elaboración propia.

4.1.2. Precisión

Esta podrá establecerse en grado de repetibilidad y reproducibilidad; y se calcula como la desviación estándar de los resultados obtenidos.

La repetibilidad se obtiene bajo condiciones donde los resultados de los análisis se consiguen con el mismo método, mismo laboratorio, mismo analista y utilizando el mismo equipo de trabajo

Tabla III. **Repetibilidad**

Resultados			Conclusión
Parámetro	%Ca	%Mg	
Promedio	21,3237	12,7703	Para ambos parámetros, el coeficiente de variación es menor al 10 %, por lo que se considera que los resultados obtenidos son aceptables para la precisión en el grado de repetibilidad.
Desviación estándar	0,61399	0,19423	
%CV	2,87940	1,52095	

Fuente: elaboración propia.

La reproducibilidad es la precisión bajo condiciones donde los resultados de los análisis se obtienen con el mismo método, pero puede variarse el laboratorio, diferentes analistas, utilizando diferentes equipos de trabajo. En este caso, únicamente se analizó la reproducibilidad variando a los analistas.

Tabla IV. **Reproducibilidad**

Resultados					Conclusión
	Analista 1		Analista 2		
	%Ca	%Mg	%Ca	%Mg	
Promedio	21,916	13,096	20,932	13,196	Para ambos parámetros, el coeficiente de variación es menor al 10 % por lo que se considera que los resultados obtenidos son aceptables para la precisión en el grado de reproducibilidad
Desviación estándar	1,565	0,960	0,461	0,520	
%CV	7,139	7,328	2,204	3,941	

Fuente: elaboración propia.

Se concluye entonces que la precisión de la metodología utilizada es aceptable en el grado de reproducibilidad y repetibilidad.

4.1.3. Exactitud

Cuando a un método de ensayo se le aplica el término de exactitud, este se basa en la combinación de la veracidad y la precisión del método de ensayo.

Tabla V. **Análisis de exactitud**

Parámetro		Aceptable/ no aceptable	Conclusión
Veracidad	Sesgo	Aceptable	Al ser aceptables ambos parámetros por los que está compuesta la exactitud, se concluye que para el método de determinación de calcio y magnesio por medio de una titulación con EDTA es aceptable
	Precisión	Repetibilidad	
Reproducibilidad		Aceptable	

Fuente: elaboración propia.

4.1.4. Incertidumbre

Esta puede ser directa o indirecta, en este caso se tomaron ambos tipos de incertidumbre, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla VI. **Incertidumbre**

Elemento	Incertidumbre directa	Incertidumbre indirecta
Calcio (Ca)	0,61399	0,09325
Magnesio (Mg)	0,19423	0,03443

Fuente: elaboración propia.

4.2. Validación de los métodos de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente

Para la realización del método de ensayo se trabajó con muestra de cal dolomita y yeso, los valores de referencia se tomaron del certificado de la casa comercial. La validación de este método de ensayo se basa en la preparación y tratamiento de la muestra que está en la Norma ASTM C-25. Para los parámetros de validación establecidos se obtuvieron los siguientes resultados.

4.2.1. Veracidad

Como se definió anteriormente, esta determina el grado de coincidencia existente entre el valor promedio obtenido y el valor de referencia aceptado. Puede representarse por el sesgo, que se define como la diferencia entre los valores obtenidos durante la práctica del ensayo y los valores esperados; Asimismo, puede establecerse la veracidad de un método de ensayo con el porcentaje de recuperación, que permite evaluar el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito presente en la muestra original.

Para el sesgo, se trabajó de la misma forma que en la verificación anteriormente descrita, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla VII. **Análisis de sesgo para cal dolomita**

Cal dolomita			
Resultados			Conclusión
	%Ca	%Mg	
Promedio	21,046	11,344	$t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$, ya que $0,209 < 1,699$ para el porcentaje de calcio y $1,295 < 1,699$ para el porcentaje de magnesio, por lo que se concluye que para la determinación de calcio y magnesio el sesgo es aceptable para el método utilizado, y por lo tanto su veracidad también es aceptable.
Valor teórico	21,734	13,180	
Sesgo	0,688	1,836	
Desviación estándar	0,599	0,258	
t-calculado (t_{calc})	0,209	1,295	
t-crítico (t_{crit})	1,6990	1,6990	

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Análisis de sesgo para yeso agrícola**

Yeso agrícola			
Resultados			Conclusión
	%Ca	%S	
Promedio	22,761	17,059	Se observa que $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$, ya que $1,184 < 1,699$ para el porcentaje de calcio y $0,237 < 1,699$ para el porcentaje de azufre, por lo que se concluye que para la determinación de calcio y magnesio el sesgo es aceptable para el método utilizado, y por lo tanto su veracidad también es aceptable.
Valor teórico	21,196	16,958	
Sesgo	1,565	0,101	
Desviación estándar	0,241	0,078	
t-calculado (t_{calc})	1,184	0,237	
t-crítico (t_{crit})	1,699	1,699	

Fuente: elaboración propia.

Para evaluar el porcentaje de recuperación, se trabajó con dos tipos de muestra fortificadas, a la primera se le agregó, en concentración, el 30 % del valor teórico de cada elemento a analizar y a las segundas se les adicionó el 50 % en concentración. De las muestras fortificadas se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla IX. **Análisis de porcentaje de recuperación para cal dolomita**

Cal dolomita					
	%R-Ca	%R-Mg	%R-Ca	%R-Mg	Conclusión
	30%		50%		
Promedio	105,19	107,86	98,83	102,17	Como $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$ para ambos tipos de muestra fortificada, entonces se concluye que el porcentaje de recuperación es aceptable para la determinación de calcio y magnesio.
Valor teórico	100,00				
Desviación estándar	9,74	13,29	3,46	9,74	
t-calculado	0,17	0,19	0,11	0,07	
t-teórico	1,86				

Fuente: elaboración propia

Tabla X. **Análisis de porcentaje de recuperación para yeso agrícola**

Yeso agrícola					
	%R-Ca	%R-S	%R-Ca	%R-S	Conclusión
	30 %		50 %		
Promedio	101,92	107,93	98,86	102,24	Como $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$ para ambos tipos de muestra fortificada, entonces se concluye que el porcentaje de recuperación es aceptable para la determinación de calcio y azufre.
Valor teórico	100,00				
Desviación estándar	5,01	13,29	3,46	9,74	
t-calculado	0,12	0,19	0,10	0,07	
t-teórico	1,86				

Fuente: elaboración propia.

4.2.2. Precisión

Este parámetro únicamente se analizó en el grado de repetibilidad; calculando la desviación estándar de los resultados obtenidos. Se obtiene bajo condiciones donde los resultados de los análisis se consiguen con el mismo método, mismo laboratorio, mismo analista y utilizando el mismo equipo de trabajo.

Tabla XI. **Análisis de repetibilidad para cal dolomita**

Cal dolomita			
Resultados			Conclusión
	%Ca	%Mg	Para ambas mediciones el coeficiente de variación es menor al 10 %, por lo que se considera que los resultados obtenidos son aceptables para la precisión en el grado de repetibilidad.
Promedio	21,0460	11,3445	
Desviación Estándar	0,4468	0,2588	
%CV	2,1230	2,2817	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Análisis de repetibilidad para yeso agrícola**

Yeso agrícola			
Resultados			Conclusión
	%Ca	%Mg	
Promedio	22,7617	17,0597	Para ambas mediciones el coeficiente de variación es menor al 10 %, por lo que se considera que los resultados obtenidos son aceptables para la precisión en el grado de repetibilidad.
Desviación estándar	0,2337	0,0781	
%CV	1,0266	0,4576	

Fuente: elaboración propia.

La precisión del método de ensayo es entonces aceptable en el grado de repetibilidad.

4.2.3. Exactitud

Una vez se analizan los resultados de veracidad y precisión, se puede emitir un criterio en cuanto a la exactitud del método de ensayo.

Tabla XIII. **Análisis de exactitud**

Parámetro		Aceptable/ no aceptable	Conclusión
Veracidad	Sesgo	Aceptable	Al ser aceptables ambos parámetros por los que está compuesta la exactitud, se concluye que el método de determinación de calcio, magnesio y azufre es aceptable.
	Porcentaje de recuperación	Aceptable	
Precisión	Repetibilidad	Aceptable	

Fuente: elaboración propia.

4.2.4. Límites

Todo método químico analítico tiene tanto un límite de detección como de cuantificación, estos reflejan que un método de ensayo tiene un límite en el que no podrá cuantificar el analito estudiado. El límite de detección se refiere al nivel mínimo de la sustancia estudiada para que el método la pueda detectar con resultado confiable. Mientras que, el límite de cuantificación se considera como el límite de concentración más bajo para mediciones cuantitativamente precisas.

Tabla XIV. **Resultados de límites**

Elemento	Límite de cuantificación	Límite de detección
Calcio (Ca)	0,29556	0,97238
Magnesio (Mg)	0,13990	0,46029
Azufre (S)	0,34001	1,11864

Fuente: elaboración propia.

4.2.5. **Linealidad**

Es la capacidad de un método de análisis de dar una respuesta dentro de un determinado intervalo. Para validar este parámetro se planteó una curva de calibración para cada elemento, de acuerdo a los rangos donde se encontraban las muestras de valor conocido. Una vez preparadas las curvas de calibración, se procedió a realizar las lecturas correspondientes, obteniendo un modelo matemático y su coeficiente de correlación.

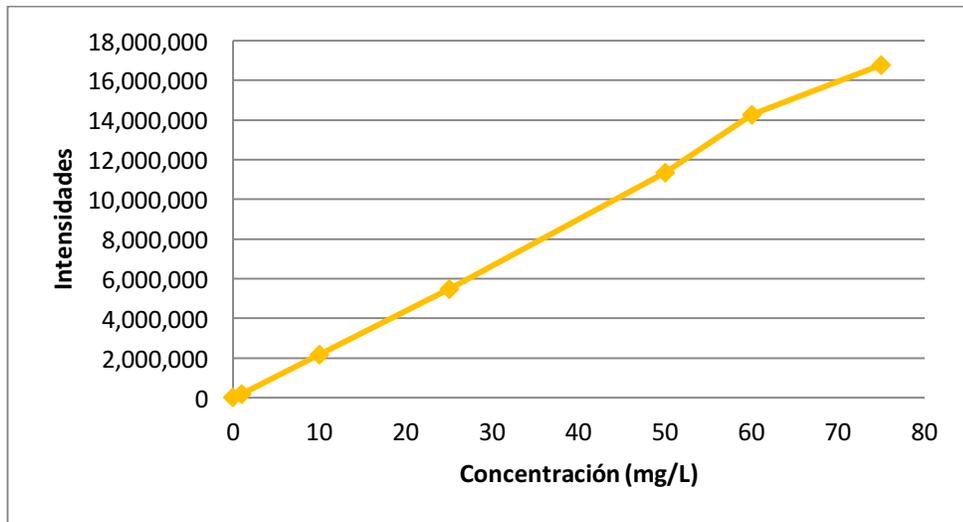
Tabla XV. **Curva de calibración planteada**

Núm. std.	Identificación	Concentración (ppm)
1	Blanco	0,00
2	STD 1	1,00
3	STD 2	10,00
4	STD 3	25,00
5	STD 4	50,00
6	STD 5	60,00
7	STD 6	75,00

Fuente: elaboración propia.

De las lecturas obtenidas por el ICP-OES se puede construir una curva de calibración que muestre la regresión que tienen los estándares propuestos. En el eje x se colocaron los valores de los estándares y en el eje y las intensidades obtenidas por el equipo. Con base en las lecturas obtenidas, se construyeron las siguientes curvas de calibración.

Figura 4. **Curva de calibración – calcio**



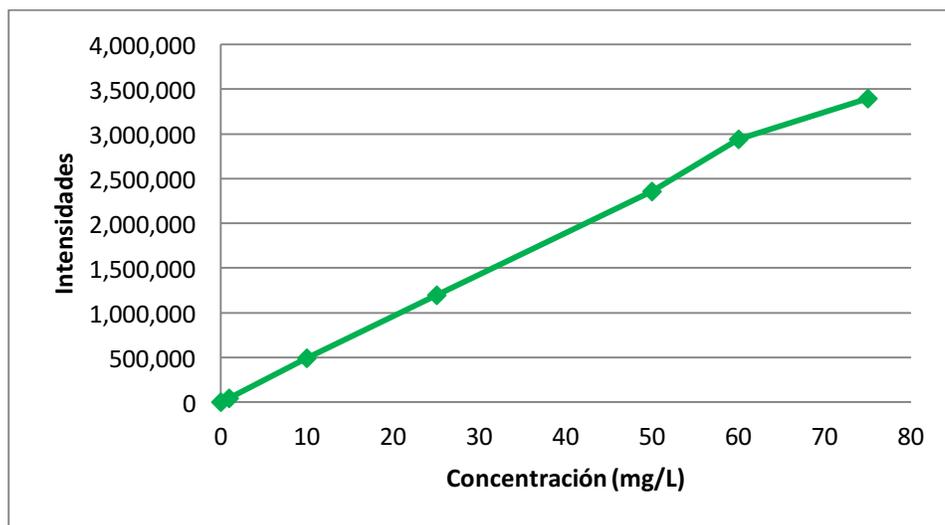
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Curva de calibración – calcio**

Elemento	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R^2)
Calcio (Ca)	$\%Ca = 322\,124(Intensidad) - 348\,311$	0,9982

Fuente: elaboración propia.

Figura 5. **Curva de calibración – magnesio**



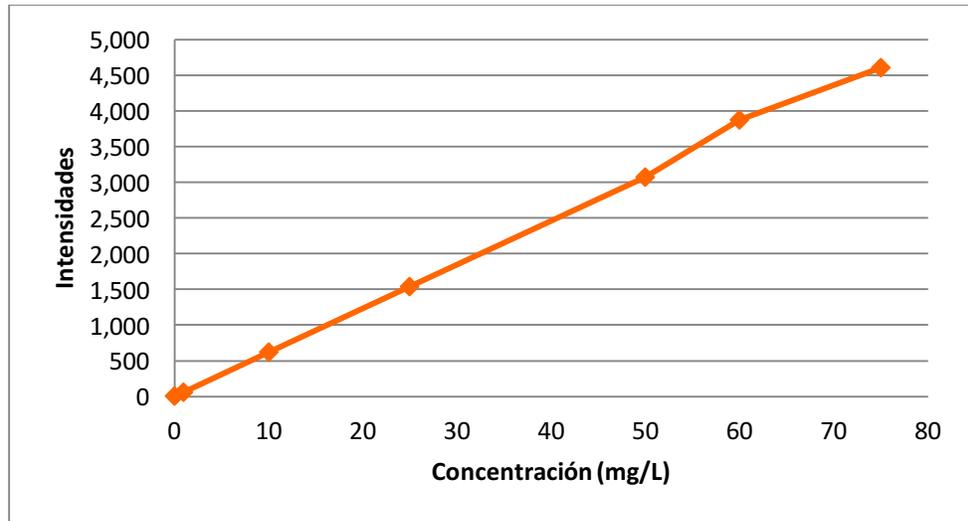
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Curva de calibración – magnesio**

Elemento	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R²)
Magnesio (Mg)	$%Mg = 46\,478(Intensidad) + 22\,295$	0,9973

Fuente: elaboración propia.

Figura 6. **Curva de calibración – azufre**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XVIII. **Curva de calibración – azufre**

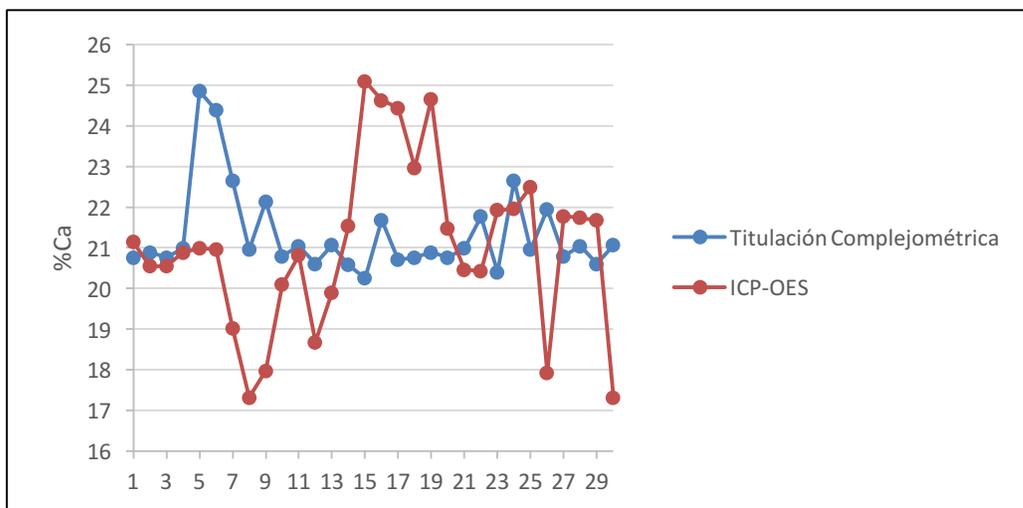
Elemento	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R^2)
Azufre (S)	$\%S = 62,347(Intensidad) + 0,0654$	0,9988

Fuente: elaboración propia.

4.3. Comparación de métodos de ensayo

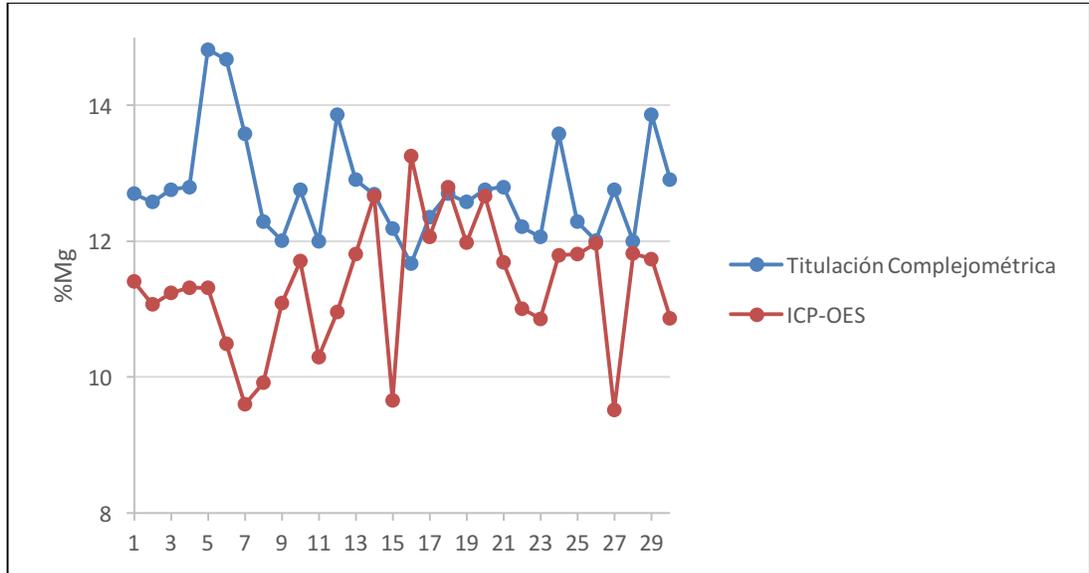
Debido al fácil manejo del espectrofotómetro ICP-OES se consideró que puede emplearse como método principal para la determinación de calcio, magnesio y azufre, por lo que se registró una comparación entre las lecturas de calcio y magnesio registradas por el ICP-OES y los resultados obtenidos por el método de titulación complejométrica que se muestran en las siguientes gráficas, así como el porcentaje de variación entre ambos métodos.

Figura 7. Comparación de métodos - %Ca



Fuente: elaboración propia.

Figura 8. **Comparación de métodos - %Mg**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Análisis de varianza para comparación de métodos**

Elemento	F calculado	F crítico
Calcio (Ca)	0,428	4,007
Magnesio (Mg)	41,258	

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se llevó a cabo la validación del método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente y la verificación del método de ensayo de la determinación de calcio y magnesio con base a la Norma ASTM C-25. Ambas metodologías aplicables para materiales utilizados como enmiendas agrícolas analizados en el Laboratorio de Aguas, Plantas y Suelos (Analab) de la Anacafé.

Analab es un laboratorio orientado al sector agrícola especializado en el sector caficultor, actualmente busca obtener la acreditación bajo la Norma Coguanor NTG/ISO/IEC 17025, por lo que nace la necesidad de establecer métodos de ensayo que sean validados y verificados bajo normas nacionales o internacionales. El laboratorio es capaz de reproducir los métodos de ensayo descritos en normas, ya que cuenta con equipo de tecnología moderna, cristalería suficiente y reactivos de grado analítico.

En el área de análisis de calidad de enmiendas agrícolas, el laboratorio actualmente trabaja con dos metodologías para la determinación de calcio, magnesio y azufre en estos materiales, cabe mencionar que ninguno de ellos ha sido previamente verificado o validado. Es por esto que se realizó la verificación de la metodología de ensayo de determinación de calcio (Ca) y magnesio (Mg) por titulación complejométrica con EDTA con base a la Norma ASTM C-25 y la validación de la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), con el fin de establecer el método que mejor se adapte a las necesidades del laboratorio, optimizando tiempo y recursos.

Para la verificación de la metodología de ensayo de determinación de calcio (Ca) y magnesio (Mg) por titulación complejométrica con EDTA con base a la Norma ASTM C-25, se trabajó con una muestra conocida de cal dolomita, para los parámetros de exactitud e incertidumbre.

Para evaluar la exactitud, se valoró la veracidad y la precisión. En el caso de la veracidad se realizó un análisis de sesgo, que se define como la diferencia entre los valores obtenidos durante la práctica del ensayo y los valores esperados, estos resultados se muestran en la tabla I. Para establecer si existen diferencias significativas entre el valor obtenido y el valor de referencia, se realizó el análisis estadístico de t-Student, que permite conocer el grado de dispersión de los datos al conocer la desviación estándar. En este caso, no existen diferencias significativas, ya que $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$, como se muestra en la tabla II. La repetibilidad y reproducibilidad se utilizan para evaluar la precisión del método, estos resultados se muestran en las tablas III y IV, para este caso el laboratorio estableció como criterio de aceptabilidad que el coeficiente de variación no debía exceder el 10 %, por lo que en ambos casos se cumplió con los criterios de aceptabilidad establecidos. Al evaluar los parámetros de veracidad y precisión se deduce entonces que el método es exacto, ya que cumple con los criterios establecidos luego del análisis estadístico respectivo.

En el caso de la incertidumbre se analizaron dos tipos, la directa, que se refiere a la incertidumbre que depende de si el valor de la magnitud se observa directamente en un instrumento de medida, y la indirecta, si los resultados se obtienen manipulando matemáticamente una o varias medidas directas. Para este último caso se trabaja con las primeras derivadas de las funciones matemáticas utilizadas, resultados que se muestran en la tabla VI.

Con el fin de optimizar tiempo y recursos en la realización de los análisis de determinación de calcio, magnesio y azufre, se consideró una adaptación realizada por el laboratorio de la metodología que aparece en la Norma ASTM C-25. Por ello se llevó a cabo la validación de la metodología de la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), tomando la preparación y tratamiento de la muestra como se describe en la Norma ASTM C-25. La variación radica en que, una vez obtenida la solución, se realizó una dilución a la que se agregó cloruro de estroncio para evitar interferencias en el espectrofotómetro. La ventaja de utilizar el espectrofotómetro ICP-OES es que tiene un rango de linealidad de elementos trazas o de concentraciones muy elevadas.

Para evaluar la linealidad, se trabajó con una curva de calibración de 0 a 75 ppm para los tres analitos analizados, se obtuvieron coeficientes de correlación para el calcio (Ca) de 0,9982, para magnesio (Mg) de 0,9973 y para azufre (S) de 0,9988; Asimismo, en la tabla XIV se observan los resultados obtenidos para los límites de detección y cuantificación. De acuerdo a los criterios de aceptabilidad establecidos por el Laboratorio, tanto los coeficientes de correlación como los límites de detección y cuantificación, se encuentran en los rangos adecuados.

Al mismo tiempo, se evaluó la exactitud por medio de la veracidad y la precisión. En el caso de la veracidad, se evaluó el porcentaje de recuperación, obteniéndose porcentajes entre 95 y 110, por lo que puede asegurarse que la extracción es adecuada para las muestras a tratar, según los criterios del Laboratorio.

En las tablas VII a X se observan los resultados para la veracidad, se muestra que por prueba de t-Student no presentan diferencias significativas, de manera que puede afirmarse que el método es veraz. En el caso de la precisión, en el grado de repetibilidad, observado en las tablas XI a XII se cumple con el criterio de aceptabilidad establecido. Al evaluar ambos parámetros, se deduce que el método de determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) es exacto.

En las figuras 7 y 8 se muestra la comparación entre el método por titulación complejométrica y por espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente, se realizó un análisis de varianza para establecer si existían diferencias significativas entre ambos grupos de resultados. En la tabla XIX, se observa que para el caso de la determinación de calcio no existen diferencias significativas, caso contrario con la determinación de magnesio, que presentó diferencias significativas. Sin embargo, ambos métodos, al ser analizados por separado, cumplen con los criterios de aceptabilidad establecidos, por lo que es admisible la utilización de ambos métodos de ensayo.

Al finalizar la evaluación de los resultados obtenidos, se concluye que ambos métodos cumplen con los requisitos técnicos de la Norma y que Analab es capaz de reproducirlos sin presentar inconvenientes.

6. LOGROS OBTENIDOS

Al finalizar la realización del proyecto se obtuvieron los siguientes logros:

- Validar el método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).
- Verificar el método de ensayo para la determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica con base en la Norma ASTM C-25.
- Implementar el método de determinación de calcio y magnesio por espectrofotometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) como método principal y el método para la determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica como método alternativo.

CONCLUSIONES

1. El método de ensayo de determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica cumple con los parámetros de verificación (repetibilidad, reproducibilidad, exactitud e incertidumbre) establecidos.
2. El método de ensayo de determinación de calcio, magnesio y azufre para ser analizados en el espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) cumple con los criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación establecido y es por tanto un método validado.
3. El Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas es capaz de realizar el método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio del espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) con base en la Norma ASTM C-25, como método de análisis principal, siendo el método de ensayo para la verificación de calcio y magnesio por titulación complejométrica un método alternativo.
4. El porcentaje de variación entre los métodos de ensayo de determinación de calcio y magnesio por titulación complejométrica y determinación de calcio y magnesio por medio del espectrofotómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) son menores a 10 % por lo que se considera que no hay diferencia significativa entre la utilización de un método u otro.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar como método principal la metodología validada de determinación de calcio, magnesio y azufre por medio del espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).
2. Utilizar como referencia la Norma ASTM C-25 para la validación o verificación de los análisis de calidad que se realizan a materiales utilizados como enmiendas agrícolas.
3. Capacitar a los analistas asignados a realizar el método de ensayo, explicando las posibles fuentes de errores y puntos críticos del método.
4. Validar y verificar las metodologías utilizadas en el laboratorio, tomando como referencias normas nacionales o internacionales actualizadas.

BIBLIOGRAFÍA

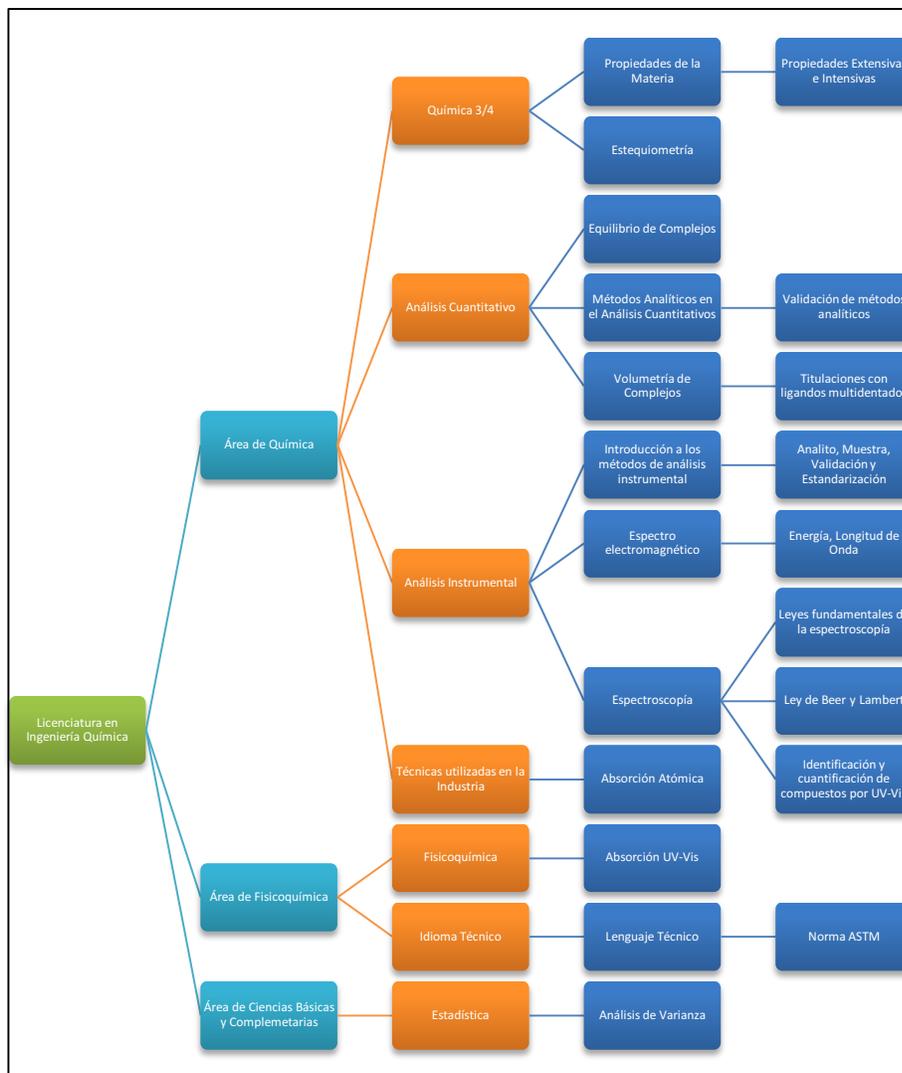
1. ALFARO, Marta y BERNIER, René. *Enmiendas calcáreas y estimación de dosis de aplicación*. Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 2008. 50 p.
2. ALVARADO, Melvin y ROJAS, Gilberto. *El cultivo y beneficiado de café*. Costa Rica: EUNED, 2007. 184 p.
3. AYRES, Gylbert. *Análisis químico cuantitativo*. 2a ed. México: Harla, 1968. 736 p.
4. Comisión Guatemalteca de Normas NGR/ISO/IEC/17025-2005. *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*. Guatemala: Coguanor, 2005. 13 p.
5. DICK, J.G. *Química analítica*. 2a ed. México: El Manual Moderno, 1979. 715 p.
6. MOLINA, Eloy. *Encalado para la corrección de la acidez del suelo*. Costa Rica: ACCS, 1998. 18 p.
7. OGA-GEC-016. *Política de selección y validación de métodos de ensayo*. Guatemala: OGA, 2007. 29 p.
8. QUIJANO, Juan. *Importancia del análisis del suelo cafetalero*. El Salvador: PROCAFÉ, 2010. 25 p.

9. SANDOVAL, Soraya. *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*. Chile: Instituto de Salud Pública, 2010. 67 p.

APÉNDICES

Apéndice 1. Diagramas

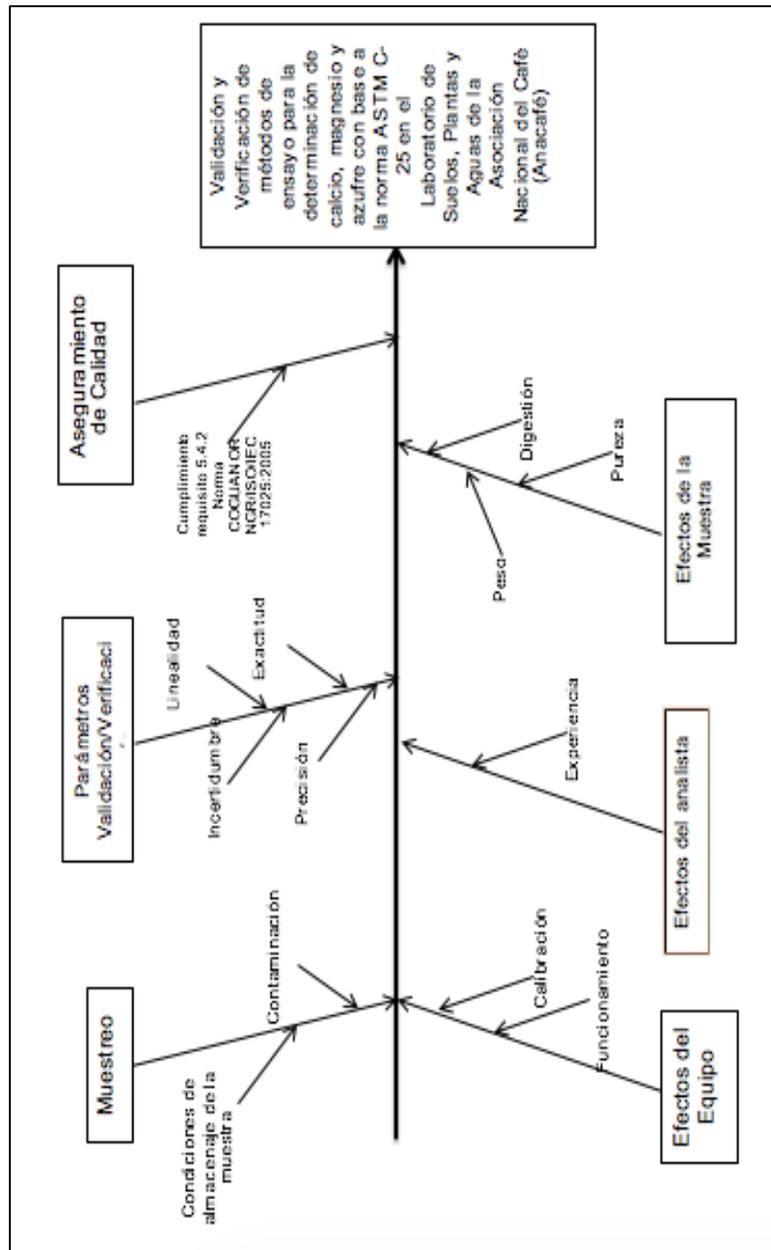
Figura 1. Requisitos académicos



Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 1.

Figura 2. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 1.

Figura 3. Diagrama de flujo funcionamiento ICP-OES



Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 1.

Figura No. 4 **Diagrama de flujo de volumetría complejométrica**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. **Datos Originales verificación la metodología para la determinación de calcio y magnesio con base a la norma ASTM C-25**

1. Datos originales para %Ca en cal dolomítica

Código	%Ca		
	Día 1	Día 2	Día 3
C1	20,76	21,04	20,99
C2	20,89	20,60	21,77
C3	20,76	21,06	20,40
C4	20,99	20,58	22,65
C5	24,85	20,25	20,96
C6	24,38	21,68	21,95
C7	22,65	20,71	20,79
C8	20,96	20,76	21,04
C9	22,13	20,89	20,60
C10	20,79	20,76	21,06
Promedio	21,92	20,83	21,22
Desviación estándar	1,56	0,38	0,69
%Variación	7,14	1,83	3,26

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 2.

2. Datos originales para %Mg en Cal Dolomítica

Código	%Mg		
	Día 1	Día 2	Día 3
C1	12,70	11,99	12,80
C2	12,58	13,86	12,21
C3	12,76	12,90	12,06
C4	12,80	12,69	13,58
C5	14,82	12,18	12,29
C6	14,68	11,67	12,01
C7	13,58	12,36	12,75
C8	12,29	12,70	11,99
C9	12,01	12,58	13,86
C10	12,75	12,76	12,90
Promedio	13,10	12,57	12,65
Desviación estándar	0,96	0,59	0,66
%Variación	7,33	4,73	5,23

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3. **Datos Originales validación del método de ensayo para la determinación de calcio, magnesio y azufre por medio de espectrofotometría de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)**

1. Datos originales para %Ca en cal dolomita

Repetición	Cal dolomita		
	%Ca		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	21,15	20,82	20,47
2	20,55	18,68	20,43
3	20,55	19,90	21,93
4	20,89	21,54	21,96
5	20,99	25,10	22,50
6	20,97	24,63	17,93
7	19,02	24,44	21,78
8	17,32	22,97	21,74
9	17,98	24,66	21,68
10	20,10	21,48	17,32
Promedio	19,95	22,42	20,77
Desviación estándar	1,37	2,26	1,79
%Variación	6,86	10,09	8,60

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

2. Datos originales para %Mg en cal dolomítica

Repetición	Cal dolomita		
	%Mg		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	11,41	10,30	11,69
2	11,07	10,96	11,01
3	11,24	11,81	10,86
4	11,32	12,67	11,80
5	11,31	9,66	11,81
6	10,49	13,26	11,97
7	9,60	12,07	9,52
8	9,92	12,80	11,82
9	11,09	11,98	11,74
10	11,71	12,67	10,87
Promedio	10,91	11,81	11,31
Desviación estándar	0,69	1,17	0,76
%Variación	6,31	9,89	6,73

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

3. Datos originales para %Ca en yeso

Repetición	Yeso		
	%Ca		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	22,90	22,04	22,62
2	23,27	22,34	22,15
3	23,07	21,01	23,01
4	23,19	22,31	22,99
5	22,54	20,85	22,87
6	23,05	22,45	22,94
7	24,76	22,67	23,19
8	22,93	21,82	23,16
9	22,57	22,88	23,09
10	24,35	22,74	22,99
Promedio	23,27	22,11	22,90
Desviación estándar	0,73	0,70	0,31
Variación	3,12	3,16	1,35

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

4. Datos originales para %S en yeso

Repetición	Yeso		
	%S		
	Día 1	Día 2	Día 3
1	17,02	17,19	16,89
2	17,66	16,85	16,79
3	16,99	17,22	17,24
4	16,86	16,90	16,84
5	16,94	16,97	16,97
6	17,02	16,82	16,95
7	16,99	17,04	17,05
8	17,16	17,14	17,01
9	16,99	17,00	17,13
10	17,04	17,86	17,16
Promedio	17,07	17,10	17,01
Desviación estándar	0,22	0,30	0,14
Variación	1,30	1,76	0,85

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

5. Datos originales para porcentaje de recuperación en Cal dolomita

Repetición	Cal dolomita			
	%Ca	%Mg	%Ca	%Mg
	30%		50%	
1	129,61	115,80	95,97	90,20
2	113,17	93,80	97,15	91,40
3	103,17	107,20	95,24	111,40
4	96,83	99,80	101,15	118,00
5	102,33	98,00	94,15	104,40
6	106,17	96,80	101,42	94,07
7	98,33	97,80	105,70	114,07
8	101,00	117,80	97,97	96,47
9	99,00	115,80	100,24	98,47
10	102,33	135,80	99,33	103,27
Promedio	105,1944	107,8600	98,8333	102,1733
Desviación Estándar	9,7417	13,2889	3,4644	9,7449
Variación	9,2607	12,3205	3,5053	9,5376

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

6. Datos originales para porcentaje de recuperación en Yeso

Repetición	Yeso			
	%Ca	%S	%Ca	%S
	30%		50%	
1	96,33	115,87	96,00	90,27
2	113,22	93,87	97,18	91,47
3	103,22	107,27	95,27	111,47
4	96,89	99,87	101,18	118,07
5	102,39	98,07	94,18	104,47
6	106,22	96,87	101,45	94,13
7	98,39	97,87	105,73	114,13
8	101,06	117,87	98,00	96,53
9	99,06	115,87	100,27	98,53
10	102,39	135,87	99,36	103,33
Promedio	101,9167	107,9267	98,8636	102,2400
Desviación estándar	5,0147	13,2889	3,4644	9,7449
Variación	4,9204	12,3129	3,5043	9,5314

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3

7. Intensidades obtenidas para curva de calibración en ICP-OES de Calcio

Estándar	Concentración (ppm)	Intensidades		
		Calcio		
		Día 1	Día 2	Día 3
Blanco	0,00	0,00	0,00	135 643,00
STD 1	1,00	123 118,00	247 174,00	188 737,30
STD 2	10,00	948 592,90	2 920 243,20	2 656 751,10
STD 3	25,00	2 084 622,60	7 395 570,30	7 003 419,70
STD 4	50,00	4 411 127,00	14 625 731,80	15 014 152,40
STD 5	60,00	5 563 860,10	17 254 947,30	20 013 369,00
STD 6	75,00	6 406 036,90	20 218 428,30	23 739 217,00

Fuente: elaboración propia

8. Intensidades obtenidas para curva de calibración en ICP-OES de Magnesio

Estándar	Concentración (ppm)	Intensidades		
		Magnesio		
		Día 1	Día 2	Día 3
Blanco	0,00	0,00	0,00	8 044,50
STD 1	1,00	19 668,70	72 065,10	51 618,00
STD 2	10,00	175 579,50	750 655,20	545 079,10
STD 3	25,00	376 398,70	1 780 085,90	1 427 256,30
STD 4	50,00	759 115,70	3 417 926,10	2 902 561,70
STD 5	60,00	942 053,30	4 028 362,00	3851 749,70
STD 6	75,00	1 111 645,20	4 674 083,60	4 389 040,60

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

9. Intensidades obtenidas para curva de calibración en ICP-OES de Azufre

Estándar	Concentración (ppm)	Intensidades		
		Azufre		
		Día 1	Día 2	Día 3
Blanco	0,00	0,00	0,00	13,40
STD 1	1,00	16,10	94,10	74,10
STD 2	10,00	168,10	940,70	753,90
STD 3	25,00	364,80	2 283,60	1 970,10
STD 4	50,00	716,30	4 485,10	4 017,60
STD 5	60,00	862,10	5 372,70	5 385,40
STD 6	75,00	1 049,50	6 606,10	6 164,00

Fuente: elaboración propia.

10. Datos originales de lecturas de Blanco en ICP-OES

%Ca	%Mg	%S
-0,100	-44,120	-16,010
-0,530	-32,410	-9,880
-0,959	-30,120	-8,405
-0,050	-22,060	-8,005
-0,700	-34,600	-10,240
-0,690	-16,950	-1,087
-0,520	4,642	2,973
-0,220	10,830	13,930
-0,350	-45,250	1,873
-0,220	-10,980	-12,450

Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías del proceso

Figura 1 Bureta de trabajo para titulación



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).

Continuación anexo 1.

Figura 2 **Muestras analizadas**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).

Figura 3 **Determinación de calcio por titulación con indicador murexida**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab)

Continuación anexo 1.

Figura 4 **Punto final de titulación para determinación de calcio**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab)

Figura 5 **Determinación de magnesio por titulación con indicador negro de eriocromo T**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab)

Continuación anexo 1.

Figura 6 **Punto final de titulación para la determinación de magnesio**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).

Figura 7 **Determinación de calcio, magnesio y azufre por ICP-OES**



Fuente: Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas (Analab).