



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencias Ambientales

"EVALUACIÓN DE LÍMITES DE DETECCIÓN EN MÉTODOS DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE FLAMA"

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Ambientales

Presenta:

Yadira Ortega Silva

Dirigido por:

Dr. José Luis Jurado Baizaval

SINODALES

Dr. José Luis Jurado Baizaval
Presidente

M. en C. Salvador Lecona Uribe
Secretario

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes
Vocal

Dra. Maricela González Leal
Suplente

Dr. Juan Antonio Guardado Pérez
Suplente

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes
Director de la Facultad

Dr. Sergio Quesada Aldana
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Santiago de Querétaro, Qro.
Noviembre, 2005
México

No. Adq. ~~11~~ 70763

No. Título

Clas. TS

544.92

077e

RESUMEN

El establecimiento del límite de detección; descrito en términos generales, como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento significativamente diferente de la señal de una muestra "blanco" o "señal de fondo", es crucial para aplicaciones en las que se requiere cuantificar cantidades muy pequeñas, como en el análisis de muestras en Química ambiental, pues en algunos casos resulta ser el punto de partida en la emisión de reportes que llevan a la toma de decisiones para mejorar las condiciones existentes. Con el propósito de garantizar la validez de resultados superiores al límite de detección o cercanos a éste, es importante establecer la confiabilidad de dicho parámetro; tomando en cuenta que las normas mexicanas e internacionales se concretan a especificar el procedimiento sin analizar las ventajas y/o desventajas del método de cálculo sugerido. Existen numerosas definiciones y métodos para determinar el límite de detección, sin embargo, algunos son ambiguos y otros producen resultados diferentes con los mismos datos experimentales, lo que provoca que al analizarse a fondo sean incongruentes con la definición inicial. Además de que en ocasiones son incorrectamente interpretados. El presente trabajo realiza un análisis estadístico entre diferentes métodos de estimación de límites de detección en absorción atómica para los metales: cobre, cromo, níquel, plomo y zinc, estableciendo las ventajas, desventajas y alcances tanto conceptuales como prácticos de cada método, considerando sus niveles de precisión e identificando los criterios básicos para interpretar los resultados. Los métodos son: de blancos, de curva de calibración, método de la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994, estimación según la IUPAC, aproximación gráfica y propagación de errores. Finalmente, si se sabe de antemano que interesa o que se buscan concentraciones muy pequeñas, conviene entonces preparar la curva de calibración con patrones de bajas concentraciones y realizar la estimación mediante la propagación de errores. Por otro lado, si la mayoría de las muestras se esperan con mayores concentraciones, o no se tiene idea de cuáles pudieran ser éstas, se recomienda el método de la IUPAC. Cualquiera que sea el criterio estadístico adoptado para la estimación del límite de detección, es necesario verificar experimentalmente que el valor obtenido es significativo mediante el análisis de muestras con valores de concentración ligeramente superior al límite propuesto. De lo contrario, el valor obtenido podría tratarse de un artefacto matemático carente de significado analítico.

(Palabras clave: límite de detección, absorción atómica de flama, curva de calibración)

SUMMARY

The establishment of the detection limit, described in general terms as that concentration that proportions a signal in the instrument significantly different from a signal of a "blank sample" or a "background" signal, is crucial for applications where counting very small quantities is required, like in the sample analysis of environmental chemistry, for in some cases it results to be the starting point in the emissions reports which lead to the decision making for improving existing conditions. With the purpose of guaranteeing the validity of results greater to the detection limit or close to that, it is important to establish the reliability of said parameter; taking into account that the Mexican and International Norms are concredited to specify the procedure without analyzing the advantages and/or disadvantages of the calculation method suggested. Numerous definitions and methods exist to determine the detection limit, however, some are ambiguous and others produce different results with the same experimental data which causes under thorough analysis, they are inconsistent with the initial definition. That on occasion they are incorrectly interpreted. The present task carries out a statistical analysis among different estimation methods of detection limits in atomic absorption for metals: copper, chrome, nickel, lead and zinc, establishing the advantages, disadvantages and advances, both conceptual and practical of each method, considering their precision levels and identifying the basic criteria to interpret the results. The methods are: of blanks, of calibration curve, the Official Mexican Norm method NOM-117-SSA1-1994, estimation according to IUPAC, graphic approximation and error propagation. Finally, if it is known beforehand what interests or that very small concentrations are sought, it is convenient therefore to prepare the calibration curve with a pattern of low concentrations and realize the estimation by way of the propagation of errors. Conversely, if the majority of the samples are expected with higher concentrations, or there is no clue of which these could be, the IUPAC method is recommended. Whichever might be the adopted statistical criteria for the detection limit estimation, it is necessary to verify experimentally that the value obtained is significant by way of the sample analysis with concentration values slightly superior to the proposed limit. On the contrary, the value obtained could be that of a mathematical artifact lacking analytical significance.

(Key words: detection limit, flame atomic absorption, calibration curve)

DEDICATORIAS

Gracias a Dios, que es el faro de mi existencia...

Todo el mundo necesita a lo largo de su vida de alguien que le dé su amor y apoyo, mi búsqueda terminó. A mi compañero de toda la vida: Carlos.

A mi siempre amiga Silvia, mi mayor ejemplo de amistad, entrega y comprensión, lo que toda hija desearía que fuera su madre.

A mi papá, gracias por su gran apoyo y confianza, por demostrarme que ante todo, la familia es lo más importante.

A esa personita a quien ofreceré por siempre la promesa de todo mi amor...

A Iván, gracias por estar con la familia; como hermana continuaré queriéndote.

AGRADECIMIENTOS

Mi reconocimiento al Dr. José Luis Jurado por su gran apoyo para la realización de este trabajo.

Mi reconocimiento al M. en C. Gustavo Pedraza por su apoyo y por contribuir a mi formación profesional.

Mi agradecimiento a mis sinodales M. en C. Salvador Lecona, Dra. Maricela González y al Dr. Juan Guardado por sus actitudes y enseñanzas.

A mis amigos y a las personas que me estiman y han sabido darme consejos en los momentos más oportunos.

ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros	vi
Índice de figuras	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	3
III. REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
1. Definiciones de Límite de detección	7
2. Sensibilidad y límite de detección	10
3. Consideraciones sobre estimaciones del límite de detección	12
3.1 Conceptos básicos	14
3.2 Discusión de casos <i>a priori</i> y <i>a posteriori</i>	16
4. Estimaciones del límite de detección	22
4.1 Estimación según la IUPAC	22
4.2 Aproximación gráfica	27
4.3 Aproximación de la propagación de errores:	28
4.4 Estimación según Wilson	31
4.5 Estimación según Miller	33
4.6 Estimación según la FDA	35
4.7 Estimación según Kateman y Buydens	35
5. Reporte de resultados	39
6. Límite de cuantificación	40
IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	41
V. METODOLOGÍA	42
1. Metodología	42
2. Metodología particular	42
2.1 Principio	43
2.2 Seguridad	

2.3 Equipos y materiales	44
2.4 Limpieza del material	44
2.5 Reactivos y patrones	45
2.6 Verificación del equipo y curva de calibración	45
2.7 Calibración del equipo	47
2.8 Manejo de residuos	48
3. Diseño experimental	49
3.1 Método de blancos	50
3.2 Método de curva de calibración	51
3.3 Método de la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994	52
3.4 Método de la IUPAC	53
3.5 Método gráfico	54
3.6 Método de propagación de errores	54
VI. RESULTADOS	55
VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	70
VIII. CONCLUSIONES	77
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
X. ANEXOS	81

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página	
3.1	Definiciones de sensibilidad	11
3.2	Definiciones de conceptos básicos	14
3.3	Definiciones de distribuciones	15
5.1	Condiciones de operación del espectrofotómetro de absorción atómica PE AAnalyst 100	47
5.2	Estimación del límite de detección por el método de blancos	49
5.3	Estimación del límite de detección por el método de curva de calibración	50
5.4	Estimación del límite de detección por el método de blanco de reactivos fortificado	51
5.5	Estimación del límite de detección por el método de la IUPAC	52
5.6	Estimación del límite de detección por el método gráfico	53
5.7	Estimación del límite de detección por el método de propagación de errores	54
6.1	Resultados de Límites de detección en mg/L para el cobre por diferentes métodos de estimación	55
6.2	Valores de absorbancia mínima del cobre esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección	56
6.3	Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del cobre calculados por diferentes métodos de estimación	56
6.4	Resultados de límites de detección en mg/L para el cromo por diferentes métodos de estimación	58

6.5	Valores de absorbancia mínima del cromo esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección	58
6.6	Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del cromo calculados por diferentes métodos de estimación	59
6.7	Resultados de Límites de detección en mg/L para el níquel por diferentes métodos de estimación	61
6.8	Valores de absorbancia mínima del níquel esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección	61
6.9	Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del níquel calculados por diferentes métodos de estimación	62
6.10	Resultados de Límites de detección en mg/L para el plomo por diferentes métodos de estimación	64
6.11	Valores de absorbancia mínima del plomo esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección	64
6.12	Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del plomo calculados por diferentes métodos de estimación	65
6.13	Resultados de límites de detección en mg/L para el zinc por diferentes métodos de estimación	67
6.14	Valores de absorbancia mínima del zinc esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección	67
6.15	Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del zinc calculados por diferentes métodos de estimación	68
10.1	Estimación del límite de detección para el cobre por el método de Blancos	81

10.2	Estimación del límite de detección para el cobre por el método curva de calibración con siete estándares	82
10.3	Estimación del límite de detección para el cobre por el método curva de calibración con cinco estándares	83
10.4	Estimación del límite de detección para el cobre por el método de blanco de reactivos fortificado NOM-117-SSA1-1994	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
3.1 Representación esquemática de un caso <i>a posteriori</i>	16
3.2 Representación esquemática de un caso <i>a priori</i>	17
3.3 Combinación de las distribuciones de probabilidad de $\mu=0$ y $\mu=\mu_1$ cuando μ_1 ha sido elegida de manera arbitraria	18
3.4 Combinación de las distribuciones de probabilidad de $\mu=0$ y $\mu=\mu_1$ cuando el nivel crítico ha sido elegido tal que $x_{LD} = 3\sigma$ y μ_1 ha sido elegido tal que $\beta=\alpha$	19
3.5 Curva de calibración de la señal X vs. concentración C.	23
3.6 Curva de distribución normal para la variable X. El área sombreada α , representa la probabilidad que $X_E \geq (\mu + k\sigma)$ o $x_L \geq (\bar{x} + 3s_B)$	24
3.7 Curva de calibración de la señal X vs concentración C que muestra la aproximación gráfica del cálculo del límite de detección	27
3.8 Distribución de las diferencias entre las respuestas analíticas de dos blancos. Definición del Criterio de detección	31
3.9 Distribución de las diferencias entre la respuesta analítica de una muestra y un blanco cuando la concentración de la muestra es igual al LD	32
3.10 Relaciones entre el Criterio y el Límite de detección	33
3.11 Definiciones del límite de decisión y de detección	34
6.1 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del cobre estimados por diferentes métodos	57
6.2 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del cromo estimados por diferentes métodos	60

6.3	Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del níquel estimados por diferentes métodos	63
6.4	Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del plomo estimados por diferentes métodos	66
6.5	Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del zinc estimados por diferentes métodos	69

I. INTRODUCCIÓN

Al paso de los años el hombre reconoce los alcances y limitaciones de sus acciones, entre otras cosas, por la presencia de sustancias y/o elementos tóxicos y no tóxicos presentes en el ambiente, resultado no sólo de procesos químicos, sino físicos o biológicos cuyos efectos en su salud y medio ambiente requieren cuantificarse, por lo que la importancia recae ahora en el análisis de concentraciones al nivel de trazas. En esto ha empleado métodos instrumentales que permiten convertir los datos generados en el laboratorio en información útil para formular conclusiones fiables y rigurosas que puedan llevar a proponer alternativas de solución y/o prevención, convirtiendo ese afán dominador en uno más sinérgico y sustentable al hombre.

Una de las características más importantes de un laboratorio, es la calidad de sus resultados, ya que de ésta dependerán tanto el prestigio como su crecimiento y desarrollo económico. Uno de los propósitos principales de la Unidad de Servicios Químicos de la Facultad de Química-UAQ es la producción de datos analíticos de alta calidad por medio del uso de mediciones que sean precisas, confiables y adecuadas para tal fin. Este propósito puede alcanzarse de una manera eficaz en función de sus costos y si se cuenta con un sistema planificado y documentado de la calidad en las actividades.

Es bien sabido que se pueden presentar deficiencias serias en las operaciones de un laboratorio cuando no se dedica la atención suficiente a la calidad de las mediciones que resultan de los procesos analíticos. La aplicación de los controles y las verificaciones necesarias para asegurar esta calidad no es una tarea sencilla ni de rápida implementación. Requiere no solo el conocimiento claro de los propósitos operaciones de un laboratorio, sino la capacitación, dedicación y compromiso del personal administrativo y operativo para alcanzar niveles de excelencia.

En este sentido, es necesario que tanto el personal científico como los técnicos implicados en la obtención y elaboración de datos generados en laboratorios de análisis químicos tengan un adecuado conocimiento de las técnicas matemáticas y estadísticas mediante las cuales se obtiene una mejor y más rigurosa conversión de datos en información que resulte valiosa (exacta, precisa y a tiempo), pero obtenida al menor costo posible.

Así pues, una de las herramientas con las que se cuenta para asegurar la calidad de y los resultados es la validación de los mismos, por lo cual, la adopción de un nuevo método analítico debe estar soportado por suficientes datos de laboratorio y una validación bien documentada, que cumpla con los requisitos establecidos en México o por instituciones internacionales, en caso de no haber requisitos establecidos en el país.

En nuestro país las cuestiones de validación y acreditamiento iniciaron con el Sistema Nacional de Acreditación de Laboratorios de Pruebas, y posteriormente con la Entidad Mexicana de Acreditación, A.C., que es la encargada de acreditar a los laboratorios de prueba y de calibración generando reconocimiento nacional para contar con las herramientas necesarias que faciliten el intercambio comercial tanto en México como en el mundo.

La validación consiste en una serie de ejercicios que tienen por objeto medir o determinar el desempeño de un método analítico, antes de implementar su uso como rutinario en el laboratorio y asegurar que cumple con el uso propuesto.

Para métodos cuya medición u obtención del resultado se hace por medios electrónicos, como por ejemplo en los métodos espectrofotométricos, la validación, entre otros parámetros, incluye la determinación del límite de detección; entendiéndolo éste como la concentración más baja del mensurando a ser medido, que formalmente puede detectar el proceso analítico bajo condiciones de operación establecidas.

II. JUSTIFICACIÓN

Existen numerosas definiciones de límite de detección, sin embargo algunas son ambiguas y otras producen resultados diferentes con los mismos datos experimentales, además de que en ocasiones son incorrectamente interpretados, esto es, pueden obtenerse resultados que al analizarse a fondo son incongruentes con la definición inicial de límite de detección.

El establecimiento del límite de detección, es crucial para aplicaciones en las que se requiere cuantificar cantidades muy pequeñas (trazas) como en el análisis de muestras en Química ambiental pues en algunos casos resulta ser el punto de partida en la emisión de reportes.

Para determinar el límite de detección existen diferentes métodos. El presente trabajo pretende realizar un análisis estadístico comparativo entre éstos, que permita identificar las pautas para su aplicación experimental en pruebas espectrofotométricas, estableciendo las ventajas, desventajas y alcances tanto conceptuales como prácticos de cada método, considerando sus niveles de precisión e identificando los criterios para interpretar los resultados y generar la base de datos que permita una mejora continua en las técnicas.

Aunque basados en lo mismos conceptos básicos, es conveniente demostrar que los diferentes métodos de estimación producen resultados similares o plantear la causa de resultados diferentes analizando a fondo las diversas metodologías propuestas y resaltar una, que haciendo referencia a las ya publicadas, pueda definir una manera conceptualmente correcta y entendible de cálculo y que a su vez contenga las herramientas necesarias para su comparación y evaluación con respecto a las demás metodologías.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

La necesidad de estandarizar y normalizar el proceso de validación exige el tratamiento estadístico para el manejo y análisis de los datos con criterios razonados que llevan a una correcta interpretación. En 1975 Youden publicó un Manual Estadístico en la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC) en el cual se reportaron las bases de la validación de métodos. En 1978 la Asociación Química de la Sociedad Americana para el Control de Calidad publicó una descripción de diseños y procedimientos evaluativos, así como detalles para las pruebas de tolerancia de métodos analíticos (Comité de guías generales de validación, 1991).

Atendiendo a esta necesidad se han venido formulando diferentes procedimientos y parámetros por varias instituciones para lograr el aseguramiento de la calidad en los resultados analíticos. La creciente preocupación con respecto a las deficiencias en las prácticas de laboratorio ha conducido a la proliferación de reglamentos de tipo gubernamental y privados con relación a las buenas prácticas de laboratorio; a programas de acreditación de laboratorios y al desarrollo de cursos y garantía de la calidad, así como otras actividades relacionadas.

Hasta fines de la década del 60 sólo existía un reconocimiento oficial limitado por la necesidad de un control de la calidad en los análisis del agua. la Federal Water Pollution Control Administration (FWPCA, 1969) celebró su primera reunión sobre este tema y creó el comité de Validación de Métodos y Control de Calidad Analítica. Posteriormente, se creó en la División de Investigación de la FWPCA (la FWPCA fue reemplazada posteriormente por la Agencia de Protección Ambiental), que conformó un Laboratorio de Control de la Calidad Analítica el cual derivó en lo que actualmente es el Laboratorio Ambiental de Monitoreo y Apoyo que, desde su fundación, ha desempeñado un papel importante al proporcionar el liderazgo necesario para desarrollar

procedimientos de control de calidad analítica, al mismo tiempo que fomenta su empleo en los laboratorios ambientales .

La EPA (1971) publicó el Manual para el control de la calidad analítica en laboratorios de aguas y aguas residuales, el cual desde entonces ha sido objeto de varias revisiones. Este manual proporcionó el primer planteamiento comprensivo de los factores que pueden influir en la calidad de los datos en los análisis de las aguas y está redactado de modo que pueda ser utilizado por un laboratorio para su autoevaluación. Además, las últimas ediciones del Métodos Estándar para el análisis de aguas y aguas residuales incluyen secciones ampliadas que han contribuido al desarrollo del criterio y metodología para el control de la calidad analítica.

De manera similar, en México, se planteó la necesidad de conseguir que los resultados analíticos se obtengan con la calidad necesaria para satisfacer las normativas de hoy en día impuestas por el mercado extranjero, tanto en la investigación científica como en el análisis aplicado. La norma actual referente es la NMX-AA-115-SCFI-2001. Análisis de agua - Criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos

En un laboratorio analítico, el lenguaje en el que se genera y transmite la información, lo constituyen los "métodos analíticos". Cualquier error en estos métodos, constituye un error en el lenguaje y en consecuencia, una discrepancia entre los valores obtenidos en el laboratorio y los valores reales en la muestra.

El primer paso para definir este lenguaje consiste en seleccionar los métodos analíticos mediante los cuales se realizarán las mediciones. A partir de la bibliografía disponible, se debe hacer una revisión cuidadosa para seleccionar aquellos métodos cuyos materiales o equipos implícitos, sean económicos y de fácil consecución o simplemente que estén disponibles dentro del laboratorio.

Se debe procurar además, que la operatividad de los análisis por los métodos de análisis seleccionados, sea sencilla, comprensible y verificable.

Las mediciones analíticas se caracterizan por tres procesos fundamentales: detección, identificación y cuantificación.

Comúnmente las mediciones analíticas se aplican en dos casos:

1. Cuando se dispone de suficiente cantidad de muestra y se aprovecha entonces la parte central del rango dinámico, porque la relación señal/ruido es grande y los efectos de saturación del sistema no necesitan considerarse. La mayoría de los ensayos se realizan de esta manera.
2. Cuando se dispone de pequeñas concentraciones (cantidades), ya sea porque el costo de la muestra es muy caro o simplemente para reducir la sobrecarga al sistema analítico o mejorar la resolución (Meier y Zund 2000).

Uno de los principales beneficios de usar métodos instrumentales de análisis es que son capaces de detectar y determinar cantidades mucho más pequeñas de analitos que los métodos clásicos de análisis. Estos beneficios han llevado a la apreciación de la importancia de las concentraciones a niveles traza de muchos materiales, como en el caso de muestras biológicas y ambientales. Por lo que en el desarrollo de técnicas, la evaluación de los límites de detección es un criterio primordial para su aplicación exitosa. Es evidente, entonces, la importancia de los métodos estadísticos que soportan y sirven para comparar las distintas formas de conocer los límites de detección (Miller y Miller 1993).

1. Definiciones de Límite de detección

- 1.1 En términos generales se puede describir el límite de detección de un analito como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento significativamente diferente de la señal de una muestra "blanco" o "señal de fondo". En la práctica existe muy poco acuerdo entre los profesionales y los organismos oficiales sobre la adecuada interpretación de "significativamente diferente", por lo que resulta un tema con cierta controversia (Miller y Miller 1993).
- 1.2 Hogan (1997) plantea que los instrumentos, los detectores y procesos de medición tienen un problema inherente: no proporcionan resultados numéricos idénticos, cuando la "misma" muestra es repetida. También, en algún nivel relativamente bajo del analito, la medida se vuelve demasiado inestable en un sentido estadístico o práctico. Este nivel se llama límite de detección.
- 1.3 La Farmacopea de los Estados Unidos de América (US Pharmacopeia XXV, USP) define al límite de detección como la concentración más baja de un analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, con precisión y exactitud aceptable, bajo las condiciones operacionales declaradas del método. Estos límites, normalmente son determinados a partir de la relación señal-ruido. (S/N) En el caso del límite de detección el analista puede usar una relación S/N de 2:1 o 3:1 (Krull y Swartz 1998).
- 1.4 Un comité especial de la Sociedad Americana de Química definió el límite de detección como la concentración más baja de un analito que el proceso analítico detecta en forma confiable. Lo que sugiere que el límite de detección se calcula a partir de datos experimentales y puede ser una

medida del peso o de una concentración obtenida por extrapolación y calculada para el mejor conjunto posible de condiciones con interferencias mínimas (Rubinson y Rubinson 2000).

- 1.5 La definición de la Agencia de protección Ambiental (EPA) del límite de detección del método (MDL) la toma como concentración mínima de una sustancia que puede ser medida y reportada con un 99% de confianza de que la concentración del analito es mayor que cero, siendo determinada del análisis de una muestra en una matriz dada que contiene el analito. Dicho valor depende también de la sensibilidad del instrumento, la naturaleza de la muestra, la habilidad del analista y del propio método (EPA-600 1982 y Epstein 2001).
- 1.6 En el Métodos Estándar para el Análisis de Aguas potables y residuales se incluye una pequeña guía sobre como determinar el límite de detección para espectrofotometría de absorción atómica. Este es definido como la concentración que produce una absorción equivalente a dos veces la magnitud de las fluctuaciones del ruido de fondo, pero no menciona si ésta es del blanco o de la corrección del blanco, lo que implica que el límite de detección del instrumento, es más bien el límite de detección del procedimiento analítico completo. Finalmente no menciona si la variabilidad de la respuesta es tomada en cuenta (Standard Methods 1985).
- 1.7 La designación alternativa recomendada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) es el valor verdadero mínimo detectable. (Minimum Detectable Value, LD). El límite de detección es una medida para la concentración o masa del analito que, cuando excede, permite el reconocimiento con una certeza estadística dada que, el analito contenido en la solución problema es más grande que la

muestra blanco. Donde la señal medida debe ser distinguible con una certeza dada, tal que la señal para la muestra blanco, se coloca en una relación cercana a la precisión de la determinación de la muestra blanco (Welz y Sperling 1999).

- 1.8 Existe otra definición comúnmente usada en la literatura de química analítica: el límite de detección es la concentración del analito para la que se obtiene una señal (X_{LD}) igual a la señal del blanco, X_B , más dos desviaciones estándar, S_B . Normas recientes de los organismos reguladores norteamericanos sugieren que el criterio debe ser:

$$X_{LD} = \bar{X}_B + 3S_B \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde:

\bar{X}_B = Promedio de las lecturas para el límite de detección.

X_B = Promedio de las lecturas para el blanco.

S_B = Desviación estándar de las lecturas del blanco.

- 1.9 Un concepto de límite de detección se define como la concentración (o cantidad simple) para la cual la relación señal/ruido (S/R) está dada por $S/N=z$, con $z=3, \dots$. Evidentemente este límite de detección:

Depende sólo de la línea base del ruido R y la señal S

Es independiente del tipo de calibración

El valor de z es en un principio el más adecuado para cualquier situación arbitraria. Este concepto proporciona protección contra errores tipo I (falsos positivos, decir que el analito está presente cuando no lo está), pero no la suficiente cuando se trata de errores tipo II (falsos negativos) (Meier y Zund 2000).

2. Sensibilidad y límite de detección

Aun cuando hay numerosas definiciones de límites de detección y otras tantas de sensibilidad existe cierta confusión respecto el significado de estos dos términos y en algunos casos se manejan como términos equivalentes. Sin embargo, un claro entendimiento de la sensibilidad y el límite de detección proveerá herramientas para realizar comparaciones significativas entre diferentes técnicas analíticas y para reconocer las limitaciones de una técnica en particular.

Los instrumentos en las técnicas espectrométricas muestran los datos experimentales en algún dispositivo de lectura. La señal analítica S , es extraída de los datos de salida y relacionada con la concentración C ó masa g del analito mediante una función:

$$S = f(c) \quad [\text{Ec. 2}]$$

Donde:

S = Señal analítica.

C = Concentración.

Debido al error aleatorio en S habrá imprecisión en el valor determinado de C . Esto se expresa por aplicación de la propagación de errores matemáticos:

$$\sigma_c = \sigma_S / |(df(c)/dc)| = \sigma_S / |(dS/dc)_c| \quad [\text{Ec. 3}]$$

Donde:

σ_c = desviación estándar poblacional de c determinada a partir de S

σ_S = desviación estándar poblacional de las señales analíticas S medidas

Las tres definiciones más comunes de sensibilidad para mediciones de absorción se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadro 3.1 Definiciones de sensibilidad

Nombre	Símbolo	Definición descriptiva	Definición matemática Unidades
Sensibilidad de la calibración	m	Pendiente de la curva analítica	$m=(dA/dc)_c$ conc ⁻¹ o masa ⁻¹
Sensibilidad en absorción atómica	m_A	Concentración que produce 1% de absorción (T=99% o A=0.004343)	$m_A=$ $(0.004343)(dc/dA)_{T=0.99}$ $m_A=(0.004343/m)_{T=0.99}$ conc o masa
Sensibilidad analítica	γ	Pendiente de la curva analítica dividida por la desviación estándar de la señal analítica	$\gamma=(dA/dc)/S_A$ $\gamma=m/S_A = 1/S_C$ conc ⁻¹ o masa ⁻¹

(Ingle, 1974).

La primera definición, sensibilidad de la calibración, es la más común y la única aceptada por la IUPAC. Es simplemente la pendiente de la curva de calibración en la concentración de interés (Ingle, 1974).

La segunda definición es exclusiva para mediciones en absorción atómica, esta sensibilidad es expresada como una sola concentración. Las unidades son de concentración o masa y son inconsistentes con las de las otras definiciones desde que un pequeño valor de m_A indica una gran sensibilidad (Ingle, 1974).

La tercera definición toma en cuenta la pendiente de la curva y la precisión, basada en el hecho de que el valor numérico de la sensibilidad debe reflejar la capacidad de distinguir pequeñas diferencias en la concentración (Ingle, 1974).

La diferencia de señales más pequeña que puede detectarse está limitada por dos factores: la resolución o zona muerta del dispositivo de lectura y la variabilidad o desviación estándar de las mediciones de la señal analítica para una concentración dada.

Esta última definición tiene ventajas sobre las dos primeras, provee un criterio más fuerte de comparación de técnicas. Dos técnicas de análisis de una especie en particular pueden producir la misma sensibilidad de la calibración, pero la técnica que es más reproducible (más pequeña σ_S) poseerá la más alta sensibilidad analítica, esto es una mayor capacidad para distinguir entre dos concentraciones (Ingle, 1974).

La principal desventaja de la sensibilidad analítica es que debe evaluarse en todas las concentraciones de interés (Ingle, 1974).

3. Consideraciones sobre estimaciones del límite de detección (LD)

La capacidad para cuantificar trazas de elementos o moléculas en matrices químicas o biológicas usando métodos analíticos específicos es frecuentemente vista en términos de límites de detección. Este límite de detección es un número, expresado en unidades de concentración, que describe el nivel más bajo de concentración (o cantidad) del elemento que es estadísticamente diferente del blanco analítico; sin embargo, al expresar el término "estadísticamente diferente" se han presentado algunos desacuerdos entre los diversos autores.

El cálculo del límite de detección para un elemento puede fácilmente variar un orden de magnitud a través del uso de diferentes aproximaciones estadísticas. A pesar de que la IUPAC adoptó un modelo para el cálculo del límite de detección desde 1975 y la ACS Subcomité de Química Analítica Ambiental reafirmó este modelo en 1980, su aceptación ha sido lenta; esto último, debido a la incertidumbre asociada cuando los límites de detección son la base de comparación entre varios procedimientos, métodos o instrumentos analíticos. A menos que los límites de detección se calculen de manera constante, las comparaciones pudieran no tener sentido.

Aunque fundamentalmente la mayoría de los problemas han sido adecuadamente discutidos en la literatura, existe aún mucha discusión y varias veces dificulta identificar lo esencial inequívocamente. El problema es sentido severamente por varios químicos analistas de quienes la primer tarea es analizar muestras y no iniciar un minucioso estudio de toda la literatura sobre límites de detección. Además, mucha información útil no ha sido realmente "digerida" desde que ésta se publica en lenguajes o revistas menos accesibles.

Un mayor problema es conjuntar a la teoría y a la práctica en un cuadro uniforme e integral que sea confiable y efectivo y por lo tanto aceptado en el trabajo diario de un analista.

Muchos trabajos parecen destinados a permanecer fuera de la práctica porque son presentados en forma sofisticada y compleja y sin conclusiones capaces de convencer a los químicos analíticos prácticos que la incorporación de estos conceptos dentro de la práctica diaria tendrá ventajas.

Estas pequeñas reflexiones indican que aún existen algunos problemas para ser solucionados en el campo de la definición, determinación e interpretación de los límites de detección.

La terminología usada por varios autores no es uniforme. Por ejemplo, lo que Curry, Koch y Koch-Dedic llaman límite de detección, Kaiser lo llama "límite de garantía para pureza", mientras que el concepto de límite de detección de Kaiser es rechazado totalmente por Curry y Koch. Conceptualmente el desacuerdo entre estos autores es menos severo de lo que aparenta (Boumans, 1978).

3.1 Conceptos básicos

En todos los métodos instrumentales se obtienen las concentraciones por sustitución del valor numérico de la medición dentro de una función analítica. Esta función, en su forma inversa se le llama "función de calibración analítica".

Cuadro 3.2 Definiciones de conceptos básicos

Función de evaluación analítica	$C = F(X)$
Función de calibración analítica	$X = f(C)$
Concentración	C
Límite de detección LD	$C_L = F(X_{LD})$
Medición (señal neta)	$X = X_{S+B} - X_B$
Señal neta	X_{S+B}
Señal del blanco	X_B

(Boumans, 1978).

Los límites de detección deben discutirse primeramente en términos de la medición (X) y no en términos de la concentración (C). Una vez que se ha definido el límite de detección de la medición, conocido como X_{LD} , el límite de detección en términos de concentración se obtiene con ayuda de la función de evaluación analítica.

El término "medición" se refiere a la señal neta, es decir, la diferencia entre la señal obtenida directamente en la medición y la señal del blanco.

Para facilitar el análisis se asume que las cantidades X , X_{S+B} y X_B tienen distribuciones normales, pero esto debe confirmarse en situaciones reales. Esto importa entre otras cosas, por que el valor numérico del nivel de significancia usado en las pruebas estadísticas no sea el que se dice tener, si la forma de distribución de la probabilidad se desconoce experimentalmente.

La siguiente tabla muestra la caracterización de la distribución normal de X , X_{S+B} y X_B mediante las medias poblacionales μ y las desviaciones estándar (SD) σ . Los símbolos \bar{x} y s serán usados como estimadores de μ y σ en vez de los verdaderos valores poblacionales.

Cuadro 3.3 Definiciones de distribuciones

Distribuciones normales	
X	$N(\mu, \sigma)$
X_{S+B}	$N(\mu_{S+B}, \sigma)$
X_B	$N(\mu_B, \sigma)$

Estimaciones de μ y σ basadas en un tamaño de muestra finito: \bar{x} y s . (Boumans, 1978).

Cuando se analiza el término “detección” se debe distinguir fundamentalmente dos aspectos diferentes:

1) Un caso *a posteriori*

Dada una señal x , uno debe decidir si una señal real ha sido detectada, es decir, si $\mu > 0$.

2) Un caso *a priori*

Dado un proceso de medición completo, uno debe estimar la mínima concentración C esperada que produce una señal X lo suficientemente grande para que pueda detectarse.

Recordando que la función analítica relaciona la concentración c inequívocamente a la señal verdadera μ , se puede también establecer un caso *a priori* en términos de la señal. Dado un proceso específico de medición completo, se debe estimar la media de una población de observaciones luego que los valores individuales X sean suficientemente grandes para ser detectados (Boumans, 1978).

3.2 Discusión de casos *a priori* y *a posteriori*

La figura 3.1 muestra un caso *a posteriori*. Dada la distribución de probabilidad de la señal X del valor $\mu=0$ (distribución de las señales del blanco) se ha adoptado un valor crítico X_{LD} como el criterio de decisión sobre si una señal X se considerará diferente de cero ("detectado" o "no detectado" en la figura 1). Este valor crítico X_{LD} depende de la distribución en particular o de la desviación estándar de la distribución y del riesgo que se desea correr de tomar una decisión errónea (Boumans, 1978).

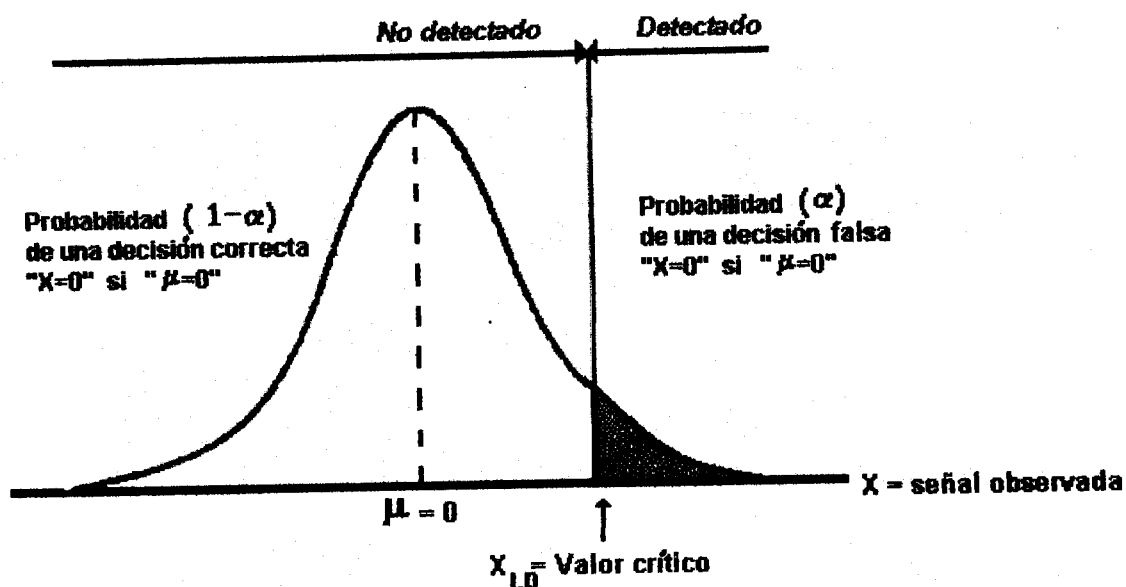


Figura 3.1. Representación esquemática de un caso *a posteriori*

Una vez establecido X_{LD} , se define la probabilidad α de tomar una decisión falsa " $x=0$ ", si μ es realmente cero. Consecuentemente, hay una probabilidad $1-\alpha$ de una decisión correcta " $X=0$ " cuando $\mu=0$.

El riesgo de tomar una decisión errónea cuando $\mu=0$ es llamado el error α . Dada la distribución de la función, este error α es definido por la elección de X_{LD} . Por ejemplo, si se tiene una distribución normal y se fija un nivel crítico de 3σ a la derecha de $\mu=0$, el área bajo la curva del lado derecho de X_{LD} es 0.13% del área total, este es el valor de α y se correrá entonces un riesgo de 0.13% que fluctuaciones aleatorias del blanco se tomen como una señal verdadera. Si se iguala X_{LD} con 2σ , el riesgo será 2.28%, etc.

Considerando ahora un caso *a priori* se define entonces el error β . La figura 3.2 muestra una distribución de probabilidad para las señales con una $\mu = \mu_1$ y representa la distribución de las observaciones asociadas con una concentración C_1 . Si arbitrariamente se elige un valor X_{LD} para rechazar las observaciones que no han sido detectadas de manera que el área a la izquierda de X_{LD} sea igual a β , habrá una probabilidad β de que una concentración C_1 no se detecte (Boumans, 1978).

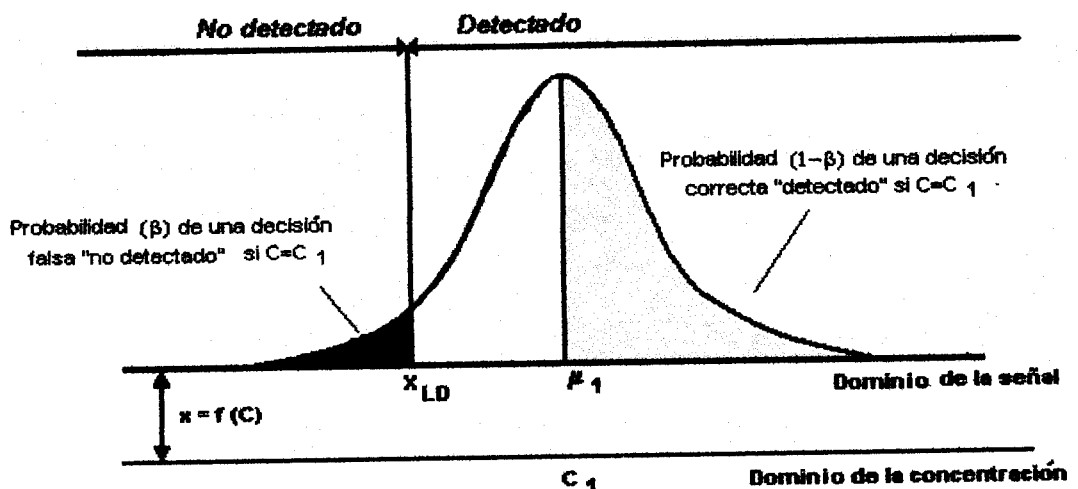


Figura 3.2 Representación esquemática de un caso *a priori*

El valor de X_{LD} no se define de manera arbitraria, sino con base en la distribución de probabilidad del blanco y del valor adoptado de riesgo α .

Si se sintetizan las dos figuras, se obtiene la figura 3.3 donde se muestran dos distribuciones: una de $\mu=0$ (blanco) y una de $\mu=\mu_1$. Si se adopta un valor crítico X_{LD} se definirán α y β . Si elegimos α con respecto a la distribución del lado izquierdo y de esta manera queda definida X_{LD} . Luego se define β y determina μ_1 , así que el área a la derecha corresponde a β .

En consecuencia se tiene la oportunidad α de detectar equivocadamente una señal cuando el analito no está presente y simultáneamente una probabilidad β de equivocadamente no detectar una concentración C_1 . Recíprocamente la oportunidad de tomar una decisión correcta cuando el analito no está presente es $1-\alpha$ y de detectar correctamente un analito con concentración C_1 es $1-\beta$ (Boumans, 1978).

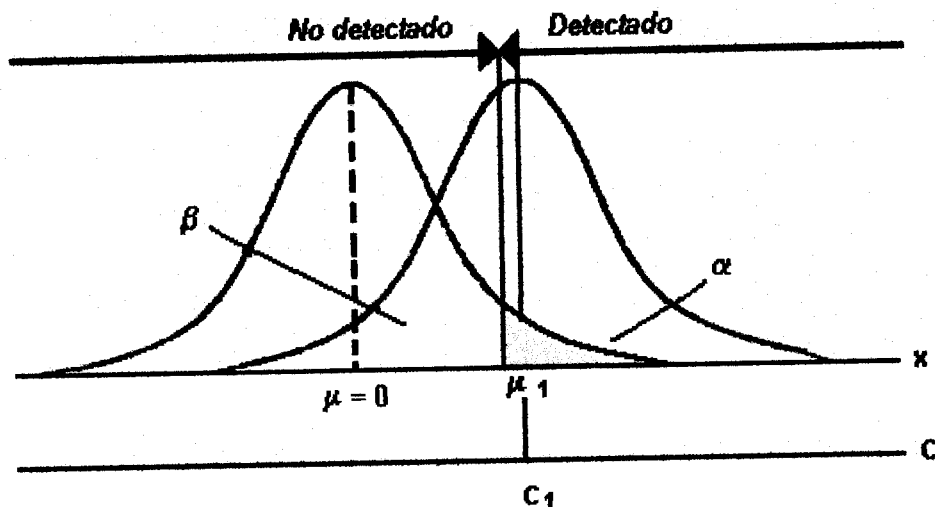


Figura 3.3 Combinación de las distribuciones de probabilidad de $\mu=0$ y $\mu=\mu_1$ cuando μ_1 ha sido elegida de manera arbitraria

La definición de límite de detección debe basarse en probabilidades α y β balanceadas (Figura 3.4).

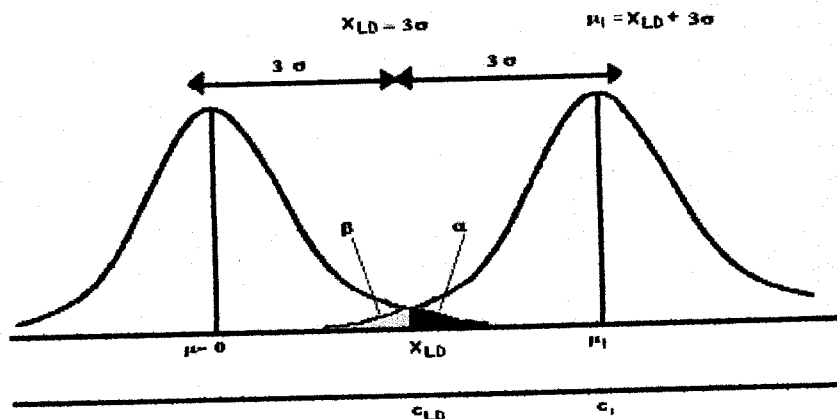


Figura 3.4 Combinación de las distribuciones de probabilidad de $\mu=0$ y $\mu=\mu_1$ cuando el nivel crítico ha sido elegido tal que $x_{LD} = 3\sigma$ y μ_1 ha sido elegido tal que $\beta=\alpha$.

El valor crítico es elegido a $3s$ con respecto a la media del blanco, y a una concentración c_1 que proporcione una distribución de mediciones de μ_1 de tal manera que β sea igual a α . Bajo estas condiciones deben rechazarse todas las señales más pequeñas que x_{LD} y C_1 se considerará la concentración más pequeña que puede detectarse con certeza cuando se encuentra presente en la muestra. Es decir, por un lado tenemos una pequeña oportunidad que fluctuaciones aleatorias del blanco sean erróneas para una señal verdadera y por otro lado se tiene también una pequeña oportunidad que una concentración C_1 no sea detectada cuando esté presente (Boumans, 1978).

La concentración C_1 cubre el concepto "intuitivo" de límite de detección para un cliente de un laboratorio analítico (y posiblemente también para el propio laboratorio) interpretando el concepto, por ejemplo, como la máxima concentración que podría escapar de la atención con un riesgo determinado. En otras palabras, si un químico analítico dice que no detecta un constituyente

particular en una muestra y da como límite de detección de su método el valor de C_1 , el cliente asumirá correctamente que la concentración de la muestra puede ser más pequeña que C_1 . Sin embargo, no todos los laboratorios establecen el límite de detección de esta forma (Boumans, 1978).

Una revisión de la teoría indica que la variabilidad de la respuesta del blanco es la base preferida para determinar los límites más bajos en las mediciones. La variabilidad de la respuesta del blanco ha sido usada en Inglaterra para estimar los límites de detección de los métodos oficiales de análisis de aguas. En los Estados Unidos se usa más la variabilidad de la respuesta de la muestra o los estándares para estimar los límites de detección.

Varios autores han realizado publicaciones sobre las estimaciones del cálculo del límite de detección basados en la variabilidad de la respuesta del blanco. Entre éstos se encuentran: H. Kaiser en Alemania (1968), A.L. Wilson en Inglaterra (1973) y L. Currie en Estados Unidos (1968). Las conclusiones de Wilson son semejantes a las de Kaiser y Currie, las principales diferencias radican en la terminología y la elección de los errores de 1° y 2° tipo. Sin embargo, hay una gran variabilidad en cómo este límite de detección es seleccionado y cómo los resultados son reportados cuando el analito no fue detectado (Currie 1986).

Los límites de detección (cantidades mínimas detectables) están basados en la teoría de prueba de hipótesis, la cual considera dos tipos de errores: el error de primera clase (tipo I, falsos positivos) al aceptar la hipótesis alternativa (presencia del analito) dado que es falsa y el error de segunda clase (tipo II, falsos negativos) aceptando la hipótesis nula (ausencia del analito) cuando debió ser rechazada. La probabilidad del error tipo I está indicada por α ; la probabilidad del error tipo II por β . La IUPAC recomienda valores de 0.05 para α y β .

Los límites de cuantificación se definen en términos de un valor específico de desviaciones estándar relativas. Es importante enfatizar que ambos tipos de límites son características del desempeño de procesos de mediciones químicas asociadas al valor verdadero de la cantidad de interés.

Desafortunadamente se han usado muchos términos dentro de la comunidad química para describir y cuantificar las capacidades de detección y cuantificación. Tal vez la más usada es el límite de detección como un indicador de la mínima señal, cantidad o concentración detectable del analito. (Por lo tanto, hasta dónde podemos determinar que está presente el analito en la muestra). Sin embargo ya que la diferencia entre concentración mínima estimada significativamente y la concentración verdadera mínima detectable no ha sido universalmente establecida, tanto el término como el valor numérico se aplican indistintamente. A pesar de esto, el término "límite de detección" es ampliamente entendido y citado por muchos analistas como una medición de las capacidades de detección inherentes.

Como resultado de los esfuerzos coordinados entre la IUPAC y la ISO para la armonización de los conceptos y terminología de "detección", las recomendaciones oficiales de la IUPAC se han restringido a los siguientes términos para distinguir una señal química del ruido de fondo:

- Valor ó nivel crítico (LC) de una variable química es una estimación de una señal, concentración o cantidad.
- Valor mínimo detectable o límite de detección (LD) de una variable química es la capacidad inherente de detección de un CMP (Proceso de medición química).

- Valor (verdadero) mínimo cuantificable o límite de cuantificación (LQ) de una variable química es la capacidad inherente de cuantificación de un CMP.

Muchos otros términos como “criterio de decisión” para LC, “límite de identificación” para LD y “límite de medición” para LQ aparecen en la literatura química. Con el fin de homogeneizar la nomenclatura internacional, se recomiendan los términos definidos en el párrafo anterior y son los que se usan en este trabajo.

Para presentar las definiciones anteriores se han empleado los siguientes símbolos genéricos:

- *L* es usado para representar la cantidad de interés.
- *S* cuando se trata de la señal del analito.
- Cuando se trata de cantidades o concentraciones del analito se usa *x*.

Luego, *LC*, *LD* y *LQ* pueden representarse por *SC*, *SD* y *SQ* o *XC*, *KD* y *XQ* según sea apropiado (Compendium of Analytical Nomenclature, 1997).

4. Estimaciones del límite de detección

4.1 Estimación según la IUPAC

Generalmente la mayoría de los métodos analíticos instrumentales requieren la construcción de curvas de calibración para la determinación de muestras desconocidas, estas curvas son generalmente planos de una señal *X* contra la concentración del analito *C* (Figura 3.5).

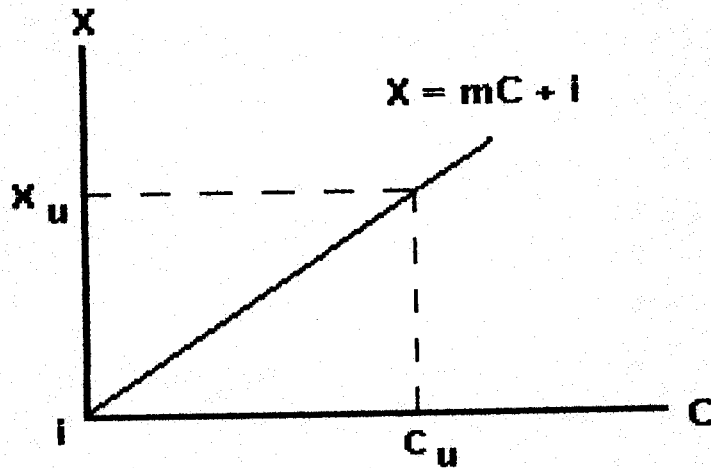


Figura 3.5 Curva de calibración de la señal X vs. concentración C.

Las relaciones entre X y C pueden obtenerse del análisis de regresión de los datos,

$$X = mC + i \quad [\text{Ec. 4}]$$

Donde:

X= Señal.

C= Concentración.

i= Intercepto.

Para una muestra de concentración desconocida se mide el valor X_u y de acuerdo a la ecuación de regresión se obtiene el valor de la concentración C_u . Sin embargo, la capacidad de resolución para C_u depende de que tan bien conocidos sean los valores de la pendiente y el intercepto.

Es decir, el valor de la pendiente estará mejor definido entre más puntos definan la curva de calibración.

El error asociado a una medición de X puede estimarse estadísticamente. La mayoría de las mediciones sujetas a error siguen una distribución normal. (Figura 3.6)

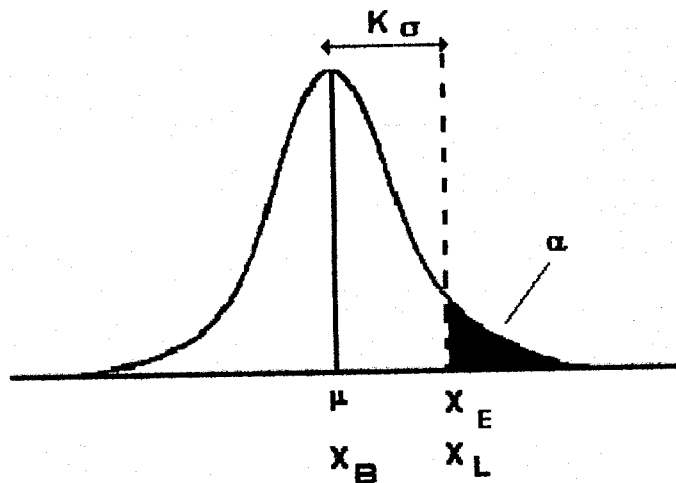


Figura 3.6 Curva de distribución normal para la variable X. El área sombreada α , representa la probabilidad que $X_E \geq (\mu + k\sigma)$ o $x_L \geq (\bar{x} + 3s_B)$

Si se grafica un gran número de observaciones se obtendría una curva con distribución normal, con media μ al centro de la curva y que se extiende en unidades de desviaciones estándar σ . Entonces cualquier valor de X estaría incluido dentro de la curva. El área de la curva se expresa en términos de probabilidad P. ($P=1$ de que un valor de x caiga dentro de la curva)

Las relaciones entre el área de la curva y P se miden para estimar la distancia en términos de σ de que una nueva medición se aleja de μ .

El área a la derecha de una medición X_E es α , la probabilidad que $X_E \geq (\mu + k\sigma)$.

$$\text{area} = \frac{1}{2\pi} \int_K^{\infty} \exp\left(-\frac{k^2}{2}\right) dk \quad [\text{Ec. 5}]$$

La figura 3.6 explica también la señal detectable más pequeña X_L de la definición de la IUPAC que normalmente utiliza mediciones de blancos X_B , la cuestión es ¿qué tan bien se conocen los valores X_B ?,

Se calcula la media \bar{X} y S_B y si $n \geq 20$ puede usarse S_B en vez de σ_B

$$X_B = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} X_{Bj}}{n_B} \quad [\text{Ec. 6}]$$

$$S^2_B = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} (X_{Bj} - \bar{X})^2}{(n_B - 1)} \quad [\text{Ec. 7}]$$

Si X_{LD} está a $3S_B$ de \bar{X}_B el área a la derecha no es menor que 0.0013 (0.13%), esta pequeña oportunidad de error "llena los requerimientos" de una señal con una confianza razonable.

$$X_{LD} = \bar{X}_B + kS_B \quad [\text{Ec. 8}]$$

$$C_{LD} = \frac{(X_{LD} - \bar{X}_B)}{m} \quad [\text{Ec. 9}]$$

$$C_{LD} = \frac{kS_B}{m} \quad [\text{Ec. 10}]$$

Y se obtiene el valor del límite de detección LD, sin embargo, para que su valor sea confiable, el intercepto i debe ser esencialmente cero. De manera contraria, se estaría en la posibilidad de un error sistemático considerable.

El uso de $k=3$ permite un nivel de confianza de 99.86% que $x_{LD} \geq (\bar{x}_B + 3S_B)$ si la distribución es normal.

Para distribuciones no normales la probabilidad que $x_{LD} \geq (\bar{x}_B + 3S_B)$ deberá ser $100(1-1/k^2)$ de acuerdo al teorema de Tschebyscheff. Luego entonces, los valores de $k < 3$ no deben usarse para cálculos de LD.

La mayoría de otras aproximaciones de LD son similares al modelo de la IUPAC el cual incluye los valores de S_B y k . Dado que algunas veces los LD se usan para comparar procedimientos, métodos o instrumentos, la discusión más amplia ha sido la selección del valor de k .

Kaiser (1969) fue tal vez el primero en utilizar un valor de $k=3$, después fueron otros autores, luego la IUPAC y la ACS.

Inicialmente se sugirió un valor de $k=2$, pero este valor corresponde a un 97.7% de confianza para una distribución normal y a un 75% para una distribución no normal. Aunque el uso de $k=3$ en vez de $k=2$ incrementa ligeramente el valor de C_{LD} , está claro que debe usarse 3 para que C_{LD} sea un valor significativamente diferente. Sin embargo factores menores que 3 han sido comúnmente utilizados con propósitos de comparación. Para evitar confusiones la IUPAC sugirió que los valores C_{LD} se reporten con su valor de K .

Un problema en el uso comparativo de C_{LD} es el uso de la desviación estándar de la media $S_{\bar{B}}$, la desviación estándar poblacional S_P o la desviación estándar relativa (RSD). Aunque cada una de éstas es importante, el mal uso de estas expresiones puede resultar en una desviación significativa del modelo de la IUPAC (Long y Winefordner 1983).

La desviación estándar de la media $S_{\bar{B}}$ (error estándar) es expresada por:

$$S_{\bar{B}} = \frac{S_B}{(n_B)^{1/2}} \quad [\text{Ec. 11}]$$

Usualmente cuando se usan los valores de S_B , k se reemplaza por el valor de t .

4.2 Aproximación gráfica

Para obtener un valor de C_{LD} más confiable, el valor de m debe expresarse como un intervalo de confianza $m \pm t \alpha S_m$

$$C_{LD} = \frac{kS_B}{m \pm t \alpha S_m} \quad [\text{Ec. 12}]$$

Donde:

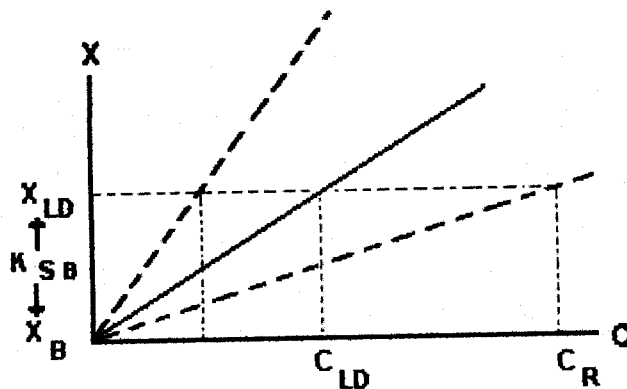
C_{LD} = Concentración del límite de detección.

S_B = Desviación estándar del blanco.

S_m = Desviación estándar de la pendiente.

t_α = Valor de la distribución t de Student elegida para un nivel de confianza α .

El efecto de la inclusión del intervalo de confianza puede observarse en la Figura 3.7



Donde:

C_{LD} = Concentración del límite de detección.

C_R = Concentración del intervalo de confianza (las líneas punteadas son las barras del error).

Figura 3.7 Curva de calibración de la señal X vs concentración C que muestra la aproximación gráfica del cálculo del límite de detección.

En la figura 3.7 las líneas punteadas son las barras del límite de confianza, C_{LD} se obtiene de X_{LD} si no hay error en la pendiente, C_R se obtiene de X_{LD} si el error en la pendiente es significativo.

Por causa del error en la pendiente el valor de la concentración para X_{LD} puede tomar cualquier valor dentro del intervalo de los límites de confianza.

Cuando $t \alpha S_m = 0$ el valor se obtiene como en la ecuación 10 [Ec. 10]

Sin embargo, la reducción de la sensibilidad analítica da un valor C_R a la derecha de C_{LD} .

Si $m \gg t \alpha S_m$, entonces C_R no será estadísticamente diferente de C_{LD}

Cuando $t \alpha S_m$ no es tan pequeño comparado con m , C_R puede ser sustancialmente mayor a C_{LD} .

Una consideración importante en este modelo es el valor de t . El valor recomendado de k es 3 (99.87% de confianza), t refleja un valor similar. Una $\alpha=0.0005$ resulta en un nivel de confianza de 99.9% para una distribución t de dos colas.

4.3 Aproximación de la propagación de errores:

Esta estimación considera el error en el intercepto y en la pendiente. Al incluir estos errores, la ecuación 4 se rearregla a:

$$C = \frac{X - i}{m} \quad [\text{Ec. 13}]$$

Donde:

X = Señal.

C = Concentración.

i = Intercepto.

El término i es frecuentemente descuidado y se asume como 0 porque en las mediciones se corrige el ruido de fondo. Pero en la mayoría de los análisis de regresión $i \neq 0$. Si buscamos una verdadera estimación del error en una concentración, entonces el error en m y en i deben incluirse en la ecuación 10.

La contribución de cada término al error total se encuentra al hacer la 1ª derivada de c con respecto a cada término.

$$S^2_c = \left(\frac{\partial C}{\partial X}\right)^2 S_X^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial i}\right)^2 S_i^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial m}\right)^2 S_m^2 \quad [\text{Ec. 14}]$$

$$S_c = \left[\left(\frac{1}{m}\right)^2 S_X^2 + \left(\frac{1}{m}\right)^2 S_i^2 + \left(-\frac{X-i}{m^2}\right)^2 S_m^2 \right]^{1/2} \quad [\text{Ec. 15}]$$

$$S_c = \frac{\left[S_X^2 + S_i^2 + \left(\frac{i-X}{m}\right)^2 S_m^2 \right]^{1/2}}{m} \quad [\text{Ec. 16}]$$

Donde:

S_c = Desviación estándar de la concentración.

S_i = Desviación estándar del intercepto.

S_m = Desviación estándar de la pendiente.

t_α = Valor de la distribución t de Student elegida para un nivel de confianza α .

La ecuación anterior permite la determinación de la desviación estándar de una concentración calculada a partir de cualquier valor de absorbancia.

En el caso del límite de detección, el valor de C_{LD} es la expresión del valor del blanco con una confianza conocida. Entonces se reorganiza la ecuación 10 y queda:

$$C_{LD} = k S_c \quad [\text{Ec. 17}]$$

Donde:

S_c describe el error en términos de c .

La ecuación 16 se usa para determinar S_c , donde x es la señal del blanco, X_B y S_B se sustituyen por S_x . En la mayoría de las determinaciones, hay una corrección del ruido de fondo, que es $X_B = 0$

De las ecuaciones 16 y 17 [Ec. 16] y [Ec. 17] surge la siguiente:

$$C_{LD} = \frac{k \left[S_B^2 + S_i^2 + \left(\frac{i}{m} \right)^2 S_m^2 \right]^{1/2}}{m} \quad [\text{Ec. 18}]$$

Donde:

C_{LD} = Concentración del límite de detección.

S_B = Desviación estándar del blanco.

S_i = Desviación estándar del intercepto.

S_m = Desviación estándar de la pendiente.

i = Intercepto.

m = pendiente.

En un análisis donde no hay error significativo en la pendiente, la ecuación 16 [Ec. 16] se reduce a:

$$C_{LD} = \frac{k \left[S_B^2 + S_i^2 \right]^{1/2}}{m} \quad [\text{Ec. 19}]$$

donde:

C_{LD} = Concentración del límite de detección.

S_B = Desviación estándar del blanco.

S_i = Desviación estándar del intercepto.

m = pendiente.

Si el error en el intercepto es muy pequeño, la ecuación anterior se reduce a la ecuación 10 que es la definición de la IUPAC (Long y Winefordner 1983).

4.4 Estimación según Wilson

De acuerdo a Wilson, un resultado analítico R, es igual a la respuesta de la muestra (S) menos la respuesta del blanco (B), es decir $R = S - B$, es un caso de "comparaciones por par", en las cuales se comparan las respuestas individuales de la muestra y el blanco. Si se determinara la distribución de los resultados cuando la muestra y el blanco son idénticos (la muestra no contiene al analito) se obtendría la distribución representada en la Figura 3.8, donde la media es cero con igual número de resultados positivos y negativos a su alrededor y se asume una distribución normal.

A fin de concluir que la muestra contiene al analito debe elegirse el nivel de riesgo de cometer un error tipo I. Wilson seleccionó un valor del 5% ($\alpha=0.05$) para este error.

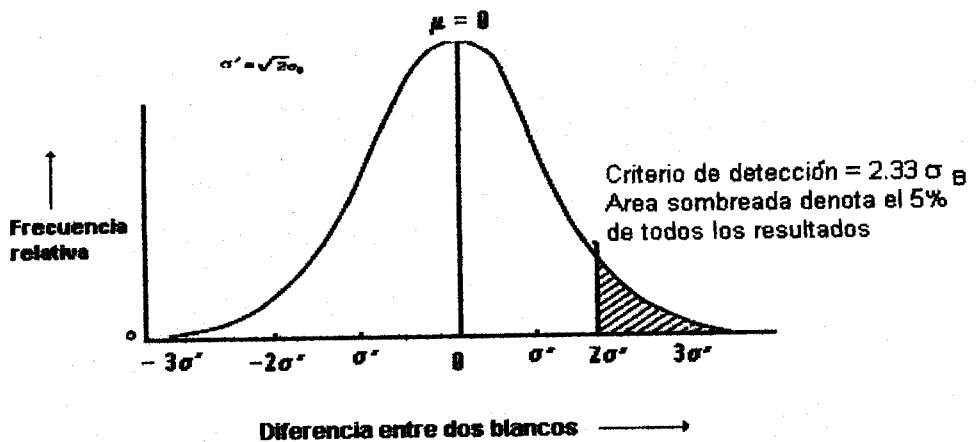


Figura 3.8. Distribución de las diferencias entre las respuestas analíticas de dos blancos. Definición del Criterio de detección

En la figura 3.8 esta selección resulta en la definición del Criterio de detección igual a $1.645 (\sqrt{2}) \sigma_B$ o $2.33\sigma_B$ (donde σ_B es la desviación estándar de un lote de respuestas del blanco), lo cual significa que a valores más grandes de 2.33 consideran que el analito ha sido detectado, con la posibilidad de equivocarse 1 de 20 veces.

Para reducir la variabilidad de la diferencia entre las respuestas de la muestra y el blanco se sugiere un factor de $\sqrt{2}$.

Además de los errores de Tipo I debe también considerarse la posibilidad de cometer errores tipo II: la probabilidad de que una muestra tenga una concentración igual al criterio de detección sería entonces de 0.5.

Wilson reduce este valor a 0.05, como se ilustra en la Figura 3.9. El límite de detección es definido como dos veces el criterio de detección o $4.65\sigma_B$, es la concentración más pequeña de una muestra que puede detectarse con una probabilidad de 0.95 (Currie 1986).

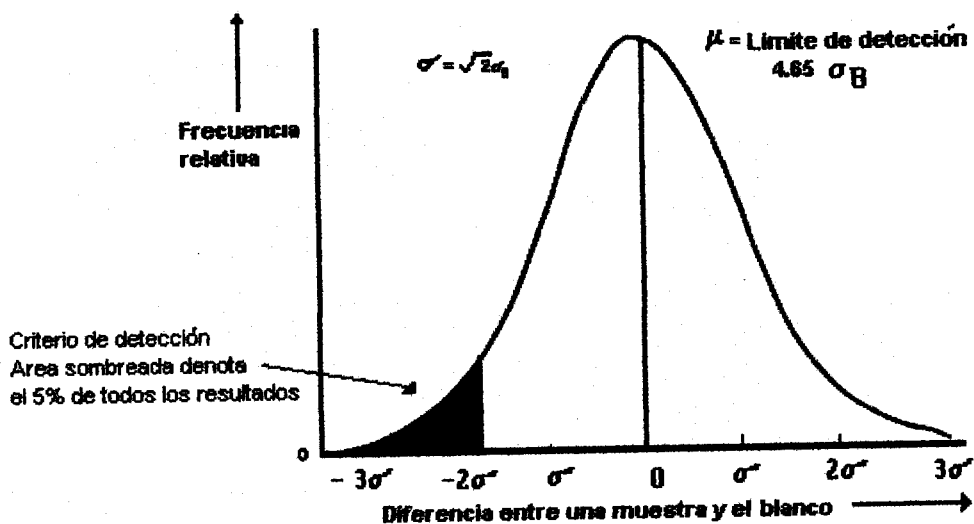


Figura 3.9 Distribución de las diferencias entre la respuesta analítica de una muestra y un blanco cuando la concentración de la muestra es igual al LD.

Las relaciones entre el Criterio y el Límite de detección se muestran en la Figura 3.10.

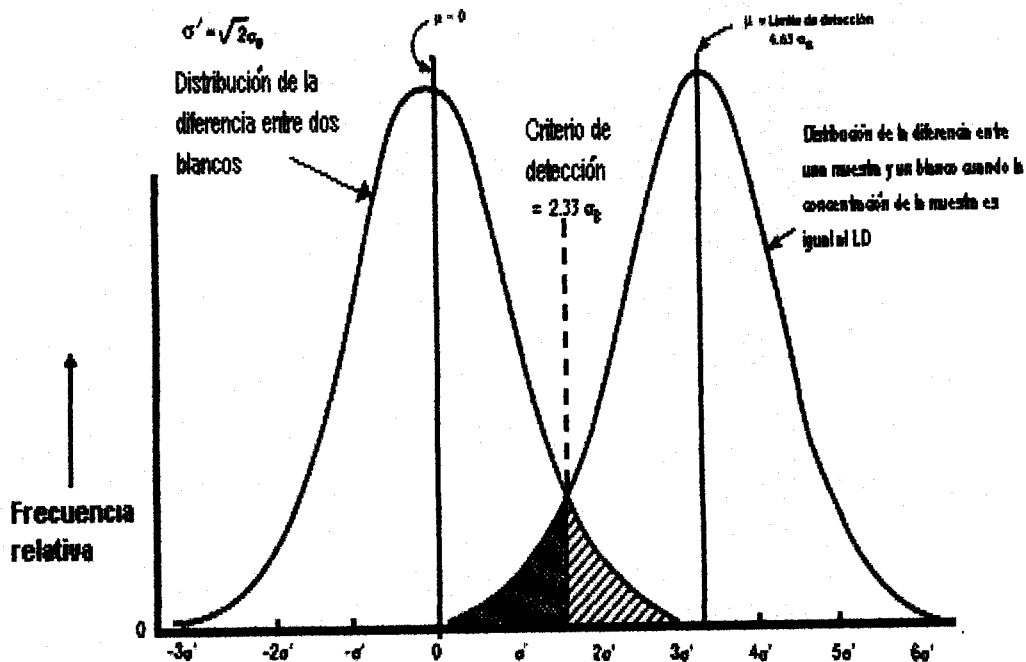


Figura 3.10 Relaciones entre el Criterio y el Límite de detección.

4.5 Estimación según Miller

Miller (1993) define al límite de detección como la cantidad de concentración del analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, S_B , mediante la fórmula: $y - y_B = 3 S_B$, la ocurrencia de errores tipo I ó II, busca minimizarse bajo una definición lógica de un límite de detección. En la Figura 3.11, la curva A representa la distribución normal de valores medidos de la señal del blanco. Sería posible identificar un punto $y=P$, hacia el borde superior de esta distribución, y pretender que sería improbable que una señal más grande que ésta se debiera al blanco, mientras que se supondría que una señal menor que P indica una muestra blanco.

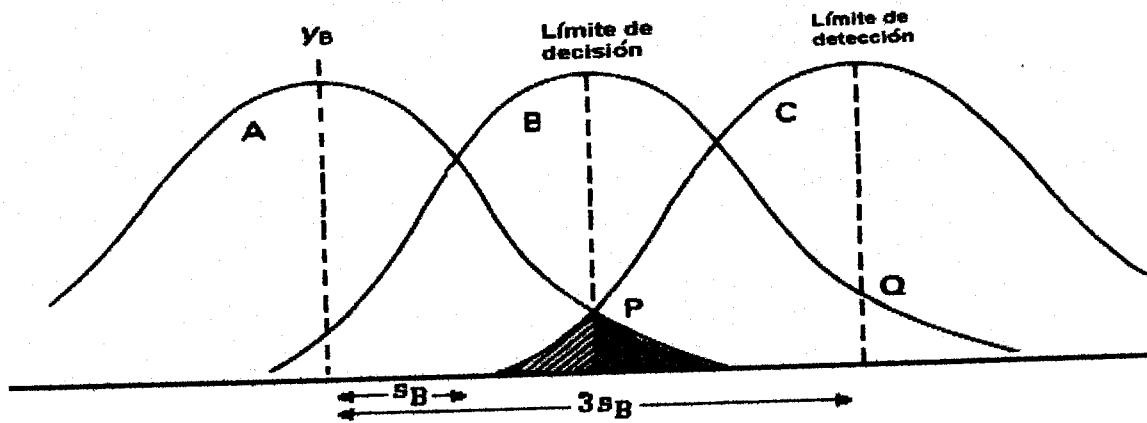


Figura 3.11 Definiciones del límite de decisión y de detección.

Sin embargo, para que una muestra dé una señal promedio P , el 50% de las señales observadas será menor que ésta, ya que tendrá una distribución normal que se prolonga por debajo de P . (curva B) La probabilidad de concluir que esta muestra no difiere del blanco cuando de hecho lo hace, es por tanto de 0.5. El punto P , llamado el límite de decisión, es insatisfactorio como un LD, ya que soluciona el primero de los problemas mencionados antes, pero no el segundo. Un punto más adecuado está en $y=Q$, de manera que Q está situado al doble de la distancia que existe entre y_B y P . Se puede demostrar que si $y_B - Q$ es 3.28 veces la desviación del blanco, s_B , entonces la probabilidad de que cada uno de los dos tipos de error ocurra es sólo del 5%.

Si como se sugiere en la ecuación $y - y_B = 3 s_B$ la distancia $y_B - Q$ es sólo $3 s_B$, la probabilidad de cada error es aproximadamente del 7%. (Figura 3.8) (Miller y Miller 1993).

Parecería que la expresión de límite de detección anteriormente citada se aplica con mayor facilidad en la práctica, sin embargo, es importante reconocer las debilidades de esta definición. Estas incluyen los siguientes supuestos:

- La desviación estándar al interior de los lotes tanto de testigos como de muestras que contengan concentraciones muy pequeñas de los parámetros a medirse son las mismas.
- La respuesta analítica para concentraciones finitas del parámetro a medirse no es cero.
- La muestra y el testigo no presentan error sistemático una con respecto al otro. (Es decir que no existen sustancias de interferencia en la muestra o en el testigo)

Si alguno de estos supuestos no es verdadero, entonces el cálculo del límite de detección mediante el empleo de la ecuación que se ha citado previamente, será no representativo o no adecuado (O'Haver, 1976).

4.6 Estimación según la FDA

La FDA establece que de todas las concentraciones de la curva de calibración incluidas en el plan de validación, el valor más bajo de una señal X con un CV (coeficiente de variación) $\leq 15\%$ es el límite de detección (no se permiten interpolaciones o extrapolaciones). Sin embargo, esta regla puede causar esfuerzos y repeticiones innecesarias.

El límite de detección dependerá del tipo de calibración, en este caso se aplica la función de los límites de confianza para buscar la optimización y una implementación fácil.

4.7 Estimación según Kateman y Buydens

Algunos autores definen el límite de detección conforme a la selección de criterios que sean aplicables a la decisión de que el componente está o no presente para una señal dada. Si está presente se debe establecer con que confiabilidad puede cuantificarse. En la literatura existen varias definiciones. Sin embargo, aunque se establecen bajo conceptos similares, utilizan

diferentes niveles de confianza. Otras definen el mismo límite de detección pero con base a criterios diferentes. De manera general, la definición del límite de detección parte de los errores del primer tipo.

El límite de detección es la señal observada (X_{LD}) más pequeña, que con una confiabilidad $(1-\alpha)$ puede considerarse como una señal causada por el componente a medir. Sin embargo, cuando la señal es menor que X_{LD} no se puede establecer que el componente está ausente, solo se puede decir con una confiabilidad $(1-\beta)$ que el componente es menor que un cierto valor C_{LD} .

Si un blanco ($C_B =$ concentración nula del componente a determinar) y una muestra de concentración C_1 se analizan repetidamente, las señales medidas se distribuyen alrededor de X_B para el blanco y alrededor de X_1 para la muestra.

Si la señal con magnitud X_{LD} se usa como criterio para la presencia del componente 1, la probabilidad α de una señal causada por el blanco es:

$$\alpha = \int_{X_{LD}}^{\infty} P_B(X) dX \quad [\text{Ec. 20}]$$

Donde:

α = Probabilidad de un error del Tipo I
 $P_B(x)$ = Distribución probabilidad de X_0

$\int_{X_{LD}}^{\infty}$ = Integral desde X_{LD} hasta el infinito.

La probabilidad β de que una señal observada para el componente con concentración C_1 sea menor que X_{LD} es:

$$\beta = \int_0^{X_{LD}} P_1(X) dX \quad [\text{Ec. 21}]$$

Donde:

β = Probabilidad de un error del Tipo II

$P_1(X)$ = distribución probabilidad de X_1

$\int_{X_{LD}}^{\infty} =$ Integral desde 0 hasta X_{LD} .

Si $P_B(x) = P_1(x)$ y $\alpha = \beta$, entonces X_1 es el punto de intersección de las dos distribuciones de probabilidad. Entonces se tiene que la señal X_1 es la señal que corresponde al límite de detección (X_{LD})

La señal correspondiente al límite de detección puede definirse mediante la ecuación 1 [Ec. 1]. La concentración derivada, esto es el límite de detección (C_{LD}) de la señal X_{LD} es:

$$C_{LD} = (X_B + kS_B) / m \quad [\text{Ec. 22}]$$

Donde:

m = pendiente (parámetro también usado como "sensibilidad")

$$X_{LC} = X_B + 6S_B \quad [\text{Ec. 24}]$$

Donde:

X_{LC} = Señal del límite de cuantificación.

X_B = Señal del blanco.

S_B = Desviación estándar del blanco.

Y suponiendo que $S_B = S_{LC}$, se tiene que con un nivel de confianza del 0.9987 (99.877%) se puede aseverar que la concentración es diferente de cero. Este valor se le denomina "límite de garantía de pureza", límite de cuantificación o límite de determinación. En otras palabras, esta es la concentración que puede detectarse con una probabilidad de 0.9987.

Si $S_B = S_1 = S_{LC}$ se tiene:

$$X_{LC} = X_B + 3S_B + 3S_{LD-B} = X_{LD} + 3S_{LD} \quad [\text{Ec. 25}]$$

Para algunos autores el límite de determinación se establece como

$$X_{LC} = X_B + 10S_B \quad [\text{Ec. 26}]$$

Currie distingue tres áreas:

- I. El área donde la detección no es posible (o posible con un nivel de confianza muy bajo) y que corresponde a la región $X_B < X < X_{LD}$.
- II. El área donde la detección es posible con una probabilidad suficiente y que corresponde al $X > X_{LD}$.
- III. El área donde la determinación cuantitativa es posible y que corresponde al $X > X_{LC}$.

Frecuentemente el blanco y la muestra (1) se analizan simultáneamente, la señal del blanco se usa para corregir la señal de la muestra (X_1) y para estimar X_B

$$X_1 = X_B + x_1 \quad - \quad X_B \quad [\text{Ec. 27}]$$

y
$$\sigma_{X_1} = (\sigma_{X_1 + X_B}^2 + \sigma_B^2)^{1/2} \quad [\text{Ec. 28}]$$

Si
$$\sigma_{X_1 + X_B} = \sigma_B \quad [\text{Ec. 29}]$$

entonces
$$\sigma_{X_1} = (\sigma_B)^{1/2} \quad [\text{Ec. 30}]$$

Por lo que
$$X_{LD} = X_B + kS_B(2)^{1/2} \quad [\text{Ec. 31}]$$

Si se realizan varias determinaciones:

$$X_{LD} = X_B + [kS_B(2)^{1/2}] / (n)^{1/2} \quad [\quad \text{Ec. 32}]$$

Este procedimiento se aplica para mejorar la relación señal/ruido contra la inversión de tiempo de análisis.

En todo lo anterior, los valores de α y β se han establecido bajo el supuesto de que la distribución de probabilidad de las mediciones es Normal. En la práctica los valores de α para $k=3$ no serán 0.0013, sino mucho mayores, pudiendo ser hasta 0.05. Esto es debido a que la distribución de la mayoría de las mediciones en concentraciones bajas no es Normal; además de que la falta de homogeneidad de la muestra puede ser mayor en esta región, especialmente cuando la distribución del componente en la muestra no es homogénea sino en forma de partículas (Kateman y Buydens 1993).

5. Reporte de resultados

Para aplicar los conceptos de criterio y límite de detección al análisis de una muestra debe considerarse que el analito es detectado si el resultado de la muestra es igual o más grande que el criterio de detección. Sin embargo, si el resultado es menor que el Criterio de detección, debe reportarse como menor al límite de detección para asumir la posibilidad de cometer errores Tipo II (Currie, 1986).

Currie (1977) sugirió que los resultados por debajo del Criterio de detección se reporten como ND (no detectado) junto con el valor estimado

Hunt y Wilson (1986) propusieron que los resultados de concentraciones bajas se reportaran como el valor más menos el límite de confianza ($R \pm t_{\alpha,s}$), lo que sugiere la eliminación del uso del criterio y límite de detección.

Generalmente es preferible que el límite de detección se reporte en unidades de masa absoluta que en unidades de concentración, ya que las unidades de masa toman en cuenta el volumen de muestra requerido para una técnica dada (J.D. Ingle, 1974).

6. Límite de cuantificación

Se han hecho algunos intentos para definir un límite adicional, Límite de cuantificación o límite de determinación, que se describe como el límite más bajo para el que se realizan mediciones cuantitativas precisas, lo que es opuesto a una detección cualitativa. Se ha sugerido como en la ecuación 26, aunque en la práctica no se ha usado profusamente. (Miller y Miller 1993).

IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

Hipótesis de trabajo

Existe diferencia significativa entre los distintos métodos de cálculo del Límite de detección en mediciones de metales en absorción atómica de flama.

Objetivo general

Realizar una comparación de las metodologías analíticas planteadas sobre el cálculo de límites de detección, considerando los diferentes niveles de precisión asociados a cada una de ellas, sus ventajas, desventajas y alcances, tanto conceptuales como prácticos.

Objetivos particulares

- a. Evaluar las metodologías del cálculo del límite de detección en análisis espectrofotométricos utilizando las referencias más usuales en los laboratorios químicos, siempre aprovechando la información generada durante el proceso de validación.
- b. Realizar un análisis crítico de los conceptos, aproximaciones e implicaciones prácticas de los límites de detección.
- c. Señalar las similitudes, ventajas, desventajas e implicaciones de los métodos de obtención de los límites de detección.

V. METODOLOGÍA

1. Metodología

Se realizan determinaciones en diferentes tiempos para cada parámetro a evaluar y con cada método de estimación del límite de detección. Los parámetros son las concentraciones de los metales pesados cobre, cromo, níquel, plomo y zinc en agua.

2. Metodología particular

2.1 Principio

El fenómeno de absorción atómica es con base en la generación de átomos y en la medición de la cantidad de energía luminosa que absorben, la cual es directamente proporcional a la concentración de ese elemento en la muestra analizada. Consiste en hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia tal que puede ser absorbida por el analito que se encuentra presente en forma de vapor atómico. Se mide con base a la diferencia de la intensidad luminosa antes y después de su paso por el vapor atómico. La cantidad de absorción aumenta con el incremento de concentración de los átomos en el medio absorbente, es decir, la medida de la absorción aumenta con la concentración del elemento en la muestra.

La realización de las curvas de calibración y lectura de estándares se realizará como se indica en la norma NMX-AA-051-1999-SCFI – “Análisis de agua. Determinación de metales por absorción atómica”.

Dado que la finalidad de este trabajo no es el tema de absorción atómica sino la determinación de límites de detección, la explicación detallada de esta metodología se tiene en las referencias correspondientes (Standard Test Methods for Elements in Water by Metals Atomic Absorption Spectroscopy, 1994 y Standard Methods for the Examination of Water and 1995).

2.2 Seguridad

- 2.2.1 El uso de una campana, ropa de protección, lentes de seguridad y mascarilla se requieren cuando se preparan disoluciones donde las reacciones entre el disolvente y el soluto son exotérmicas., de igual forma cuando se diluyen ácidos fuertes, o cuando representa cualquier tipo de riesgo para el analista.
- 2.2.2 Se requiere un sistema de ventilación permanente para eliminar una gran cantidad de gases calientes y algunas veces tóxicos producidos por el quemador durante la operación del instrumento. Como el acetileno es un gas flamable deberán tomarse las precauciones adecuadas cuando se use. Para evitar explosiones nunca pase el acetileno a través de instalaciones o tuberías de cobre o aleaciones con alto contenido de cobre (latón, bronce). Si el espectrofotómetro no está equipado con un escudo protector, el operador deberá usar lentes de seguridad para atenuar la luz ultravioleta emitida por la flama.
- 2.2.3 Seguir cuidadosamente las guías de operación del fabricante del equipo para optimizar la velocidad del flujo de gas. Si no se toman las precauciones adecuadas, puede resultar una combustión peligrosa dentro de la cámara de mezcla de los gases.
- 2.2.4 Para evitar explosiones en línea, no permitir que la presión de llegada del acetileno al instrumento exceda 1.06 kg/cm^2 (15 psi), o la indicada en el manual del equipo.
- 2.2.5 Revisar que el tubo del desagüe de la cámara de mezcla de gas esté lleno con agua antes de comenzar cualquier análisis. Se recomienda el uso de una trampa de seguridad o de cualquier válvula y seguir las instrucciones del fabricante para mantener una presión positiva en el sello del líquido.
- 2.2.6 Dada la alta toxicidad del plomo, níquel, etc., extreme las precauciones de manejo de todas las soluciones y utilice un área bien ventilada.

2.3 Equipos y Materiales

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son relevantes en este método analítico. Todo el material volumétrico utilizado es de clase A con certificado o con calibración verificada.

2.3.1 Equipo de medición:

- Espectrofómetro de Absorción Atómica (EAA) Perkin Elmer AAnalyst 100 – Con doble haz, monocromador, detector, fotomultiplicador ajustable al ancho de banda espectral, rango de longitud de onda de 190 a 800 nm y provisto de una interfase para un sistema de datos.
- Lámparas de cátodo hueco de: cobre, cromo, níquel, plomo y zinc.
- Quemador de 10 cm de 1 ranura

2.3.2 Material de acondicionamiento de la muestra

- Matraz volumétrico de 100 mL
- Pipetas volumétricas de 10, 5, y 1 mL
- Pipetas Eppendorf (o equivalente) de 100 a 1000 μ L

2.4 Limpieza del Material

2.4.1 Todo el material usado en esta determinación debe ser exclusivo para este procedimiento. Para el lavado del material remojar durante 1 h en una disolución de ácido nítrico al 10 % y enjuagar con agua. Los detergentes con base de amoníaco no deben usarse para la limpieza del material. Su uso debe restringirse dentro del laboratorio.

2.4.2 Los contenedores de las muestras deben lavarse con disolución de detergente no iónico, libre de metales, enjuagarse con agua, remojar en ácido toda la noche y volver a enjuagarse con agua libre de metales y dejar secar.

2.4.3 En los casos de que se presenten adherencias en el material debe dejarse remojando de 12 h a 24 h con HNO_3 (1:5), HCl (1:5) o con agua

regia (3 partes de HCl concentrado + 1 parte de HNO₃ concentrado) a 70°C, después debe ser enjuagado con agua libre de metales.

2.4.4 En los casos de que el material presente grasas, enjuagar con acetona y/o hexano.

2.5 Reactivos y Patrones

Los reactivos que requiere el método deben ser tipo grado reactivo.

2.5.1 Reactivos

- Agua destilada
- Ácido nítrico concentrado [HNO₃]

2.5.2 Disoluciones

- Disolución de HNO₃ al 3%
- Disolución estándar certificada (1 g/L) de cobre, cromo, níquel, plomo y zinc.
- Disolución estándar de trabajo – Prepare una serie de 5 disoluciones a partir de las disoluciones estándar de cada metal que estén dentro del intervalo de trabajo, tomando las diluciones adecuadas de la disolución certificada diluyendo con HNO₃ al 3%.

2.6 Verificación del equipo y curva de calibración

2.6.1 Verificación del Equipo

Para verificar que el instrumento esté calibrado apropiadamente en un proceso continuo, analice el blanco de calibración y la muestra de verificación del instrumento.

2.6.2 Verificación de la curva de calibración

2.6.3 La curva de calibración deberá prepararse con un mínimo de cinco concentraciones y un blanco de calibración.

2.7 Calibración del equipo

La calibración debe realizarse cada vez que se utilice el espectrofotómetro.

- 2.7.1 Verificar la corriente aplicada a la lámpara de cada metal conforme lo recomienda el fabricante.
- 2.7.2 Seleccionar el ancho de banda espectral óptimo, el cual depende de cada elemento en particular.
- 2.7.3 Ajustar la longitud de onda para el metal de interés de acuerdo a la tabla 5 o de acuerdo a las condiciones recomendadas por el fabricante del equipo.
- 2.7.4 Alinear el quemador de acuerdo a las especificaciones del fabricante del equipo.
- 2.7.5 Ajustar las condiciones de la flama de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Permitir que el sistema alcance el equilibrio de 10 a 15 min.
- 2.7.6 Optimizar la velocidad de nebulización, aspirando una solución de un metal (como cobre) el cual es sensible a cambios en las condiciones de la flama y ajustar la nebulización hasta obtener una absorbancia máxima.
- 2.7.7 Debe ajustarse la mezcla de gases necesaria para obtener la absorbancia requerida por la curva de calibración, con una presión de salida de los tanques de Acetileno (12 psi) y de aire (a 40 a 80 psi).
- 2.7.8 Aspirar un blanco (matriz libre de analitos a la cual se le agregan todos los reactivos en los mismos volúmenes y proporciones usadas en la preparación de los estándares).
- 2.7.9 Aspirar una disolución estándar del metal a analizar, ajustar la velocidad de flujo del nebulizador hasta obtener la máxima sensibilidad, así como ajustar el quemador horizontal y verticalmente hasta obtener la máxima respuesta.
- 2.7.10 Realizar la curva de calibración con un mínimo de cuatro concentraciones.

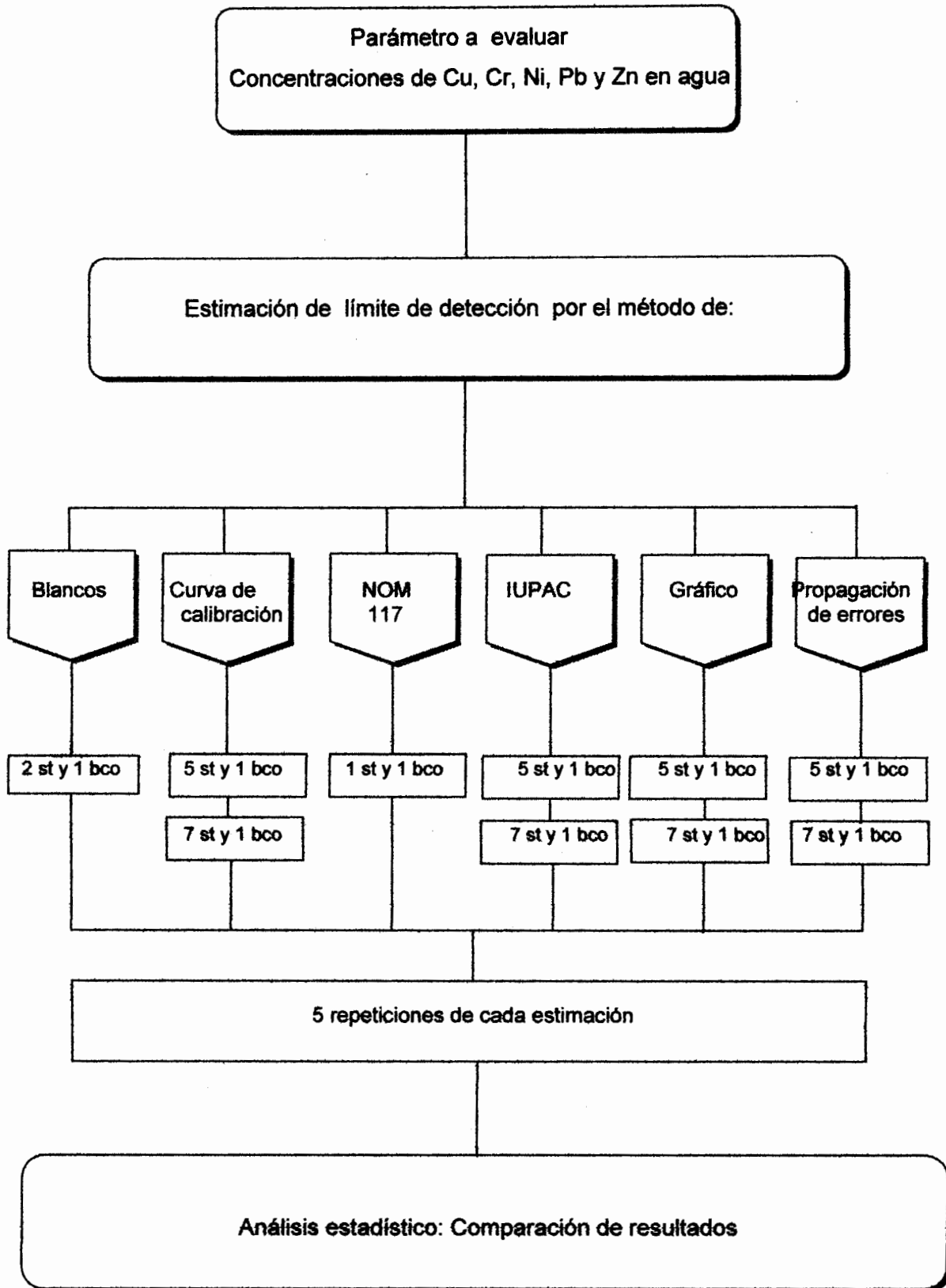
Cuadro 5.1 Condiciones de operación del espectrofotómetro de absorción atómica PE AAnalyst 100

Elemento	Longitud de onda (nm)	Slit (nm)	Gases de flama
Cr	357.9	0.7	Aire / acetileno
Cu	324.8	0.7	Aire / acetileno
Ni	232.0	0.2	Aire / acetileno
Pb	283.3	0.7	Aire / acetileno
Zn	213.9	0.7	Aire / acetileno

2.8 Manejo de Residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con la Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-93, que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

3. Diseño experimental



3.1 Método de blancos.

En el Cuadro 5.2 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección por el método de blancos.

Cuadro 5.2. Estimación del límite de detección por el método de blancos.

COMPUESTO: _____
 TECNICA: AA flama
 LONG. ONDA: _____ nm
 Concentración mg/L

FECHA: _____

St-1(5LD)= _____ mg/L
 St-2(2St1)= _____ mg/L
 Unidades: mg/L

	BCO 1	ST 1	[ST1-BCOP1]
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
Promedios			Xcorr-1
SD			SDcorr-1

	BCO 2	ST 2	[ST2-BCOP2]
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
Promedios			Xcorr-2
SD			SDcorr-2

IGUALES ?
 $X_{corr-1} - X_{corr-2} =$
 $St-1 - St-2 =$

NO: REPETIR

SI: CONTINUAR

$C_{LD 1} =$
$C_{LD 2} =$

$C_{LD 1} =$
$C_{LD 2} =$

$C_{LD 1} =$
$C_{LD 2} =$

$C_{LD} = \frac{[St] \cdot 2 \cdot SD_{corr}}{X_{corr}}$


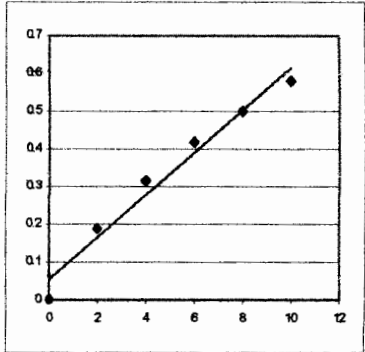
Límite de detección $C_{LD} =$



3.2 Método de curva de calibración

En el cuadro 5.3 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección por el método de curva de calibración.


Cuadro 5.3. Estimación del límite de detección por el método de curva de calibración.

CURVAS DE CALIBRACION		FECHA: _____																															
COMPUESTO: _____																																	
TECNICA:	AA flame																																
LONG. ONDA:	_____ nm																																
Concentración	mg/L																																
CURVA DE CALIBRACION																																	
Conc.	<table border="1" style="width: 100%; height: 40px;"> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>																																
Señal 1																																	
Señal 2																																	
Señal 3																																	
media	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>																																
sd	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>																																
%c.v.	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </table>																																
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th>conc. mg/L</th> <th>Abs</th> <th>Abs'</th> <th>(A-A')²</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td>2</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td>3</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td>4</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td>5</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td>6</td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>						conc. mg/L	Abs	Abs'	(A-A') ²	1				2				3				4				5				6			
conc. mg/L	Abs	Abs'	(A-A') ²																														
1																																	
2																																	
3																																	
4																																	
5																																	
6																																	
SUM(A-A') ² =			$r =$ <input style="width: 50px;" type="text"/>																														
ABS MIN=			t_{α} <input style="width: 50px;" type="text"/> n <input style="width: 50px;" type="text"/> N <input style="width: 50px;" type="text"/>																														
$C_{LD} = \frac{Y_{MIN} - a}{b}$			$S_{xy} =$ <input style="width: 50px;" type="text"/> $Y_{min} =$ <input style="width: 50px;" type="text"/> $C_{LD} =$ <input style="width: 50px;" type="text"/> $C_{LC} =$ <input style="width: 50px;" type="text"/>																														
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> Límite de detección $C_{LD} =$ </div>																																	

3.3 Método de la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994.

En el cuadro 5.4 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección usando un blanco de reactivos fortificado con una concentración del analito equivalente de 2 a 5 veces el límite de detección estimado, el cual se calcula con un intervalo de confianza de 99% y una desviación estándar estimada para n-1 grados de libertad, Método establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994.

Cuadro 5.4 Estimación del límite de detección por el método de blanco de reactivos fortificado.

COMPUESTO:		FECHA:		
TECNICA:	AA flama			
LONG. ONDA:		nm		
Concentración		mg/L		

Bco. Fortificado	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
Promedio	
sd	

$$C_{LD} = t * sd$$

$$t = 3.14 \text{ para } 7 \text{ réplicas}$$


$$C_{LD} = SD t$$

Límite de detección C_{LD} =

3.4 Método de la IUPAC

En el cuadro 5.5 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección por el método que establece la IUPAC.

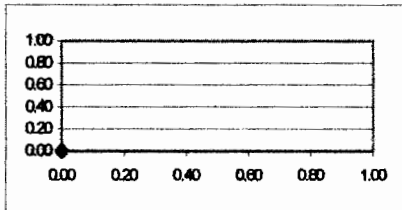
Cuadro 5.5. Estimación del límite de detección por el método de la IUPAC.

COMPUUESTO: _____	FECHA: _____	
TECNICA: AA flama		
LONG ONDA: _____ nm		
Concentración: mg/L		

Conc.									
Señal 1									
Señal 2									
Señal 3									

media									
SD									
%c.v.									

conc.		Abs		r =		b =		a =		N =	
	mg/L										
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
Media

$$CID = \frac{3SD_{Bco}}{b}$$

3.5 Método gráfico

En el cuadro 5.6 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección por el método gráfico.


Cuadro 5.6. Estimación del límite de detección por el método gráfico.

COMPUESTO: _____ FECHA: _____

TECNICA: AA flama

LONG. ONDA: _____ nm

Concentración mg/L



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
PROM
S _B

1				
2				
3				
4				
5				
6				
PROMEDIO		m		
SD		S _m		

Límite de detección CL

$$C_L = \frac{k s_B}{m \pm t_\alpha s_m}$$

$$C_L = \frac{3 s_B}{m \pm 2.447 s_m}$$

Límite de detección C_{LD} = _____

3.6 Método de propagación de errores

En el cuadro 5.7 se presenta el formato de registro de valores experimentales y los parámetros subsecuentes que se calculan a partir de los datos experimentales para la estimación del límite de detección por el método de propagación de errores.

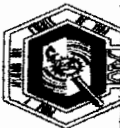
Cuadro 5.7. Estimación del límite de detección por el método de propagación de errores.

COMPUESTO: _____ FECHA: _____

TECNICA: AA flama

LONG. ONDA: _____ nm

Concentración mg/L



Lecturas de muestra	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
PROM	
S _B	

Curva de calibración					
	<i>i</i>	<i>m</i>			
1					
2					
3					
4					
5					
6					
PROMEDIO		<i>i</i>	<i>m</i>		
SD		S _i	S _m		

Límite de detección CL

$$C_L = \frac{3 \left[s_B^2 + s_i^2 + \left(\frac{i}{m} \right)^2 + s_m^2 \right]^{1/2}}{m}$$

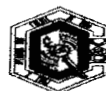
Límite de detección C_{LD} = _____

VI. RESULTADOS

En los siguientes cuadros se muestran los resultados para cada metal de las diferentes estimaciones del Límite de detección por los métodos de: Blancos, Curva de calibración, Blanco fortificado (establecido de la Norma Oficial Mexicana 117), Método gráfico y de Propagación de errores, una tabla de los valores de absorbancia calculados con base en el límite de detección estimado, una del análisis de varianza realizado de cada metal para saber si existe una diferencia significativa entre los distintos métodos y la prueba de Tukey-Kramer para saber entre cuales existe diferencia.

Cuadro 6.1 Resultados de Límites de detección en mg/L para el cobre por diferentes métodos de estimación.

COMPUESTO: Cu											
TÉCNICA: AA flama											
LONG. ONDA: 324.8 nm											
LD (mg/L)											
	Blancos		Curva de calibración				Blanco fortificado		Método gráfico		Propagación de errores
	LD	SD	LD	SD	LD	SD	LD	SD	LD	SD	
1	0.11900	0.14340	0.03970	0.00153	0.02299	0.02218	0.02484	0.02485	0.05074	0.04111	
2	0.02223	0.16070	0.03690	0.00217	0.02289	0.02193	0.02472	0.02454	0.05637	0.04051	
3	0.11615	0.16330	0.03110	0.00283	0.02205	0.02114	0.02375	0.02355	0.05427	0.03901	
4	0.01202	0.15650	0.02790	0.00433	0.02209	0.02122	0.02379	0.02366	0.05438	0.03921	
5	0.02590	0.21370	0.04290	0.00217	0.02145	0.02022	0.02306	0.02241	0.05306	0.03731	
6	0.12580	0.19580	0.04070	0.00256	0.02151	0.02043	0.02313	0.02267	0.05335	0.03781	
LD x	0.07018	0.17223	0.03653	0.00260	0.02216	0.02119	0.02388	0.02361	0.05489	0.03911	
SD	0.05519	0.02671	0.00587	0.00096	0.00065	0.00078	0.00076	0.00097	0.00153	0.00141	
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con siete estándares fueron respectivamente: 0.00138 y 0.00062 para la ordenada y 0.07452 y 0.00275 para la pendiente.											
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con cinco estándares fueron respectivamente: 0.00528 y 0.00118 para la ordenada y 0.07120 y 0.00209 para la pendiente.											



Cuadro 6.2. Valores de absorbancia mínima del cobre esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección.

COMPUESTO:	Cu
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	324.8 nm



Método de estimación	LD estimado (mg/L)	Abs. mínima esperada
Blancos	0.07018	0.007
Curva de cal. 8 st	0.17223	0.014
Curva de cal. 6 st	0.03653	0.008
NOM-117	0.00260	0.002
IUPAC 8 st	0.02216	0.007
IUPAC 6 st	0.02119	0.003
Gráfico 8 st	0.02388	0.007
Gráfico 6 st	0.02361	0.003
Errores 8 st	0.05469	0.009
Errores 6 st	0.03919	0.004

Cuadro 6.3. Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del cobre calculados por diferentes métodos de estimación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Métodos de estimación	0.124712	9	0.013857	36.44
Error	0.019011	50	0.000380	
Total	0.143723	59		

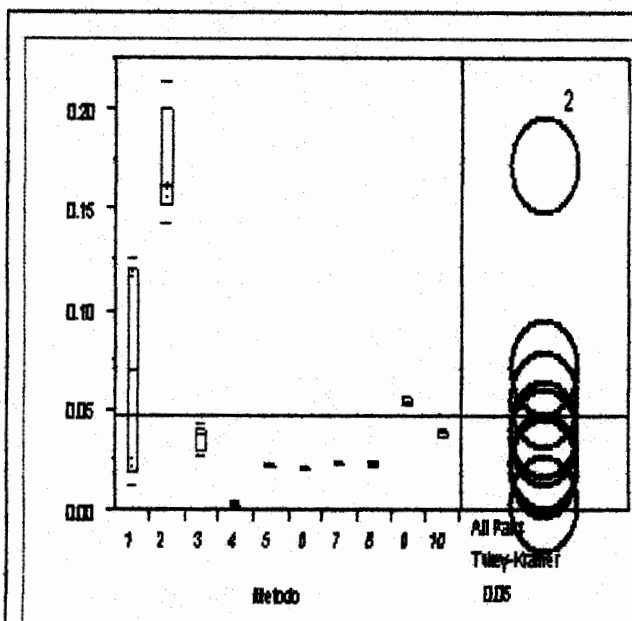
Ho: Los métodos probados de estimación para el límite de detección generan resultados iguales

Ha: Al menos dos de los métodos probados de estimación para el límite de detección no generan resultados iguales

$\alpha = 0.05$

Región crítica: $f > 2.04$ con $v_1 = 9$ y $v_2 = 50$ grados de libertad

$36.44 > 2.04$ Se rechaza Ho y se concluye que los métodos de estimación no generan resultados iguales



Comparación de todos los pares usando Tukey-Kramer

q^*

3.34028

Abs (0) - LSD	2	1	9	10	3	7	8	5	6	4
2	-0.03727	0.064783	0.080271	0.096778	0.098433	0.111005	0.111353	0.112803	0.113780	0.132368
1	0.064783	-0.03727	-0.02178	-0.00627	-0.00362	0.009036	0.009303	0.010753	0.011730	0.030318
9	0.080271	-0.02178	-0.03727	-0.02176	-0.01911	-0.00645	-0.00619	-0.00474	-0.00396	0.014830
10	0.096778	-0.00627	-0.02176	-0.03727	-0.03461	-0.02196	-0.02169	-0.00024	-0.01927	-0.00068
3	0.098433	-0.00362	-0.01911	-0.03461	-0.03727	-0.02462	-0.02435	-0.02229	-0.02192	-0.00333
7	0.111005	0.009036	-0.00645	-0.02196	-0.02462	-0.03727	-0.037	-0.03665	-0.03457	-0.01688
8	0.111353	0.009303	-0.00619	-0.02169	-0.02435	-0.037	-0.03727	-0.03682	-0.03484	-0.01625
5	0.112803	0.010753	-0.00474	-0.00024	-0.02229	-0.03665	-0.03682	-0.03727	-0.03629	-0.01777
6	0.113780	0.011730	-0.00396	-0.01927	-0.02192	-0.03457	-0.03484	-0.03629	-0.03727	-0.01688
4	0.132368	0.030318	0.014830	-0.00068	-0.00333	-0.01688	-0.01625	-0.01777	-0.01688	-0.03727

Los valores positivos muestran los pares de medias (LD) que son significativamente diferentes

1. Blancos 2. Curva de calibración 8st 3. curva de calibración 6st 4. NOAA-117 5. IUPAC 8st 6. IUPAC 6st 7. Grafico 8st 8. Grafico 6st
 9. Propagacion de errores 8st 10. Propagacion de errores 6st.

Figura 6.1 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del cobre estimados por diferentes métodos.

Cuadro 6.4. Resultados de límites de detección en mg/L para el cromo por diferentes métodos de estimación

COMPUESTO: Cr											
TÉCNICA: AA flama											
LONG. ONDA: 357.9 nm											
LD (mg/L)											
1	0.12190	0.53190	0.43740	0.00528	0.07003	0.07054	0.08627	0.11550	0.30490	0.18566	
2	0.13320	0.43770	0.36880	0.00646	0.07810	0.07020	0.10281	0.11459	0.34155	0.17084	
3	0.11900	0.37270	0.28500	0.00349	0.08395	0.08696	0.11320	0.16720	0.35897	0.21144	
4	0.10390	0.17400	0.18350	0.00400	0.08722	0.08801	0.11923	0.17113	0.37313	0.21091	
5	0.11150	0.47200	0.32610	0.00356	0.07105	0.06251	0.09094	0.09544	0.31264	0.15220	
LD x	0.11784	0.39766	0.32016	0.00455	0.07807	0.07564	0.10309	0.13277	0.33818	0.18627	
SD	0.01102	0.13766	0.09495	0.00128	0.00762	0.01128	0.01324	0.03420	0.02934	0.02569	
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con siete estándares fueron respectivamente: 0.00754 y 0.00402 para la ordenada y 0.03760 y 0.0036 para la pendiente.											
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con cinco estándares fueron respectivamente: 0.00574 y 0.00201 para la ordenada y 0.03620 y 0.00579 para la pendiente.											

Cuadro 6.5. Valores de absorbancia mínima del cromo esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección.

COMPUESTO: Cr			
TÉCNICA: AA flama			
LONG. ONDA: 357.9 nm			
Método de estimación	LD estimado (mg/L)	Abs. mínima esperada	
Blancos	0.11784	0.010	
Curva de cal. 8 st	0.39766	0.021	
Curva de cal. 6 st	0.32016	0.020	
NOM-117	0.00455	0.006	
IUPAC 8 st	0.07807	0.010	
IUPAC 6 st	0.07564	0.009	
Gráfico 8 st	0.10309	0.011	
Gráfico 6 st	0.13277	0.011	
Errores 8 st	0.33818	0.020	
Errores 6 st	0.18627	0.013	

Cuadro 6.6. Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del cromo calculados por diferentes métodos de estimación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Métodos de estimación	0.77971	9	0.08663	27.82
Error	0.12455	40	0.00311	
Total	0.90426	49		

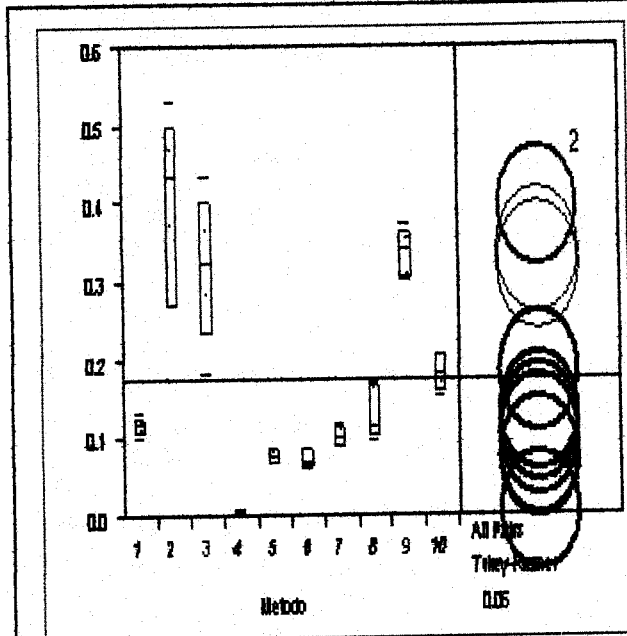
H₀: Los métodos probados de estimación para el límite de detección generan resultados iguales

H_a: Al menos dos de los métodos probados de estimación para el límite de detección no generan resultados iguales

$\alpha = 0.05$

Región crítica: $f > 2.12$ con $v_1 = 9$ y $v_2 = 40$ grados de libertad

27.82 > 2.12 Se rechaza H₀ y se concluye que los métodos de estimación no generan resultados iguales



Comparación de todos los pares usando Tukey-Kramer

q^*
3.34782

Método (LSD)	2	9	3	10	8	1	7	5	6	4
2	-0.11815	-0.05867	-0.04085	0.093241	0.146739	0.161671	0.176421	0.201351	0.233867	0.274857
9	-0.05867	-0.11815	-0.10213	0.033939	0.087257	0.102189	0.116939	0.141869	0.144385	0.215475
3	-0.04085	-0.10213	-0.11815	0.016741	0.069239	0.084171	0.098921	0.123851	0.126367	0.197457
10	0.093241	0.033939	0.016741	-0.11815	-0.05465	-0.04972	-0.03467	-0.01004	-0.00752	0.053967
8	0.146739	0.087257	0.069239	-0.05465	-0.11815	-0.10322	-0.08847	-0.05354	-0.05102	0.010089
1	0.161671	0.102189	0.084171	-0.04972	-0.10322	-0.11815	-0.1034	-0.07847	-0.07695	-0.04485
7	0.176421	0.116939	0.098921	-0.03467	-0.08847	-0.1034	-0.11815	-0.09322	-0.0907	-0.01961
5	0.201351	0.141869	0.123851	-0.01004	-0.05354	-0.07847	-0.09322	-0.11815	-0.11553	-0.04454
6	0.233867	0.144385	0.126367	-0.00752	-0.05102	-0.07695	-0.0907	-0.11553	-0.11815	-0.04705
4	0.274857	0.215475	0.197457	0.053967	0.010089	-0.04485	-0.01961	-0.04454	-0.04705	-0.11815

Los valores positivos muestran los pares de medias (LD) que son significativamente diferentes

1. Blancos 2. Curva de calibración 8st 3. curva de calibración 6st 4. NOM-117 5. IUPAC 8st 6. IUPAC 8st 7. Grafico 8st 8. Grafico 6st
9. Propagación de errores 8st 10. Propagación de errores 6st

Figura 6.2 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del cromo estimados por diferentes métodos.

Cuadro 6.7. Resultados de Límites de detección en mg/L para el níquel por diferentes métodos de estimación

COMPUESTO:	Ni
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	232 nm



Método de estimación	LD (mg/L)		LD (mg/L)		LD (mg/L)		LD (mg/L)		LD (mg/L)	
	8 st	6 st	8 st	6 st	8 st	6 st	8 st	6 st	8 st	6 st
1	0.03600	0.13300	0.04400	0.07607	0.05660	0.05433	0.06307	0.06680	0.07915	0.12000

2	0.11340	0.14960	0.10480	0.00237	0.05581	0.05391	0.06079	0.05934	0.07485	0.12266
3	0.25760	0.15150	0.05190	0.00153	0.05801	0.05611	0.06341	0.06202	0.07755	0.12761
4	0.13730	0.15540	0.05100	0.00382	0.05801	0.05596	0.06341	0.06184	0.07753	0.12775
5	0.12150	0.13760	0.05190	0.00336	0.05833	0.05611	0.06381	0.06202	0.07799	0.12761
6	0.15650	0.14520	0.04310	0.00480	0.05349	0.05161	0.05805	0.05657	0.07149	0.11737

LD x	0.14705	0.14547	0.06627	0.00364	0.05660	0.05467	0.06174	0.06027	0.07576	0.12445
SD	0.05796	0.00845	0.02641	0.00161	0.00188	0.00178	0.00223	0.00216	0.00248	0.00412

Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con siete estándares fueron respectivamente: 0.00248 y 0.00060 para la ordenada y 0.03642 y 0.001246 para la pendiente.

Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con cinco estándares fueron respectivamente: 0.00152 y 0.00140 para la ordenada y 0.03770 y 0.00126 para la pendiente.

Cuadro 6.8. Valores de absorbancia mínima del níquel esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección.

COMPUESTO:	Ni
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	232 nm



Método de estimación	LD estimado (mg/L)	Abs. mínima esperada
Blancos	0.14705	0.007
Curva de cal. 8 st	0.14547	0.007
Curva de cal. 6 st	0.06627	0.005
NOM-117	0.00364	0.002
IUPAC 8 st	0.05660	0.005
IUPAC 6 st	0.05467	0.004
Gráfico 8 st	0.06154	0.005
Gráfico 6 st	0.06118	0.004
Errores 8 st	0.07392	0.005
Errores 6 st	0.11716	0.006

Cuadro 6.9. Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del níquel calculados por diferentes métodos de estimación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Métodos de estimación	0.108522	9	0.012058	28.93
Error	0.020843	50	0.000417	
Total	0.129365	59		

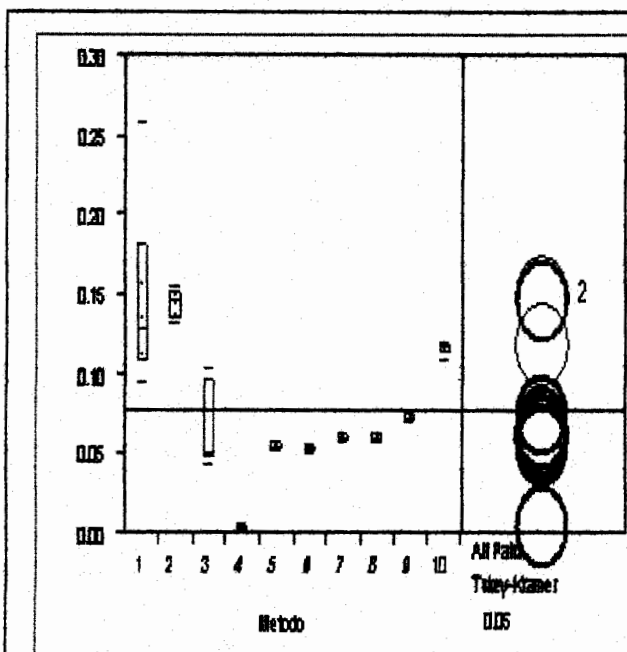
H₀: Los métodos probados de estimación para el límite de detección generan resultados iguales

H_a: Al menos dos de los métodos probados de estimación para el límite de detección no generan resultados iguales

$\alpha = 0.05$

Región crítica: $f > 2.04$ con $v_1 = 9$ y $v_2 = 50$ grados de libertad

28.93 > 2.04 Se rechaza H₀ y se concluye que los métodos de estimación no generan resultados iguales



Comparación de todos los pares usando Tukey-Kramer

q'
3.31028

Abc (0.1)-LSD	1	2	10	9	3	7	8	5	6	4
1	-0.03902	-0.03744	-0.03913	0.034107	0.041762	0.046489	0.046849	0.051397	0.053357	0.104387
2	-0.03744	-0.03902	-0.01072	0.032524	0.040179	0.044905	0.045265	0.049814	0.051774	0.102804
10	-0.03913	-0.01072	-0.03902	0.004219	0.011874	0.016900	0.016960	0.021509	0.023469	0.074489
9	0.034107	0.032524	0.004219	-0.03902	-0.03137	-0.02864	-0.02628	-0.02173	-0.01977	0.031289
3	0.041762	0.040179	0.011874	-0.03137	-0.03902	-0.03429	-0.03393	-0.02939	-0.02743	0.023604
7	0.046489	0.044905	0.016900	-0.02864	-0.03429	-0.03902	-0.03886	-0.03411	-0.03215	0.016877
8	0.046849	0.045265	0.016960	-0.02628	-0.03393	-0.03886	-0.03902	-0.03447	-0.03251	0.016817
5	0.051397	0.049814	0.021509	-0.02173	-0.02939	-0.03411	-0.03447	-0.03902	-0.03705	0.013969
6	0.053357	0.051774	0.023469	-0.01977	-0.02743	-0.03215	-0.03251	-0.03705	-0.03902	0.012009
4	0.104387	0.102804	0.074489	0.031289	0.023604	0.016877	0.016817	0.013969	0.012009	-0.03902

Los valores positivos muestran los pares de medias (LD) que son significativamente diferentes

1. Blancos 2. Curva de calibración 8st 3. curva de calibración 6st 4. NOM-117 5. IUPAC 8st 6. IUPAC 6st 7. Grafico 8st 8. Grafico 6st
9. Propagación de errores 8st 10. Propagación de errores 6st.

Figura 6.3 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del níquel estimados por diferentes métodos.

Cuadro 6.10. Resultados de Límites de detección en mg/L para el plomo por diferentes métodos de estimación

COMPUESTO:	Pb
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	283.3 nm



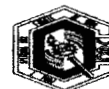
	1	2	3	4	5	LD x	SD				
	0.13790	0.42830	0.26720	0.00153	0.25414	0.23080	0.33920	0.37437	0.25623	0.1015	
	0.18910	0.35350	0.30920	0.00217	0.24855	0.22618	0.32933	0.36238	0.24987	0.0981	
	0.12460	0.21020	0.21270	0.00168	0.31856	0.31856	0.46463	0.67686	0.31916	0.1525	
	0.14200	0.63360	0.27620	0.00256	0.30157	0.26300	0.42935	0.46716	0.32496	0.1204	
	0.13120	0.53020	0.39530	0.00349	0.30157	0.30984	0.30166	0.31005	0.29933	0.1344	
LD x	0.14496	0.43116	0.29212	0.00229	0.28488	0.26968	0.37283	0.43816	0.29031	0.1214	
SD	0.02555	0.16252	0.06730	0.00079	0.03145	0.04316	0.07020	0.14495	0.03457	0.0227	

Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con siete estándares fueron respectivamente: 0.0014 y 0.00075 para la ordenada y 0.00802 y 0.00091 para la pendiente.

Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con cinco estándares fueron respectivamente: 0.00052 y 0.00033 para la ordenada y .00856 y 0.00135 para la pendiente.

Cuadro 6.11. Valores de absorbancia mínima del plomo esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección.

COMPUESTO:	Pb
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	283.3 nm



Método de estimación	LD estimado (mg/L)	Abs. mínima esperada
Blancos	0.14496	0.002
Curva de cal. 8 st	0.43116	0.004
Curva de cal. 6 st	0.29212	0.004
NOM-117	0.00229	0.001
IUPAC 8 st	0.28488	0.004
IUPAC 6 st	0.26968	0.003
Gráfico 8 st	0.37283	0.004
Gráfico 6 st	0.43816	0.004
Errores 8 st	0.29031	0.004
Errores 6 st	0.12141	0.002

Cuadro 6.12 Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del plomo calculados por diferentes métodos de estimación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Métodos de estimación	9.1311	9	1.0146	67.87
Error	0.5980	40	0.0149	
Total	9.7291	49		

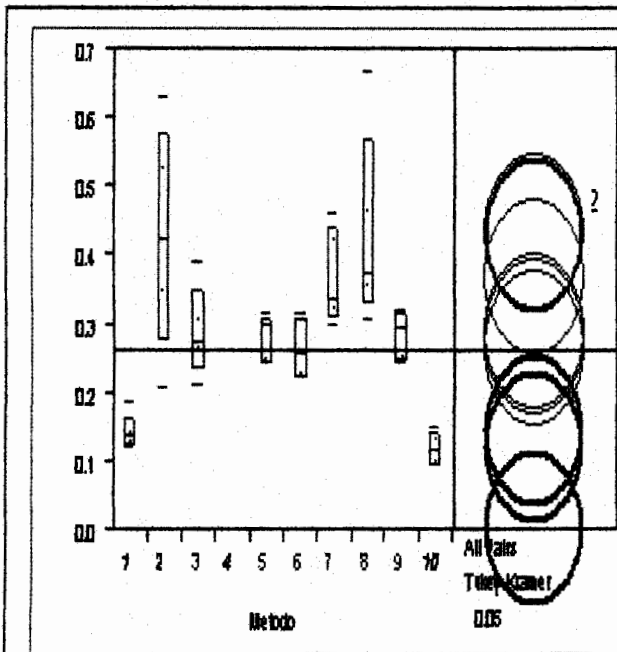
H₀: Los métodos probados de estimación para el límite de detección generan resultados iguales

H_a: Al menos dos de los métodos probados de estimación para el límite de detección no generan resultados iguales

$\alpha = 0.05$

Región crítica: $f > 2.12$ con $v_1 = 9$ y $v_2 = 40$ grados de libertad

$67.87 > 2.12$ Se rechaza H₀ y se concluye que los métodos de estimación no generan resultados iguales



q^*
3.34782

Comparación de todos los pares usando Tukey-Kramer

Abr (Dij)-LSD	8	2	7	3	9	5	6	1	10	4
8	-0.16885	-0.16885	-0.10152	-0.02081	-0.019	-0.01357	0.001634	0.126380	0.148904	0.269024
2	-0.16885	-0.16885	-0.10853	-0.02781	-0.026	-0.02057	-0.00537	0.119346	0.142900	0.262020
7	-0.10152	-0.10853	-0.16885	-0.08514	-0.08433	-0.0789	-0.0837	0.051020	0.084574	0.203684
3	-0.02081	-0.02781	-0.08514	-0.16885	-0.16804	-0.15961	-0.14441	-0.01969	0.003860	0.122980
9	-0.019	-0.026	-0.08433	-0.16804	-0.16885	-0.16142	-0.14622	-0.0215	0.002050	0.121170
5	-0.01357	-0.02057	-0.0789	-0.15961	-0.16142	-0.16885	-0.15165	-0.02894	-0.00338	0.115738
6	0.001634	-0.00537	-0.0837	-0.14441	-0.14622	-0.15165	-0.16885	-0.04214	-0.01858	0.00536
1	0.126380	0.119346	0.051020	-0.01969	-0.0215	-0.02894	-0.04214	-0.16885	-0.1433	-0.02418
10	0.148904	0.142900	0.084574	0.003860	0.002050	-0.00338	-0.01858	-0.1433	-0.16885	-0.04773
4	0.269024	0.262020	0.203684	0.122980	0.121170	0.115738	0.00536	-0.02418	-0.04773	-0.16885

Los valores positivos muestran los pares de medias (LD) que son significativamente diferentes

1. Blancos 2. Curva de calibración 8st 3. curva de calibración 6st 4. NOM-117 5. IUPAC 8st 6. IUPAC 6st 7. Grafico 8st 8. Grafico 6st
9. Propagación de errores 8st 10. Propagación de errores 6st

Figura 6.4 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del plomo estimados por diferentes métodos.

Cuadro 6.13 Resultados de límites de detección en mg/L para el zinc por diferentes métodos de estimación

LD (mg/L)										
Blancos Curva de calibración NOM-117 IUPAC Gráfico Propagación de errores										
	8 st		6 st		8 st		6 st		8 st	
1	0.03300	0.05680	0.02500	0.00475	0.04482	0.04140	0.04565	0.04347	0.04706	0.09106
2	0.03470	0.05570	0.02460	0.00439	0.04495	0.04154	0.04569	0.04361	0.04709	0.09135
3	0.02490	0.07330	0.06560	0.00460	0.04520	0.04183	0.04594	0.04394	0.04736	0.09200
4	0.03070	0.06080	0.02500	0.00671	0.04486	0.04140	0.04559	0.04347	0.04700	0.09113
5	0.02390	0.07960	0.02630	0.00719	0.04440	0.04005	0.04512	0.04198	0.04652	0.08808
LDx	0.02944	0.06524	0.03330	0.00553	0.04487	0.04124	0.04560	0.04329	0.04701	0.09072
SD	0.00483	0.01064	0.01807	0.00132	0.00029	0.00069	0.00030	0.00076	0.00031	0.00152
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con siete estándares fueron respectivamente: 0.00462 y 0.00068 para la ordenada y 0.14488 y 0.00095 para la pendiente.										
Los valores promedio y la desviación estándar de las curvas de calibración con cinco estándares fueron respectivamente: 0.0396 y 0.00424 para la ordenada y 0.15764 y 0.00269 para la pendiente.										

Cuadro 6.14 Valores de absorbancia mínima del zinc esperados según los diferentes métodos de estimación del límite de detección.

COMPUESTO:	Zn
TÉCNICA:	AA flama
LONG. ONDA:	213.9 nm



Método de estimación	LD estimado (mg/L)	Abs. mínima esperada
Blancos	0.02944	0.008
Curva de cal. 8 st	0.06524	0.014
Curva de cal. 6 st	0.03330	0.009
NOM-117	0.00553	0.004
IUPAC 8 st	0.04487	0.011
IUPAC 6 st	0.04124	0.010
Gráfico 8 st	0.04560	0.011
Gráfico 6 st	0.04329	0.010
Errores 8 st	0.04701	0.011
Errores 6 st	0.09072	0.018

Cuadro 6.15 Análisis de variancia Diseño Completamente Aleatorizado para los datos de límite de detección del zinc calculados por diferentes métodos de estimación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Métodos de estimación	0.02228	9	0.00247	52.87
Error	0.00187	40	0.00004	
Total	0.02416	49		

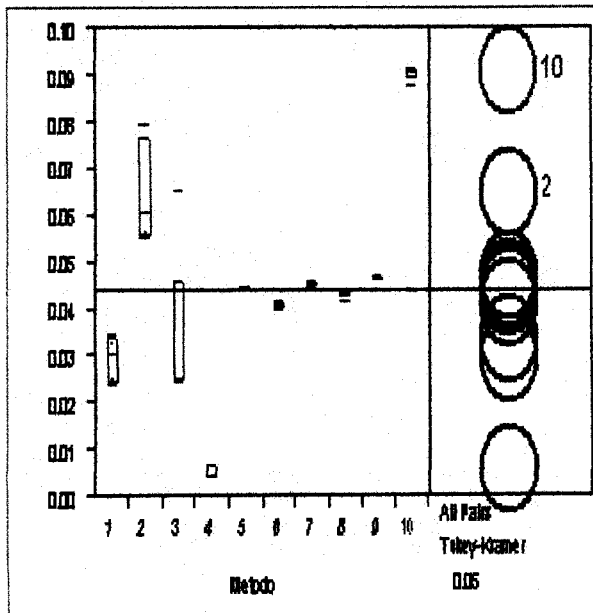
H₀: Los métodos probados de estimación para el límite de detección generan resultados iguales

H_a: Al menos dos de los métodos probados de estimación para el límite de detección no generan resultados iguales

$\alpha = 0.05$

Región crítica: $f > 2.12$ con $v_1 = 9$ y $v_2 = 40$ grados de libertad

$52.87 > 2.12$ Se rechaza H₀ y se concluye que los métodos de estimación no generan resultados iguales



Comparación de todos los pares usando Tukey-Kramer

q'

3.34782

Método (Dij)-LSD	10	2	9	7	5	8	6	3	1	4
10	-0.01449	0.010993	0.029227	0.030636	0.031367	0.032939	0.034989	0.042933	0.046793	0.070705
2	0.010993	-0.01449	0.033743	0.005151	0.005883	0.007455	0.009405	0.017449	0.021309	0.045221
9	0.029227	0.033743	-0.01449	-0.01308	-0.01236	-0.01078	-0.00873	-0.00079	0.003075	0.026987
7	0.030636	0.005151	-0.01308	-0.01449	-0.01376	-0.01219	-0.01014	-0.00219	0.001667	0.025579
5	0.031367	0.005883	-0.01236	-0.01376	-0.01449	-0.01292	-0.01087	-0.00293	0.000935	0.024947
8	0.032939	0.007455	-0.01078	-0.01219	-0.01292	-0.01449	-0.01244	-0.0045	-0.00064	0.023275
6	0.034989	0.009405	-0.00873	-0.01014	-0.01087	-0.01244	-0.01449	-0.00665	-0.00269	0.021225
3	0.042933	0.017449	-0.00079	-0.00219	-0.00293	-0.0045	-0.00665	-0.01449	-0.01063	0.013281
1	0.046793	0.021309	0.003075	0.001667	0.000935	-0.00064	-0.00269	-0.01063	-0.01449	0.009421
4	0.070705	0.045221	0.026987	0.025579	0.024947	0.023275	0.021225	0.013281	0.009421	-0.01449

Los valores positivos muestran los pares de medias (LD) que son significativamente diferentes

1. Blancos 2. Curva de calibración 8st 3. curva de calibración 6st 4. NOM-117 5. IUPAC 8st 6. IUPAC 6st 7. Grafico 8st 8. Grafico 6st
9. Propagacion de errores 8st 10. Propagacion de errores 6st.

Figura 6.5 Prueba de Tukey-Kramer HSD (Honestly significant difference) de los límites de detección del zinc estimados por diferentes métodos

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El límite de detección es útil en las siguientes situaciones:

- Si se conoce de antemano a que nivel de concentración se encuentra el analito en un determinado tipo de muestra, para decidir qué métodos analíticos son adecuados y cuáles no.
- Para comparar métodos, en lo que se refiere a sus capacidades para detectar y determinar diferentes intervalos de concentraciones.
- Para interpretar correctamente un resultado negativo. Cuando se informa un resultado negativo, no se está diciendo que el analito no se encuentra en la muestra, sino que está en concentración inferior al límite de detección del método. El informe no debe decir “no existe”, sino “no se detecta”, indicando al mismo tiempo el límite de detección del método.

El límite de detección puede ser usado en dos sentidos:

- Como una medida cuantitativa para expresar la concentración más baja del intervalo sobre el cual, una técnica o un instrumento, en condiciones específicas, puede ser usado para el análisis de una especie en particular. De esta manera, el límite de detección es un criterio que puede ser usado para elegir entre dos técnicas para el análisis de una especie dada cuando se requiere determinar cantidades o concentraciones muy pequeñas, como es el caso de los análisis de tipo ambiental, (aunque no es el único criterio).
- Para decidir si el analito está presente en la muestra. Si el análisis de una muestra desconocida da un valor mayor que el límite de detección, el analito es detectado con un nivel de confianza $(1-\alpha)$. Si da un valor menor que el límite de detección se puede decir que el analito no fue detectado, aunque esto no significa que no está presente.

Es bien sabido que cuando un laboratorio utiliza un método dado, puede obtener una precisión al aplicarlo al análisis de soluciones estándares y otra cuando lo aplica a muestras reales. No es de sorprender entonces que el límite de detección determinado con base en medidas repetidas en los testigos no siempre sea el mismo que se obtiene cuando se analizan muestras reales. Sin embargo, si bien pudiera ser sencillo determinar la precisión en las muestras reales, cuando éstas presentan por ejemplo sustancias de interferencia (es decir que la muestra y el testigo presentan error sistemático uno con respecto al otro) no es tan sencillo determinar el límite de detección. A pesar de las limitaciones del concepto, en la práctica aún es de utilidad si se emplea al momento de determinar la precisión de las medidas de soluciones estándares.

Resulta importante entonces enmarcar el problema del límite de detección dentro de una perspectiva en términos de las necesidades analíticas reales, es decir, se deben establecer objetivos analíticos para cada programa de medida. Estas metas incluyen la necesidad de definir el parámetro que se va a medir, la exactitud requerida y el límite de detección que se necesita. Dicho de otro modo, el límite de detección requerido deberá distinguirse del límite de detección experimental.

En general, para cualquier método de estimación, resultan de gran influencia los siguientes factores:

- La preparación de estándares, (la incertidumbre de las pipetas y el aforo de los matraces volumétricos empleados).
- Optimización del equipo: alineación del haz de la lámpara, el ajuste del quemador, el flujo de los gases y de aspiración de la muestra, lo que resulta en una buena o mala cantidad de atomización.

Las capacidades de detección de un método dependen de su capacidad para diferenciar la señal del analito del ruido de fondo generado en el propio proceso analítico.

La capacidad de un método para discriminar entre muestras que contienen un analito y muestras que no lo contienen es, por una parte, la magnitud del ruido superpuesto a la respuesta, y por otra, la sensibilidad del método. Así pues, en cuanto menor sea el ruido y mayor la sensibilidad del método, mayor será su capacidad para discriminar entre el blanco y las muestras o los estándares de baja concentración.

En los resultados obtenidos puede observarse que de los métodos probados para estimar el límite de detección, el de la curva de calibración y propagación de errores, calculados ambos con ocho estándares, son los que dan valores más altos de límites de detección.

El análisis de variancia en una sola dirección-Diseño Completamente Aleatorizado muestra que los métodos de estimación para el cálculo del límite de detección son significativamente diferentes. Y con la prueba de Tukey-Kramer, al hacer las comparaciones entre las diferentes estimaciones, se confirma que el método que resulta significativamente diferente es el de la curva de calibración con siete estándares.

Este método se ve influenciado en gran medida por la linealidad obtenida, la cual es inversamente proporcional al límite de detección, es decir, a mayor coeficiente de correlación menor límite de detección. Y depende también del intervalo de concentraciones en que se trabaje, entre más pequeño sea el intervalo, el límite disminuye, esto se observa al comparar los valores obtenidos para cada metal con cinco y siete estándares.

A medida que la desviación estándar (S_{xy} , la cual depende de la diferencia entre el valor leído de los estándares y el valor calculado a partir de la ecuación de la recta) disminuye, proporciona valores menores de $y_{\text{mínima}}$ y por lo tanto el límite de detección también disminuye. La ordenada al origen (valor de la absorbancia cuando la concentración es cero, es decir de un blanco de reactivos, por ejemplo de HNO_3 al 3%) de igual forma, se relaciona inversamente con el límite de detección, considerando también que ésta depende en parte de la variación propia del equipo.

A diferencia de la curva de calibración, el método de blancos puede detectar valores más pequeños del límite. Los valores extremos obtenidos por el método de blancos fueron 0.029 con siete estándares 0.065 para el zinc y 0.431 para el plomo; sin embargo esto es así porque el método de blancos no considera las variaciones normales que se pueden presentar en la lectura de una muestra.

Este método se basa en las medidas del blanco y de estándares con bajos niveles de concentración. Por ello, es imprescindible definir bien que se entiende por blanco. Una posibilidad es el blanco de reactivos, que contiene todos los reactivos y disolventes utilizados en la preparación de los estándares para la obtención de la curva de calibración. Este blanco no sigue todas las etapas del proceso analítico y por ello, puede no contener algunos de los reactivos utilizados en la preparación de la muestra que hayan sido eliminados en etapas anteriores a la medición de la señal. Las medidas realizadas con este tipo de disoluciones estarán libres de las variaciones debidas a dichas operaciones y reactivos. Por consiguiente, su variación será inferior y conducirá a una estimación optimista del límite de detección. En realidad será el límite de detección de la etapa de la medida.

Siempre que sea posible se recomienda preparar un blanco siguiendo todas las etapas del proceso analítico con la consiguiente utilización de todos los reactivos y disolventes que intervienen en el mismo. Este blanco llevaría a una estimación más realista del límite de detección.

El método propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-117 para el cálculo del límite de detección, a partir de valores de t-Student, es el que proporciona los valores más bajos.

Dichos valores van de 0.002 a 0.005, lo que significa que para obtener estos valores las absorbancias requeridas se encuentran comprendidas en el intervalo de los valores de las lecturas del blanco o del ruido de fondo del equipo, lo cual en la práctica no resulta factible (Cuadros. 6.2, 6.5, 6.8, 6.11 y 6.14).

Además, este método no considera la variación del equipo, como el método de blancos, ni la influencia de la curva de calibración, de ahí los valores menores obtenidos, por lo que si se utiliza este método, al igual que con cualquier otro, se sugiere verificar con una disolución de la concentración calculada.

De los métodos hasta ahora mencionados, el de la IUPAC parece ser el más apropiado ya que toma en cuenta la sensibilidad (dada por la pendiente) y la variación del equipo o ruido de fondo (dados por la desviación estándar del blanco). En este contexto, merece una mención especial el documento "Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit" (Analytical Methods Committee, 1987). En el mismo se afirma que, teniendo en cuenta las dificultades inherentes a la estimación del límite de detección de un método de medida, tiene poco sentido definirlo estrictamente en términos de intervalos de confianza o intentar hacer una estimación muy precisa de los

mismos, por lo que propone mantener la definición establecida por la IUPAC en 1987, con $k=3$, como una aproximación útil y más sencilla.

Tomando como base el documento señalado en el párrafo anterior y con objeto de poner de manifiesto la influencia del laboratorio (analista, equipos, reactivos, condiciones ambientales, etc.) sobre el valor estimado del límite de detección, sería más apropiado designarlo como límite de detección del sistema analítico, en lugar de límite de detección del método analítico.

En la mayoría de las técnicas analíticas, para que las capacidades de detección de un método sean significativas para un laboratorio, es necesario expresarlas como concentración y no como una señal (absorbancia). Esto se logra mediante una curva de calibración que abarca un intervalo de señales que permita interpolar la señal que se requiere transformar en concentración. Es obvio, que los errores asociados a la estimación de los parámetros de esta curva se transmitirán inevitablemente a la estimación de la concentración del límite de detección. De lo anterior se deduce que el método de propagación de errores es bastante adecuado, ya que es el único que incluye la influencia de dichos errores.

Sin embargo, es preciso señalar que, generalmente, la influencia de los errores asociados a la estimación de los parámetros de la recta (curva de calibración) no se tiene en cuenta. Por otra parte, el error de la estimación del límite de detección sería mucho mayor si la magnitud de las concentraciones y las señales de la curva de calibración fuesen muy distintas de las correspondientes al límite de detección, ya que esto nos obligaría a hacer una extrapolación. Lo que significa que para transportar la señal del límite de detección a un valor de concentración es imprescindible preparar una recta de calibrado de bajas concentraciones.

Lo anterior significa que el método de propagación de errores al igual que el de la curva de calibración, dependen del intervalo de concentraciones en que se trabaje, entre más pequeño sea el intervalo el límite disminuye, esto se observa también al comparar los valores obtenidos con cinco y siete estándares.

VIII. CONCLUSIONES

- Existe diferencia significativa entre los distintos métodos de estimación del límite de detección.
- A fin de comparar los límites de detección de distintas técnicas o métodos, es imprescindible que cualquier valor propuesto de este parámetro vaya acompañado de la información pertinente respecto a su base conceptual y al procedimiento seguido en su estimación.
- Si se sabe de antemano que interesa o que se busca analizar concentraciones muy pequeñas (menor intervalo de trabajo), conviene entonces preparar la curva de calibración con patrones de bajas concentraciones y realizar la estimación mediante la propagación de errores (ya que la limitante de este método es trabajar con intervalos pequeños de concentración). Por otro lado, si la mayoría de las muestras se esperan con mayores concentraciones, o no se tiene idea de cuáles pudieran ser éstas, se recomienda el método de la IUPAC, ya que es el que presenta menor variación debida al intervalo de concentración de trabajo.
- Cualquiera que sea el criterio estadístico adoptado para la estimación del límite de detección, dado que dicha estimación es compleja y puede verse afectada por diversas fuentes de error, es necesario verificar experimentalmente que el valor obtenido es significativo mediante el análisis de muestras con valores de concentración ligeramente superior al límite propuesto. De lo contrario, el valor obtenido podría tratarse de un artefacto matemático carente de significado analítico.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Analytical Methods Committee (1987). Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst*. 112: 199-204.
- Boumans, J.M. 1978. A tutorial review of some elementary concepts in statistical evaluation of trace element measurements. *Spectrochimica Acta*. 33B: 625-634
- Chemical analyses for water quality training course manual. 1969. Department of the interior, Federal Water Pollution Control Administration. US.
- Comité de guías generales de validación. 1991. Proyecto de norma técnica que establece las guías generales de validación. De AFM. México. 4-16.
- Currie Lloyd A. 1986. Detection in Analytical Chemistry: importance, theory and practice. Developed from a symposium sponsored by the Division of Analytical Chemistry, Environmental Chemistry and Technology at the 191st Meeting of the American Society. New York. April 13-18.
- Compendium of Analytical Nomenclature, Definitive rules. 1997. International Union of Pure and Applied Chemistry. Third Edition.
- EPA-600 14-82-057. Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater. 1982. Environmental Protection Agency Publication. July.
- Epstein. S. Paul. 2001. Method Detection Limits, Changes are Coming Detroit Laboratory Office.
- Handbook for Analytical Quality Control in Water and Wastewater in Laboratories, 1971. EPA-600/4-79-019. Environmental Monitoring and Support Laboratory, US EPA, Office of Research and Development.
- Hogan D. Jeremiah. 1997. Speciality Gas Analysis: A practical guidebook. Willer-VHC. USA. 163-190
- Hunt D.T.E. y Wilson A.L. 1986. The Chemical analysis of water. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. London.
- Ingle, J.D. 1974. Sensitivity and limit of detection in quantitative spectrometric methods. *Journal of chemical education*. 51 (2):100-105.

Kateman G. y Buydens L. 1993. Quality Control in Analytical Chemistry Chemical Analysis: A Series of monographs an Analytical Chemistry and its applications. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. EUA,. 81 - 88.

Kaiser,H. 1969.Two apers on the Limit of Detection of a Complete Analytical Procedure. Hafner. New York.

Krull Ira y Swartz Michael. 1998. Determining Limits of Detection and Quantitation. LC/CG. Advanstar Publication. USA. 18-19

Long, G. L. y Winefordner, J.D. 1983. Limit of detection a closer look at the IUPAC definition. Analytical Chemistry. 55(7): 712A-722A.

Meier C.P., Zund E.R. 2000. Statical methods in analytical chemistry. 2ª edition. Vol. 153. Wiley Inter Science. Canada. 115-118.

Methods "Metals by atomic Absorption Spectrometry", Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, USA, American Public Health Association (APHA), Washington, DC 20005, 19th Edition 1995

Miller J.C. y Miller J.N. 1993. Statistics for Analytical Chemistry. Ellis Horwood PTR Prentice. Tercera edición. Gran Bretaña. 115-116.

Norma Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001. Análisis de Agua - Determinación de metales por Absorción Atómica en Aguas Naturales, Potables, Residuales Y Residuales Tratadas - Método de Prueba (Cancela A La NMX-AA-051-1981)

Norma Mexicana NMX-AA-115-SCFI-2001.Análisis de Agua - Criterios Generales para el Control de la Calidad de Resultados Analíticos.

Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-93, que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. (Publicada en el D.O.F. de fecha 22 de octubre de 1993)

O'Haver. 1976. Trace analysis-spectroscopic methods for elements. Winefordner, J.D., John Wiley and Sons. New York.

Rubinson J.F. y Rubinson A.K. 2000. Química Analítica Contemporánea. Prentice Hall. México. 110, 157, 159.

Standard Methods for the examination of water y wastewater. 1985. American Public Health Association. Washintong DC.


Standard Test Methods for Elements in Water by Metals Atomic Absortion Spectroscopy, American Society for Testing and Materials, USA, ASTM Committee on Standards, Philadelphia PA, vol. 11.01 1994.

Welz Bernhard y Sperling Michael. 1999. Atomic Absortion Spectrometry. Wiley-VHC. Alemania. 252-255.

X. ANEXOS


Por lo extenso de la información sólo se presentan a manera de ejemplo, resultados de los diferentes métodos de estimación del límite de detección del cobre.

Cuadro 10.1 Estimación del límite de detección para el cobre por el método de Blancos.

COMPUESTO:		Cu		FECHA:		15-Sep-03		
TECNICA:		AA flama						
LONG. ONDA:		324.8 nm						
	Cst-1(5LD)=	0.50	mg/L					
	Cst-2(2St1)=	1.00	mg/L					
	Unidades:	mg/L						
	BCO 1	EST 1	[EST1-BCOP1]	BCO 2	EST 2	EST2-BCOP2]		
1	0.001	0.041	0.040	0.001	0.081	0.080		
2	0.001	0.041	0.040	0.001	0.081	0.080		
3	0.001	0.041	0.040	0.001	0.081	0.080		
4	0.001	0.041	0.040	0.001	0.081	0.080		
5	0.002	0.041	0.040	0.001	0.080	0.079		
6	0.001	0.041	0.040	0.001	0.080	0.079		
7	0.001	0.041	0.040	0.001	0.082	0.081		
8	0.001	0.042	0.041	0.001	0.082	0.081		
9	0.001	0.042	0.041	0.001	0.083	0.082		
10	0.001	0.042	0.041	0.001	0.083	0.082		
11	0.001	0.042	0.041	0.001	0.083	0.082		
12	0.001	0.042	0.041	0.002	0.083	0.082		
13	0.002	0.043	0.042	0.002	0.084	0.083		
14	0.002	0.043	0.042	0.002	0.084	0.083		
15	0.002	0.042	0.005	0.001	0.083	0.082		
16	0.001	0.042	0.041	0.001	0.084	0.083		
17	0.001	0.043	0.042	0.000	0.082	0.081		
18	0.000	0.041	0.040	0.000	0.081	0.080		
19	0.001	0.041	0.040	0.000	0.081	0.080		
20	0.001	0.041	0.040	0.001	0.081	0.080		
Promedios	1.0750E-03		0.0388	1.0750E-03		0.0809		
Desv. Est.			0.0080			0.0013		
IGUALES ?								
	Xcorr-1/Xcorr-2=	0.4792						
	Cst-1/Cst-2=	0.5000						
NO: REPETIR				L.D-1= 0.2059				
SI: CONTINUAR				L.D.-2= 0.0321				
L.D. = 0.1190 mg/L								

Cuadro 10.2 Estimación del límite de detección para el cobre por el método curva de calibración con siete estándares.

CURVAS DE CALIBRACION		FECHA: 15-Sep-03	
COMPUESTO:	Cu		
TECNICA:	AA flama		
LONG. ONDA:	324.8 nm		
Concentración	mg/L		



Conc.	0.0000	0.5000	1.0000	1.5000	2.0000	2.5000	4.0000	6.0000
Señal 1-A	0.0030	0.0370	0.0740	0.1080	0.1440	0.1810	0.2840	0.4140
Señal 2-A	0.0030	0.0370	0.0740	0.1090	0.1430	0.1810	0.2830	0.4100
Señal 3-A	0.0030	0.0370	0.0740	0.1080	0.1440	0.1810	0.2840	0.4140
media	0.0030	0.0370	0.0740	0.1083	0.1437	0.1810	0.2837	0.4127
desv. est	0.0000	0.0000	0.0000	0.0006	0.0006	0.0000	0.0006	0.0023
%c.v.	0.00	0.00	0.00	0.53	0.40	0.00	0.20	0.56

con.	Abs	Abs'	(A-A') ²
1 0.0000	0.0030	0.0052	5.05E-06
2 0.5000	0.0370	0.0396	6.61E-06
3 1.0000	0.0740	0.0739	1.09E-08
4 1.5000	0.1083	0.1082	1.28E-08
5 2.0000	0.1437	0.1425	1.26E-06
6 2.5000	0.1810	0.1769	1.71E-05
7 4.0000	0.2837	0.2798	1.46E-05
8 6.0000	0.4127	0.4171	2.00E-05

SUM(A-A')² 6.46E-05

Sx/y= 0.0033

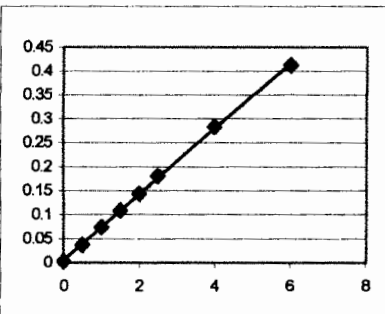
Ymin= 0.0151

L.D.= 0.1434 mg/L

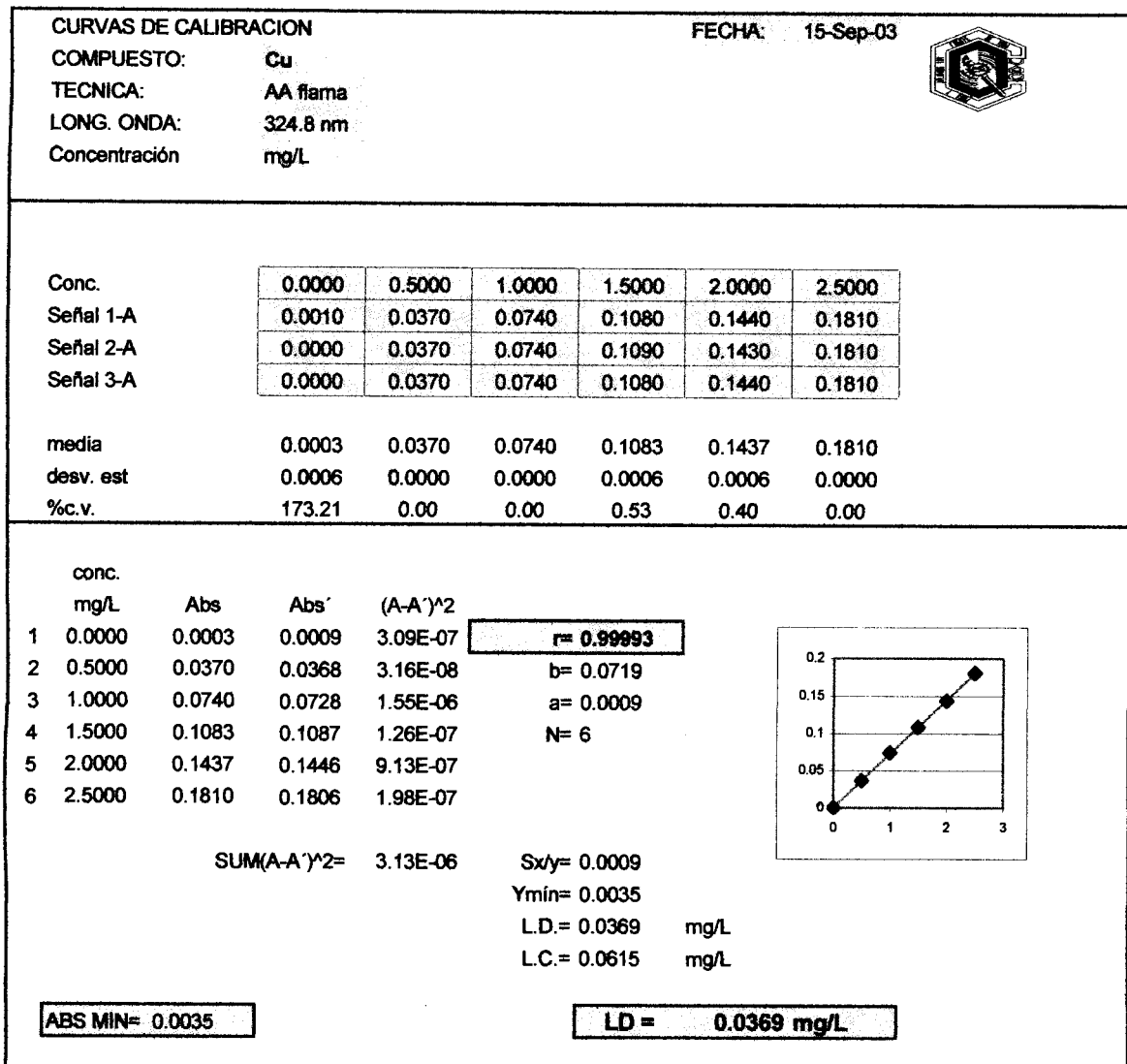
L.C.= 0.2391 mg/L

ABS MIN= 0.0151

LD= 0.1434 mg/L



Cuadro 10.3 Estimación del límite de detección para el cobre por el método curva de calibración con cinco estándares.



Cuadro 10.4 Estimación del límite de detección para el cobre por el método de blanco de reactivos fortificado NOM-117-SSA1-1994.

COMPUESTO:	Cu	FECHA:	15-Sep-03
TECNICA:	AA flama		
LONG. ONDA:	324.8 nm		

[st 1] = 0.5000 mg/L

	St
1	0.042
2	0.042
3	0.042
4	0.042
5	0.043
6	0.042
7	0.043

Promedio	0.042285714
sd	0.00048795

LDM = t * s
t = 3.14

LDM = 0.00153 mg/L