

SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR
TECNOLÓGICA
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ



SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

SEP

TRABAJO PROFESIONAL

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

QUE PRESENTA:

ADRIANA LIZBET MOLINA GORDILLO

CON EL TEMA:

**“Validación del Método de Determinación de
Azufre en Combustibles por Fluorescencia de
Rayos X”**

MEDIANTE:

**OPCIÓN X
(MEMORIAS DE RESIDENCIA)**

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS

ABRIL 2011



SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR TECNOLÓGICA
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

DIRECCIÓN
SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas., 24/FEBRERO/2011

OFICIO NUM. DEP-CT-027/2011

C. ADRIANA LIZBET MOLINA GORDILLO
PASANTE DE LA CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA
EGRESADO DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ.
P R E S E N T E.

Habiendo recibido la comunicación de su trabajo profesional por parte de los CC. ING. HUMBERTO TORRES JIMÉNEZ, ING. MARCO ANTONIO MAZARIEGOS MORALES, ING. RODRIGO FERRER GONZÁLEZ e ING. RICARDO SUÁREZ CASTILLEJOS en el sentido que se encuentra satisfactorio el contenido del mismo como prueba escrita, **AUTORIZO** a Usted a que se proceda a la impresión del mencionado Trabajo denominado:

"VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE AZUFRE EN COMBUSTIBLES POR FLUORECENCIA DE RAYOS X"

Registrado mediante la opción:
X (MEMORIA DE RESIDENCIA PROFESIONAL)

ATENTAMENTE
"CIENCIA Y TECNOLOGÍA CON SENTIDO HUMANO"

Vc. Bo.

Ing. Roberto Cifuentes Villafuerte
Jefe de la División de Estudios Profesionales

Ing. José Luis Herrera Martínez
Director

C.c.p.- Departamento de Servicios Escolares
C.c.p.- Expediente
I'RCV/L'ORC



Comisión de Estudios Profesionales
Instituto Tecnológico
de Tuxtla Gutiérrez
División de Estudios Profesionales

Carretera Panamericana Km.1080, . C.P. 29050, Apartado Postal 599
Teléfonos: (961) 61 5-03-80 (961) 61 5-04-61 Fax: (961) 61 5-16-87
<http://www.ittg.edu.mx>



Alcance del Sistema: Proceso Educativo

Índice

1. INTRODUCCIÓN	4
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS	7
4. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA EN QUE PARTICIPO	7
4.1. Localización	8
4.2. Misión	8
4.3. Áreas del CENAM	8
4.4. Dirección de metrología de materiales	10
4.5. División de materiales cerámicos	10
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
6. FUNDAMENTO TEÓRICO	12
6.1 Validación de un método	12
6.1.1 ¿Qué es validación?	12
6.1.2 Desarrollo del método	12
6.1.3 Parámetros de desempeño de un método	12
6.1.3.1 Confirmación de la identidad y la selectividad/especificidad	12
6.1.3.2 Límite de detección	12
6.1.3.3 Límite de cuantificación	12
6.1.3.4 Intervalo de trabajo e intervalo lineal	12
6.1.3.5 Exactitud	12
6.1.3.6 Incertidumbre de medición	13
6.1.3.7 Sensibilidad	13
6.1.3.8 Robustez	13
6.3 Fundamento teórico de la fluorescencia de rayos-(FRX)	14
6.4 Tipos de espectrómetros	15
6.4.1 Fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (EDXRF)	15
6.4.2 Fluorescencia de rayos X de longitud de onda (WDXRF)	16
7. METODOLOGIA	17
7.1. Descripción de reactivos y material utilizado	17
8. PROCEDIMIENTO	19
8.1 Preparación gravimétrica de la curva de calibración	19
8.2 Optimización del método de medición	22
8.3 Confirmación de la identidad (la selectividad/especificidad)	23
8.4 Límite De Detección LD	23

8.5 Límite De Cuantificación LC	24
8.6 Intervalo De Trabajo	24
8.7 Intervalo Lineal	24
8.8 Exactitud	24
8.9 Incertidumbre De Medición	24
8.10 Sensibilidad	24
8.11 Robustez	24
9. RESULTADOS	25
9.1 Selectividad	25
9.2 Especificidad	25
9.3 Determinación limite de detección	30
9.3 Determinación del límite de cuantificación	31
9.5 Intervalo De Trabajo	31
9.6 Intervalo Lineal	37
9.7 Exactitud	37
9.8 Incertidumbre De Medición	37
9.9 Sensibilidad	38
9.10 Robustez	39
9.10.1. Llenado de celda	39
9.10.2. Estabilidad del analito	45
9.10.3. Evaporación	46
9.10.3.1 Evaporación de azufre en aceite mineral	46
9.10.3.2 Evaporación de azufre en gasolina	47
9.10.4 Factor de dilución	49
10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
11. CONCLUSIONES	53
12. BIBLIOGRAFÍA	55

1. INTRODUCCIÓN.

Las actuales políticas de calidad nos exigen la validación de los métodos analíticos lo que significa respaldar los procedimientos usados para brindar mayor seguridad y confianza a los resultados obtenidos en un análisis.

Se requiere la validación de un método para confirmar qué tanto se ajusta un método analítico en particular a un propósito dado; por ejemplo el protocolo de un método definido se aplica a un tipo específico de material de prueba y a un intervalo de concentración de un analito. En forma global sería cómo el sistema analítico se ajusta a un propósito analítico particular.

En algunas guías de la IUPAC [6] la validación se propone para establecer y documentar las características del desempeño de un método, de este modo se demuestra que el método se ajusta a un propósito analítico particular. Las características de desempeño son la exactitud, precisión, intervalo de trabajo, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad, especificidad y robustez, entre otros.

El presente documento muestra el trabajo desarrollado para la validación del método de medición de azufre total en combustibles mediante fluorescencia de rayos X (FRX), utilizando el método de análisis ASTM D- 2622.

La ASTM (**American Society for Testing and Materials**) es una institución americana la cual está entre los mayores contribuyentes técnicos del ISO, y mantiene un sólido liderazgo en la definición de los materiales y métodos de prueba en casi todas las industrias, con un casi monopolio en las industrias petrolera y petroquímica.

El método analítico propuesto en esta validación (**FRX**) es una de las técnicas analíticas más utilizada en la industria de nuestro país porque ofrece rapidez, es no destructiva y es eficaz en la determinación de azufre en concentraciones desde 5 mg/kg hasta 50, 000 mg/kg.

En este método propuesto para la cuantificación de azufre total se realiza una curva de calibración hecha a base de aceite mineral blanco (matriz) y la adición de di butil sulfuro (dbs) como agente que provee el azufre.

El principal objetivo de la validación de método es demostrar que esta curva de calibración puede ser aplicable para la cuantificación de azufre en cualquier tipo de combustible, ya sea diesel, gasolina, keroseno y combustóleo. Es decir sin que la relación de carbono-hidrógeno de cada combustible sea un efecto de matriz considerable que afecte su cuantificación.

El método ASTM D-2622 considera también como una influencia en los efectos de matriz a los posibles contaminantes que pudieran estar presentes en la muestra son: Plomo, Zinc, Bario, Calcio, Cloro, Fósforo, Oxígeno y Carbono, los cuales en el método a validar se consideró que no son influyentes por su baja concentración, en el análisis de azufre.

La validación se llevará a cabo siguiendo el procedimiento recomendado en la Guía **EURACHEM** "*The Fitness for Purpose of Analytical Methods*", la cual es una guía para evaluación de métodos de prueba con el fin de demostrar que estos son adecuados al propósito [10]

2. JUSTIFICACIÓN.

La validación se refiere a la construcción de un modelo correcto, es el proceso de determinar si el modelo, como abstracción, es una buena representación del sistema.

La validación ha sido objeto de atención por ser requerido en normas sobre todo en sistemas de gestión de calidad y particularmente en la norma ISO 17025 sobre requisitos generales para laboratorios de calibración y ensayo.

La norma internacional ISO/IEC 17025:2005 toma este aspecto en cuenta con los requerimientos siguientes:

- 5.4.5.1 “La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.
- 5.4.5.2 “El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto...”

Uno de los objetivos de la validación es probar la capacidad de los métodos, procesos, procedimientos, diseños, sistemas, etc., para determinar los factores de influencia. La validación del método es necesaria ya que permite conocer los parámetros de desempeño del método y proporcionar un alto grado de confianza y seguridad en los resultados que se obtienen al aplicarlo.

La validación es una herramienta cada vez más utilizada en diversas áreas de la investigación, en la industria farmacéutica, alimenticia, petrolera, en pocas palabras en cualquier área donde se necesite respaldar que el método de análisis es el correcto y que cumple con los objetivos para los cuales fue desarrollado, es una garantía de la calidad del proceso, que proporciona la confianza en un producto, servicio o sistema.

Por lo tanto es indispensable que el responsable de los análisis tenga claro el concepto de validación, así también debe conocer el procedimiento para la validación de los métodos de análisis con los que trabaja.

Para demostrar la importancia de la validación de métodos a continuación se presentan algunos ejemplos donde se ha aplicado la validación para respaldar las metodologías utilizadas dentro de su área de interés.

➤ **Validación de los Métodos de Prueba de flujo directo de medición utilizados para determinar la rugosidad superficial en las tuberías (OCTG).**

El impacto de la aplicación del avance de la tecnología en la cuantificación de parámetros de rugosidad circular de superficie de la tubería asegura precisión y costo efectivo de diseños de tuberías para las industrias química y petrolera. Prueba de validación del flujo de los resultados de la Dektak³ ST Superficie Profiler® y el probador T Hommel 1000® se realizó a efectos de garantizar que la tecnología de medición podrían justificar con rapidez y eficacia los efectos de la tubería de rugosidad de la superficie sobre las pérdidas de presión por fricción, y las características de la energía. (16)

➤ **Validación de la determinación de cloruros y humedad, para la evaluación de combustibles alternos para hornos de cementeras.**

Se validaron dos modos para la evaluación fisicoquímica de materiales de desecho de diferentes empresas interesadas en tratar sus residuos como combustibles alternativos para un horno de cemento que calcina estos materiales a una temperatura mínima de 2000 °C. Para esto se optimizaron las figuras de desempeño de la determinación de cloruros con un electrodo de ion selectivo y la humedad por el modo coulombimétrico de Karl Fisher. (17)

➤ **Preparación y validación de patrones de referencia sintéticos para fluorescencia de rayos x en los análisis de materiales de referencia de matriz natural.**

Se presentan los aspectos relevantes de la preparación y validación de los patrones de referencia multielementales utilizados en el análisis de certificación por Fluorescencia de Rayos X para el material de referencia DMR 59a de caliza arcillosa.

La preparación se realizó gravimétricamente a partir de sustancias químicas de alta pureza y fundiendo en tetraborato de litio a una temperatura aproximada de 1000 °C.

Los patrones se diseñaron con concentraciones muy cercanas a las concentraciones de los analitos por certificar ya que la evaluación cuantitativa se realizó conforme al método del “bracketing”.

Los patrones de referencia sintéticos son sólidos vitrificados que se producen con una matriz muy similar a la matriz del DMR 59a por lo que los efectos de matriz se minimizan y los efectos de tamaño de partícula y textura superficial se eliminan completamente.

La validación se realizó al mismo tiempo que la estimación de la incertidumbre realizando estudios de exactitud y repetibilidad. (18)

Lo anterior nos dio un amplio panorama del papel que juega la validación en diversas áreas de la ingeniería química, sin embargo es de gran importancia definir el porqué validar un método para determinar azufre en combustibles, lo cual nos sitúa en los drásticos cambios ambientales causados por el incremento de la contaminación, lo que ha provocado la necesidad de producir tecnologías sustentables, así como también, la producción los llamados “combustibles limpios” principalmente relacionado al bajo contenido de los agentes contaminantes entre los cuales está el azufre.

En los automóviles, el exceso de azufre y otros compuestos químicos producidos en la combustión, inhiben y envenenan a los sofisticados convertidores catalíticos provocando que no puedan realizar su trabajo de reducir los niveles de emisión de estas peligrosas sustancias [9].

En todo el mundo, organismos reguladores se plantean metas para la reducción de este elemento en los combustibles como se puede observar en la tabla 1 [1].

Tipo de combustible	Unión Europea	Japón	Estados Unidos
Diesel (límite de azufre)	50 µg/g (2005)	50 µg/g (2004)	15 µg/g (2006)
	10 µg/g (<2009)	10 µg/g (2007)	
Gasolina (límite de azufre)	30 µg/g (2006)	10µg/g (2008)	30 µg/g (2007)

Tabla 1. Límite de azufre en combustibles para diferentes países.

En febrero del 2003 el parlamento europeo hizo obligatorio la disminución de azufre en combustibles.

Asimismo en abril del 2004, bajo la coordinación del Dr. Mario Molina (Premio Nobel de Química 1995) se realizó una propuesta para limpiar la calidad del aire en México en 10 años, la cual se enfoca completamente a la reducción de azufre en gasolina y diesel. [13]

Es por esto que actualmente el análisis de azufre en combustibles es muy importante, obligando asegurar mediciones confiables, fidedignas y reconocidas que avalen la calidad de los procesos de medición para este elemento contaminante.

Es imposible limpiar el aire, o en particular reducir la contaminación del aire generada por el sector transporte, sin eliminar el azufre de los combustibles. [3]

Por lo mismo en la actualidad una de las principales preocupaciones de la industria es contar con un método capaz de determinar el azufre con un alto grado de exactitud y confianza.

Existen técnicas analíticas sofisticadas reconocidas como adecuadas y muy confiables para el análisis de este elemento en combustibles, tales como la espectrometría de masas con ionización térmica (TIMS) o el método recientemente desarrollado por el *Laboratory of the Government Chemist* (LGC) basado en la espectrometría de masas con dilución isotópica (IDMS). [12]

La Fluorescencia de Rayos X (FRX) es una tecnología capaz de medir azufre en los nuevos niveles que se han regulado, el desarrollo de la tecnología actual en la manufactura de los instrumentos hace que la medición sea sencilla, rápida y de bajo costo, comparado con el de los equipos mencionados anteriormente.

De esta manera el método elegido es el que se basa en la determinación por FRX ya que es una de las técnicas analíticas más usadas en este sector debido a las ventajas que ofrece comparada con otros métodos.

3. OBJETIVOS.

Establecer las pruebas pertinentes para determinar la conveniencia de realizar mediciones de azufre en gasolina y diesel, por medio de Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X, de acuerdo a la guía para validación de métodos; *“The Fitness for Purpose of Analytical Methods, a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM, First Edition, 1998”*.

4. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA EN QUE PARTICIPO.

El Centro Nacional de Metrología, CENAM, fue creado con el fin de apoyar el sistema metrológico nacional como un organismo descentralizado, con personalidad jurídica y patrimonio propios, de acuerdo al artículo 29 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de julio de 1992, y sus reformas publicadas en el Diario Oficial de la Federación el 20 de mayo de 1997.

El CENAM es el laboratorio nacional de referencia en materia de mediciones. Es responsable de establecer y mantener los patrones nacionales, ofrecer servicios metrológicos como calibración de instrumentos y patrones, certificación y desarrollo de materiales de referencia, cursos especializados en metrología, asesorías y venta de publicaciones. Mantiene un estrecho contacto con otros laboratorios nacionales y con organismos internacionales relacionados con la metrología, con el fin de asegurar el reconocimiento internacional de los patrones nacionales de México y, consecuentemente, promover la aceptación de los productos y servicios de nuestro país.

Siendo un organismo descentralizado, el CENAM no ejerce funciones de autoridad. La Ley Federal sobre Metrología y Normalización, y su Reglamento, establecen la responsabilidad de la Secretaría de Economía (antes Secretaría de Comercio y Fomento Industrial SECOFI) y otros organismos, como la Procuraduría

Federal del Consumidor y la Comisión Nacional de Normalización para aplicar las disposiciones establecidas por la ley.

El CENAM cuenta con un Consejo Directivo integrado por el Secretario de Economía, los subsecretarios cuyas atribuciones se relacionen con la materia, de las Secretarías de Hacienda y Crédito Público; Energía; Educación Pública; Comunicaciones y Transportes; un representante de la Universidad Nacional Autónoma de México; un representante del Instituto Politécnico Nacional; el Director General del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; sendos representantes de la Confederación Nacional de Cámaras Industriales; de la Cámara Nacional de la Industria de Transformación y de la Confederación Nacional de Cámaras de Comercio y el Director General de Normas de la Secretaría de Economía.

4.1. Localización.

Se muestra en el siguiente mapa (Figura 1)



Figura 1. Ubicación geográfica del CENAM

4.2. Misión.

Apoyar a los diversos sectores de la sociedad en la satisfacción de sus necesidades metrológicas presentes y futuras, estableciendo patrones nacionales de medición, desarrollando materiales de referencia y diseminando sus exactitudes por medio de servicios tecnológicos de la más alta calidad, para incrementar la competitividad del país, contribuir al desarrollo sustentable y mejorar la calidad de vida de la población.

4.3. Áreas del CENAM.

El CENAM está dividido de seis áreas principales:

- Metrología Eléctrica. Ubicada en los edificios C y E.
- Metrología Física. Ubicado en el edificio D.

- Metrología de Materiales. Ubicada en los edificios C y Q.
- Metrología Mecánica. Ubicada en los edificios F, G y H.
- Servicios Tecnológicos. Ubicada en los edificios A y T.
- Administración y Finanzas. Ubicada en el edificio B.

En la figura 2 se puede observar su distribución en los edificios dentro de las instalaciones del CENAM y en la figura 3 se observa el organigrama con las divisiones de cada área.



Figura 2. Distribución de las áreas del CENAM

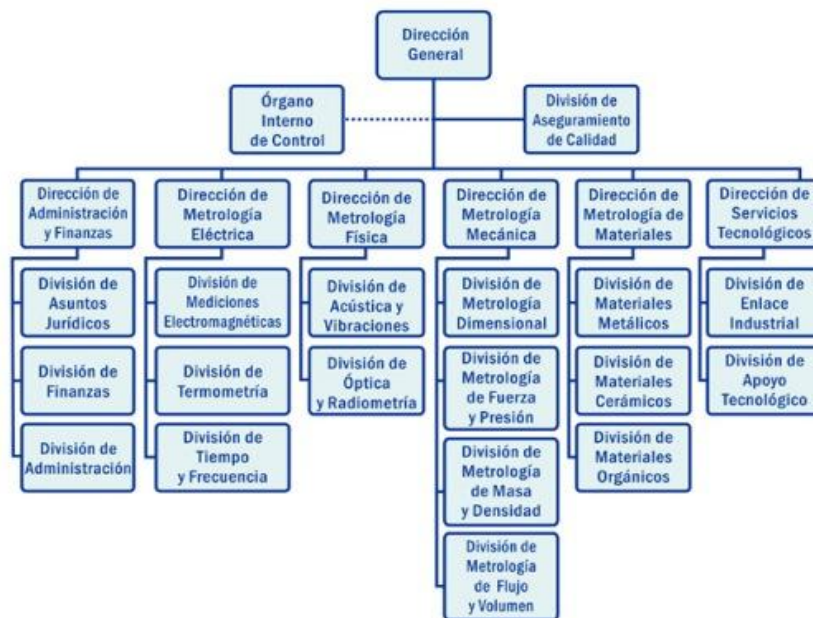


Figura 3. Organigrama del CENAM que presenta sus divisiones.

4.4 Dirección de metrología de materiales.

Cada día se realizan en nuestro país miles de mediciones químicas. De ahí que su importancia en la economía sea particular. Los resultados de los análisis químicos permiten desde el aseguramiento de la calidad de nuestros alimentos hasta el control de la calidad de las materias primas en los procesos de manufactura en todo el país, pasando por el control de la contaminación ambiental y los aspectos relacionados con la salud. El Área de Materiales trabaja en esta perspectiva para certificar los materiales de referencia que las industrias requieren para cumplir con los requisitos de medición internacionales y competir en los mercados globales.

La Dirección de Metrología de Materiales proporciona asesorías sobre aseguramiento de calidad en laboratorios analíticos y análisis de alta confiabilidad.

Para atender a la necesidad creciente de Materiales de Referencia Certificados, la Dirección de Metrología de Materiales está integrada por tres Divisiones: Materiales Metálicos, Materiales Cerámicos y Materiales Orgánicos.

4.5. División de materiales cerámicos.

Las dos últimas décadas han atestiguado marcados avances en la tecnología de materiales duros no metálicos, por medio del refinamiento de productos existentes y la invención de nuevos. La tendencia moderna al uso de este tipo de materiales en aplicaciones de ingeniería ha orientado las actividades de la División de Materiales Cerámicos a la asistencia de la industria nacional mediante el desarrollo de bases propias para determinar las propiedades y comportamiento de este tipo de materiales, con el fin de mejorar sus bases de diseño, especificación y caracterización.

El programa de materiales de referencia de la División contempla el desarrollo de cementos, vidrios y cerámicos, materiales para certificar propiedades físicas por medio de difracción de rayos X, microscopía de barrido de electrones y Raman, así como tamaño de partícula.

La División de Materiales Cerámicos cuenta con los siguientes sistemas analíticos: sistema integral de microanálisis, difractómetro de rayos X, espectrómetro de fluorescencia de rayos X, analizador de tamaño de partícula, sistema de análisis metalográfico cerámico, sistema petrográfico, porosímetro y espectrómetro Raman.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El presente trabajo se basa principalmente en el método de análisis ASTM D-2622 "*Standard Test Method for Sulfur in Petroleum Products by Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry*" [1] el cual es uno de los métodos que la industria mexicana utiliza como referencia para sus análisis de azufre total en combustibles.

El otro método que se utiliza incluso con mayor frecuencia es el ASTM D-4294 "*Standard Test Method for Sulfur in Petroleum Products by Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectroscopy*" [2] Por esta razón se realizó una minuciosa comparación entre estos dos métodos.

El método que se está evaluando presenta tres variaciones importantes en comparación con el método ASTM D-4294.

- 1) El método ASTM D-4294 sugiere realizar la calibración analítica utilizando una matriz muy similar a la de la muestra problema para evitar efectos de matriz (cantidad de oxígeno y relación de carbono-hidrógeno) que puedan alterar las lecturas de azufre. Sin embargo en este estudio sólo se utilizó aceite mineral blanco como matriz para la preparación de puntos de calibración para el análisis de muestras con diferente tipo de matriz y no se practicaron correcciones posteriores. La validación pretende confirmar que es posible obtener buenos resultados aun con una matriz ligeramente diferente.
- 2) La principal diferencia entre los métodos ASTM mencionados es el tipo de instrumento utilizado, la ASTM D-4294 es para instrumentos de energía dispersiva y la ASTM D-2622 para los de longitud de onda dispersiva. Los instrumentos pueden hacer la transformación de señales a través de la ecuación de energía cuántica de cualquier fotón electromagnético (ecuación 1) el uso de cualquier instrumento proporciona los mismos resultados en unidades de energía o de longitud de onda.

$$E = \frac{1.24}{\lambda} \quad (1)$$

Donde;

E = energía electromagnética en keV

Constante de Planck =1.24

λ = longitud de onda en nm

- 3) La repetibilidad y reproducibilidad en los intervalos de trabajo iguales misma concentración, son diferentes. Esto se puede observar en la tabla 2.

Concentración mg/kg	ASTM D-2622		ASTM D-2622		Concentración mg/kg	ASTM D-4294	
	Repetibilidad [r] mg/kg n = 3	reproducibilidad,[R] mg/kg n = 4	r %	R %		r %	R %
3	0.4	1	13.3	33.3			
5	0.5	1.6	10.0	32			
10	0.9	2.7	9.0	27	17	18.2	82.4
25	1.9	5.6	7.6	22.4	25	15.6	72
50	3.4	9.8	6.8	19.6	50	12	54
100	5.9	17.1	5.9	17.1	100	9.2	42
500	21	62	4.2	12.4	500	5	22.6
1000	37	108	3.7	10.8	1000	3.8	17.3
5000	135	394	2.7	7.9	5000	2.04	9.26
10000	235	687	2.4	6.87	10000	1.57	7.1
46000	798	2333	1.7	5.07	46000	0.87	3.95

Tabla 2. Comparación de Repetibilidad y reproducibilidad de los métodos ASTM D-2622 y ASTM D-4294.

La industria mexicana considera muy importante hacer la diferencia entre estas dos formas de FRX aunque el principio de análisis es el mismo.

6. FUNDAMENTO TEÓRICO.

6.1 Validación de un método.

6.1.1 ¿Qué es validación?

La validación de un método es la necesidad de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación. Un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son los adecuados para el uso en un problema analítico. [10]

6.1.2. Desarrollo del método.

El desarrollo del método puede involucrar el adaptar un método existente adaptando cambios menores de tal manera que sea adecuado a su nueva aplicación.

También puede iniciar con algunas ideas burdas y aplicar su experiencia y su pericia para diseñar un método adecuado. Esto puede involucrar una innovación importante basada en una explotación novedosa de las propiedades conocidas del analito o mensurado.

6.1.3. Parámetros de desempeño de un método.

6.1.3.1 Confirmación de la identidad y la selectividad/especificidad.

La confirmación de la identidad establece que la señal producida en la medición, la cual se atribuye al analito, se debe únicamente al analito y no a la presencia de algo química o físicamente similar.

La selectividad y especificidad son las medidas que garantizan la confiabilidad de las mediciones en presencia de interferencias.

Si hay interferencias presentes y no pueden separarse del analito de interés o si el analista no está consciente de su presencia, entonces las interferencias pueden inhibir la confirmación de igual manera pueden tener el efecto de incrementar aparentemente la concentración del analito al contribuir a la señal o disminuirla.

La selectividad de un método se investiga mediante el estudio de su capacidad para medir el analito de interés.

Otro aspecto de la selectividad que debe considerarse es si el analito puede existir en la muestra en más de una forma tal como: ligado o libre, inorgánico u organometálico o en diferentes estados de oxidación.

6.1.3.2 Límite de detección.

Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, es importante saber cuál es la concentración más baja del analito al valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método.

6.1.3.3 Límite de cuantificación.

El límite de cuantificación estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad. También se le llama "límite de determinación".

6.1.3.4 Intervalo de trabajo e intervalo lineal.

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro de este intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o la propiedad relacionada.

6.1.3.5 Exactitud.

La *exactitud* expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. Normalmente la exactitud se estudia en dos componentes: "la veracidad" y "la precisión".

La *veracidad* de un método es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados respecto del valor real.

La veracidad se determina en contra de un valor de referencia, los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia de pureza certificada.
- Materiales típicos bien caracterizados de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

Normalmente la veracidad se expresa en términos de sesgo. Existen dos componentes del sesgo:

Sesgo del método; surge de los errores sistemáticos inherentes al método cualquiera que sea el laboratorio que lo usa.

Sesgo del laboratorio; surge de errores sistemáticos adicionales característicos del laboratorio y de la interpretación que este hace del método.

La *precisión* es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto de otros y por lo general se expresa mediante medidas tal como la desviación estándar.

La *repetibilidad* y *reproducibilidad* son las medidas de precisión más comunes.

La repetibilidad: un método se ejecuta por un analista por un solo analista, con un equipo en un periodo corto de tiempo es decir se analiza por duplicado. Si la muestra se analiza por varios laboratorios para fines comparativos, entonces una medida de precisión más significativa a usarse es *la reproducibilidad*.

En el análisis cualitativo puede tratarse en una forma ligeramente diferente. Es en efecto una medición de si /no, para métodos cualitativos la precisión no puede expresarse por medio de índices de verdadero y falso positivo.

6.1.3.6 Incertidumbre de medición.

La incertidumbre de medición, es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando (Guía IRAM 32.1997).

La estimación de la incertidumbre de una medición se realiza en las siguientes etapas:

- Expresar el modelo matemático del mensurando.
- Identificar las fuentes de incertidumbre
- Cuantificar la incertidumbre de cada componente.
- Combinar las incertidumbres estándares.
- Calcular la incertidumbre expandida y definir expresión de los resultados.

6.1.3.7 Sensibilidad.

Esta es efectivamente la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio en la concentración del analito el cuál puede ser detectado por el equipo.

6.1.3.8 Robustez.

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de confiabilidad durante su uso normal.

Pruebas de robustez estas incluyen la aplicación de variaciones deliberadas al método y estudiar el efecto resultante en el desempeño. De esta manera es posible identificar las variables que tienen efecto más significativo. Es un procedimiento dentro del laboratorio para evaluar el comportamiento de un proceso analítico cuando se efectúan pequeños cambios en las condiciones ambientales y/o de operación, semejantes a los que pudieran surgir en los diferentes ambientes de prueba. (5)

6.2. Fundamento teórico de la fluorescencia de rayos-(FRX).

Espectrometría de fluorescencia por rayos X, es una técnica de análisis elemental aplicable a elementos con un número atómico mayor a 5. Se pueden analizar materiales orgánicos e inorgánicos, en forma líquida o sólida. Las principales ventajas de ésta técnica son rapidez, exactitud (dada por materiales de referencia confiables) y el hecho que la muestra (excepto por pocos casos), no sufre daños durante el análisis.

El principio de la técnica se basa en que los rayos X poseen energías que son comparables con las energías de las capas interiores de electrones en un átomo (0,6 – 120 keV).

Cuando un rayo X incide sobre la muestra, afecta a los electrones más cercanos al núcleo, dado que son los de menor energía. Este aumento de energía súbita en ellos los obliga a cambiar de orbital por uno más alejado del núcleo, o incluso abandonar el átomo.

Luego, un electrón que está en un nivel de energía mayor salta hacia el interior pues hay una vacante. Dicho electrón entonces, debe perder energía; y lo hace mediante la emisión de un rayo X característico. El espectro generado puede ser estudiado y reconocer en él la composición de la muestra, tanto en los elementos que la conforman como en la proporción en la que se encuentran. Esto se debe a que cada elemento de la tabla periódica genera una radiación característica correspondiente a cada salto posible.

Normalmente ocurre que se produce un efecto cascada, puesto que el electrón que baja de estado energético para ocupar el lugar vacante, también deja espacio para que otro de mayor energía lo reemplace.

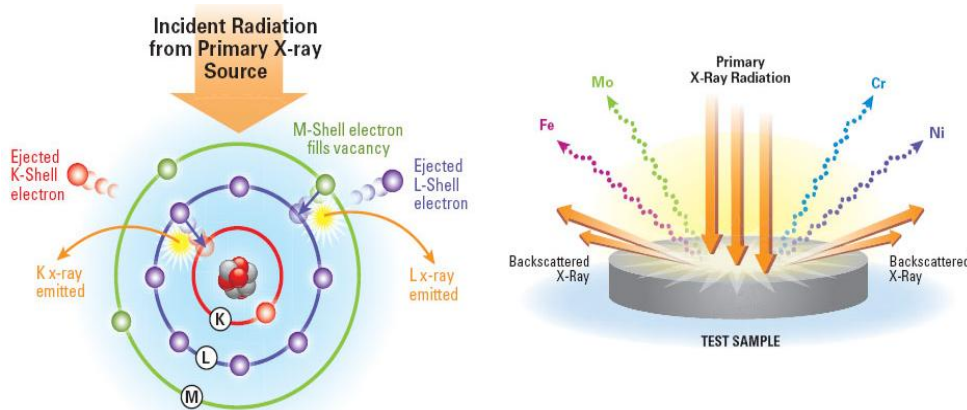


Figura 4. proceso de radiación de un átomo.

En la figura 4 se muestra la estructura inicial de un átomo, y los cambios que ocurren cuando éste es bombardeado por rayos X. Inicialmente, cabe destacar la nomenclatura utilizada: K, L, M designan a los orbitales en los que se ubican los electrones según niveles de energía creciente a medida que se alejan del núcleo.

El fenómeno de fluorescencia de rayos-X se puede describir en dos etapas: a) Excitación y b) Emisión: (Figura 5).

a) Excitación Si se considera un sistema en su estado fundamental, es decir de menor energía, al aplicarse una energía de una magnitud suficiente, ésta puede ser absorbida por el sistema, pasando éste a un estado de mayor energía o estado excitado debido a la salida de electrones del átomo. A la excitación producida por rayos X que provienen del tubo de rayos-X, se le llama radiación primaria o fotones de rayos-X primarios.

b) Emisión Los estados excitados son inestables, y el átomo tiende a volver a su estado fundamental, para lo cual se producen saltos de electrones desde los niveles más externos hacia los niveles más internos, para ocupar los huecos producidos. Este proceso produce desprendimiento de energía en forma de radiación de rayos-X secundaria llamada fluorescencia de rayos-X.

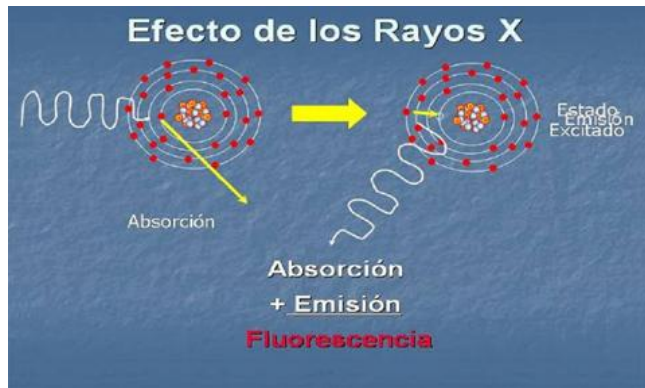


Figura 5 Efecto de los rayos X: Excitación y Emisión

Aspectos importantes del funcionamiento del dispositivo utilizado son la fuente de los rayos X, que puede ser un tubo de rayos X o radiación de un isótopo. También es importante la dirección del haz de rayos X primario que incide sobre la muestra, está diseñada para que no los perciba el detector de la fluorescencia.

El sistema de detección y procesamiento identifica la energía de la señal emitida por la muestra, y cuenta el número de señales que ocurren a una energía determinada, lo que determina los elementos que existen, y su concentración, respectivamente.

Posteriormente la señal es detectada mediante uno o dos detectores: detector de flujo FC y detector de centelleo SC.

Hay dos tipos de dispositivos dentro de la fluorescencia de rayos x; de energía dispersiva (EDXRF) y de longitud de onda dispersiva (WDXRF). Los EDXRF basan su mejor desempeño en el funcionamiento del detector, por lo que utilizan detectores de alta resolución. En cambio los WDXRF basan su resolución en la mejora de la óptica de difracción.

6.3. Tipos de espectrómetros.

6.4.1. Fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (EDXRF).

Hay una amplia gama de detectores, siendo los más utilizados los de Nitrógeno líquido o de diodos Si (Li) enfriados. Los mejores actualmente usan contadores proporcionales o diodos Si PIN más modernos. Y la más reciente y rápida tecnología corresponde al detector SDD (por deriva de Silicio). En la siguiente figura 6 se puede observar un esquema de un espectrómetro de EDXRF.

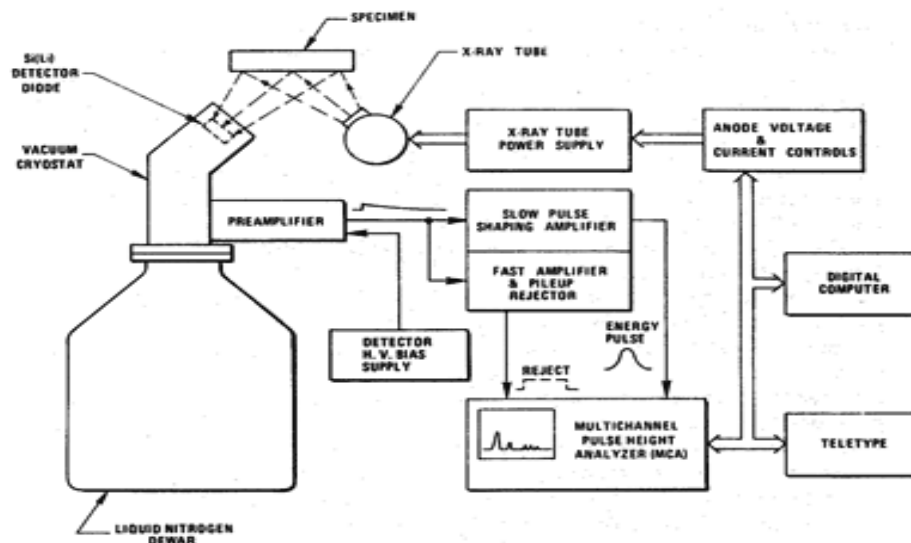


Figura 6. Esquema de un espectrómetro EDXRF

6.3.2. Fluorescencia de rayos X de longitud de onda (WDXRF).

En general estos equipos son más simples y baratos; aunque su valor puede elevarse con el número de elementos ópticos complejos que se utilicen. Dado que estos equipos tienen una eficiencia menor, la fuente de rayos X debe ser de mayor voltaje (1-4kW). Un dispositivo de difracción (cristal) con el propósito de aplicar la ley de Bragg, se aplica sobre los rayos X desde la muestra al detector. Además, para reducir la apertura angular del haz, se usan colimadores. De este modo, se pueden utilizar detectores que no sean de tan buena resolución. En la figura 7 se puede observar el esquema de un espectrómetro de WDXRF.

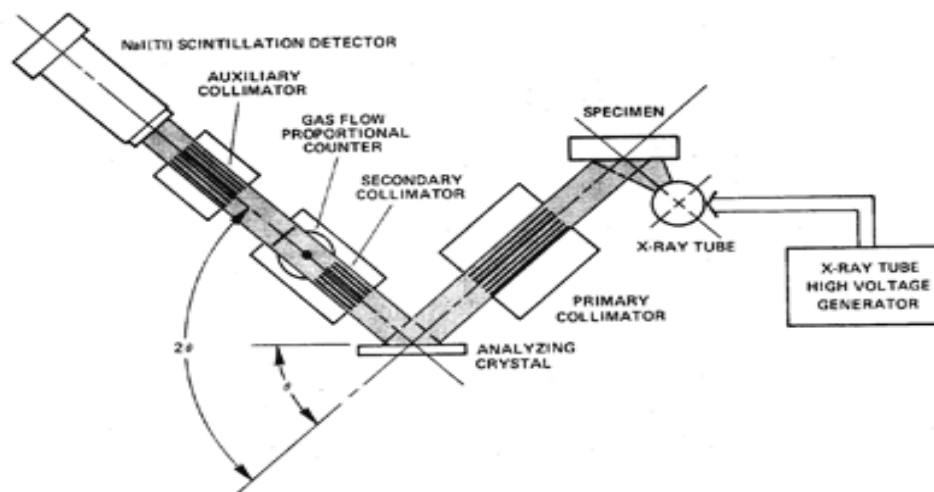


Figura 7 - Esquema de un espectrómetro WDXRF

Las diferencias entre los EDXRF y WDXRF resultan en que los equipos de EDXRF son más pequeños, y existen en el mercado opciones portátiles que permiten su uso en lugares alejados y salidas a terreno. En la figura 8 se muestra un espectrómetro de longitud de onda marca Panalytical modelo Axios Advanced, el cual es el instrumento que cuenta la división de materiales cerámicos y con el cual se realizaron las mediciones de azufre de este trabajo.



Figura 8 – Imagen del equipo de FRX-WDXRF utilizado en la validación.

7. METODOLOGIA.

7.1. Descripción de reactivos y material utilizado.

a) Reactivos para limpieza de material de laboratorio [Tabla 3].

Nombre de la sustancia	Marca	No. de lote	Uso	Observaciones
Ácido nítrico grado reactivo HNO_3	Karal	1043	Lavado de material para uso general	Diluido al 20 % CAS 7697-37-2
Alcohol etílico $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	tsq-Tecsiquim	ETA-09-TD-R	Limpieza de superficies y material delicado	---
Agua purificada	Producida en el CENAM	---	Último enjuague del lavado de material de uso general	Con una resistividad de 18,2 $\text{M}\Omega\text{cm}$.
Acetona $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$	KEM	K-3190	Lavado de botellas y material que está en contacto con el aceite mineral blanco y el butil sulfuro.	CAS6764-1
Jabón libre de fosfatos	MERCK Extran 03	5282	Lavado de material de uso general	-----

Tabla 3. Caracterización de reactivos para limpieza.

b) Reactivos para preparación de calibrantes [Tabla 4].

Nombre de la sustancia	Marca	No. de lote	Uso	Observaciones
Aceite mineral blanco 20	CONOSTAN	33	Como matriz para la elaboración de calibrantes.	De acuerdo a los métodos ASTM D-4294 y ASMT D-2622
Butyl sulfuro $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3)_2\text{S}$	ALDRICH	CAS 544-40-1	Fuente de azufre de los calibrantes	De acuerdo a los métodos ASTM D-4294 y ASMT D-2622

Tabla 4. Caracterización de reactivos para calibrantes.

c) Materiales de referencia utilizados [Tabla 5].

Identificación del MRC	Nombre del MRC	Procedencia	Uso	Observaciones
SRM 2723a	Sulfur in Diesel Fuel Oil	NIST (National Institute of Standards and Technology)	Material usado como control	---
SQ3	Vidrio sintético con gran número de elementos.	SIEMENS	Utilizado para el ajuste de líneas analíticas y por su estabilidad como control.	---

Tabla 5. Características de materiales de referencia.

d) Material de laboratorio [Tabla 6]

Proceso	Material utilizado
Limpieza de material de uso general	Charolas de plástico con tapa, fibra suave, papel absorbente, guantes de nitrilo.
Pesado y preparación de patrones.	Pipetas pasteur de transferencia, parafilm, botellas color ámbar con capacidad de 75 mL de boca angosta, paños para trabajo delicado <i>Kimwipes</i> y trapos de limpieza blancos <i>Workhorse</i> , ambos marca <i>Kimberly-Clark</i> .
Mezclado de materiales	Agitadores de cuarzo cubiertos con teflón.

Tabla 6. Material utilizado

e) Equipos de laboratorio utilizados [Tabla 7].

Equipo	Características	Uso	Ubicación
Espectrómetro de fluorescencia de rayos X	Longitud de onda dispersiva	Instrumento de medición	Lab C008
Balanza analítica SARTORIOUS Modelo Genius	Resolución de 0,1 mg, cuenta con eliminador automático de estática. Trazable al prototipo Pt-Ir N° 21 de CENAM. Con certificado de calibración No. CNM-CC-730-272/2007 emitido por el CENAM el 26 de noviembre de 2007.	Pesado de aceite mineral blanco y butil sulfuro	Lab C006

Balanza analítica METTLER TOLEDO Modelo PR1203	Alcance máximo de medición 1 203 g, Resolución 0,001 g N° de inventario CENAM 520713128196 Con certificado de calibración No. CNM-CC-730-016/2008 emitido por el CENAM el 07 de febrero del 2008.	Pesado de aceite mineral blanco y butil sulfuro	Lab C012
Marco de pesas DENVER INSTRUMENT COMPANY	Clase 0, Intervalo 100g-1 mg N° de inventario CENAM 520779782199 Certificado de calibración CENAM: CNM-CC-730-127/2006	Verificación de balanza.	Lab C006
Campana de extracción FORMALAB	Fabricada en polipropileno para evitar contaminación cruzada, con monitor de flujo de aire	Lavado de material	Lab C001
Módulo de flujo laminar LABCONCO	Con filtros de aire que proporcionan un área limpia clase 1000	Secado de material de laboratorio y de uso general	Lab C001
Plato caliente	Con agitación magnética, Marca Fisher Scientific	Para homogeneización de patrones.	Lab C006
Sistema de purificación de agua MILLIPORE	Sistema Milli-RO PLUS y Milli QUF PLUS	Producción de agua para limpieza de material	Lab C 001

Tabla 7. Equipos de laboratorio

8. PROCEDIMIENTO.

8.1 Preparación gravimétrica de la curva de calibración.

El procedimiento para la preparación de la curva de calibración y para las muestras en general cuando sea requerido, se lleva a cabo por peso (gravimetría), utilizando una balanza calibrada se prepara una solución primaria con la concentración de azufre más alta de la curva. Esta solución se preparó diluyendo butyl sulfuro en aceite mineral blanco. Se ha determinado que la preparación por peso arroja resultados más confiables de la concentración final que por volumen. Para la preparación se realizan los siguientes cálculos estequiométricos.

Datos:

Elemento/ Compuesto	Peso molecular gr/mol
Azufre (S)	32.065
Dibutil sulfuro	146.29352

Tabla 8. Pesos moleculares de sustancias usadas.

Concentración requerida: 50 000 mg/kg.

Masa final requerida: 80 g.

Procedimiento:

Paso 1: para realizar los cálculos se necesita por facilidad tener las unidades en g/g por lo tanto el primer paso será la conversión a estas.

$$50\,000\text{ mg/kg.} = 0.05\text{ g/g}$$

Paso2: Si se tiene 0.05 g de S en 1g de solución determinar cuánto azufre estará en 80 g que es el total de solución requerida, Por lo tanto usando la siguiente relación:

$$\begin{array}{l} 0.05\text{g de S} \rightarrow 1\text{ g de solución} \\ X \rightarrow 80\text{ g de solución} \end{array} \quad \text{donde X son lo gramos de azufre en la solución}$$

Entonces $X = 4\text{ g de S.}$

Paso 3: Sin embargo el azufre no se tiene puro, por lo tanto se usará un compuesto de di-butil-sulfuro para obtener nuestro analito de interés(S).

$$4\text{g(s)} * \frac{146.2935\text{ g/mol}}{32.065\text{ g/mol}} = 18.2496\text{gdb s}$$

Entonces usando la ecuación (2) del método ASTM D-2622(1) tenemos

$$S = \frac{W_{dbs} S_{dbs}}{(W_{dbs} + W_o)} \quad (2)$$

Donde;

S = Concentración final (requerida) de azufre.

W_{dbs} = Peso del dibutil sulfuro

S_{dbs} = Concentración del dibutil sulfuro

W_o = peso de aceite

$$S = \frac{(18.2496\text{gdb s}) * (0.2191\text{ g/g})}{80\text{ g}} = 0.04998.2\text{ g/g S} = 49,982\text{ mg/kg S}$$

Después se prepararon los otros puntos de calibración haciendo diluciones subsecuentes de la solución primaria para establecer un intervalo confiable de calibración para la muestra despejando de la siguiente fórmula (3).

$$C_1W_1 = C_2W_2 \quad (3)$$

Donde;

C_1 = Concentración de la solución madre. (mg/kg)

W_1 = Masa adicionada de solución madre (g)

C_2 = Concentración final diluida (patrón) (mg/kg)

W_2 = Masa final del patrón (g)

A) Procedimiento de pesado.

- Calcular la concentración de solución primaria, considerando un total de 75 g de esta solución con una concentración de 50 000mg/kg.
- Para la solución primaria, pesar mediante la secuencia dada a continuación, dando un tiempo de 20 segundos para el pesado y 20 segundos para verificar la deriva. El valor tomado como el correcto será cuando se obtengan dos valores iguales de la balanza:

- ❖ Tres veces la masa patrón de 100 g.
- ❖ La botella vacía con tapa.
- ❖ Botella sin tapa + aceite blanco
- ❖ Botella + aceite blanco + tapa
- ❖ Botella sin tapa + aceite blanco + butil sulfuro
- ❖ Botella + aceite blanco + butil sulfuro + tapa
- ❖ Tres veces la masa patrón de 100g.

Se toma por diferencia los valores usados en los cálculos de concentración final.

NOTA: la masa patrón de 100 g. es la utilizada para la calibración de la balanza y como método de control para evitar errores por pesado.

- Colocar dentro de la botella un agitador magnético cubierto con teflón, cerrar bien la botella y sellar con parafilm. Agitar la solución, con la ayuda de una parrilla de calentamiento (Ver las figura 9 y 10) a una velocidad media, durante 6 horas, a temperatura ambiente.
- Considerando la concentración resultante de la solución primaria, calcular para obtener al menos 9 puntos de calibración que cubran el intervalo de de 5 a 50 000 mg/kg.
- Para la preparación de los patrones, realizar la secuencia dada a continuación:

- ❖ Tres veces la masa patrón de 100 g.
- ❖ La botella vacía con tapa.
- ❖ Botella sin tapa + aceite blanco
- ❖ Botella + aceite blanco + tapa.
- ❖ Botella sin tapa + aceite blanco + solución primaria
- ❖ Botella + aceite blanco + solución primaria + tapa
- ❖ Tres veces la masa de 100 g.

- Colocar dentro de la botella un agitador magnético cubierto con teflón, cerrar bien la botella y sellar con parafilm. Identificar con un número de patrón. Agitar la solución, con la ayuda de un plato caliente a una velocidad media durante 2 horas.
- Registrar todos los valores en la bitácora personal.



Figura 9. Balanza y reactivos para la preparación.

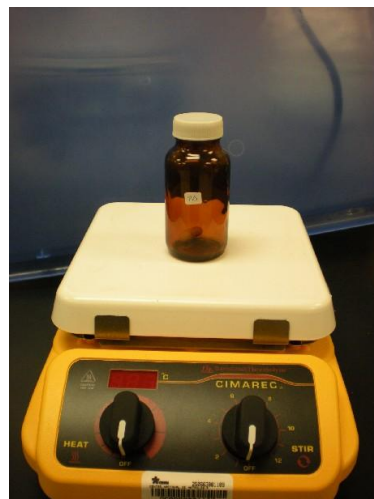


Figura 10. Agitación del patrón después de su preparación en una parrilla de calentamiento.

B) Preparación de muestras antes de su análisis.

Generalmente las muestras, blancos, calibrantes y controles fueron medidos inmediatamente después de ser abiertas, utilizando porta-muestras para líquidos y una película de polipropileno de 3.6 micrómetros de espesor.

8.2 Optimización del método de medición.

Medición. Se midió la intensidad de la línea $K\alpha$ 1,2 para el azufre, la cual debía cumplir con la premisa de estar libre de interferencias espectrales.

Las intensidades netas tanto de las muestras como de los patrones de calibración fueron obtenidas después de realizar la sustracción de ruido de fondo, usando un tiempo de medición de 100 segundos para pico y ruido de fondo.

a) *Condiciones instrumentales:* El espectrómetro utilizó una excitación de 60 kV, 30 mA en una atmósfera de helio.

b) *Parámetros a controlar.* kV y mA, colimador, cristal analizador, detector, ajuste de detectores. Con estos datos, se editó un programa de medición. En la tabla 9 se presentan detalles del programa de medición.

Datos del programa de medición.

DATOS DE MEDICIÓN	
Elemento	Azufre (S)
Línea analítica	$k\alpha$
Cristal	Ge 111-c
Colimador	550 μ
Detector	Flujo
Tubo filtro	ninguno
kV	30
mA	60
Ángulo 2 θ	110.7974
Bg 1*	-2.0542
Bg 2*	1.7296

Tabla 9. Condiciones del equipo

* Background: ruido de fondo

c) *Tipo de calibración empleada:* De acuerdo a la guía ISO11095 “*Linear Calibration using Reference materials*” [5] se utilizó para la cuantificación el tipo de calibración externa.

e) *Secuencia de medición:* La medición incluyó a todos los patrones, al MR de control, los blancos y las muestras, todos medidos en orden aleatorio.

8.3 Confirmación de la identidad (la selectividad/especificidad).

Es la capacidad del método para determinar y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes. Este parámetro se realizará mediante un análisis en equipo de fluorescencia a través del cual se realizaran varias pruebas en condiciones diferentes para determinar la más adecuada para nuestro analito.

Además para la determinación de este parámetro se realizará un análisis cualitativo de las diferentes matrices tratando de encontrar interferencias medibles y de esta forma comprobar que el método es específico para el análisis de S en combustibles.

8.4 Límite De Detección LD.

Para la determinación de límite de detecciones analizaron 10 blancos se obtuvo el promedio y la desviación estándar. El valor del límite de detección será el promedio más 4.65s. Ver la ecuación 2

$$y - y_B = 4.65s_B \quad (2)$$

Donde;

y_B = señal instrumental del blanco

s_B = desviación estándar de la señal del blanco

Para comprobar que el resultado obtenido a través de éstos experimentos era válido se analizó una disolución de azufre en aceite mineral a la concentración del LD encontrado con la aproximación de blancos.

8.5 Límite de Cuantificación LC.

Para el límite de cuantificación se utilizaron los datos usados para la determinación del límite de detección del punto anterior; según la guía EURACHEM la cual nos dice que el límite de detección será el valor promedio más 5s, 6s, o 10s.

En este caso se determinó utilizando la definición de la ecuación 3 midiendo el blanco de aceite mineral 10 veces.

$$LQ = y_B + 10s_B \quad (3)$$

Donde;

y_B = señal instrumental del blanco

s_B = desviación estándar de la señal del blanco

8.6 Intervalo de Trabajo.

Es el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse [10]. Para la determinación del intervalo de trabajo se realizará una curva de calibración en un intervalo de 3 mg/kg a 50000 mg/kg.

8.7 Intervalo Lineal.

Dentro de intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o la propiedad relacionada. Este se determinará de manera visual así como también con el factor de correlación. En este caso se evaluó la respuesta lineal a través del coeficiente de correlación (R) de una línea recta y de la evaluación de los residuales de las curvas de calibración.

8.8 Exactitud.

Expresa la cercanía del resultado con el valor verdadero. Esta se obtendrá realizando un análisis de un material de referencia certificado como si fuera una muestra desconocida y usando la curva obtener su valor de concentración y compararlo con el valor certificado.

8.9 Incertidumbre de medición.

En este punto sólo se realizó la recopilación de las incertidumbres relativas de los materiales de referencia certificados en el CENAM desde el 2004, con el fin de establecer un valor promedio y determinar si existía influencia por la matriz de cada material.

8.10. Sensibilidad.

Como la sensibilidad es la capacidad del equipo para dar una respuesta al menor cambio posible en la concentración. Por lo que se proponen dos pruebas: la primera será realizar una curva de 1, 2, 3 4, 5 mg/kg y determinar si el cambio de la relación señal concentración es considerable y se pueda diferenciar la respuesta.

La segunda prueba consiste en realizar una gráfica de concentración vs. Intensidad relativa; la intensidad relativa se obtiene dividiendo la intensidad (kcps) entre la concentración (mg/kg) la cuál nos dar una señal relativa. [7]

8.11 Robustez.

Es la medida de la capacidad de permanecer inalterado por pequeñas variaciones deliberadas en los parámetros del método.

Para este método se han considerado que las siguientes pruebas pudieran tener influencia en la cuantificación y se han realizado las siguientes pruebas:

- *Variaciones en la profundidad de la muestra en la celda.* Este parámetro está relacionado con el coeficiente de absorción de la matriz de la muestra que determina la profundidad con la que pueden atravesar los rayos X para excitar al analito y que éste tenga la posibilidad de emerger. Cuando la matriz es más ligera se requiere de un espesor de capa efectivo mayor para evitar que los rayos X traspasen. En esta prueba se colocarán diferentes cantidades de la misma muestra 5, 8, 10, 12 gramos, para obtener diferentes profundidades (diferentes espesores) y determinar en que punto existe variación.
- *Estabilidad del analito en la curva de calibración.* En este caso se contempla determinar la estabilidad del analito cuando ha sido preparado para su uso como calibrante con cierta antelación de ser medido. Se prepararán diferentes concentraciones de puntos de calibración en una cantidad suficiente para al menos 3 mediciones. Se efectuará una medición inmediatamente después de su preparación. Una segunda medición hasta un mes después. En cada vez se medirá un material de referencia certificado para validar la medición. Después de cada toma de muestra el recipiente de cada calibrante deberá estar perfectamente cerrado en el recipiente que lo contiene.
- *Evaporación.* Se pretende observar la variación en la concentración de azufre cuando la medición no se efectúa inmediatamente y la muestra se encuentra fuera del envase original aunque dentro de una celda de medición de muestras líquidas. Para esta prueba se realizará una medición de la misma muestra en intervalos de tiempo definidos (30 minutos, 1 hora, 2 horas, etc.). En cada medición de la muestra inicial, adicionalmente se medirá una muestra fresca. Se realizará una prueba estadística "T" (diferencia entre dos medias) para determinar hasta que punto empieza a existir variación.
- *Factor de dilución.* Para el manejo de algunas muestras y para el ahorro de reactivos en algunos casos se requiere de realizar diluciones de muestras y patrones. Para esta prueba se realizarán diluciones de muestras con concentraciones y matrices diferentes, se calculará su factor de dilución y se determinará si en la exactitud de la medición de la medición existe alguna correlación con el factor de dilución.

9 RESULTADOS.

9.1 Selectividad.

Para la determinación de la selectividad de azufre se midió la línea analítica $K\alpha_{1,2}$ con una posición angular de 110.7974° , utilizando un cristal Ge 111-C (Germanio), un colimador de 550μ y un detector de flujo. Con lo cual se obtuvo una señal de azufre libre de interferencias que se pudieran provocar por otros analitos en la matriz. Con esta combinación de parámetros instrumentales se puede garantizar la selectividad del método.

9.2 Especificidad.

La muestra por sus mismas características, no señala interferencias de medición, ni efectos de matriz por Espectrometría de Fluorescencia de Rayos X.

Para confirmar la especificidad del método se realizó un análisis cualitativo enfocándose principalmente a los posibles contaminantes para determinar si la concentración en la que se encuentran presente es determinante.

Las siguientes imágenes muestran los resultados del análisis cualitativo de plomo, zinc, bario, calcio, cloro, fósforo, oxígeno y carbono, cualquiera de los cuales pudieran causar interferencia en el análisis de azufre. Esta prueba se realizó con tres matrices diferentes;

- a) Línea azul. Gasolina DMR 34a.
- b) Línea verde. Diesel DMR 272a.
- c) Línea roja. Aceite mineral blanco.

En la tabla 10 Se muestran los intervalos de barrido del análisis cuantitativo, especificando el cristal analizador que de acuerdo a su posición angular determina la posición angular 2θ en la cual el elemento de interés podría mostrar señal, de estar en una concentración considerable y que pudiera afectar a la medición de azufre.

Elemento	Símbolo	Cristal	Detector	Posición angular 2θ	Intervalo de barrido
Plomo	PB	Lif 100	Flujo	33.93	32 - 34
Zinc	Zn	Lif 110	Flujo	60.58	58.5 - 62.5
Bario	Ba	Lif 100	Flujo	87.16	85.2 - 87.2
Calcio	Ca	Lif 100	Flujo	113.07	111 - 115
Cloro	Cl	Germanio	Flujo	92.76	88 - 96
Fósforo	P	Germanio	Flujo	141.03	137 - 145
Oxígeno	O	OVO	Flujo	50.9	50 - 60
Carbono	C	OVO	Flujo	122.05	117 - 127

Tabla 10. Detalles de programa cualitativo de medición.

Plomo.

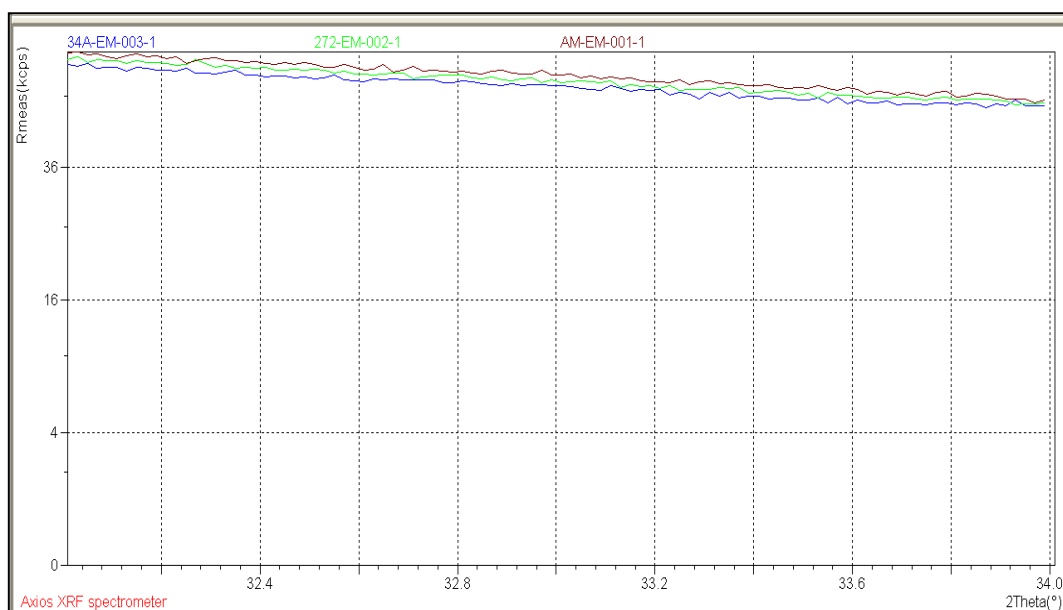


Figura 11. Imagen del análisis cualitativo de plomo para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 33.93.

Zinc.

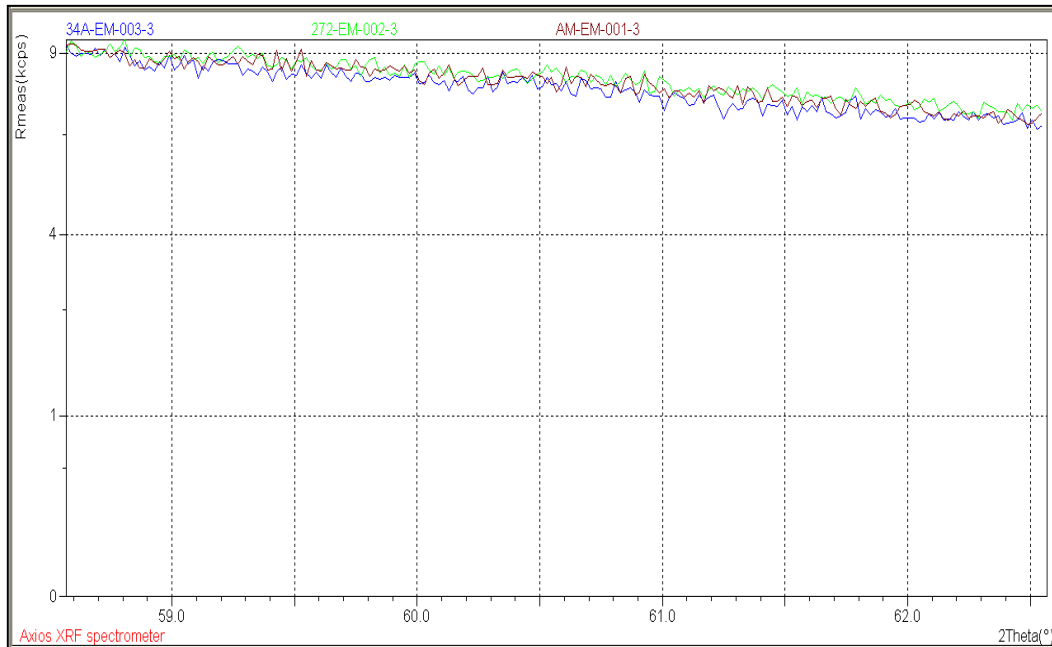


Figura 12. Imagen del análisis cualitativo de Zinc para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 60.58.

Bario.

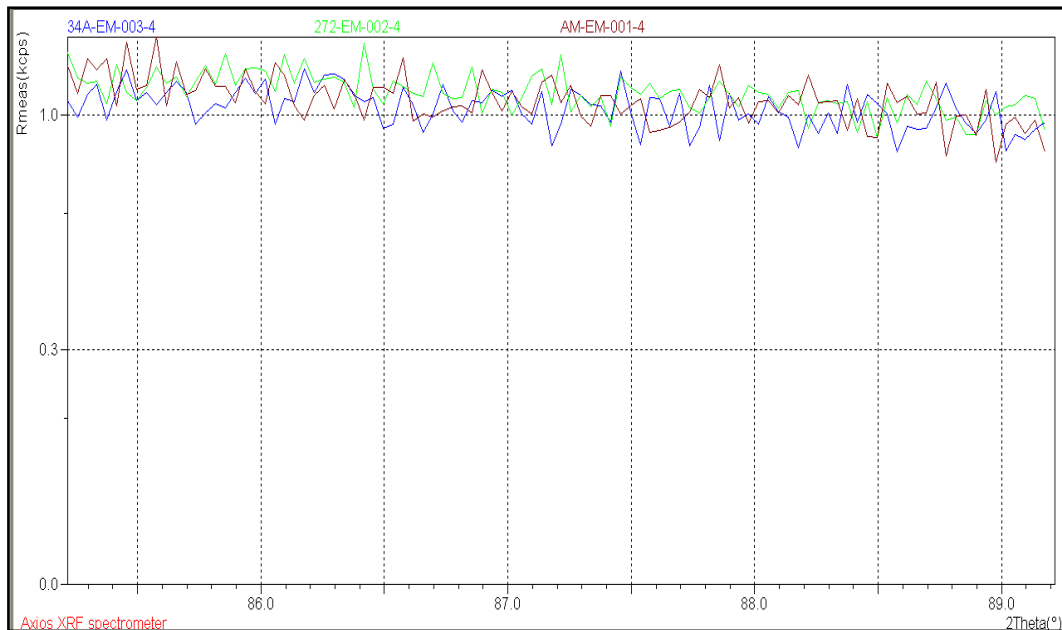


Figura 13. Imagen del análisis cualitativo de Bario para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 87.16.

Calcio.

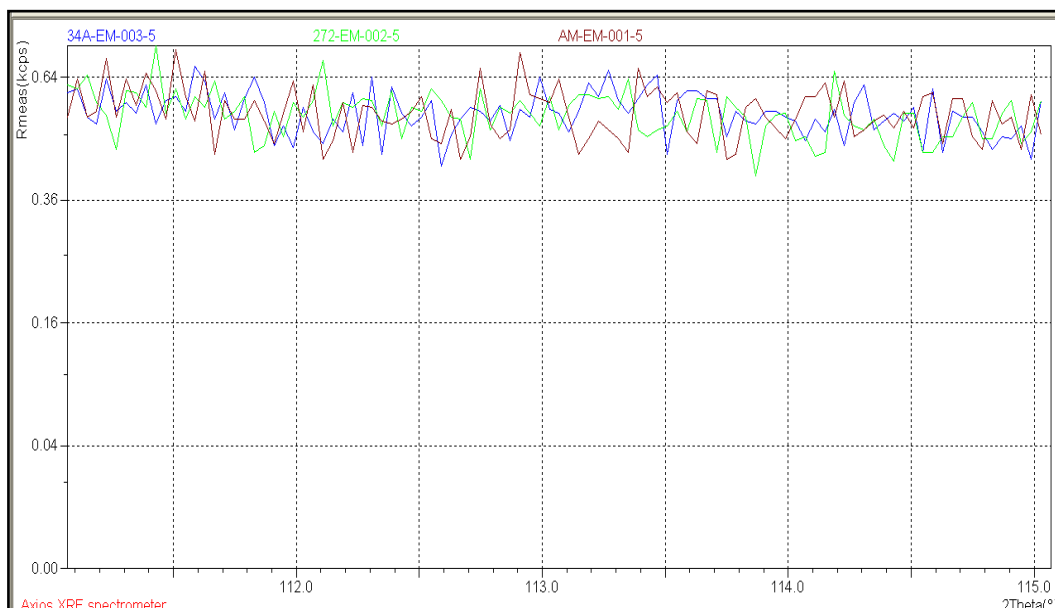


Figura 14. Imagen del análisis cualitativo de Calcio para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 113.07.

Cloro.

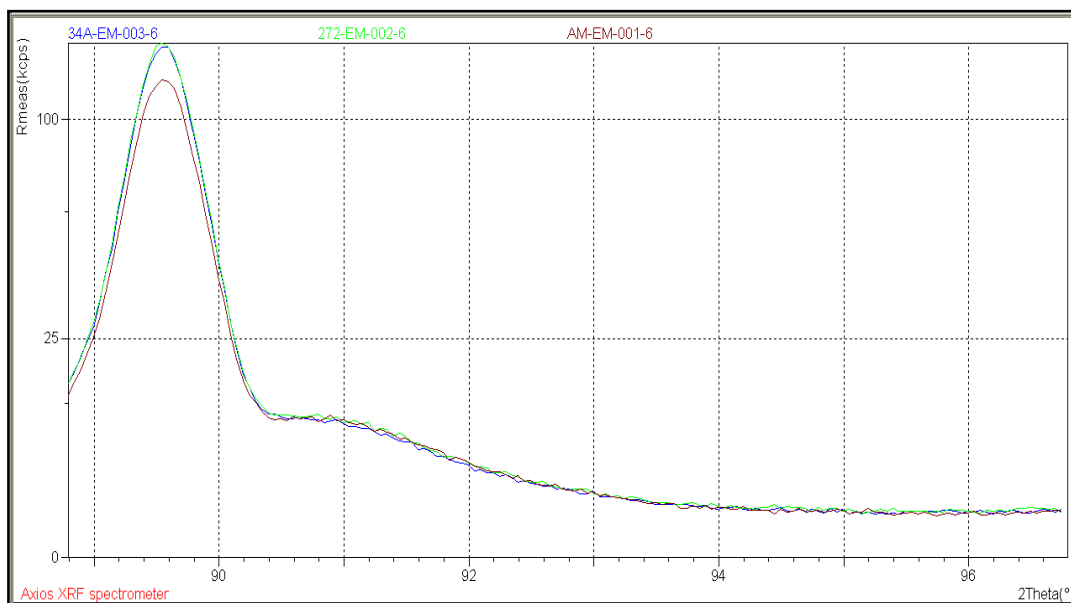


Figura 15. Imagen del análisis cualitativo de Cloro para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 92.76. La señal que se observa es ocasionada por el tubo de rayos X de rodio.

Fósforo.

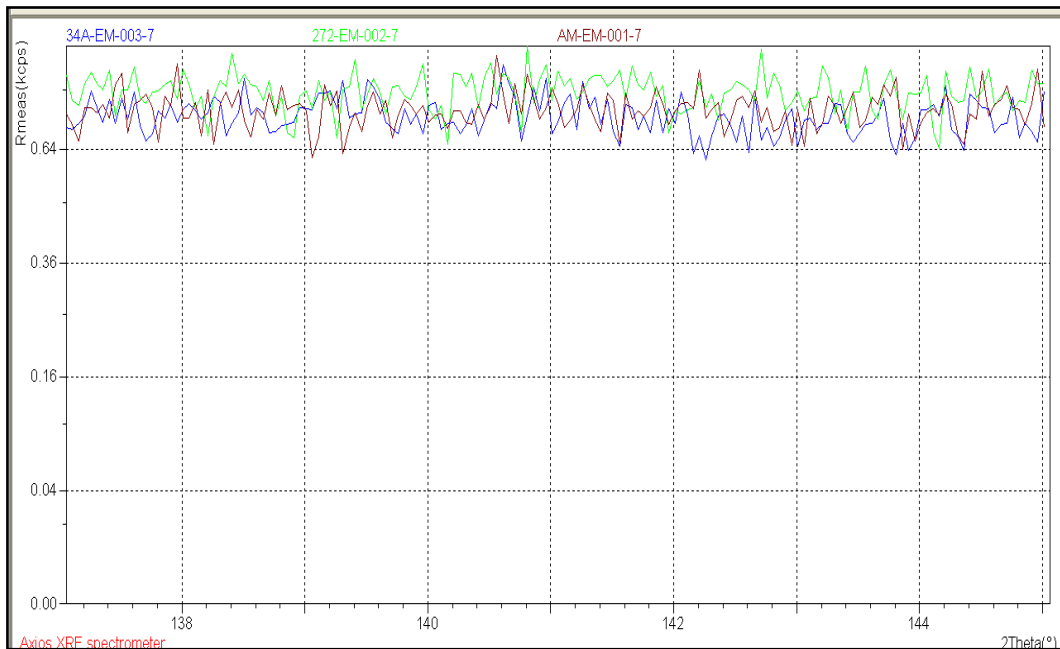


Figura 16. Imagen del análisis cualitativo de Fósforo para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 141.03.

Oxígeno.

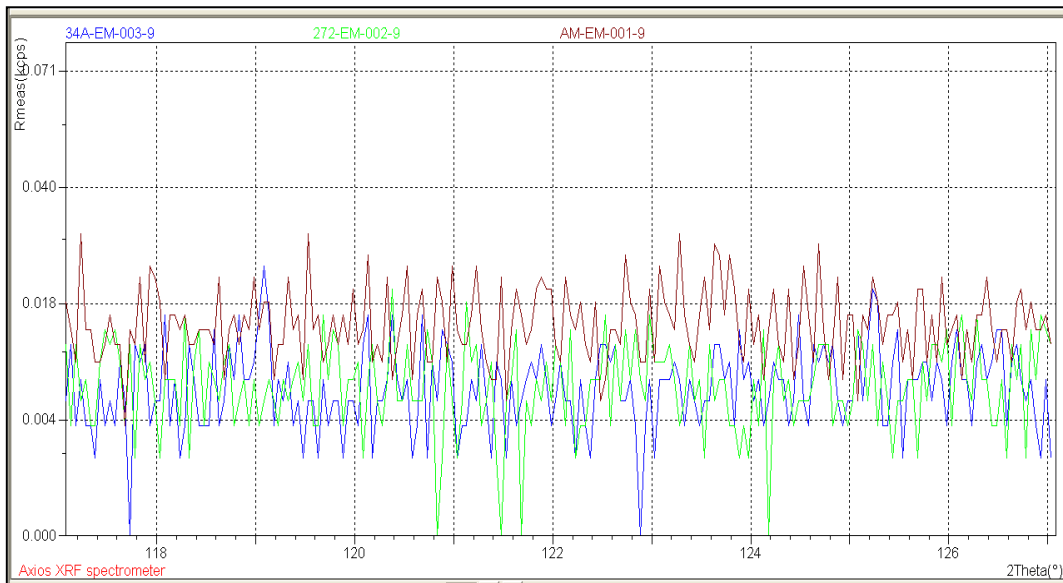


Figura 17. Imagen del análisis cualitativo de Oxígeno para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 50.90.

Carbono.

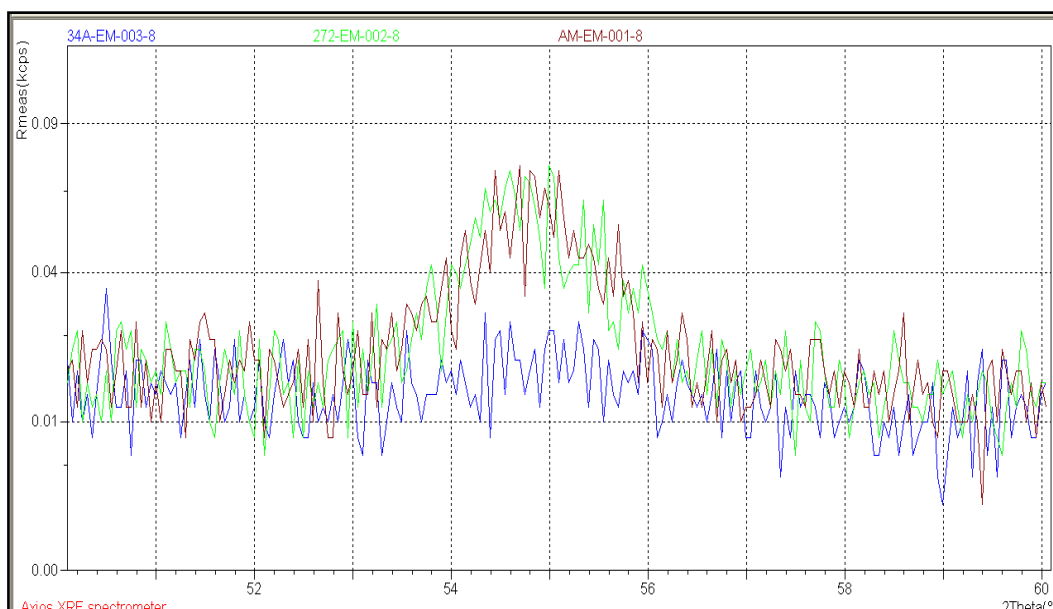


Figura 18. Imagen del análisis cualitativo de Carbono para determinación de impurezas en la matriz. El cual debería mostrar señal en la posición 2θ de 122.05.

9.3 Determinación del límite de detección.

Para la determinación del límite de detección se analizaron 10 blancos (tabla 11) se obtuvo el promedio y la desviación estándar. El valor del límite de detección será el promedio mas 3s o 4.65s según el nivel de confianza esperado.

BLANCOS	KCPS
1	0.009
2	0.023
3	0.013
4	0.008
5	0.003
6	0.013
7	0.011
8	0.006
9	0.006
10	0.001
PROMEDIO	0.009
DESVIACIÓN	0.006

Tabla 11. Valores de blancos

LÍMITE DE DETECCIÓN	KCPS
Promedio + 4.65s	0.0388

Tabla 12. Límite de defección

De acuerdo a los resultados se tomará como límite de detección al promedio más 4.65 s el cual es de 0.0388 kcps como se puede ver en la tabla 12 y mediante los valores obtenidos en la gráfica (Ver figura 13) correlacionando los kcps, el valor de concentración para el límite de detección es de 1 mg/kg. Este es el valor experimental, sin embargo ya que el valor de blanco es muy variante se tomará como límite de detección 3 mg/kg para mayor confianza.

9.4 Determinación del límite de cuantificación.

Para el límite de cuantificación se utilizaron los datos del punto anterior de desviación estándar y promedio. De acuerdo a la guía EURACHEM el límite de detección estimará como el valor promedio obtenido de diez blancos 5s, 6s ó 10s (tabla 13).

	kcps
Promedio	0.009
Des. Est. (s)	0.006

Tabla 13. Promedio y Desviación estándar “s”.

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	
Promedio + 5s	0.0410
Promedio + 6s	0.0473
Promedio + 10s	0.0727

Tabla 14. Limite de cuantificación.

El límite de cuantificación se determinó de acuerdo a la ecuación 3, tomando el promedio de 10 mediciones de blancos, en kilo conteos por segundo, más 10 s (tabla 14).

El valor resultante es de 0.0727 kcps. De igual manera al relacionar los kilo conteos por segundo en la curva de calibración (Ver la figura 13) el valor de éstos equivale a una concentración de 3 mg/ kg.

Nota: Este es el valor experimental, sin embargo ya que el valor de blanco es muy variante se tomará como el límite de detección 5 mg/kg para mayor confianza.

9.5 Intervalo de Trabajo

Considerando la sugerencia en el punto 9 de “Calibración” de la ASTM 2622, se realizó una curva de 3 mg/kg a 50, 000 mg/kg, para comprobar si era posible que con el método propuesto en este trabajo se pudiera cubrir este mismo intervalo de trabajo.

El intervalo de 3 mg/kg a 50 000 mg/kg se prepararon seccionándose en tres sub intervalos, utilizando igualmente como reactivos aceite mineral blanco y DBS.

- 0 – 1000 mg/kg
- 1000 – 10 000 mg/kg
- 10 000 a 50 000 mg/kg

En cada intervalo se prepararon varios puntos para la regresión lineal, a los cuales se le adicionaron algunos puntos más en los días 2 y 3 para mejorar la regresión. Ver tabla 15.

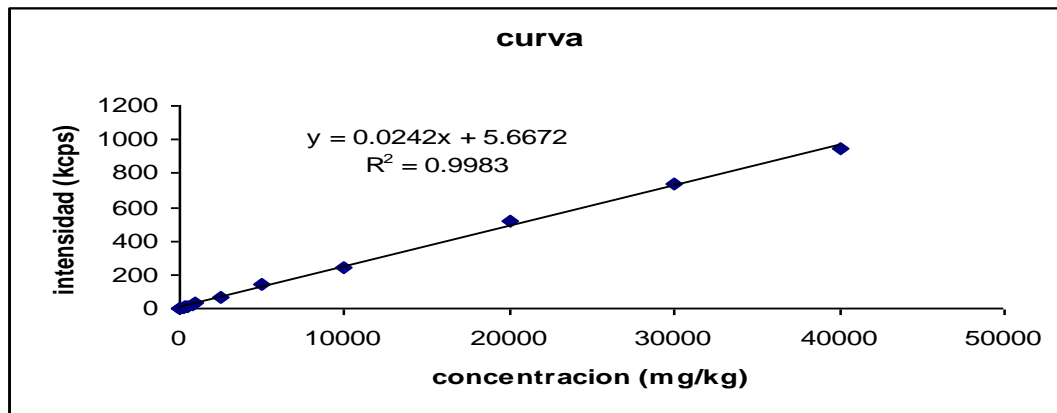
Intervalo de concentración es mg/kg	Concentración de patrones dentro del intervalo		
	Día 1	Día 2	Día 3
50 000 - 10000	40 000, 30 000, 20 000, 10 000.	40 000, 35 000, 30 000, 25 000. 15 000, 10000.	40 000, 35 000, 30 000, 25 000. 15 000, 10000.
10 000 - 1000	5 000, 2 500, 1 000,	8 000, 6 000, 4 000, 2 000, 1 000.	8 000, 6 000, 4 000, 2 000, 1 000.
1 000 - 3	1000, 750, 500, 250, 100, 10, 5, 3.	1000, 750, 500, 250, 100, 10, 5, 3.	1000, 750, 500, 250, 100, 10, 5, 3.

Tabla 15. Valor de patrones para cada intervalo de concentraciones.

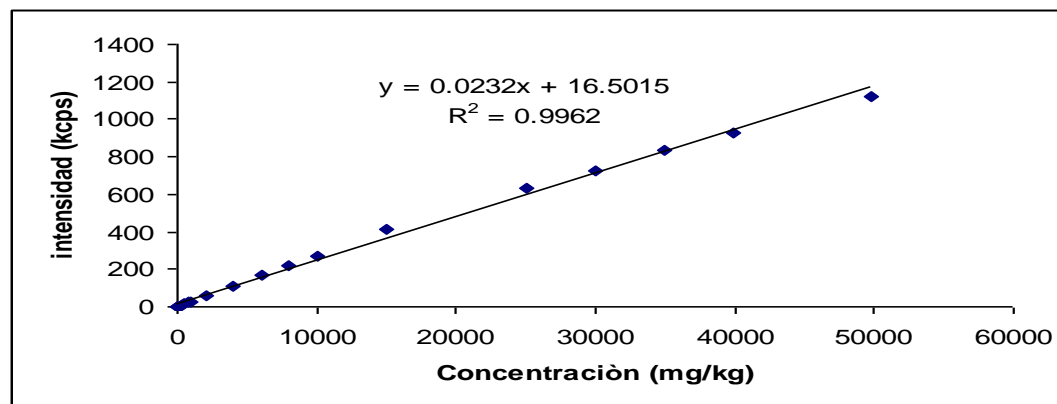
Todos los puntos de calibración preparados en el intervalo de 3 a 50 000 mg/kg fueron medidos usando fluorescencia de rayos X obteniéndose la respuesta del instrumento (kilo conteos por segundo) que después se graficó en Excel versus los valores de concentración de la preparación.

Las pruebas fueron realizadas por triplicado para cumplir el requerimiento de repetibilidad. A continuación se muestran las gráficas obtenidas de los tres días con sus parámetros de regresión lineal y su coeficiente de variación R.

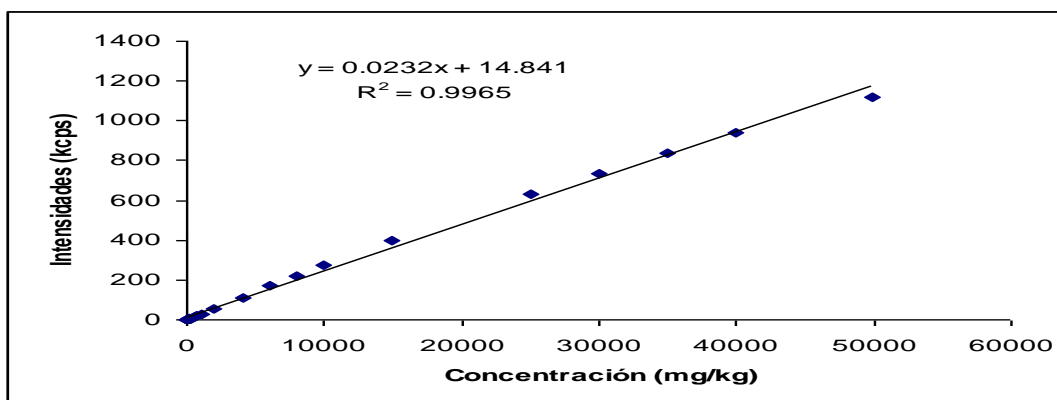
Intervalo Completo 3 - 50,000 mg/kg



Grafica 1: Día 1 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo lineal.

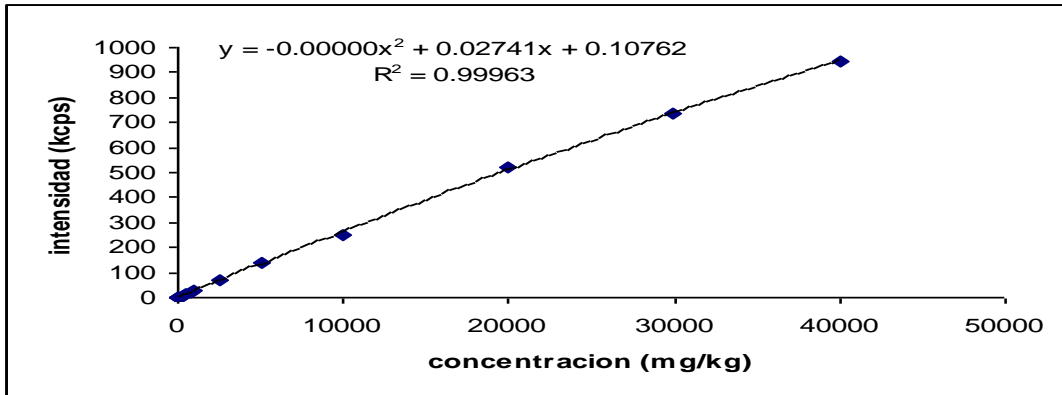


Grafica 2: Día 2 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo lineal.

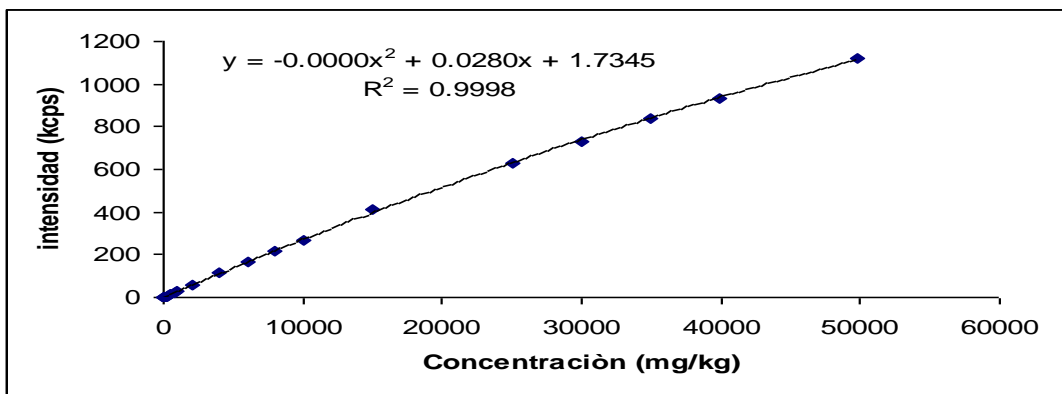


Grafica 3: Día 3 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo lineal.

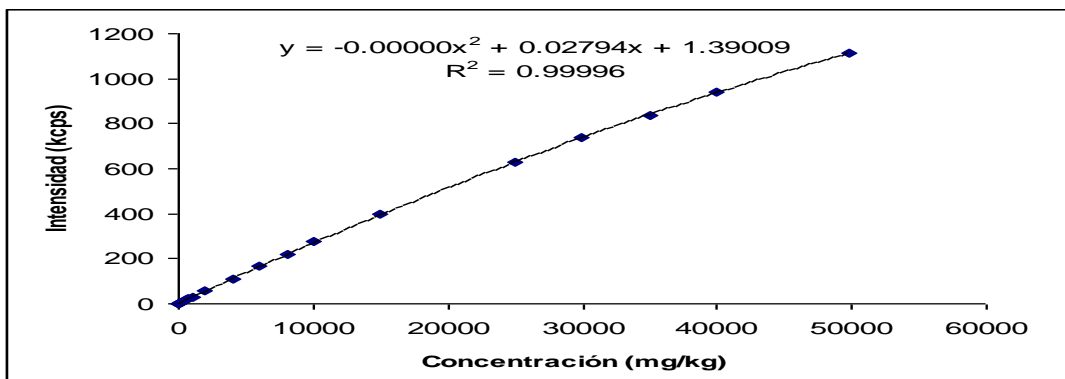
De las gráficas anteriores se observa que aunque pretenden llevar una tendencia lineal, los coeficientes de correlación obtenidos son de $R = 0.9983, 0.9962, 0.9965$, lo que determinaba que no se correlacionaban suficientemente por lo que podrían ajustarse mejor a otro modelo de regresión. Los mismos valores se graficaron considerando una regresión binomial y en las gráficas 4, 5 y 6 se observan los resultados.



Gráfica 1¹: Día 1 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo binomial



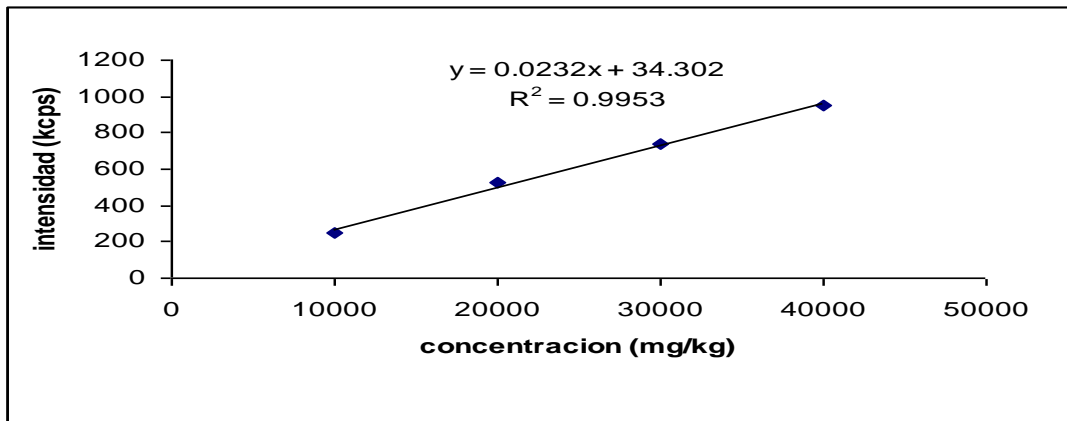
Gráfica 2¹: Día 2 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo binomial



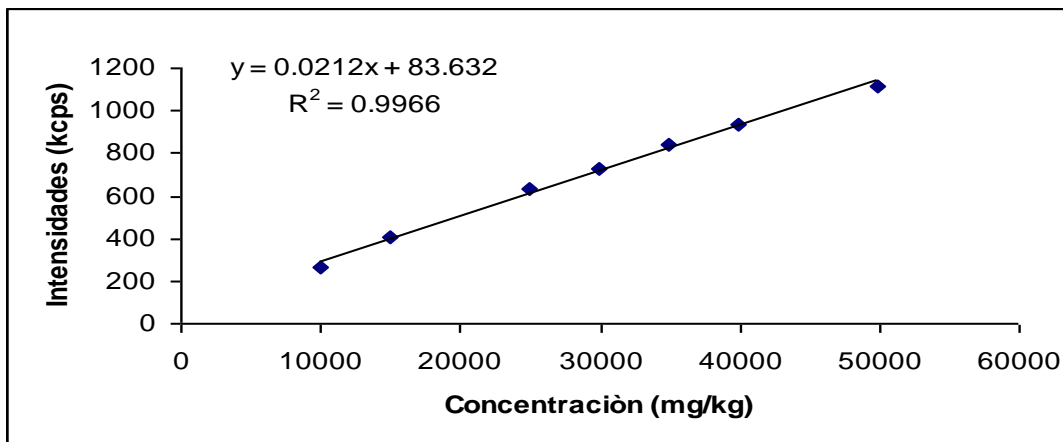
Gráfica 3¹: Día 3 Intervalo completo utilizando una regresión de tipo binomial.

Usando la regresión binomial se acoplaron mejor los datos mejorándose el factor de corrección de todas las gráficas ($R = 0.99963, 0.99984, 0.99996$). Esto significa que la relación respuesta - concentración no tiene una relación lineal al considerar el intervalo completo. Por lo que se analizaron los resultados por intervalos.

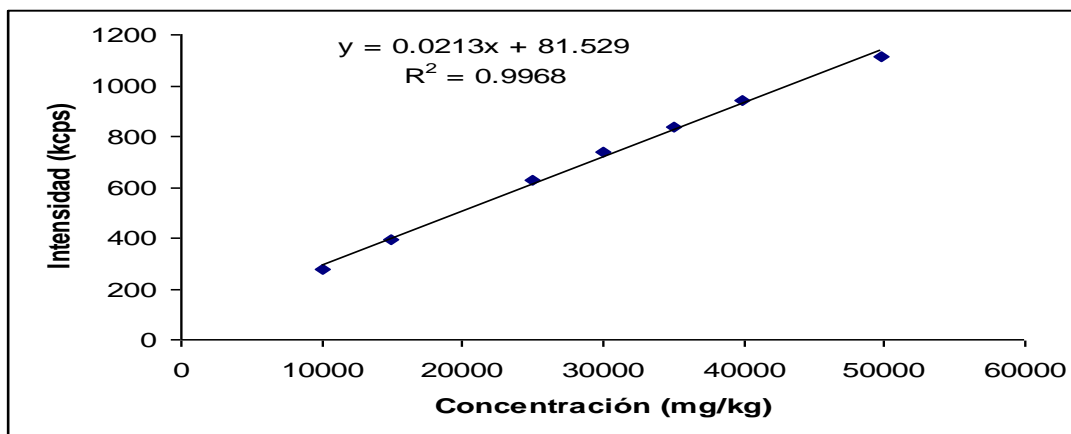
Intervalo De 50,000 mg/kg -10,000 mg/kg



Gráfica 4: Día 1 Intervalo de 10 000 a 50 000 mg/kg usando cuatro puntos de calibración.



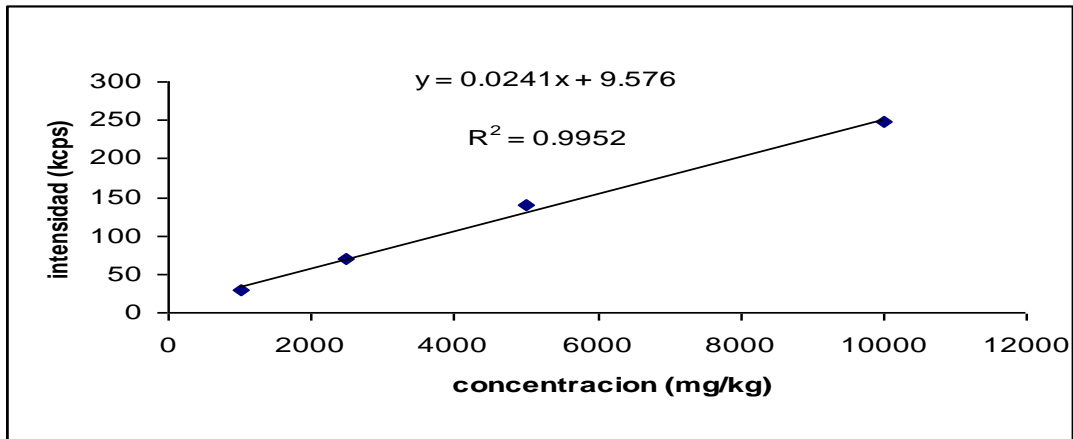
Gráfica 5: Día 2 Intervalo de 10 000 a 50 000 mg/kg usando siete puntos de calibración.



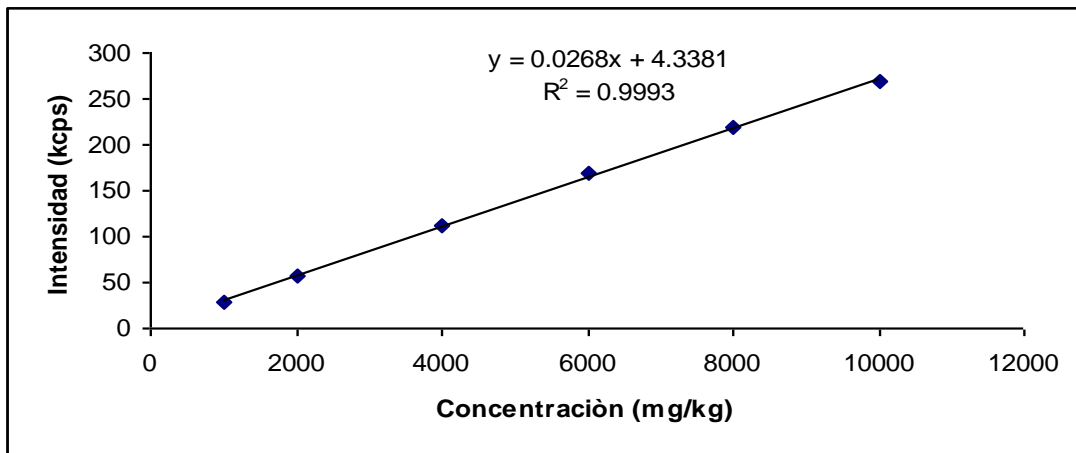
Gráfica 6: Día 3 Intervalo de 10 000 a 50 000 mg/kg usando siete puntos de calibración.

En estas gráficas se observa que aunque el factor de correlación no mejoró grandemente, la tendencia de la curva se observaba más lineal.

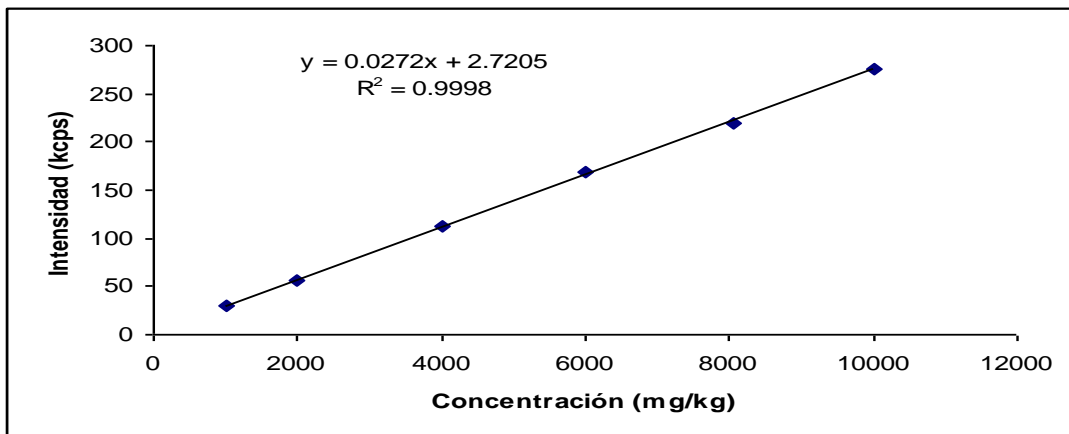
Intervalo De 1000 mg/kg A 10000 mg/kg



Grafica 7: Día 1 Intervalo de 1000 a 10 000 mg/kg usando cuatro puntos de calibración.



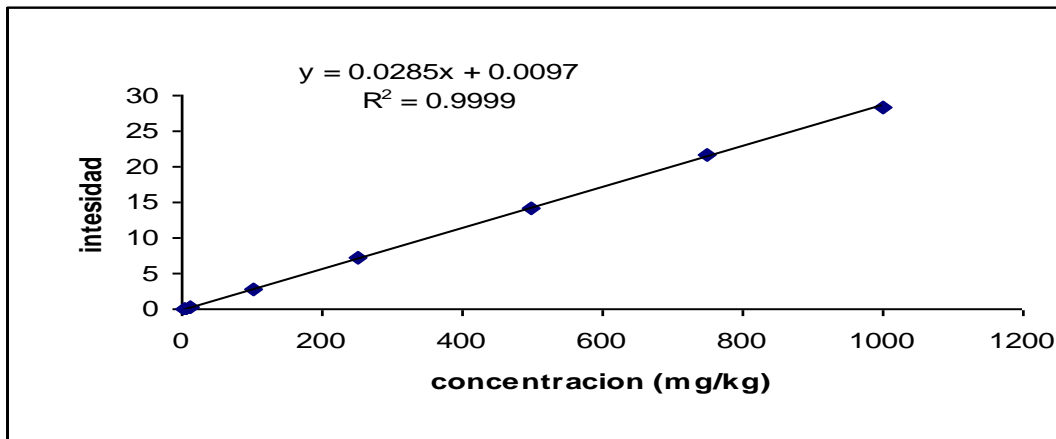
Grafica 8: Día 2 Intervalo de 1000 a 10 000 mg/kg usando seis puntos de calibración.



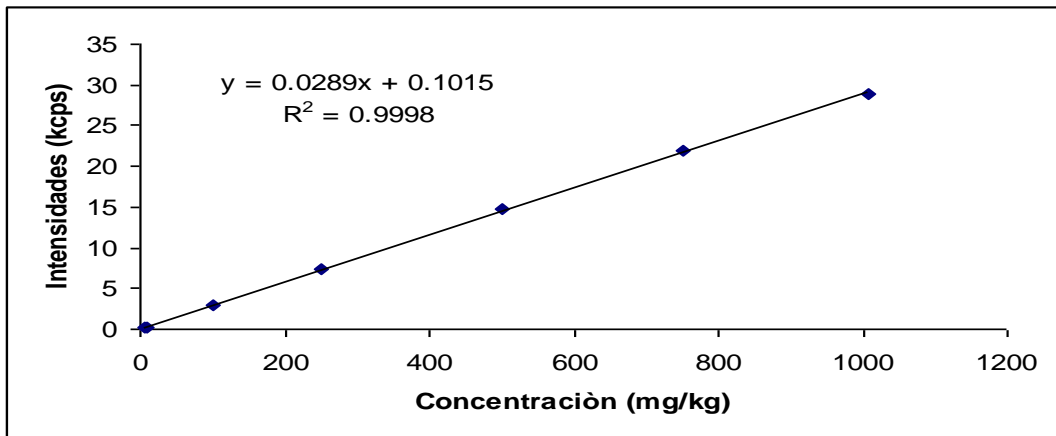
Grafica 9: Día 3 Intervalo de 1000 a 10 000 mg/kg usando seis puntos de calibración.

Al igual que el intervalo anterior se observa que los factores de correlación se acercan más a uno por lo que la tendencia de la recta es aun más lineal ($R = 0.9952, 0.9993, 0.9998$): se puede observar que en el día 2 y 3 cuando se incrementó el número de puntos de calibración también se incrementó la correlación.

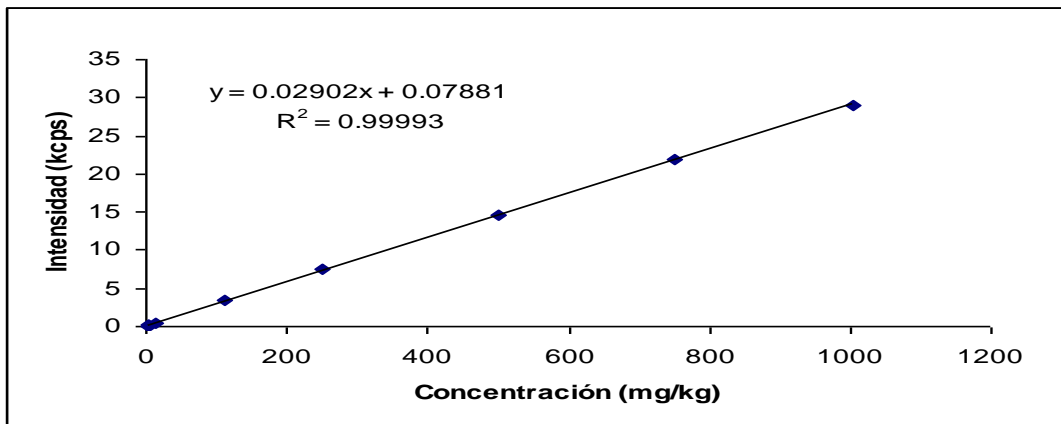
Intervalo De 3 mg/kg A 1000 mg/kg



Gráfica 10: Día 1 Intervalo de 3 a 1 000 mg/kg usando seis puntos de calibración.



Gráfica 11: Día 2 Intervalo de 3 a 1 000 mg/kg usando seis puntos de calibración.



Gráfica 12: Día 3 Intervalo de 3 a 1 000 mg/kg usando seis puntos de calibración.

Al igual que en los casos anteriores se observa que el factor de correlación mejora marcadamente (es decir que existe una mejor asociación entre las dos variables. En este intervalo se observó el mayor acercamiento a al valor 1 que significan la mejor correlación obtenida de los tres intervalos. Por lo que se considera que el mejor intervalo de trabajo es este.

9.6 Intervalo lineal

El intervalo lineal será determinado dependiendo de la muestra que se pretenda analizar. Como se observa en el punto anterior, se pueden obtener diferentes intervalos lineales. Sin embargo se aconseja considerar que donde se obtuvo una mejor correlación es de 5 a 1000 mg/kg.

Aunque por otro lado también se observa que la curva que presenta el mejor ajuste a una recta esta entre las concentraciones de 5-1000 mg/kg.

9.7 Exactitud

Para verificar la exactitud del método se analizaron materiales de referencia certificados por el CENAM como muestras desconocidas utilizando las curvas elaboradas en el punto 4.5.

Después se compararon los resultados obtenidos contra su valor certificado y se calculó el sesgo relativo de acuerdo a la ecuación 4.

$$\% \text{SESGO} = \frac{\text{Conc.obtenida} - \text{Conc.certificada}}{\text{conc.certificada}} \quad (4)$$

En la tabla 16 se detallan los valores obtenidos, los valores certificados y las incertidumbres de los materiales cuantificados, además del sesgo relativo.

Material de referencia	Concentracion certificada	Concentracion obtenida	Sesgo relativo %
DMR 268A	25256.03 ± 502.01	25743.43	1.93
DMR 267A	10212.065 ± 219.24	10256.17	0.45
DMR 266A	1005.93 ± 20.78	1000.91	0.50
DMR 271	643.45 ± 16.92	657.23	2.14
DMR 412	17.8 ± 1.1	17.05	4.23

Tabla 16.Exactitud del método mediante sesgo de materiales de referencia.

9.8 Incertidumbre De Medición.

La recopilación de los resultados se muestra en la tabla 17.

Las incertidumbre de cada uno de los materiales fue estimada como $U = k u_c$, en donde u_c , es la incertidumbre estándar combinada estimada de acuerdo a la "Guide to Expression of Uncertainty in Measurement, BIMP, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, OIML, 1995" y "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements EURACHEM/CITAC Guide, second edition (2000)" y k es el factor de cobertura. La incertidumbre expandida, U , con un factor de cobertura $k = 2$ define un nivel de confianza de aproximadamente el 95 %.

Para determinar un porcentaje de la incertidumbre relativa (u_{rel}) se utiliza la ecuación 5:

$$u_{rel} = \frac{U}{\text{Valor Certificado}} * 100 \quad (5)$$

Donde;

u_{rel} = Incertidumbre relativa

U = Incertidumbre combinada expandida

Identificación	Matriz	Valor certificado mg/kg	Incertidumbre mg/kg	Incertidumbre relativa mg/kg
DMR-265a	Aceite mineral	106.3	2.60	2.45
DMR-266a	Aceite mineral	1006	21.03	2.09
DMR-267a	Aceite mineral	10151.33	219.27	2.16
DMR-268a	Aceite mineral	25256.03	502.59	1.99
DMR-269a	Aceite mineral	52.08	2.34	4.49
DMR-270a	Gasolina	48.9	1.90	3.89
DMR-271a	Gasolina	643.45	16.92	2.63
DMR-270a	Diesel	397.9	4.06	1.02
DMR-351a	Aceite mineral	29.77	1.56	5.24
DMR-352a	Aceite mineral	41.04	2.30	5.60
DMR-353a	Aceite mineral	60.87	2.39	3.93
DMR-354b	Keroseno	74.7	3.50	4.69
DMR-369b	Gasolina	366.3	7.91	2.16
DMR-370b	Gasolina	561.9	18.88	3.36
DMR-372b	Diesel	197.7	8.01	4.05
DMR-373b	Diesel	672.2	15.60	2.32
DMR-374a	Diesel	874.2	24.22	2.77
DMR-412a	Aceite mineral	17.8	1.10	6.18

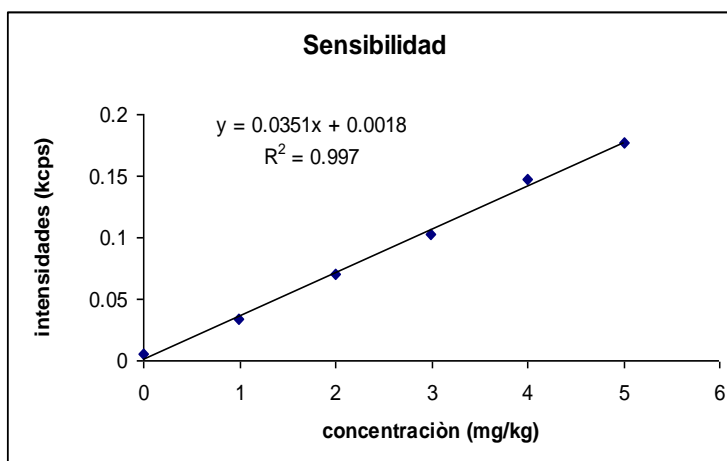
Tabla 17. Incertidumbre de materiales de referencia.

9.9 Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad del método se realizaron dos pruebas. El objetivo de la primera prueba era determinar la capacidad de distinguir pequeñas concentraciones de azufre, por lo que se prepararon y midieron cinco puntos de calibración de 1, 2, 3, 4 y 5 mg/kg. Los resultados obtenidos que se muestran en la tabla 18; al mismo tiempo los cuales se pueden observar de acuerdo a la respuesta dada por el equipo en la gráfica 13.

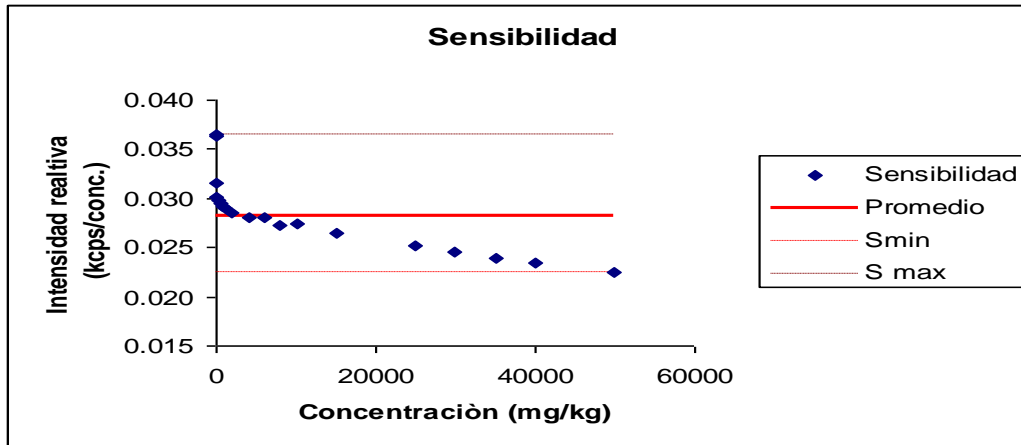
Concentración mg/kg	Intensidad kcps
0	0.01
1.0	0.03
2.0	0.07
3.0	0.10
4.0	0.15
5.0	0.18

Tabla 18. Determinación de sensibilidad



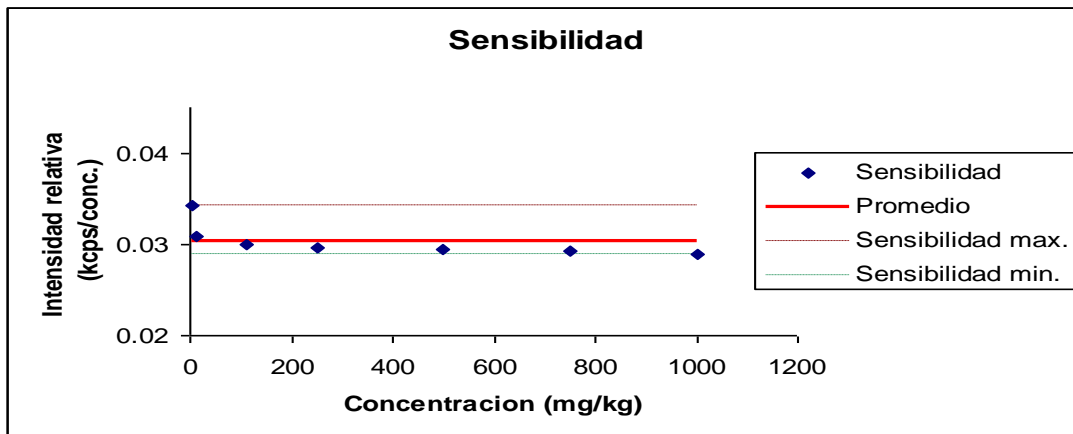
Gráfica 13: intensidad (kilo conteos por segundo) vs. Concentración (mg/kg) de 1 mg/kg a 5 mg/kg.

La segunda prueba fue de acuerdo al procedimiento para determinar la intensidad relativa de acuerdo a Miller (7) el cual propone obtener la intensidad relativa, dividiendo los kcps entre la concentración, la siguiente gráfica 14 muestra los resultados del intervalo completo 5 mg/kg a 50 000 mg/kg. De la intensidad relativa contra la concentración.



Gráfica 14: intensidad relativa (kilo conteos por segundo/ Conc.) vs. Concentración (mg/kg) del intervalo de 3 mg/kg a 50 00 mg/kg

La gráfica 15 es de los valores de la sensibilidad para el intervalo lineal (de 5mg/kg a 1000 mg/kg) son los siguientes:



Gráfica 15: intensidad relativa (kilo conteos por segundo/conc.) vs. Concentración (mg/kg)

9.10 Robustez

Los resultados de las pruebas para determinar la robustez del método son los siguientes:

9.10.1. Llenado de celda

Para la realización de esta prueba, se consideró medir diferentes cantidades del material (3g, 5g, 8g, 10g y 12g), las cuales proporcionarían diferentes niveles de llenado de celda. Después se graficaron las intensidades obtenidas (kilo conteos por segundo) contra los pesos.

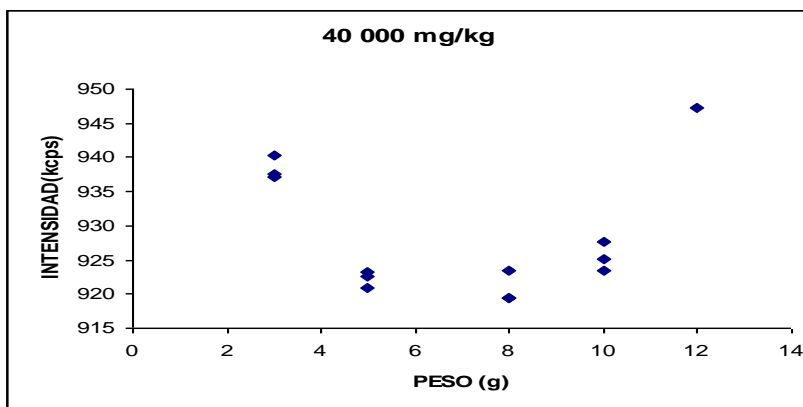
Así mismo, se utilizaron diferentes concentraciones para determinar si existía influencia debido a este parámetro. Los resultados pueden observarse en las gráficas 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24.

Así también se tabuló los resultados de las intensidades las cuales se realizaron tres veces (a, b, c) para cada muestra y el resultado de la medición aparece en las tablas (19, 20, 21, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Concentración de 40 000 mg/kg.

Peso (g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	937.51	937.19	940.27
5	920.83	922.62	923.29
8	919.36	919.47	923.40
10	923.46	925.06	927.65
12	947.22	947.22	947.22

Tabla 19. Variación de intensidades por diferencia de peso con 40 000 mg/kg.

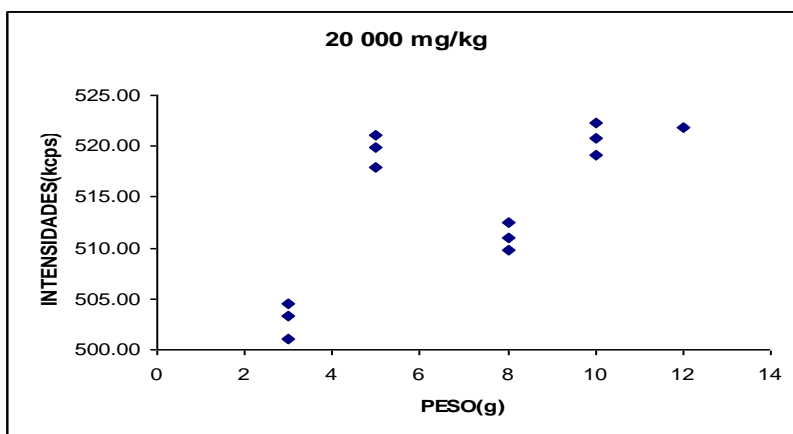


Gráfica 16: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 40 000 mg/kg

Concentración de 20 000 mg/kg.

Peso(g)	MEDICIÓN (kcps)		
	A	B	C
3	501.06	503.33	504.50
5	517.98	519.87	521.02
8	509.77	511.06	512.43
10	519.08	520.74	522.30
12	521.86	521.86	521.86

Tabla 20. Variación de intensidades por diferencia de peso con 20 000 mg/kg

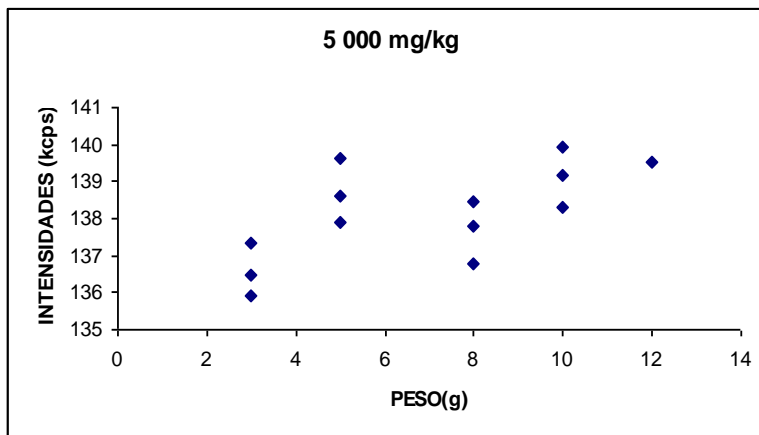


Gráfica 17: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 20 000 mg/kg).

Concertación de 5 000 mg/kg

Peso (g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	135.9	136.5	137.3
5	137.9	138.6	139.6
8	136.8	137.8	138.5
10	138.3	139.2	139.9
12	139.5	139.5	139.5

Tabla 21. Variación de intensidades por diferencia de peso con 5 000 mg/kg.

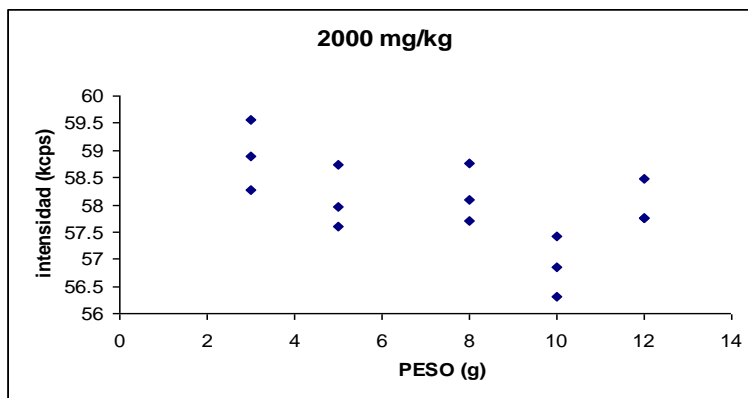


Gráfica 18: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 5 000 mg/kg.

Concertación de 2 000 mg/kg

Peso(g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	58.26	58.88	59.56
5	57.60	57.96	58.73
8	57.71	58.10	58.77
10	56.31	56.84	57.42
12	57.75	57.75	58.48

Tabla 22. Variación de intensidades por diferencia de peso con 2 000 mg/kg.

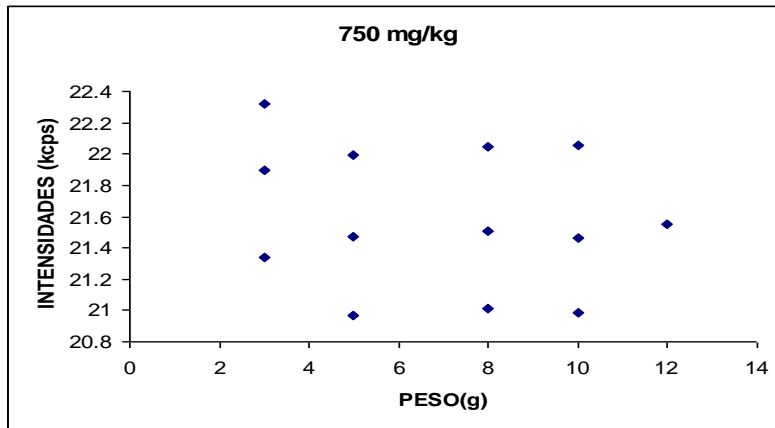


Gráfica 19: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 2 000 mg/kg).

Concertación de 750 mg/kg

Peso (g)	MEDICION (kcps)		
	a	b	c
3	21.34	21.89	22.32
5	20.97	21.47	21.99
8	21.01	21.51	22.04
10	20.99	21.46	22.05
12	21.55	21.55	21.55

Tabla 23. Variación de intensidades por diferencia de peso con 750 mg/kg.

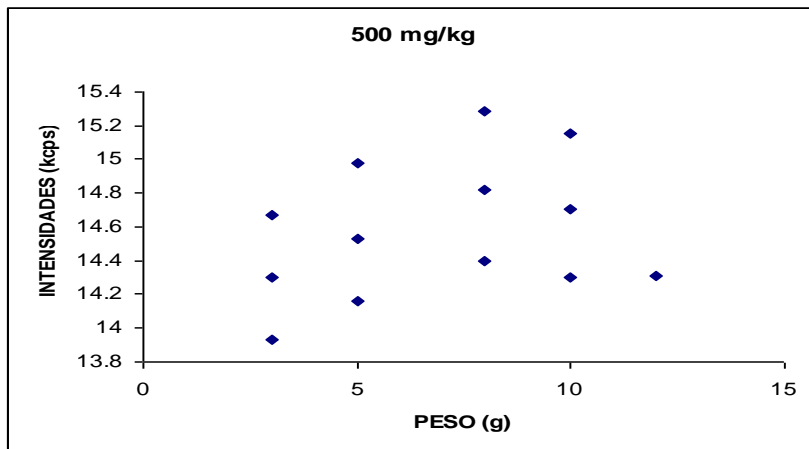


Gráfica 20: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 750 mg/kg.

Concertación de 500 mg/kg

Peso (g)	MEDICION (kcps)		
	a	b	c
3	13.93	14.30	14.67
5	14.16	14.53	14.98
8	14.40	14.82	15.28
10	14.30	14.71	15.15
12	14.31	14.31	14.31

Tabla 24. Variación de intensidades por diferencia de peso con 500 mg/kg.

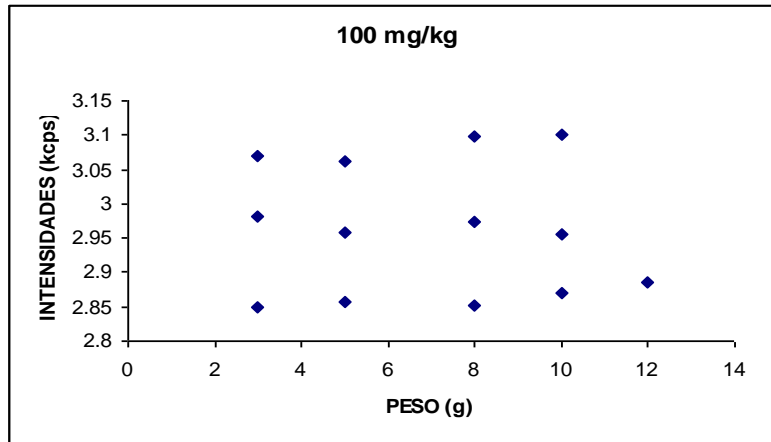


Gráfica 21: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 500 mg/kg

Concertación de 100 mg/kg

Peso (g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	2.85	2.98	3.07
5	2.86	2.96	3.06
8	2.85	2.97	3.10
10	2.87	2.96	3.10
12	2.89	2.89	2.89

Tabla 25. Variación de intensidades por diferencia de peso con 100 mg/kg.

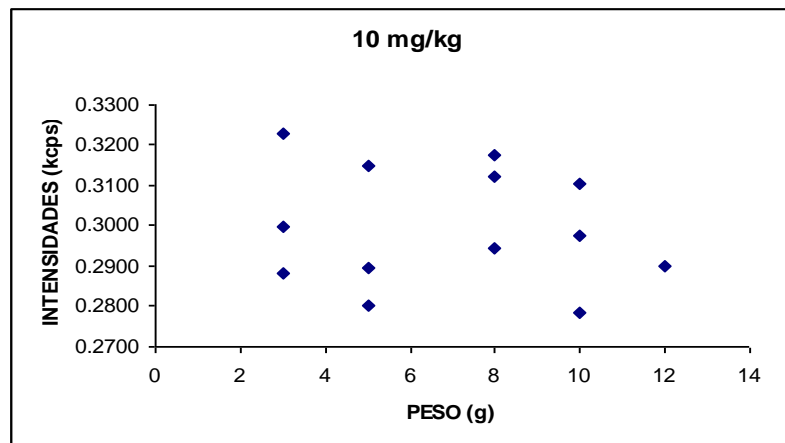


Gráfica 22: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 100 mg/kg

Concertación de 10 mg/kg

Peso (g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	0.29	0.30	0.32
5	0.28	0.29	0.31
8	0.29	0.31	0.32
10	0.28	0.30	0.31
12	0.29	0.29	0.29

Tabla 26. Variación de intensidades por diferencia de peso con 10 mg/kg

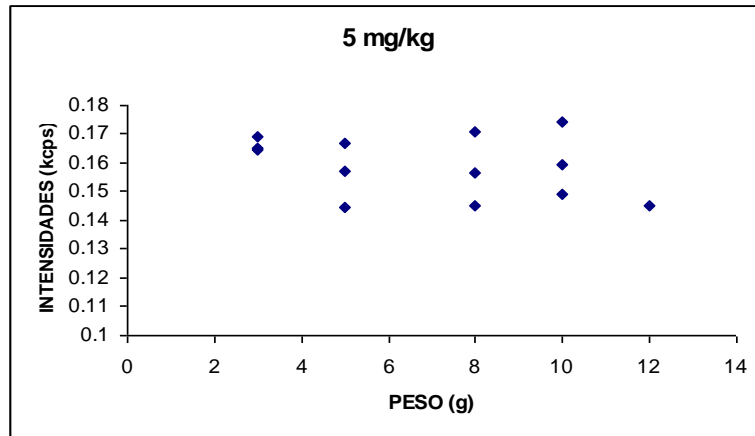


Gráfica 23: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 10 mg/kg

Concertación de 5 mg/kg

Peso (g)	MEDICIÓN (kcps)		
	a	b	c
3	0.16	0.16	0.17
5	0.14	0.16	0.17
8	0.15	0.16	0.17
10	0.15	0.16	0.17
12	0.15	0.15	0.15

Tabla 27. Variación de intensidades por peso



Gráfica 24: intensidad (kcps) vs. Peso (g) para 5 mg/kg

Gráficamente se puede observar que al disminuir la concentración las variaciones por llenado de celda se minimizan, es decir no resulta determinante la cantidad de muestra para su medición. Sin embargo para asegurar los valores obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a todos los resultados anteriores y así determinar cuál es el intervalo a partir del cual existe menor variación.

Anova es una técnica estadística muy potente que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de la variación.

De este modo se puede contrastar si una alteración del factor de control conduce a diferencias significativas entre los valores medios obtenidos.

Para realizar el cálculo del ANOVA es necesario determinar el valor del estadístico de prueba F de acuerdo a la ecuación 6.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (6)$$

Donde:

S_1^2 = Es la varianza de las repeticiones a una cantidad de muestra dada.

S_2^2 = Es la varianza entre las cantidades de muestra.

Los resultados están resumidos en la tabla 28:

# Identificación	concentración mg/kg	F crítica	Fcalculada
1	4 0000	3.478	139.396
2	20 000	3.478	100.128
3	5 000	3.478	8.157
4	2 000	3.478	5.280
5	750	3.478	0.338
6	500	3.478	1.239
7	100	3.478	0.409
8	10	3.478	0.782
9	5	3.478	2.004

Tabla 28. Comparación de valores del análisis ANOVA

Para establecer de forma estadística si se acepta la variación obtenida se establece la siguiente hipótesis nula:

$$H_0 = F_{\text{Calculada}} < F_{\text{Teórica}} \quad \text{al 95\% de confianza}$$

Decisión: Si se cumple la hipótesis nula significa que no es significativa la variación.

9.10.2. Estabilidad del analito

Esta prueba está diseñada pensando en la preparación de una curva y en la posibilidad de no poder ser medida al instante. Para esta prueba se eligió el intervalo de 5 mg/kg a 100 mg/kg el cual es un intervalo de baja concentración y con el que se espera ver más fácilmente si existe alguna variación. Se prepararon los puntos mostrados en la tabla 29.

Identificación	Concentración mg/kg
P0	3
P1	5
P2	10
P3	20
P4	25
P5	35
P6	40
P7	50
P8	60
P9	70
P10	75
P11	80
P12	90

Tabla 29. Puntos de la curva de calibración para establecer alguna posible variación de la concentración por tiempo.

La curva se preparó con aceite mineral blanco y DBS.

La primera medición se realizó inmediatamente después de la preparación, la segunda a un intervalo corto de tiempo y la tercera medición después de un tiempo mucho mayor.

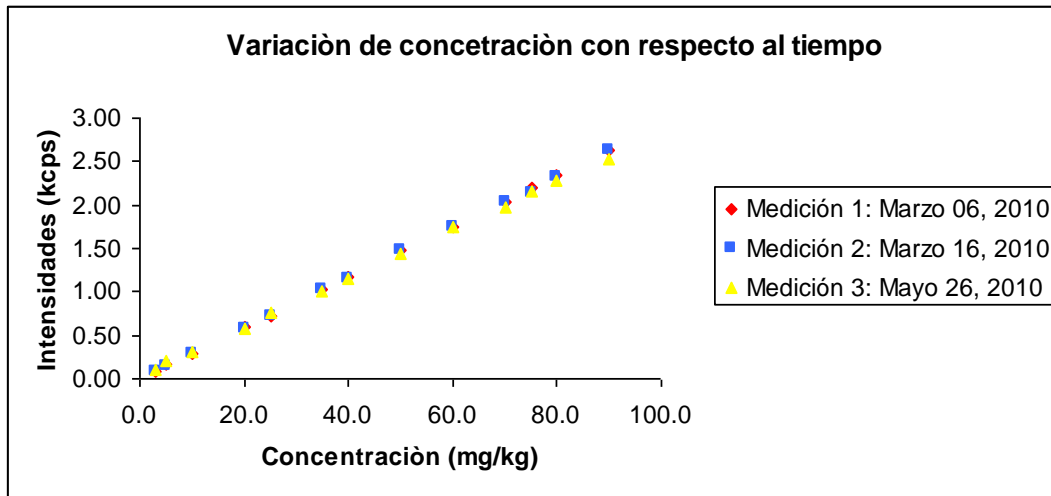
Medición 1: 06 de marzo, 2010,

Medición 2: Diez después, el 16 de marzo.

Medición 3: Después de 80 días, 26 de mayo, 2010.

Los resultados se observan en la gráfica 25 donde los puntos obtenidos por los tres días se encuentran superpuestos.

La tabla 30, muestra el resumen de los parámetros de regresión.



Grafica 25: Comparación de los tres días de medición. Intensidad (kilo conteos por segundo) vs. Concentración (mg/kg).

Resumen de resultados tabla 30.

	Medición 1	Medición 2	Medición 3
	3/6/2010	3/16/2010	5/26/2010
valor de pendiente	0.0291	0.029	0.028
valor de la ordenada	0.007	0.004	0.04
factor de correlacion	0.9999	0.9997	0.9994

Tabla 30. Comparación de valores pendiente-ordenada.

9.10.3. Evaporación

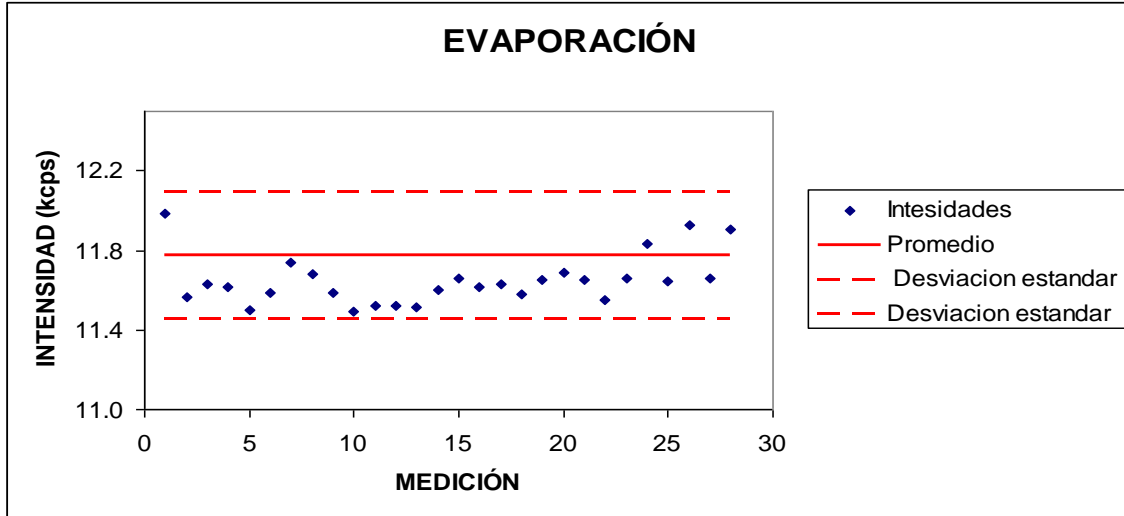
9.10.3.1 Evaporación de azufre en aceite mineral

Muestra 0 (400mg/kg) azufre en aceite mineral. Resultados en la tabla 31

Patron 0 (400 mg/kg)							
tiempo (min)	muestra respuesta (kcps)						
	A	B	C	D	E	F	G
0	11.99						
30	11.56	11.68					
60	11.63	11.59	11.60				
120	11.61	11.49	11.66	11.65			
180	11.50	11.52	11.61	11.69	11.66		
330	11.59	11.52	11.63	11.65	11.84	11.93	
1440	11.74	11.51	11.58	11.55	11.64	11.66	11.90

Tabla 31. Variación de intensidades por tiempo en matriz de aceite mineral

La grafica siguiente muestra la variación de la intensidad de la concentración de azufre durante los intervalos de tiempo establecidos.



Grafica 26: Concentración de azufre en aceite mineral. Intensidad (kilo conteos por segundo) vs. Medición

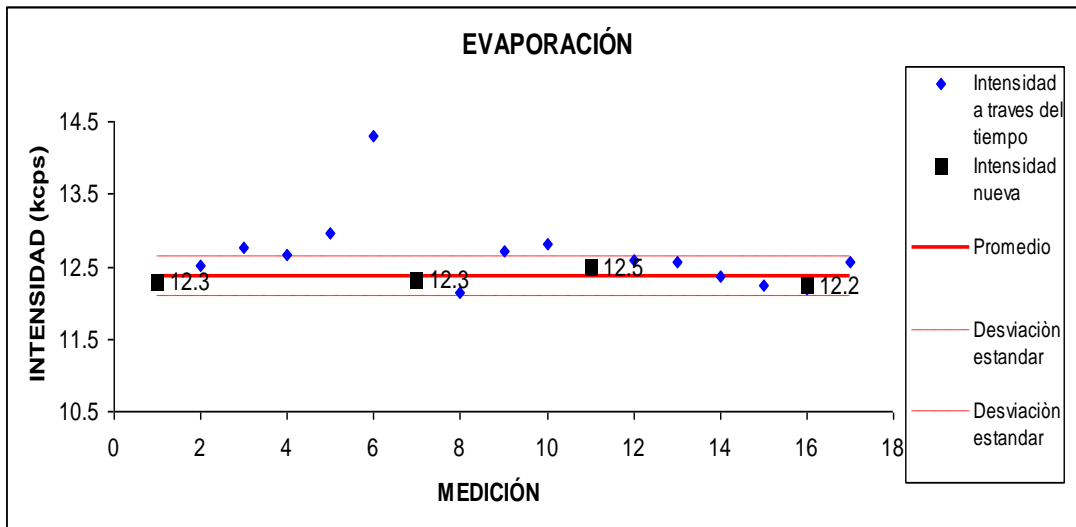
9.10.3.2 Evaporación de azufre en gasolina

Muestra 1 (400mg/kg) azufre en aceite mineral. Resultados en la tabla 32

Muestra 1 (420 mg/kg)						
tiempo (min)	respuesta (kcps)					
	A	B	C	D	E	F
0	12.28					
30	12.50	12.31				
60	12.76	12.14	12.49			
120	12.67	12.71	12.58	12.37		
180	12.96	12.81	12.56	12.23	12.20	
330	14.30					12.55

Tabla 32. Variación de intensidades por tiempo para una matriz de gasolina

La grafica 27 muestra la variación de la intensidad la concentración de azufre en gasolina durante los intervalos de tiempo establecidos. Debido a los conocimientos previos acerca de la volatilidad de las gasolinas esta prueba se realizó para un intervalo menor de tiempo; así también se presentan dos tipos de puntos en los cuales están los valores de las intensidades medidas inmediatamente y las intensidades medidas con intervalos de tiempo para poder determinar gráficamente la variación de la intensidad lo que nos da el valor de la concentración.



Gráfica 27: Concentración de azufre en gasolina. Intensidad (kilo conteos por segundo) vs. Medición

Para determinar la veracidad de los resultados se realizó una prueba estadística T de diferencia entre dos medias con varianzas diferentes, donde se comparó el valor de las medias, supongamos que se obtiene dos muestras aleatorias de tamaños n_1 y n_2 de poblaciones normales (o aproximadamente normales), y tienen medias y desviaciones estándar dadas por \bar{X}_1, \bar{X}_2 , y s_1, s_2 , respectivamente. Para probar la hipótesis H_0 de que las muestras vienen de la misma población (es decir, $\mu_1 = \mu_2$) se utilizó la siguiente fórmula:

$$T = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sigma \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (6)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{n_1 s_1^2 + n_2 s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (7)$$

Donde;

\bar{X}_1 = Media de las muestras frescas

\bar{X}_2 = Media de las mediciones de una misma muestra a través del tiempo

S_1^2 = Desviación estándar de las muestras frescas.

S_2^2 = Desviación estándar de la misma muestra a través del tiempo

Para la siguiente prueba se establece la siguiente hipótesis:

$H_0; \mu_1 = \mu_2$ Las medias de las muestras son iguales. Es decir NO hay una diferencia considerable entre las muestras frescas y las muestras a través del tiempo es decir NO hay evaporación.

$H_1; \mu_1 \neq \mu_2$ Las medias de las muestras son diferentes. Es decir hay una diferencia considerable entre las muestras frescas y las muestras a través del tiempo. Es decir SI hay evaporación.

Los resultados del análisis estadístico t para las intensidades de las tablas 31 y 32, de las muestras 0 y 1, con un grado de confianza del 95% y al realizar el análisis nos arroja lo siguiente:

	n = # Mediciones		Grados de libertad	Probabilidad	Valor de t critica	Valor de t calculada
	Muestra 1	Muestra 2				
Muestra 0 Aceite mineral	6	6	10	95	1.810	1.067
Muestra 1 Gasolina	6	6	10	95	1.810	1.82

Tabla 33. Valores del análisis "T" para aceite mineral y gasolinas

El resultado obtenido en la prueba estadística T se muestra en la tabla 33, los cuales concuerdan con lo observado en las gráficas 26 y 27 demostrando que hay más evaporación en la gasolina que en el aceite mineral.

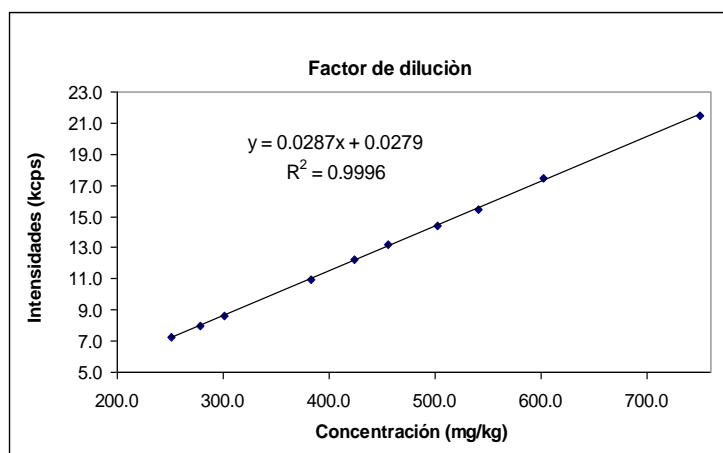
9.10.4 Factor de dilución

Para esta prueba se realizaron diluciones de muestras con concentraciones altas y diferentes, se calculará su factor de dilución y se determinará si en la exactitud de la medición de la medición existe alguna correlación con el factor de dilución.

Se realizó una curva de calibración con las concentraciones mostradas en la tabla 34.

Identificación	Concentración mg/kg	Intensidad kcps
P1	251.14	7.26
P2	278.36	7.98
P3	300.69	8.61
P5	382.57	10.98
P6	423.21	12.27
P7	455.88	13.19
P8	501.80	14.39
P9	540.64	15.46
P10	601.61	17.47
P11	750.22	21.48

Tabla 34. Datos de curva para factor de dilución.



Grafica 28: Curva para analizar el factor de dilución

La dilución es un proceso muy común en los laboratorios ya que para concentraciones muy altas es difícil determinar su concentración real. El factor dilución es el número por el cual se debe multiplicar la concentración de la muestra para obtener la concentración real.

Para determinar el factor de dilución de utiliza la siguiente fórmula:

$$FD = \frac{M_{Total}}{M_{Muestra}} \quad (7)$$

M_{Total} = es el peso total de la solución

$M_{Muestra}$ = es el peso de la muestra agregada a diluir

Al mismo tiempo se diluyeron los siguientes materiales y determinar su concentración para que después se multiplicaran por de factor de dilución (calculado con la ecuación 7). Los resultados son los siguientes

Identificación	Intensidad (kcps)	Concentración obtenida mg/kg	Factor de dilución	Concentración (mg/kg)* FD	Concentración certificada mg/kg
DMR 266a	9.69	336.21	2.93	985.67	1005.93 ± 20.78
DMR 267a	12.24	425.01	23.30	9901.03	10151.33 ± 219.24
DMR 268a	12.33	428.15	58.99	25256.79	25256.03 ± 502.01
Azufre en aceite mineral	12.23	424.56	9.68	4109.75	4119 ± 198
Azufre en gasolina	14.41	500.70	6.13	3069.28	2976 ± 217
Azufre en diesel	12.32	427.73	9.95	4255.90	4208 ± 131

Tabla 35. Valores de materiales analizados con factor de dilución.

Para validar el método la curva con la que se evaluó los materiales anteriores se eligió un material de referencia certificado de procedencia del NIST al cual también tenía una concentración alta de azufre y se le realizó el mismo procedimiento de dilución. El valor certificado de esta material es 3882 mg/kg ± 20 mg/kg

	concentracion obtenida	concentración * FD
SRM 1624d-1	433.57	3909
SRM 1624d-2	432.29	3897
SRM 1624d-3	428.41	3862
SRM 1624d-4	433.66	3909
Promedio		3894

Tabla 36. Valores del material de control analizado con dilución.

10 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Selectividad y especificidad

Para la determinación de este parámetro se realizaron pruebas para verificar si el método es el adecuado para la determinación del analito de interés (S) así también si no existen otros elementos que pudieran causar interferencia durante el análisis y cuantificación del analito.

En las figuras 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18 de los resultados del análisis cualitativo hecho a las diferentes matrices con las que trabaja el método, se puede observar que la concentración de los elementos considerados como interferencia suficiente de ninguna de las posibles interferencias según la norma ASTM 2622 (Plomo, Zinc, Bario, Calcio, Cloro, Fósforo, Oxígeno y Carbono) las cuales puedan ser detectadas en el equipo de FRX. Por lo anterior el método se declara específico para la determinación de azufre en aceite mineral (14).

Límite de detección

Para el límite de detección se observó que el nivel es muy bajo 0.0388 kcps equivalente a 1 mg/kg, ver la tabla 8, lo que nos indica que el equipo tiene una muy alta resolución sin embargo se decidió aumentar el valor obtenido debido a los resultados de los blancos, ya estos, variaban mucho por lo que se estableció el valor de 3 mg/kg para el límite de detección.

Límite de cuantificación

Al igual que el límite de detección, el límite de cuantificación resultó un poco bajo (de 0.0727 lo que es 3 mg/kg,) por lo que se realizó el mismo procedimiento, de esta manera el límite de cuantificación es de 5 mg/kg, esto para asegurar un mejor resultado y mayor confianza en caso de presentar valores de blancos muy altos.

Intervalo de trabajo

Para determinar el intervalo de trabajo se siguieron las recomendaciones de los métodos ASTM 2226 Y ASTM 4294; Donde para establecer el valor extremo inferior se tomó el límite de cuantificación y para el valor del límite superior se tomó el recomendado por los métodos ASTM utilizados.

No se hicieron pruebas con concentraciones más altas ya que el equipo presentaba una saturación del detector para concentraciones más altas por lo que se decidió que el extremo superior sería de 50 000 mg/kg

Además se observó que los valores obtenidos de las concentraciones de los materiales de referencia no coinciden con el valor certificado al utilizar la ecuación de regresión lineal para la curva completa, sin embargo al dividir el intervalo se obtuvieron mejores resultados ya que todos los materiales de referencia entraron dentro de su valor certificado e incertidumbre.

Intervalo lineal

Para el intervalo lineal como se mencionó anteriormente lo recomendable es determinarlo de acuerdo a las necesidades del análisis tratando de que el valor de la concentración con la que se esté trabajando este en el centro del intervalo lineal.

Sin embargo también se pudo observar que *el mejor intervalo para análisis es de 5 mg/kg a 1 000 mg/kg* ya que es en este donde la tendencia a formar una recta se presenta con mayor claridad y así también los factores de correlación son más cercanos a 1; por lo tanto se decidió que el intervalo lineal para este trabajo será precisamente el intervalo mencionado anteriormente.

Para mejores resultados se recomienda realizar la curva como mínimo tres puntos arriba y tres puntos abajo del la concentración requerida para el análisis.

Exactitud

El método mostró una buena exactitud como se observa en la tabla 11 ya que los valores obtenidos de los MRC usados como muestra desconocida, reprodujeron los valores certificados cayendo dentro del intervalo de incertidumbre. Sin embargo se observó una mayor exactitud en la curva con concentraciones no mayores a 1000 mg/kg.

Sensibilidad

La sensibilidad del equipo se obtuvo de dos formas diferentes en la primera (ver la gráfica 13) se observa que la respuesta del equipo para un incremento creciente de la concentración de un 1 mg/kg es perfectamente diferenciado es decir que hay una diferencia considerable entre un valor y otro.

El segundo método de prueba para la sensibilidad fue mediante el método de la sensibilidad relativa [7] donde se dividió la intensidad entre la concentración los valores para poder relacionar los valores, presentándose en un intervalo de 0.02 a 0.03 (gráfica 14) lo cual representa una variación muy pequeña y significa que el método es sensible a cambios de concentración.

Sin embargo esta variación se presenta en el intervalo de trabajo (5 a 40 000 mg/kg). Para el intervalo lineal (5 a 1000 mg/kg), los valores presentan variaciones aun menores, ver la grafica 15, por lo que podemos establecer que la mejor sensibilidad se encuentra en el intervalo inferior, que este método ha establecido como su intervalo lineal. Este comportamiento era esperado al correlacionarse con la sensibilidad que también fue mejor en concentraciones bajas.

Una posible razón por la que la sensibilidad del equipo disminuye en concentraciones muy altas puede ser debido a la saturación del detector, por lo que se vuelve a insistir que el mejor intervalo para trabajar es dentro de las concentraciones bajas.

Robustez

Las pruebas de robustez nos ayudaron a determinar qué factores son los que realmente afectan en un análisis.

- a) Para *la variación de muestra* mediante el cambio de cantidad de muestra que es analizada, se observó que no se presenta una gran diferencia en los resultados al analizar 3g, 5g, 8g, 10g, 12g, esto se da para concentraciones bajas.
Para concentraciones a partir de 2 000 mg/kg se observó una variación considerable conforme al aumento de la concentración esta variación. Adicionalmente, el análisis ANOVA al comparar la F crítica contra la F calculada, corroboró no existe variación hasta concentraciones de 750 mg/kg. Lo cual una vez más fortalece la observación que es mejor trabajar en un intervalo de concentración baja.
- b) Con respecto *estabilidad del analito* se comprobó que el analito puede permanecer 45 días sin que afecte sus características cuantitativas y cualitativas iniciales como se muestra en la tabla 23 sin embargo es necesario que las muestra esté perfectamente selladas para evitar la evaporación.
- c) La evaporación se determinó mediante la medición de una muestra a ciertos tiempos para verificar si existe variación considerable en la concentración del analito, con lo que se observó que en el aceite mineral la concentración de azufre permaneció aproximadamente constante en un tiempo aproximado de 24 horas (ver la gráfica 29). Sin embargo cambiando la matriz por gasolina el resultado fue diferente ya que como se muestra en la gráfica 30, la concentración fue muy inestable, ya que, presentándose un incremento considerable en el valor de concentración conforme transcurría el tiempo, lo que se supone fue a causa de la naturaleza de la gasolina ya que presenta una mayor cantidad de compuestos volátiles y por esto, un alto grado de evaporación al estar expuestas al ambiente, por lo que se recomienda que al trabajar con gasolina, los análisis se realicen inmediatamente.

11. CONCLUSIONES

Conclusiones particulares del método de estudio.

Después de las pruebas realizadas se considera que el método de análisis de azufre en combustibles que se realiza en el CENAM es capaz de ofrecer resultados con una buena exactitud y repetibilidad.

La elaboración de una curva de calibración preparada con aceite mineral blanco y DBS puede ser utilizada en el análisis de materiales con diferente matriz tales como el diesel, gasolina y combustóleo. Se comprobó que la relación de carbono – hidrógeno que tiene cada material y del cual el método ASTM 2622 hace énfasis, no ha resultado de influencia radical que requiera de algún tipo de corrección sobre los resultados obtenidos.

El método demostró tener mejor robustez, correlación y sensibilidad al utilizar el intervalo de concentración de 5 a 1000 mg/kg, por lo que se propone como el mejor intervalo de trabajo. Por lo que en análisis de muestras con concentraciones mayores es recomendable realizar una dilución hasta estar en la parte media del intervalo.

Se recomienda además al elaborar una curva de calibración que los puntos de ésta tengan tres puntos de concentración arriba y tres puntos debajo de la concentración probable de la muestra de interés para obtener un buen grado de correlación en la regresión lineal.

Para validar la curva de calibración en cada método se recomienda el uso de un control, el cual recomendablemente debe ser un material de referencia certificado, que sea medido como muestra desconocida.

Se recomienda además que las personas que utilicen este método se apeguen a las recomendaciones establecidas por el mismo.

Conclusiones generales.

La validación de un método es un proceso largo en el cual se establecen las condiciones óptimas o más favorables para la realización de un análisis de laboratorio; por tal motivo es de gran importancia el contar con éste para respaldo de la información de medición obtenida dentro del área de trabajo.

Un método validado da la confianza al usuario de que el procedimiento utilizado es el correcto o bien con el cual obtendrá los mejores resultados.

El objetivo inicial de este proyecto fue el validar un método para la determinación de azufre en combustibles por medio de la técnica de fluorescencia de rayos X de esta manera se puede concluir que este objetivo se alcanzó con gran éxito. Así mismo es necesario comentar que conforme el proyecto avanzaba iban surgiendo nuevas dudas que provocaban la modificación del procedimiento inicial, proponiéndose nuevos experimentos para todos los parámetros establecidos en la guía EURACHEM así como también los propuestos en los métodos ASTM D-2622.

Se desea resaltar que aunque un método ya se encuentre establecido y sea reconocido nacional o internacionalmente, las variaciones que hay de instrumentación, reactivos y personal, pueden resultar influyentes, es por esto que aunque un método este estandarizado de cualquier forma se debe realizar las pruebas y realizar su validación en el laboratorio donde se esté aplicando.

La validación de método además de comprobar que el procedimiento de medición es adecuado para la estimación del analito propuesto por la técnica analítica propuesta ofrece además la confianza de comprobar el límite de variaciones que pueden tener sin que esto influya en la calidad de los resultados. Además de que se pueden visualizar procedimientos para aumentar la eficiencia del método.

Así mismo es importante recalcar que para validar un método se debe contar con cierta experiencia en la técnica analítica elegida para la medición. Ya que el diseño de pruebas está muchas veces determinadas por las características de la técnica.

Para la validación de método no existe una receta estricta a seguir. La validación es un proceso dinámico y cambiante que permite dependiendo del mismo método no considerar ciertas pruebas o introducir nuevas.

12. BIBLIOGRAFÍA

[1] ASTM D 2622- 98 “Standard Test Method for Sulfur in Petroleum Products by wavelength dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry”

[2] ASTM D4294-02 “Standard Test Method for Sulfur in Petroleum Products by Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence Spectroscopy”.

[3] Blumberg Katherine O., Wals Michael P., Pera Charlotte. *Gasolina y Diesel de Bajo Azufre: La Clave para Disminuir las Emisiones Vehiculares*. Comisión por la Fundación Hewlett. 21 de mayo de 2003

[4] “Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML” y a la “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Second edition, EURACHEM/CITAC GUIDE, 2000”

[5] International standard ISO-11095. Linear calibration using reference materials, First edition, 1996-02-01

[6] International union of pure and applied chemistry (IUPAC); Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis; 2002

[7] Miller, James CROMATOGRAPHY Concepts & Contrasts John Wiley & sons, Inc.

[8] Miller James, Jane Miller ; ESTADISTICA Y QUIMIMETRIA PARA QUIMICA ANALITICA; 4ta. Edición; Pearson Educación, S.A.; Madrid 2002; Pág.58

[9] Petro Industry News. “Meeting the analytical Challenges of tier 2 Sulphur limits”. Volumen 1. Emisión 1, Marzo / Abril 2003.

[10] The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. EURACHEM Guide. Editor: H. Holcombe, LGC, Teddington: 1998.

[11] Thompson Michael, L. R Ellison Stephen., and Wood Roger, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 5, pp. 835–855, 2002.

[12] VAM Bulletin. “Meeting the needs of regulations and trade determining low levels of sulfur in fuel”. Jim Crighton, Harry Read (BP plc), Mike Sargent (LGC).

[13] www.ine.gob.mx/download/1PropuestaCalidadAireMexico%2010A.pdf

[14] Zapata C. Edith, Basurto Raúl; “Certificación De Un Material De Referencia De Azufre Para La Industria De Combustibles Derivados De Petróleo”, 2008.

(15) Fred F. Farshad Rieke, HH, de la Universidad de Louisiana en Lafayette, Mauldin Charlie, la Corporación John Gandy “Validación de los Métodos de Prueba de flujo directo de medición utilizados para determinar la rugosidad superficial en las tuberías (OCTG)” Copyright 2002, Society of Petroleum Engineers Inc. <http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00076768&soc=SPE>

(17) Hooker, K. y Alvarado, Ana. Lorena "Validación de la determinación de cloruros y humedad, para la evaluación de combustibles alternos para hornos de cementeras" *Tecnología en Marcha*, Vol. 23, N.º 3, Julio-Setiembre 2010, pp. 24-32.

http://www.tec.ac.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/

(18) E. Ramírez, J.A. Salas "Preparación y validación de patrones de referencia sintéticos para fluorescencia de rayos x en los análisis de materiales de referencia de matriz natural" División de Materiales Cerámicos, Centro Nacional de Metrología Apdo. Postal 1-100, Querétaro, Centro. C.P. 76000

Tel. (4) 2 11 05 00, ext. 3232. Fax. (4) 2 15 39 04. E-mail: eramirez@cenam.mx, jsalas@cenam.mx

(19) Flora Mercader T., Raúl Herrera B., Juanito Carrasco B. "Validación del Método de Medición de Hg en Agua por Espectrometría de Absorción Atómica con Sistema de Generación de Vapor Frío Utilizando Amalgamación en Trampa de Oro como Medio de Preconcentración." Centro Nacional de Metrología km 4,5 Carretera a Los Cués, 76246, Querétaro, México. fmercader@cenam.mx Instituto Tecnológico de Oaxaca Av. Ing. Víctor Bravo Ahuja 125 Esq. Calz. Tecnológico, 68030, Oaxaca de Juárez, México.