

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
SEDE CONCEPCIÓN - REY BALDUINO DE BÉLGICA

**“VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN
DE SILICIO EN BIOMASA SÓLIDA MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA
DE ABSORCIÓN ATÓMICA, SEGÚN NORMA UNE-EN 15290”**

Trabajo de titulación para optar al Título de
Técnico Universitario en QUÍMICA,
MENCION QUÍMICA INDUSTRIAL

Alumno:

Alejandro Javier Herrera Gajardo

Profesor Guía:

Cristian Marcelo Pereira Aburto

2019

I

Dedicado

A Dios, por estar a mi lado durante toda mi vida, a mi familia, principalmente a mi padre, madre y hermano por ser un ejemplo de superación, y a todas las personas que estuvieron conmigo en este camino y creyeron en mí.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la fuerza y el valor suficiente para seguir y lograr terminar mi carrera.

A mis padres Mario Herrera y Sandra Gajardo, por estar conmigo en esta etapa de mi vida y por creer en mi incondicionalmente

A mi hermano Mario Herrera, porque siempre me ha dado ánimos y apoyo incondicional para seguir adelante y nunca rendirme.

A la Universidad Federico Santa María por haberme dado la posibilidad de estudiar en su institución y a los profesores por haber sido participes de mi formación académica.

GRACIAS POR SU APOYO

RESUMEN

Keywords: Validación de métodos analíticos / Incertidumbre / Silicio / Biomasa / Caldera / Espectrofotometría de absorción atómica / Digestión ácida / Norma UNE-EN 15290.

El trabajo describe el procedimiento apropiado para la validación del método analítico para determinar el silicio en biomasa sólida, mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica utilizando un pellet de madera certificado como material de referencia, el cual se deberá acondicionar y preparar por medio de una digestión acida en un Horno digestor de microondas, de acuerdo a lo establecido en la Norma UNE-EN 15290.

Para poder entender porque es necesario realizar este análisis se presenta un marco teórico en el que se detallara todo lo relevante del silicio, biomasa y caldera de biomasa, además cuenta con el apartado de método analítico en el que se detallara la técnica utilizada, los equipos y la precauciones a tener en cuenta para ocupar de manera segura el espectrofotómetro de absorción atómica y para realizar una correcta validación de la metodología para la determinación de silicio en biomasa sólida.

Se deben preparar una serie de patrones de 15 mg/L a 70 mg/L a través de un estándar de referencia de silicio de 1000 mg/L para la curva de calibración, aceptando coeficientes de correlación igual o mayor a 0,995.

Siguiendo lo establecido en la Guía Técnica de validación de métodos y determinación de la incertidumbre, se deben evaluar los siguientes parámetros: selectividad, linealidad, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, robustez y aplicabilidad, además de establecer las fuentes de la incertidumbre de la medición. Se establecieron los objetivos para los parámetros de validación, pero estos pueden cambiar según los requerimientos de cada laboratorio.

Finalmente se establecieron las condiciones de lectura del espectrofotómetro de absorción atómica para llevar a cabo la validación.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
SIGLAS Y SIMBOLOGÍAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
CAPÍTULO 1: GENERALIDADES	3
1.1. SILICIO.....	4
1.1.1. Efectos del Silicio sobre la salud.....	5
1.2. LA BIOMASA	6
1.2.1. Según su origen	7
1.2.1.1. Natural	8
1.2.1.2. Residual	8
1.2.1.3. Cultivos energéticos.....	9
1.2.2. Según su estado	9
1.2.2.1. Biomasa sólida.....	9
1.2.2.2. Biomasa líquida	10
1.2.2.3. Biomasa gaseosa	10
1.2.3. Según su composición	10
1.2.4. Composición química.....	11
1.2.5. Aplicaciones	13
1.2.5.1. Producción de biocombustibles	14
1.2.5.2. Producción de energía eléctrica	14
1.2.5.3. Producción de energía térmica.....	14

1.2.5.4.	Producción de gases combustibles.....	14
1.2.6.	Ventajas e inconvenientes de la utilización de la biomasa.....	15
1.3.	CALDERA DE BIOMASA	16
1.3.1.	Los tipos Caldera de biomasa.....	18
1.3.2.	Composición química de las cenizas.....	19
1.3.3.	Importancia de determinar el silicio en las cenizas.....	19
1.3.4.	Utilización y/o Disposición Final de las Cenizas.....	20
 CAPÍTULO 2: MÉTODOS ANALÍTICOS.....		21
2.1.	DIGESTIÓN ÁCIDA DE MUESTRAS	22
2.1.1.	Digestión acida asistida.....	22
2.1.1.1.	Utensilios utilizados para la digestión en Horno digestor de microondas MARS 5.....	23
2.2.	ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	25
2.2.1.	Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica	26
2.2.2.	Descripción de la técnica de absorción atómica por llama realizada al silicio	28
2.2.3.	Tipos de llama	29
2.2.4.	Ventajas y desventajas de la técnica de absorción atómica.....	30
2.3.	CUIDADOS A TENER EN CUENTA AL USAR ÓXIDO NITROSO Y ACETILENO PARA DETERMINAR Si	31
2.4.	PELIGROS EN LA ATOMIZACIÓN POR LLAMA.....	31
2.5.	FUENTES DE ERROR EN LA TÉCNICA AAS.....	32
2.6.	NORMA UNE-EN 15290.....	33
2.6.1.	Determinación directa del combustible.....	33
 CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS E INCERTIDUMBRE		35
3.1.	VALIDACIÓN.....	36
3.2.	EL OBJETIVO DE LA VALIDACIÓN.....	36

3.3.	ESTABLECER PLAN DE VALIDACIÓN.....	38
3.4.	DESARROLLO DE PRUEBAS DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN	39
3.4.1.	Selectividad	39
3.4.2.	Linealidad.....	40
3.4.3.	Sensibilidad	40
3.4.4.	Limites.....	40
3.4.5.	Exactitud.....	40
3.4.5.1.	Veracidad.....	40
3.4.5.2.	Precisión.....	41
3.4.6.	Robustez	41
3.4.7.	Aplicabilidad	41
3.5.	INCERTIDUMBRE.....	42
3.6.	EVALUAR RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN	43
3.7.	INFORME DE VALIDACIÓN	43
 CAPÍTULO 4: PARTE EXPERIENTAL.....		44
4.1.	ELECCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.....	45
4.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL	46
4.2.1.	Selectividad	46
4.2.2.	Linealidad.....	46
4.2.3.	Sensibilidad y Límites	46
4.2.4.	Exactitud.....	46
4.2.5.	Robustez	47
4.2.6.	Incertidumbre	47
4.3.	FORMULAS A UTILIZAR PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
4.4.	ACONDICIONAMIENTO DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA, PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y MATERIAL DE REFERENCIA	54
4.4.1.	Puesta a punto.....	54

4.4.2.	Preparación de la curva de calibración.....	54
4.4.3.	Preparación de controles.....	55
4.4.4.	Preparación del material de referencia	55
4.4.4.1.	Equipos y materiales.....	56
4.4.4.2.	Acondicionamiento de la muestra.....	57
4.4.5.	Procedimiento de extracción de silicio del material de referencia	58
4.4.5.1.	Cálculos	59
4.4.6.	Preparación del espectrofotómetro de absorción atómica para la validación	60
4.4.6.1.	Equipos y materiales:.....	60
4.4.6.2.	Encendido del equipo.....	60
4.4.6.3.	Preparación del autosampler	61
4.4.6.4.	Lectura de estándares y muestras.....	61
4.4.6.5.	Apagado de llama	62
4.4.6.6.	Apagado del equipo	62
4.4.7.	CONDICIONES DE LECTURA DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA	62
4.4.7.1.	Parámetros del instrumento:	62
4.4.7.2.	Parámetros de calibración:.....	62
4.4.7.3.	Parámetros de medición de muestra:	63
4.4.7.4.	Parámetros	63
	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.....	64
	BIBLIOGRAFÍA.....	65
	ANEXOS	68
	ANEXO A: TABLAS DE PARÁMETROS Y INCERTIDUMBRE A COMPLETAR.....	69
	ANEXO B: TABLA t-Student PARA $\alpha = 0,05$ Y 2 COLAS:	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Silicio en estado elemental	4
Figura 1-2. Dióxido de silicio cristalizado (cuarzo).....	5
Figura 1-3. Arena de dióxido de silicio.....	5
Figura 1-4. Foto y radiografía de un pulmón normal (izquierda), con silicosis (centro) y con silicosis complicada (derecha)	6
Figura 1-5. Ciclo Biomásico	7
Figura 1-6. Tipo de biomasa según su origen	8
Figura 1-7. Madera.....	9
Figura 1-8. Cascara de coco	9
Figura 1-9. Tipos de biomasa agrícola según su composición.....	10
Figura 1-10. Composición inorgánica típica de cenizas de biomasa solida.....	13
Figura 1-11. Aplicaciones de la biomasa	13
Figura 1-12. Estructura de una caldera de biomasa.....	17
Figura 2-1. Horno digestor de microondas MARS 5	23
Figura 2-2. Vasos de teflón con tornamesa, camisa de kevlar y sombreros.....	24
Figura 2-3. Herramientas para ensamblar vasos de teflón	24
Figura 2-4. Equipo montado en horno digestor de microondas con sensor de temperatura y presión	25
Figura 2-5. Proceso que sufre un átomo en el equipo de absorción atómica	26
Figura 2-6. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica	27
Figura 2-7. Descripción de la técnica de absorción atómica por llama.....	28
Figura 2-8. Espectrofotómetro y autosampler.....	29
Figura 3-1. Diagrama del proceso de validación.....	37
Figura 3- 2. Procedimiento para determinar la incertidumbre	42
Figura 4-1. Pellet e madera.....	56
Figura 4-2. Esquema del proceso de cuantificación de silicio	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Porcentaje de componentes orgánicos en la biomasa sólida.....	11
Tabla 1-2. Composición orgánica de diferentes tipos de biomasa vegetal	12
Tabla 1-3. Porcentaje de cenizas en biomasa según temperatura.....	17
Tabla 2-1. Temperatura y conformación de las distintas llamas	30
Tabla 4-1. Parametros establecidos para la validación	
Tabla 4-2. Preparación de soluciones estándar de silicio para curva de calibración	
Tabla 4-3. Documentación de Material de Referencia	
Tabla A-1. Selectividad.....	69
Tabla A-2. Linealidad.....	70
Tabla A-3. Limites	70
Tabla A-4. Sesgo	71
Tabla A- 5. Repetibilidad	71
Tabla A-6. Reproducibilidad.....	72
Tabla A-7. Robustez.....	72
Tabla A-8. Incertidumbre del material volumétrico.....	73
Tabla A-9. Incertidumbre en estándares.....	73
Tabla A- 10. Resultados de incertidumbre.....	73

SIGLAS Y SIMBOLOGÍAS

SIMBOLOGÍAS:

EAA = Espectrofotometría de absorción atómica.

ERNC = Energías Renovables No Convencionales.

UDT = Unidad de Desarrollo Tecnológico.

ASA = Área de Servicios Analíticos.

UNE-EN = Una Norma Española-European Norm.

LCH: Lámpara de cátodo hueco.

ICP: Plasma de acoplamiento inductivo.

OES: Espectrofotómetro de emisión óptico (atómico).

ICP-OES: Espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente.

SIGLAS:

g = Gramo.

mg = Miligramo.

L = Litro.

mL = Mililitro.

kg = Kilogramo.

X = Promedio de la totalidad de lecturas.

x_i = Valor de una lectura.

n = Número de lecturas.

Σ = Sumatoria.

* = Multiplicación.

S^2 = Varianza.

S = Desviación estándar.

S_r = Desviación estándar de repetibilidad.

S_R = Desviación estándar de reproducibilidad.

S_p = Desviación estándar de la precisión del método.

CV% = Porcentaje de coeficiente de variación.

CV_r% = Porcentaje de coeficiente de variación para repetibilidad.

CV_{Ri}% = Porcentaje de coeficiente de variación para reproducibilidad.

CV_h% = Coeficiente de variación de Horwitz.

CV_{hr}% = Porcentaje de coeficiente de Horwitz para repetibilidad (intralaboratorio).

CV_{hRi}% = Porcentaje de coeficiente de Horwitz para reproducibilidad (intralaboratorio).

σ_H = Desviación estándar calculada conforme al modelo de precisión de Horwitz.

C = Concentración o valor nominal del analito expresado en potencia de 10.

t_{calc} = t observado o calculado.

y (A) = Absorbancia.

m = Pendiente.

x = Concentración (mg/L).

b = Intercepto de la recta.

t_r = Valor del estimador t-student obtenido para el coeficiente de correlación.

|r| = Valor absoluto del coeficiente de correlación.

n-2 = Número de grados de libertad.

r^2 = Valor del coeficiente de determinación.

1- α = probabilidad b.

v = Grados de libertad.

S_o = Desviación estándar de las lecturas del blanco matriz o testigo reactivo.

LOD = Limite de detección.

LOQ = Limite de cuantificación.

LMP = Límite máximo permitido.

s = Sesgo.

X_a = Valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor esperado.

U_{cert} = Incertidumbre del material o material de referencia, establecido en el certificado de calibración análisis.

K = Factor de cobertura, establecido en el certificado de calibración o análisis

u_{cal} = Incertidumbre de calibración.

u_{rel} = Incertidumbre relativa.

V = Volumen de material.

$u_{\text{estándares}}$ = Incertidumbre de estándares.

u_{FR} = Incertidumbre de la función respuesta.

$u_{\text{resolución}}$ = Incertidumbre de resolución del equipo.

$S_{x/y}$ = Desviación estándar de la curva de calibración.

$[]_{\text{solución madre}}$ = Concentración solución madre.

$[]_{\text{estándar}}$ = Concentración estándar.

$[]$ = Concentración promedio, la unidad dependerá de las demás variables.

b_0 = Pendiente mínima de las curvas de calibración.

$[]_{\text{min}}$ = Concentración mínima de los estándares de calibración.

u_{peso} = Incertidumbre de la balanza.

Peso = Peso de la muestra.

u_c = Incertidumbre combinada.

U = Incertidumbre expandida.

min = minuto.

Conc = Concentración.

INTRODUCCIÓN

En Chile, durante las últimas 2 décadas, la demanda por energía eléctrica se ha incrementado en forma sostenida, siendo las principales fuentes para obtenerla, el petróleo crudo y gas natural importados (combustibles fósiles), aumentando su consumo entre 1991 y 2010 en un 71,9 %, pero su precio siempre en alzas y sus reservas naturales disminuyendo, han hecho que las autoridades y la sociedad piense sobre la importancia del uso de las ERNC para el desarrollo del país. La utilización de biomasa principalmente de origen forestal, es una de las mejores fuentes para la obtención de energía eléctrica, mediante la utilización de calderas de biomasa, siendo la mejor alternativa para que Chile pueda suplir la demanda energética. La biomasa forestal utilizada para la producción de electricidad corresponde a los residuos o subproductos de la industria forestal y se espera que su aporte pueda alcanzar el 10 % de la matriz energética nacional para el año 2024. ^[3]

En el laboratorio ASA de la UDT en el que desarrolle mi práctica profesional, múltiples empresas pedían el análisis de elementos mayoritarios y minoritarios para sus biomásas, principalmente de origen forestal, para poder saber la cantidad de cenizas que estos generan y los compuestos tóxicos que se podrían producir en las calderas de biomasa durante la combustión. Con estos datos se puede tomar la decisión si es factible utilizar la biomasa para la generación de energía eléctrica o para otro tipo de aplicación en la que se requiera quemar esta.

Este trabajo se centra en la determinación del elemento mayoritario silicio, el que se encuentra como SiO₂ (dióxido de silicio) en las cenizas de la biomasa solida representado alrededor del 20%-60%, por su alta concentración es importante cuantificarla por los daños que genera a las calderas de biomasa y a las personas encargadas de limpiarlas.

Para poder cuantificar el silicio en la biomasa solida de manera correcta se requiere validar el método utilizado, mediante la determinación de los distintos parámetros de validación. Se ha de utilizar un material (muestra) de referencia, la cual deberá ser acondicionada y preparada según lo establecido en la Norma UNE-EN 15290, el silicio presente será determinado por la técnica de absorción atómica, una vez preparada la curva de calibración de concentraciones de 15 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, 60 mg/L y 70 mg/L. El trabajo se desarrolló de forma teórica.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Presentar un procedimiento para poder realizar una correcta validación de la metodología para la determinación de silicio en biomasa sólida, mediante la evaluación estadística de los resultados analíticos obtenidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir los parámetros de validación, sus objetivos y el diseño experimental para la validación de la técnica analítica para silicio en biomasa sólida.
- Establecer como se deben determinar los parámetros de validación y las fuentes de la incertidumbre una vez obtenida los resultados de los análisis.
- Establecer las condiciones de lectura del espectrofotómetro de absorción atómica.

CAPÍTULO 1: GENERALIDADES

1. GENERALIDADES

1.1. SILICIO

El silicio es el segundo elemento más abundante de la corteza terrestre (27,7% en peso) y es el electropositivo más numeroso, es un metaloide de un color gris oscuro azulado, con un característico lustre metálico, muy quebradizo, tiene un numero atómica 14, ubicándose en la tabla periódica en la columna IV-A y se le designa con el símbolo “Si”. El silicio no existe en estado elemental en la naturaleza Figura 1-1., pero si se encuentra como óxidos y silicatos en algunos minerales como en arena, cuarzo, cristal de roca, amatista, ágata, pedernal, entre otros. [8]

El silicio ingresa a la biomasa natural sólida, por la absorción de ácido monosilícico u ortosilícico del suelo, provenientes principalmente de los minerales presente en la tierra, de la descomposición de vegetales, fertilizantes silicatados (aumenta resistencia a enfermedades y sequia) y agua de irrigación.

El dióxido de silicio, comúnmente llamado sílice, es duro y resistente el cual se encuentra principalmente en las cenizas de las biomásas sólidas de origen natural, que se describirán en el punto 1.2. y es importante cuantificarla porque generan daños en las calderas, cuyo problema se presenta en el apartado 1.3.

En las Figuras 1-2 y 1-3 se observa el dióxido de silicio.

Figura 1-1. Silicio en estado elemental



Fuente: <https://elementos.org.es/silicio>

Figura 1-2. Dióxido de silicio cristalizado (cuarzo)



Fuente: <https://www.amazon.es/Lechoso-cuarzo-natural-piedras-piedra/dp/B007C33BCM>

Figura 1-3. Arena de dióxido de silicio



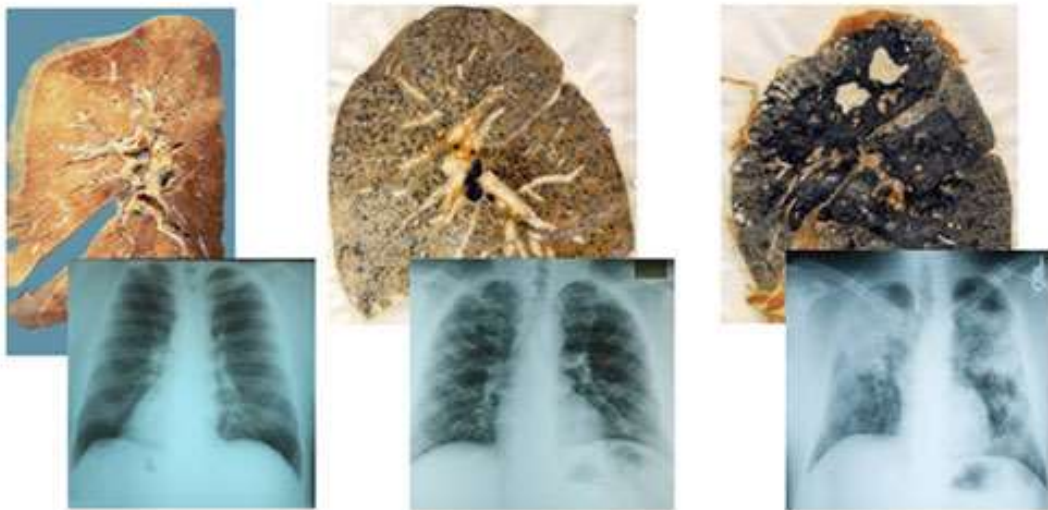
Fuente: Spanish.alibaba

1.1.1. Efectos del Silicio sobre la salud

El polvo de sílice (dióxido de silicio) es un potente peligro para la salud humana, el cual ingresa a nuestro cuerpo por el sistema respiratorio dañando nuestros pulmones, provocando muchas afecciones pulmonares de las que destacan: tuberculosis, bronquitis y en el peor de los casos cáncer de pulmón y silicosis. Algunas consecuencias leves son: irrita la piel, los ojos, los pulmones y la membrana mucosa. Es importante contar con la implementación adecuada para retirar estas cenizas producidas en las calderas de combustión al quemar la biomasa, puesto la inhalación de este compuesto podría provocar

alguna de las enfermedades anteriormente señaladas. La silicosis es una de las enfermedades más peligrosas provocadas por la inhalación de dióxido de silicio, cuyo daño se observa en la Figura 1-4. [8]

Figura 1-4. Foto y radiografía de un pulmón normal (izquierda), con silicosis (centro) y con silicosis complicada (derecha)



Fuente: <https://www.cdc.gov/spanish/niosh/mining/topics/respirable.html>

1.2.LA BIOMASA

En la Directiva 2009/28/CE del Parlamento Europeo y del Consejo que se realizó el 23 de abril del 2009, relativa al fomento del uso de energía procedente de fuentes renovables:

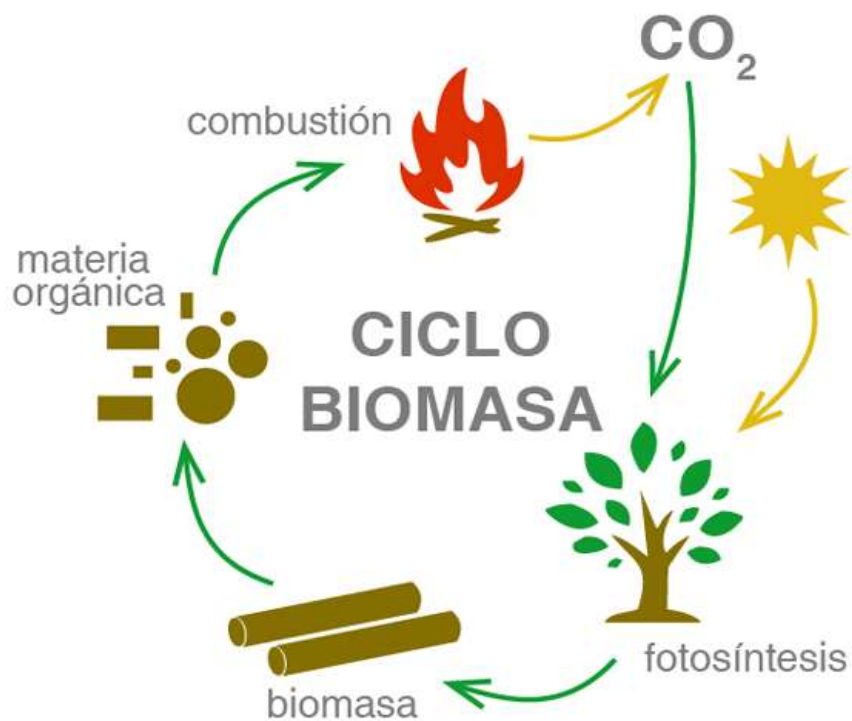
Se definió biomasa como la fracción biodegradable de los productos, desechos y residuos de origen biológico procedentes de actividades agrarias (incluidas las sustancias de origen vegetal y animal), de la silvicultura y de las industrias conexas, incluidas la pesca y la acuicultura, así como la fracción biológica degradable de los residuos industriales y municipales. [5]

Se desprende de esta definición que toda materia orgánica proveniente de organismos vivos es biomasa y que las sustancias (materia) biodegradables generadas por las actividades de los seres humanos también lo son, por lo tanto, los recursos biomásicos provienen de fuentes muy diversas y heterogéneas.

El sol proporciona la energía que contiene la biomasa por medio de la fotosíntesis, en el cual las plantas absorben energía lumínica del sol, el CO₂ de la atmósfera y agua del suelo, almacenando en su interior sustancias orgánicas (energía) y liberando oxígeno al medio ambiente durante el proceso. Esta energía puede ser incorporada y transformada por los animales mediante la ingesta de las plantas, este proceso genera nuevos productos (residuos), los cuales pueden ser utilizados como recurso energético. ^[5]

En la Figura 1-5 se observa el ciclo biomásico anteriormente mencionado.

Figura 1-5. Ciclo Biomásico



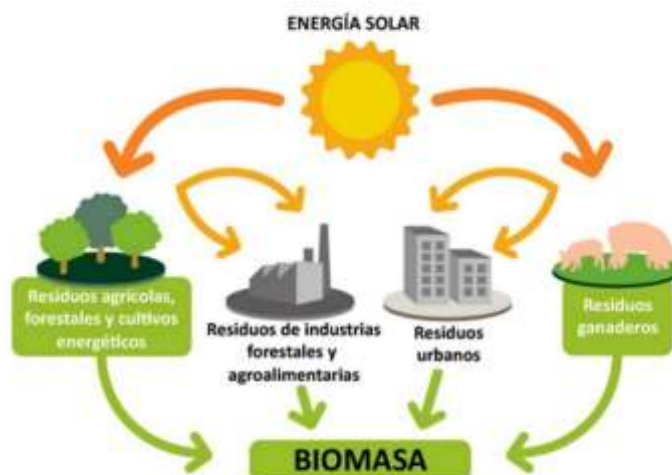
Fuente: <http://domerclima.com/servicios/biomasa>

Tipos de biomasa: La biomasa se puede clasificar según su estado, composición, y origen.

1.2.1. Según su origen

Se clasifica como se observa en la Figura 1-6.

Figura 1-6. Tipo de biomasa según su origen



Fuente: <http://ebasl.es/producir-energia-con-la-biomasa/>

1.2.1.1. Natural

Es la biomasa que se genera de forma espontánea en la naturaleza, sin la intervención humana. No es muy utilizada como fuente energética, debido a que logísticamente no es económicamente rentable, suele ser usado en pequeñas localidades y en países en vías de desarrollo. Algunos ejemplos son: derivados de la limpieza de bosques y de restos de plantaciones, hojas, leñas y ramas, estiércol, restos de frutas y vegetales. ^[5]

1.2.1.2. Residual

Aquellos residuos generados por las actividades humanas y los vertidos biodegradables son considerados también biomasa residual, de los que destacan:

- Residuos de silvícolas forestales: aserrín, corteza, astillas, ramas y raíces.
- Residuos agropecuarios (agrícola, ganadero o pecuario): cáscara, pulpa de frutas, restos de vegetales, polvo de granos secos, estiércol, tallos, hojas, paja, turba, maleza y pastura.
- Residuos industriales: residuos de procesamiento de carnes, aguas de lavado, precocido de carnes y vegetales, y Grasas y aceites vegetales.
- Residuos urbanos: aguas negras, desechos domésticos orgánicos y basura. ^[5]

1.2.1.3. Cultivos energéticos

Son los cultivos destinados a la producción de energía. Los cultivos energéticos reciben el nombre de agro-energéticos y son seleccionados de acuerdo a la producción de cantidad de biomasa, y no de calidad que estas presenten, y se caracterizan por su robustez, para así disminuir los costos de cultivo y obtener la mayor cantidad de biomasa por el menor costo. Entre los cultivos energéticos se pueden incluir cultivos tradicionales como: cereales, caña de azúcar, semillas oleaginosas y otros no convencionales, por ejemplo: cynara, pataca, sorgo dulce. [5]

1.2.2. Según su estado

1.2.2.1. Biomasa sólida

Es el tipo de biomasa más conocido, en esta categoría se encuentran: la madera residual de silvícolas forestales, residuos de las podas de las áreas verdes de los pueblos y ciudades, cultivos energéticos, residuos industriales, naturales, urbanos y agrícolas en estado sólido. En la Figura 1-7 y 1-8 se observan dos tipos de biomásas solidas. [5]

Figura 1-7. Madera



Fuente: <https://www.haiku-futon.com/2012/07/la-madera-sostenible-y-autoctona-del-pais-vasco/>

Figura 1-8. Cascara de coco



Fuente: <https://www.aboutspanol.com/caracteristicas-de-la-biomasa-3417679>

1.2.2.2. Biomasa líquida

En este grupo se encuentran los residuos ganaderos, aguas residuales urbanas, los residuos industriales biodegradables, los aceites y biocarburantes. ^[5]

1.2.2.3. Biomasa gaseosa

Es el metano o biogás obtenido a partir de residuos de animales, vertederos, residuos agroalimenticios, entre otros tipos de biomasa. Este tipo de biomasa se puede obtener a través de diversos procesos, por ejemplo: termoquímicos y microbiológicos. ^[5]

1.2.3. Según su composición

En la Figura 1-9 se presenta otra clasificación de la biomasa, con ejemplos basados en biomasa agrícola: ^[5]

Figura 1-9. Tipos de biomasa agrícola según su composición

TIPO	SUSTANCIA BIOORGÁNICA		EJEMPLOS
LIPIDOS			
Oleaginosa			Semillas de girasol, soja, maíz, lino, almendro
HIDRATOS DE CARBONO			
Alcoholígena	Monosacáridos	Glucosa	Pulpa de fruta
		Fructosa	Pulpa de fruta
	Disacáridos	Sacarosa	Caña de azúcar, sorgo dulce, remolacha
Amilácea /Inulínica	Polisacáridos	Insulina	Tubérculo de patata y rizomas de dalia, achicoria
		Almidón	Granos de cereal, Tubérculo de patata
Lignocelulósica	Polisacáridos	Hemicelulosa	Maderas en general
		Celulosa	Residuos lignocelulósicos

Fuente: DE LUCAS y TARANCO, 2012 ^[5]

1.2.4. Composición química

Los diferentes tipos de biomasa anteriormente mencionada están constituidos por una parte orgánica, una inorgánica y agua. En el proceso de combustión para la obtención de energía, se quema la parte orgánica y la inorgánica forma la ceniza o residuo sólido. La materia inorgánica influye negativamente en el proceso de combustión, ocasionando problemas de contaminación y disminuye el poder calorífico de las biomásas. [5]

La parte orgánica de la biomasa está conformada principalmente por los siguientes elementos: carbono (C), hidrogeno (H), nitrógeno (N) y oxígeno (O), formando compuestos como hemicelulosa, hidratos de carbono, taninos, lípidos, proteínas, celulosa, lignina entre muchos más. La composición orgánica de algunas biomásas se observa en la Tablas 1-1 y 1-2. Por otro lado, en su composición inorgánica se encuentran los elementos: potasio (K), sodio (Na), azufre (S), fósforo (P), titanio (Ti), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe) y principalmente el cloro (Cl) y silicio (Si), estos se encuentran como óxidos en las cenizas de la biomasa sólida, como se puede apreciar en la Figura 1-10 y están involucrados en el deterioro de los hornos o calderas de combustión, provocando corrosión, erosión y abrasión. También pueden encontrarse trazas de metales pesados como plomo (Pb), zinc (Zn), cadmio (Cd), níquel (Ni), cromo (Cr), vanadio (V), entre otros.

Tabla 1-1. Porcentaje de componentes orgánicos en la biomasa sólida

Componentes M.O.	% total materia seca
Hidratos de carbono.	30-80%
Celulosa	Hasta 50%
Hemicelulosa	> 30%
Lignina	10-30 %
Taninos	6-7 %
Proteínas	1-15%
Lípidos	1-8%

Fuente: Porta et al., 2003 [11]

Tabla 1-2. Composición orgánica de diferentes tipos de biomasa vegetal

Biomasa	Hemicelulosa (%)	Celulosa (%)	Lignina (%)
Cáscara de arroz	18.47	42.20	19.40
<i>Bambusa sinospinosa</i> McClure	14.44	62.33	13.01
Madera de <i>Fagus</i> ssp.	34.40	40.90	24.80
Paja	27.20	34.00	14.20
Madera de <i>Betula pendula</i> Roth	25.70	40.00	15.70
<i>Salix</i> ssp.	14.10	49.30	20.00
Cáscara de coco	28.40	52.20	36.00
<i>Betula pendula</i> Roth	27.70	40.00	15.70
Latifoliadas	15-35	40-44	18-25
Coníferas	20-32	40-44	25-35
<i>Cryptomeria japonica</i> (Thunb. ex L. f.) D. Don	7.65	46.86	42.11
<i>Abies alba</i> Mill.	25.00	37.10	35.00
<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst	20.00	42.40	35.10

Fuente: VERÓNICA, Bustamante García, et al., 2016 ^[16]

Figura 1-10. Composición inorgánica típica de cenizas de biomasa solida

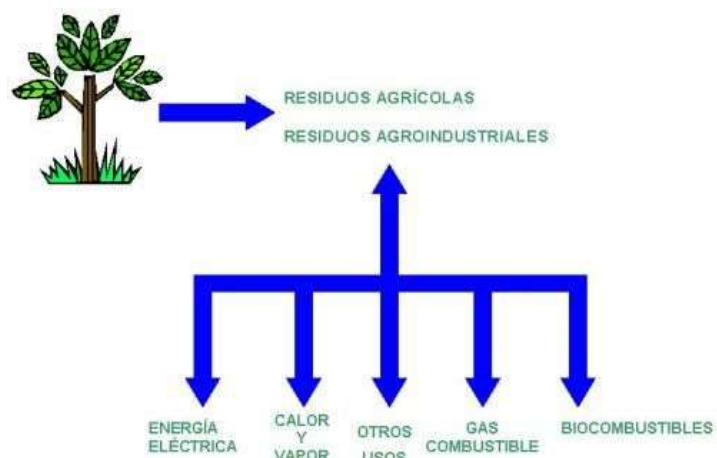
	chip madera	corteza	cereales
ceniza total	< 2%	3% - 8%	5% - 10%
Composición ceniza, %			
SiO ₂	25	25	35-60
Al ₂ O ₃	5	7	2
Fe ₂ O ₃	2	4	2
CaO	45	40	7
MgO	5	7	3
K ₂ O	5	5	20-30
P ₂ O ₅	4	2	6
Contenido de metales pesados en cenizas, en ppm			
Pb	25	25	10
Cd	5	5	1
Zn	400	600	250
V	40	60	5
Cr	50	150	15
Ni	60	100	4

Fuente: MELISSARI, Blas, 2012 ^[9]

1.2.5. Aplicaciones

Debido a la gran variedad de biomásas existentes y las nuevas tecnologías permiten la utilización de estas en la producción de energía térmica, electricidad, biocombustibles y gases combustibles. Estas aplicaciones se observan en la Figura 1-11.

Figura 1-11. Aplicaciones de la biomasa



Fuente: <https://tecnoblogsanmartin.wordpress.com/2011/02/21/biomasa-aplicaciones/>

1.2.5.1. Producción de biocombustibles

Se producen dos tipos de combustibles los biocarburantes:

1. Para vehículos con motor diésel: estos se producen mediante cultivos o especies vegetales oleaginosas, destacando: girasol, colza, cacahuete.
2. Para vehículos con motor de encendido provocado: obtenidos de cultivos o especies vegetales ricas en azúcares, destacando: remolacha, patata, caña de azúcar, maíz, trigo. ^[5]

1.2.5.2. Producción de energía eléctrica

Se puede producir energía eléctrica mediante la utilización de:

1. Biomasa residual: como, por ejemplo: en restos de cosecha y poda, orujillo y el alperujo. La biomasa residual se usa en menor grado para la obtención de esta energía.
2. Cultivos energéticos leñosos, de crecimiento rápido y herbáceos, siendo la principal fuente para producir energía eléctrica.
3. Biogás, producido por la fermentación de residuos orgánicos específicos.

Estas biomasas debido a su bajo poder calorífico, su gran contenido en volátiles y su alto porcentaje de humedad, son llevadas en grandes cantidades a centrales térmicas con grandes calderas, cuyas centrales pueden variar según el tipo de biomasa utilizada. ^[5]

1.2.5.3. Producción de energía térmica

Se quema la biomasa sólida (natural y residual), el biogás o el gas de síntesis en una caldera o estufa, para generar calor o calentar agua. Sus usos abarcan desde obtener calor mediante una estufa en la comodidad del hogar, hasta calderas industriales diseñadas para suministrar calor y agua caliente a las viviendas. ^[5]

1.2.5.4. Producción de gases combustibles

Este tipo de producción no suele ser muy utilizado, cuyo procedimiento consiste en la descomposición de la biomasa en un digestor para obtener un gas, este combustible está compuesto principalmente por metano, conteniendo en menor grado nitrógeno, vapor

de agua y compuestos orgánicos. Se suele utilizar este proceso cuando la biomasa posee un elevado contenido en humedad y no se utilizará en otras aplicaciones. El gas producido en el digestor es de bajo poder calorífico y se utiliza en aplicaciones térmicas relacionadas con el sector agropecuario, suministrando luz y calor. ^[5]

1.2.6. Ventajas e inconvenientes de la utilización de la biomasa

La utilización de la biomasa como fuente energética nos ofrece numerosas ventajas, no solo para utilizarla en la industria y obtener dinero, sino también para la sociedad y el medio ambiente.

Ventajas ambientales:

- Es una fuente de energía inagotable.
- Disminución de las emisiones de CO₂.
- Evita la erosión y la degeneración del suelo por medio de la implantación de cultivos energéticos en tierras abandonadas.
- Reducción de las emisiones generadas de hidrocarburos volátiles y CO mediante el uso de biocarburantes en motores de combustión interna.
- Disminución de residuos, debido al reciclaje de la biomasa residuales provenientes de otras actividades humanas.
- Disminuye la constante necesidad externa del abastecimiento de combustibles fósiles.
- No emite contaminantes sulfurados o nitrogenados, los cuales son los principales causantes de la lluvia ácida.
- Nuevas oportunidades para el sector agrícola.
- Promueve la utilización de diferentes fuentes energéticas (diversificación energética), manteniendo así un medio ambiente con menor contaminación.
- Disminución de material particulado.
- Contribuye a un aumento económico en el medio rural. ^[5]

Inconvenientes de la biomasa: aunque la utilización de la biomasa presenta muchas ventajas también tiene sus desventajas.

- Tienen mayores costes de producción de energía, en comparación a la utilización de los combustibles fósiles.
- Menor rendimiento energético que los combustibles obtenidos de los combustibles fósiles. Su baja densidad energética conlleva a problemas con la logística, debido que

para conseguir la misma cantidad de energía que producen los combustibles fósiles se requiere utilizar una mayor cantidad de materia prima.

- Se debe acondicionar o transformar para su utilización, la biomasa debe pasar por diferentes procesos para poder utilizar como fuente energética.
- Su incineración puede resultar peligrosa y producir sustancias tóxicas. Por ello se deben utilizar filtros y realizar la combustión a temperaturas mayores a los 900 °C.
- Al ser cada vez más económicamente rentable y requerida, se financia la tala de bosques nativos. ^[5]

1.3.CALDERA DE BIOMASA

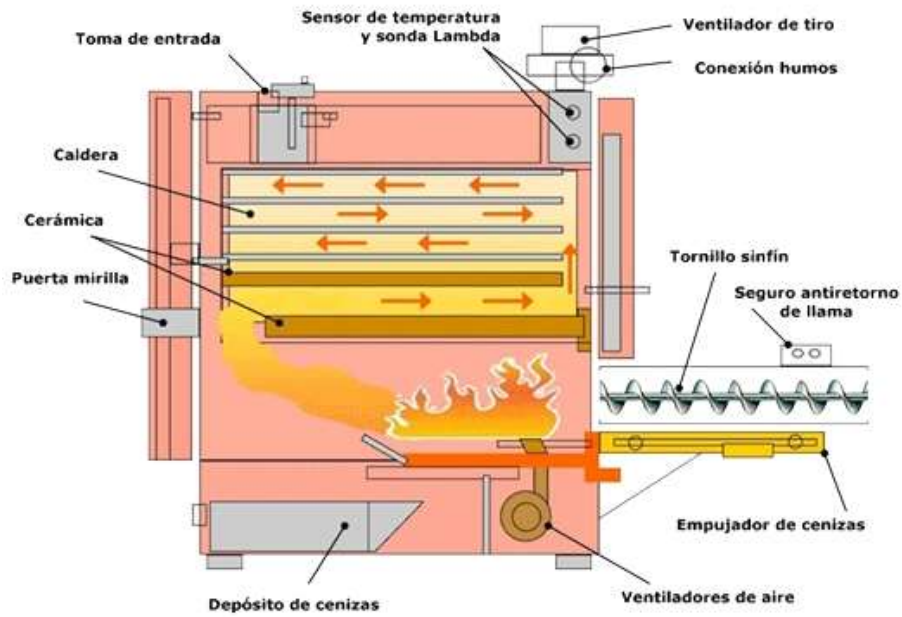
Es el equipo principal de una central termoeléctrica de combustión de biomasa. En esta se lleva a cabo el proceso de transformación de la energía química contenida en la biomasa en energía térmica, que será más tarde transformada en energía mecánica y finalmente en energía eléctrica si se requiere, cuya estructura se observa en Figura 1-12.

La biomasa que pasara por el proceso de combustión se le debe conocer:

- El contenido de humedad relativo (H.R.) que es la cantidad porcentual del agua presente en la biomasa por kilogramo de material seco, deberá ser menor al 30%, si fuera mayor se debe evaporar el agua antes de iniciar el proceso de conversión energética.
- El poder calorífico que es la energía disponible en la biomasa, que se libera en forma de calor cuando la biomasa se quema completamente. El poder calorífico debe ser lo suficientemente alta para generar una determinada cantidad de energía, entre más humedad tenga la biomasa menor poder calorífico tendrá.
- El porcentaje de cenizas indica la cantidad de materia sólida que no es combustible (no se quema) por kilogramo de biomasa. Se espera que el porcentaje de ceniza en relación a la biomasa seca sea el menor posible. ^[5]

La caldera es el equipo que más problemas causa, que más paradas ocasiona, y que requiere un mantenimiento más riguroso, debido principalmente a las cenizas que quedan después de quemar la biomasa, el alto contenido de potasio, cloro y silicio provoca incrustaciones, erosión, abrasión y corrosión en diversas partes de está. La combustión no es totalmente estable, presentando variaciones importantes de presión y temperatura, el contenido de cenizas tiende a estar relacionado con la temperatura si esta aumenta la cantidad de cenizas también lo hará, esto se observa en la Tabla 1-3.

Figura 1-12. Estructura de una caldera de biomasa



Fuente: <http://ebasl.es/producir-energia-con-la-biomasa/>

Tabla 1-3. Porcentaje de cenizas en biomasa según temperatura

Biomasa	Temperatura (°C)	Carbón fijo (%)	Material volátil (%)	Cenizas (%)
Tallo de <i>Gossypium herbaceum</i> L.	250	44.48	36.13	12.69
Tallo de <i>Gossypium herbaceum</i> L.	300	48.00	31.16	14.74
Tallo de <i>Triticum aestivum</i> L.	250	43.66	28.21	23.30
Tallo de <i>Triticum aestivum</i> L.	300	55.43	14.84	24.95
Madera torrefacta	250	28.00	55.00	1.50
Madera torrefacta	300	30.00	65.00	-

Bambusa sinospinosa McClure	250	19.00	66.00	4.00
Bambusa sinospinosa McClure	300	30.00	42.00	5.00
Bambusa sinospinosa McClure	350	53.00	32.00	6.00
Eucalyptus sp.	250	24.70	75.00	0.30
Eucalyptus sp.	300	44.10	55.60	0.30
Picea spp.	200	15.95	83.92	0.12
Picea sp.	225	25.12	74.40	0.14
Betula pendula Roth	200	14.76	85.15	0.09
Betula pendula Roth	225	26.09	73.71	0.13
Eucalyptus grandis W.Hill	240	20.37	79.56	0.07
Eucalyptus grandis W.Hill	280	24.13	75.60	0.27
Pinus sp.	225	22.75	76.37	0.87
Pinus sp.	250	29.02	70.03	0.94
Pinus sp.	275	42.49	56.53	0.98

Fuente: VERÓNICA, Bustamante García, et al., 2016 ^[16]

1.3.1. Los tipos Caldera de biomasa

1. Calderas convencionales adaptadas para biomasa: Utilizan combustible combinados.
2. Calderas estándar de biomasa: Utilizadas solo para uso doméstico y emplean pellet, o biomasa que no producen muchas cenizas.

3. Calderas mixtas: Permiten el uso alternativo de dos combustibles en función de las necesidades de cada situación, deben tener un almacenamiento y un sistema de alimentación a la caldera independiente para cada combustible.
4. Calderas a condensación: Solo utilizan el pellet como biomasa. ^[6]

1.3.2. Composición química de las cenizas

La composición de las cenizas proveniente de la combustión de las biomásas solidas está dominada por SiO_2 y CaO , (óxido de calcio) y en menor cantidad por óxidos de Magnesio, Aluminio, Potasio y Fósforo.

Los elementos que conforman las cenizas se encuentran en la biomasa como sales unidas químicamente a la estructura del carbón (incorporada en la pared celular) o puede venir con la biomasa como partículas minerales de la tierra. Algunos de los compuestos que constituyen las cenizas son volátiles, es decir pasan a estado gaseoso a una temperatura determinada, la cantidad que se volatiliza depende de las cualidades del combustible (biomasa), de la atmósfera presente alrededor de la partícula y de la tecnología del quemador. En el caso de una elevada temperatura de combustión y una atmósfera reductora, se presentará la volatilización de metales pesados (Zn, Pb, Cm). ^[9]

El contenido de ceniza de diferentes biomásas es muy heterogéneo, pudiendo ser tan altos como el 20% para algunos cultivos energéticos (cereales) o residuos de la industria agropecuaria y muy bajos como el 0.5 % en base seca para algunas especies de pulpa de madera. ^[9]

La Figura 1-10. Composición química típica de cenizas en biomasa sólida, muestra el contenido de ceniza y composición típica para tres variedades de combustible.

1.3.3. Importancia de determinar el silicio en las cenizas

Una vez conocida la composición química y las propiedades físicas que presentan las cenizas es posible predecir la tendencia a formar depósitos en componentes de caldera y su capacidad para causar corrosión, erosión y abrasión. El tipo de cenizas que se generaran por la combustión depende mucho del tipo de biomasa utilizada.

La erosión y abrasión de los componentes de caldera está relacionado principalmente a la presencia de cenizas con partículas duras, específicamente aquellas que son más duras que los aceros y los materiales refractarios utilizados para el interior de

las calderas. El cuarzo es la única especie mineral que comúnmente se encuentra en la biomasa que entra en esta clasificación, este compuesto ocasiona erosión y abrasión de manera significativa. ^[9]

1.3.4. Utilización y/o Disposición Final de las Cenizas

Las cenizas obtenidas pueden ser retornada a la tierra, renovando y proporcionando nutrientes, fundamentalmente potasio y fósforo. Si las cenizas no pudieran ser devueltas a su lugar de origen (la tierra) o no se pueda utilizar como fertilizante, hay otros usos posibles que se les pueden dar, como, por ejemplo, emplearlas como aditivos en materiales de construcción. ^[9]

CAPÍTULO 2: MÉTODOS ANALÍTICOS

2. MÉTODOS ANALÍTICOS

2.1. DIGESTIÓN ÁCIDA DE MUESTRAS

Para poder determinar el silicio (Si) presente en las biomásas, primero la muestra deberá pasar por un procedimiento denominado digestión ácida, para así acondicionarla para su posterior cuantificación en el equipo de espectrometría de absorción atómica.

La digestión ácida es un método utilizado para la preparación de muestras en el cual, por medio de distintos ácidos de concentraciones variadas (que dependerán según la muestra en análisis) permite la descomposición total de la materia orgánica presente en la muestra, dejando en una solución acuosa, evitando la pérdida o contaminación de la sustancia de interés. Su principal objetivo es reducir interferencias (principalmente materia orgánica) y lograr la conversión de los metales a una forma más limpia y pura, para su posterior análisis mediante diferentes técnicas analíticas. ^[10]

En la digestión para la determinación de silicio en biomasa, se debe ocupar ácido nítrico, ya que es apropiado para la extracción de diversos metales, además de que los nitratos proporcionan una buena matriz para las determinaciones mediante espectrometría de absorción atómica, pero para producir una digestión ácida lo suficientemente agresiva y completa, se acompaña con ácido fluorhídrico.

2.1.1. Digestión ácida asistida

La digestión ácida asistida se realiza en un horno digestor de microondas, y a diferencia de la digestión ácida tradicional que se realiza sobre planchas calefactoras, este método es mucho más rápido (15-20 min en comparación a las 2-6 hrs en plancha calefactora) y se evita la pérdida de muestra por salpicadura. En el horno digestor de microondas se introduce una tornamesa que contiene los tubos herméticos de teflón con la muestra a digerir y los ácidos correspondientes, además se coloca un sensor de temperatura en el tubo que ocupa la posición 1 y cuenta también con un sensor de presión que se conecta dentro del equipo. Para un mayor control de la temperatura cuenta con un sensor IR debajo de la cavidad del horno. Todos los parámetros se pueden observar a través de la pantalla digital y si llegase a ocurrir algo inesperado o un error, el equipo lo

indicara deteniendo el proceso, este tipo de digestión es más seguro para el operador y se puede tener mayor control del proceso.

En la Figura 2-1 se muestra un tipo de horno digestor de microondas.

Figura 2-1. Horno digestor de microondas MARS 5



Fuente: Laboratorio ASA-UDT

2.1.1.1. Utensilios utilizados para la digestión en Horno digestor de microondas MARS 5

El horno digestor de microondas MARS 5 posee una tornamesa que cuenta con 12 posiciones y sus respectivos soportes, en los cuales se colocarán los vasos de teflón “easy prep”. Primero se les colocan a los vasos sus tapas respectivas, siguiendo con la camisa de kevlar y terminando con su sombrero, posteriormente se monta en la tornamesa. Una vez estén los vasos montados se coloca la tornamesa en el horno digestor. En la Figura 2-2 se observa parte del equipo de digestión y en la Figura 2-3 las herramientas utilizadas para ensamblar los vasos en sus camisas de kevlar. En la Figura 2-4 el equipo se encuentra montado y listo para utilizarse.

Figura 2-2. Vasos de teflón con tornamesa, camisa de kevlar y sombreros



Fuente: Laboratorio ASA-UDT

Figura 2-3. Herramientas para ensamblar vasos de teflón



Fuente: Laboratorio ASA-UDT

Figura 2-4. Equipo montado en horno digestor de microondas con sensor de temperatura y presión



Fuente: Laboratorio ASA-UDT

2.2. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Ésta técnica es muy apropiada para el análisis de cationes de especies metálicas en disolución en un amplio rango de concentraciones, siendo efectiva para la determinación de silicio (Si^{+2}). Esta técnica presenta 3 modalidades la de llama (para altas concentraciones), otras son cámara de grafito (para bajas concentraciones) y la técnica de vapor frío o generación de hidruros. Para la determinación de silicio se debe aplicar la modalidad de llama. El análisis por llama se realiza con gran rapidez, pero necesita una lámpara específica (lámpara de cátodo hueco), que es la fuente de radiación formada por un cátodo producido a partir del elemento de interés. ^[14]

La lámpara de cátodo hueco de silicio es capaz de emitir energía a las mismas longitudes de onda que son capaces de absorber los átomos de silicio (estas lámparas pueden estar formadas por más de un elemento). Otro tipo de lámpara es la de descarga gaseosa o sin electrodo, en las cuales la emisión se logra por el paso de corriente a través de un vapor de átomos metálicos.

El análisis de absorción atómica se basa en la ley de Lambert-Berr y se fundamenta en que cada elemento tiene un número de electrones asociado con su núcleo, el estado normal y más estable de configuración orbital de un átomo es conocido como estado fundamental, si se aplica energía a un átomo la energía será absorbida y un electrón será promovido a un estado menos estable conocido como estado excitado debido a este estado inestable el átomo volverá a su estado fundamental liberando una energía luminosa, teniendo en cuenta que cada metal tiene una longitud de onda característica a la cual se absorbe, en la técnica se usan lámparas compuestas del elemento el cual se está midiendo lo que hace que el método sea libre de interferencias espectrales (Arderiu, Castiñeiras Lacambra, & Queraltó Compañó, 1998, p.231).^[4]

En la Figura 2-5 se observa el proceso anteriormente descrito.

Figura 2-5. Proceso que sufre un átomo en el equipo de absorción atómica



Fuente: VILCHIS, E, 1991^[17]

2.2.1. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica

En la Figura 2-6 se observan los componentes que se describirán a continuación.

Sistema de atomización: Que proporcione energía necesaria para la disociación del analito y formación de átomos libres. Consta de:

- Un nebulizador que aspire la muestra líquida y forme pequeñas gotas para una atomización más eficiente.
- Un quemador o mechero que beneficie la formación de átomos libres, debido a la alta temperatura alcanzada en la combustión y por la reacción con esta misma.

Una fuente de radiación: Esta fuente debe producir una longitud de onda específica, correspondiente al elemento a analizar para excitar sus átomos y que permita la transición a un nivel de energía superior.

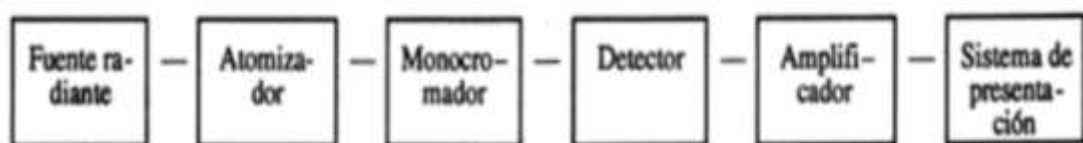
Un sistema óptico: (Monocromador) para separar la radiación de longitud de onda del elemento de interés, de todas las demás radiaciones que entran al sistema.

Un detector o transductor: para transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética, en señales eléctricas o intensidad de corriente

Un amplificador o sistema electrónico: para amplificar la señal eléctrica generada y lograr que en el siguiente paso pueda ser procesada con circuitos y sistemas electrónicos comunes.

Sistema de lectura: en estela señal de intensidad de corriente será convertida a una señal que el operario o analista pueda interpretar (absorbancia o transmitancia).^[14]

Figura 2-6. Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica



Fuente: www.fao.org

A los equipos de absorción atómica se les puede acoplar un autosampler (muestreador automático) el cual es un dispositivo que proporciona muestras periódicamente para su análisis. Los auto-muestreadores otorgan una mayor precisión y velocidad.

2.2.2. Descripción de la técnica de absorción atómica por llama realizada al silicio

La muestra en forma líquida es colocada en el autosampler y es aspirada a través de un tubo capilar, siendo conducida a un nebulizador donde queda nebulizada con el gas oxidante (óxido nitroso), ésta se desintegra y forma pequeñas gotas de líquido (niebla). Las gotas formadas se mezclan con el combustible (acetileno) y se pasan a través de una serie de deflectores que eliminan las gotitas que no sean muy finas. El aerosol, el oxidante y el combustible se dirigen a la llama del mechero, se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido (desolvatación), a continuación, se vaporiza la muestra sólida. Posteriormente ocurre la disociación de la mayoría de estas moléculas, originan un gas atómico (atomización).

Los átomos formados absorben específicamente la radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco de silicio y dicha cantidad de energía absorbida está en función de su concentración. Los átomos excitados debido a su inestabilidad, volverán a su estado fundamental, liberando la energía contenida en forma de luz, esta señal llega al monocromador, posteriormente al detector y a un amplificador, finalizando su viaje en el sistema de lectura, el que entregara los datos deseados.^[14]

En la Figura 2-7 se encuentra esquematizado el procedimiento de la determinación por absorción atómica con llama. En la Figura 2-8 se observa un espectrofotómetro, junto a su autosampler a la derecha.

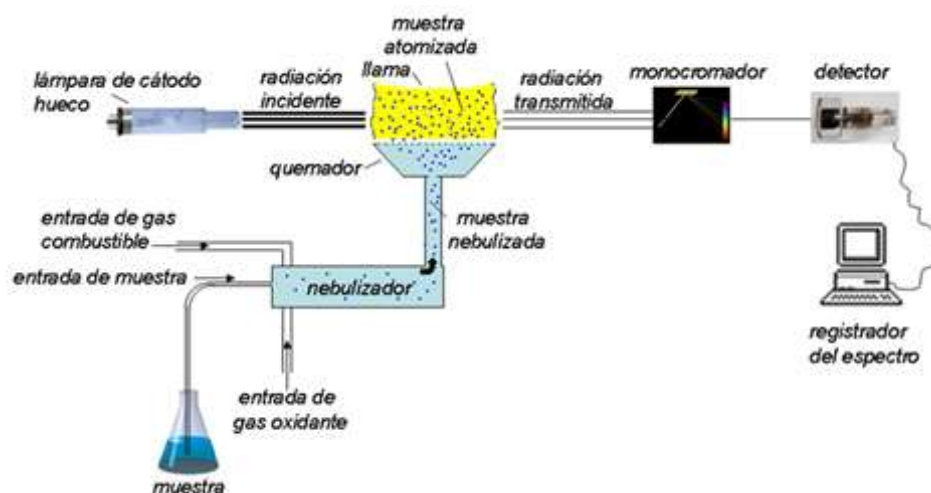


Figura 2-7. Descripción de la técnica de absorción atómica por llama

Figura 2-8. Espectrofotómetro y autosampler



Fuente: Laboratorio ASA-UDT

2.2.3. Tipos de llama

Existe una gran variedad de llamas, su elección depende del elemento a determinar y la técnica empleada. Las distintas llamas se observan en la Tabla 2-1. Para la determinación de silicio se utilizó la llama acetileno-óxido nítrico, debido que esta tiene una zona que contiene altas concentraciones de las especies CN (grupo cianuro) y NH (grupo amino), dando una zona fuertemente reductora, impidiendo la formación de óxidos refractarios.

Tabla 2-1. Temperatura y conformación de las distintas llamas

Combustible	Oxidante	Temperatura	Velocidad de Combustión
Gas LP	Aire	1700-1900°C	39-43
Gas LP	Oxígeno	2700-2800°C	370-120
Hidrógeno	Aire	2000-2100°C	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700°C	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400°C	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150°C	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2950-3050°C	285

Fuente: [https://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_absorci%C3%B3n_at%C3%B3mica_\(AA\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_absorci%C3%B3n_at%C3%B3mica_(AA))

2.2.4. Ventajas y desventajas de la técnica de absorción atómica

- Ventajas: La utilización del equipo es sencillo, se pueden determinar más de 70 elementos de la tabla periódica (la mayoría de ellos se realizaron haciendo uso de la llama), no se requieren grandes volúmenes de muestra, tiene un costo bajo en relación a otras técnicas similares, posee límites de detección de concentraciones inferiores a mg/L, y el tiempo que demora en realizarse el análisis es corto.

- Desventajas: lamentablemente el equipo solo permite analizar un elemento a la vez, el analito se debe encontrar en solución para ser analizado, a pesar de tener una amplia cantidad de elementos de detección no se pueden analizar todos los de la tabla periódica y la muestra necesita estar digerida para evitar las interferencias. ^[14]

2.3. CUIDADOS A TENER EN CUENTA AL USAR ÓXIDO NITROSO Y ACETILENO PARA DETERMINAR SI

Óxido nitroso:

- Comprobar que los tubos y conectores que transporten el óxido nitroso estén limpios de aceite, grasa o materiales orgánicos, dado que puede ocurrir combustión espontánea si el óxido nitroso entra en contacto con estos.
- Utilizar un regulador de doble paso o uno calentado para el óxido nitroso para prevenir que el diafragma se congele y se pierda la regulación de la presión. Este no debe ser almacenado muy cerca de gases inflamables, tales como acetileno o hidrógeno.
- Fijar la presión de salida según lo indique el equipo. ^[13]

Acetileno:

- No se debe almacenar el acetileno cerca de los gases oxidantes, tales como el óxido nitroso.
- Usar los conectores y tubos diseñados para este y nunca conectores de cobre, dado que el acetileno forma un compuesto explosivo al contacto con el cobre.
- Evitar que el acetileno entre en contacto con el cobre, la plata, el mercurio o el cloro gaseoso.
- Revisar periódicamente que no halla fugas, podría suceder una explosión espontánea.
- Fijar la presión de salida según lo indique el equipo, si esta se sobrepasa puede explotar espontáneamente. ^[13]

2.4. PELIGROS EN LA ATOMIZACIÓN POR LLAMA

- Productos de combustión tóxica: El equipo pueden formar productos de combustión tóxica, dependiendo del tipo de análisis que se esté desarrollando. Se debe mantener encendido el sistema de ventilación (campana), para eliminar los productos tóxicos que se pueden generar durante el manejo del instrumento.

- Altas temperaturas: La llama de óxido nitroso-acetileno para la determinación puede alcanzar temperaturas de hasta 3050 °C, para impedir graves quemaduras no tocar la cabeza del quemador hasta que no haya alcanzado la temperatura ambiente.
- Radiación UV: La llama de óxido nitroso-acetileno, las lámparas de cátodos huecos y la lámpara de corrección de fondo de deuterio (si se utilizara), emiten radiación ultravioleta, por lo cual se debe mantener cerrada la puerta del compartimiento del atomizador cuando la llama esté encendida y nunca ver la llama directamente a no ser que cuente con lentes especiales que absorban la radiación UV.^[13]

2.5. FUENTES DE ERROR EN LA TÉCNICA AAS

- Contaminación: Se debe tener cuidado en los procesos de trituración de la muestra, para evitar una posible contaminación se ha de realizar una limpieza previa del equipo triturador. Para logra una mayor limpieza se ceba el molino o triturador con las mismas muestras que se vayan a ser analizadas, eliminando la primera porción triturada. También se pueden producir contaminación al utilizar reactivos impuros durante los procesos de disolución y preparación (digestión), por lo que es necesario trabajar con reactivos certificados y lavar bien los materiales volumétricos una vez utilizados. Debido a posibles contaminaciones ocurridas en el proceso se hace necesario la preparación de una serie de “blancos”.
- Calibración: Para realizar una buena curva de calibración es necesario utilizar estándares certificados.
- Solapamiento e interferencias de pico y líneas espectrales: Se manifiestan cuando las partículas provenientes de la atomización dispersan la radiación incidente de la lámpara, o cuando la absorción de una especie interferente se sobrepone o está muy cerca de la longitud de medida del analito, provocando que no puede separarlas el monocromador. Para corregir esta fuente de error se puede cambiar la longitud de medida o eliminar la especie interferente.^[15]
- Algunas interferencias provocadas durante el proceso:
 - 1- Difusión de la radiación o absorción: Provocado por las partículas sólidas o gotas de disolvente no vaporizadas.

- 2- Disminución de la absorbancia: Debido a la creación de iones en lugar de átomos.
- 3- Formación de compuestos refractarios: Los aniones presentes en la muestra pueden reaccionar con el elemento a determinar.
- 4- Disminución del número de átomos formados: Los elementos presentes en la muestra reaccionan con el oxígeno o los iones hidróxido de la llama. ^[15]

2.6. NORMA UNE-EN 15290

Esta norma fue aprobada por CEN el 25-12-2010, presenta el procedimiento certificado para la determinación de los elementos mayoritarios Al, Cu, Fe, Mg, P, K, Si, Na, Ti presente en las cenizas de los biocombustibles sólidos.

El objetivo de esta norma es evaluar el comportamiento de las cenizas en un proceso de conversión térmica o para evaluar la utilización de estas. Se puede determinar la contaminación que generara la biomasa mediante la identificación de estos elementos. También se pueden determinar por este método Ba y Mn. Esta norma europea consta de dos partes: A: Determinación directa del combustible y B: Determinación en ceniza preparada a 550 °C. Para la realización de esta tesis se consideró solo el procedimiento A. ^[1]

2.6.1. Determinación directa del combustible

1. La descomposición se debe llevar a cabo en recipientes cerrados (vasos de teflón).
2. Mezclar 500 mg de muestra molida, homogenizada y seca, pesado una aproximación de 1 mg, con 3,0 mL de H₂O₂ (30%), 8,0 mL de HNO₃ (65%) y 1,0 mL de HF (40%) en un recipiente de digestión cerrado. Se debe mantener un tiempo de reacción mínimo de 5 minutos antes de cerrar el recipiente.
3. El calentamiento del recipiente no debe ser demasiado rápido. Se calienta la muestra de acuerdo con los programas de calefacción siguientes para la digestión:
 - Aumentar progresivamente para alcanzar 190 °C en 15 minutos.
 - Se mantiene la posición durante 2 minutos a 190 °C.

Si se supera el límite de presión máxima del recipiente durante la digestión y se ha producido la apertura de la válvula de alivio, la digestión debería ser descartarse debido a la posible pérdida de silicio (en forma de SiF_4 gaseoso).

4. Enfriar a temperatura ambiente y neutralizar el HF con la adición de 10 mL de H_3BO_3 (4%), para que este no reaccione con las partes de vidrio del equipo.
5. Se vuelve a calentar la muestra de acuerdo con los programas de calefacción para la neutralización:
 - Se calienta rápidamente a 150 °C.
 - Se mantiene la posición durante 15 minutos a 150°C.
6. Enfriar y transferir la disolución digerida a un matraz aforado de volumen adecuado, se enjuaga el recipiente de digestión con cuidado y se transfiere a la disolución de enjuague al matraz volumétrico. Se añade agua mili-Q a la disolución digerida hasta el aforo. (AENOR, 2011)^[1]

CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS E
INCERTIDUMBRE

3. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS E INCERTIDUMBRE

3.1. VALIDACIÓN

Es la verificación de determinados parámetros de un método analítico, de acuerdo a los requerimientos especificados por el laboratorio, buscando poder determinar con razones estadísticas que el método utilizado es el apropiado para el propósito propuesto. La validación de un método analítico es un procedimiento esencial para poder garantizar que los resultados obtenidos por el método utilizado son confiables. [7]

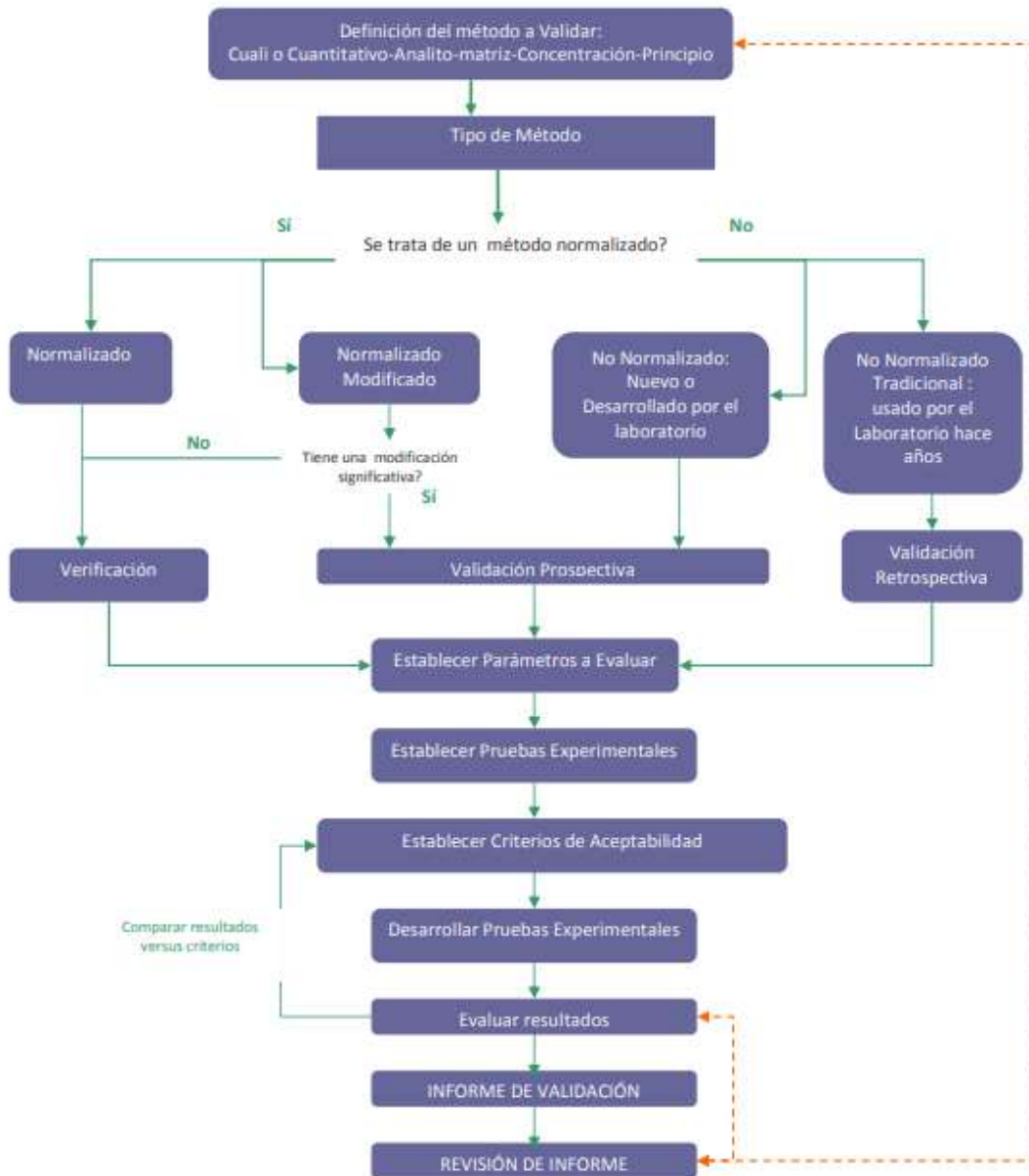
El laboratorio debe validar:

1. Métodos no normalizados: Los cuales son los métodos desarrollados por el laboratorio o nuevos, o bien métodos que tradicionalmente se han utilizado en el laboratorio pero que no se encuentran normalizados.
2. Método normalizado con una modificación significativa. [7]

3.2. EL OBJETIVO DE LA VALIDACIÓN

Es demostrar que el método analítico utilizado por un laboratorio es el apropiado para el procedimiento en la que se pretende utilizar. En la Figura 3-1 se pueden apreciar los distintos pasos para la realización de una correcta validación según el tipo de método utilizado. [7]

Figura 3-1. Diagrama del proceso de validación



Fuente: INSTITUTO de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud, 2010 ^[7]

Los parámetros de validación deberán determinarse de acuerdo al tipo de método. La Figura 3-2 se puede utilizar como guía:

Figura 3-2. Parámetros de validación

PARAMETRO A EVALUAR	CARACTERISTICA(S)	METODO CUALITATIVO	METODO CUANTITATIVO		
			NORMALIZADO	MODIFICADO	NUEVO
SELECTIVIDAD	Identificación analito Interferencia de matriz	Sí	No	Sí	Sí
LINEALIDAD	Rango lineal	No	Sí	Sí	Sí
SENSIBILIDAD	Pendiente	No	Sí o No	Sí	Sí
LIMITES	Critico (LC) Detección (LOD) Cuantificación (LOQ)	Sí	Sí o No	Sí	Sí
PRECISION	Repetibilidad Reproducibilidad	No	Sí	Sí	Sí
VERACIDAD	Sesgo (s) Recuperación (R)	No	Sí o No	Sí o No	Sí
ROBUSTEZ	Test de Youden y Steiner	No	No	Sí o No	Sí
APLICABILIDAD	-----	Sí	Sí	Sí	Sí

Fuente: INSTITUTO de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud, 2010 ^[7]

3.3. ESTABLECER PLAN DE VALIDACIÓN

El responsable de la validación deberá elaborar el Plan de Validación, el cual es un documento en el que se definen los parámetros validación necesarios y el diseño experimental a desarrollar en base a los requerimientos del método, establecidos por el laboratorio. Este documento debe ser confeccionado previamente a la experiencia a realizar. ^[7]

El “Plan de Validación” debe contener a lo menos:

- Alcance de la validación (método, analito, matrices y requerimientos del método)
- Diseño experimental:
 - Establecer las muestras a ser analizadas: testigos reactivos, material control, materiales certificados, blanco matriz, etc.
 - Los parámetros y pruebas a desarrollar: número de análisis requeridos para cada parámetro.
 - Criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación.

- Materiales, insumos y equipos necesarios para realizar la validación.
- Señalar al responsable de la Validación, tiempo programado para realizar la validación y fecha de confección del plan. ^[7]

En el anexo N°1 de la Guía Técnica de validación de métodos y determinación de la incertidumbre, se muestra un formato de plan de validación.

3.4. DESARROLLO DE PRUEBAS DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

El o los analistas a cargo deberán conocer todos los procedimientos establecidos en el plan de validación.

Los resultados obtenidos en cada prueba deben ser correctamente registrados y almacenados. Los ensayos se realizarán con el fin de poder efectuar las siguientes pruebas de los parámetros de validación:

- Selectividad
- Linealidad
- Sensibilidad
- Límites
- Exactitud
- Precisión
- Robustez
- Aplicabilidad

El analista o responsable de la validación una vez finalizado los análisis y los resultados estén debidamente registrados, deberá realizar los cálculos matemáticos correspondientes a cada ensayo para obtener los resultados finales de los parámetros. ^[7]

3.4.1. Selectividad

Es la capacidad que posee un método analítico para poder cuantificar el analito en presencia de interferentes, los cuales frecuentemente se encuentran en la matriz de interés.

[2]

3.4.2. Linealidad

Es la capacidad del método analítico para entregar los resultados, los cuales son proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un determinado intervalo establecido. ^[2]

3.4.3. Sensibilidad

Es la mínima cantidad de analito que puede generar un resultado significativo. En una regresión lineal la sensibilidad corresponde a la pendiente (m) de la recta de calibración. ^[2]

3.4.4. Limites

Se deben considerar los siguientes parámetros: Limite detección (LOD) y Límite de cuantificación (LOQ).

- Límite de detección (LOD): Corresponde a la mínima concentración de analito que puede ser detectado en una muestra, aunque no necesariamente cuantificado con precisión y exactitud.
- Límite de cuantificación (LOQ): Corresponde a la mínima concentración de analito que puede ser cuantificado en una muestra, con una apropiada precisión y exactitud. ^[2]

3.4.5. Exactitud

Es la diferencia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia. La exactitud expresa la proximidad entre el valor verdadero y el valor experimental encontrado. Cuando se aplica a un método analítico, se refiere a una combinación de veracidad y precisión. ^[2]

3.4.5.1. Veracidad

Determina el grado de concordancia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. La veracidad puede ser determinada

por sesgo o recuperación. Para el procedimiento de la validación de la metodología para la determinación de silicio en biomasa sólida se analizará el sesgo.

- Sesgo (s): Es la diferencia entre la expectativa relativa a los resultados de un ensayo o una medición y el valor verdadero. El sesgo es el error sistemático total en contraposición al error aleatorio. ^[2]

3.4.5.2. Precisión

Es la dispersión de una sucesión de resultados alrededor del valor central, de un procedimiento analítico. Se establece en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

- **Repetibilidad**: Evalúa la precisión del método efectuando una serie de análisis, sobre la misma muestra bajo las mismas condiciones operativas, es decir en el mismo laboratorio, por el mismo operador, utilizando el mismo equipamiento y dentro de intervalos cortos de tiempo.
- **Reproducibilidad**: Evalúa la precisión del método efectuando una serie de análisis, sobre la misma muestra, pero cambiando las condiciones operativas, como la realización del ensayo en diferentes laboratorios, con distintos analistas y equipos, como también periodos de tiempo más extensos. ^[2]

3.4.6. Robustez

Es un estudio de la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método, proporcionando el grado de confiabilidad del procedimiento en un uso habitual. ^[2]

3.4.7. Aplicabilidad

Consiste en una declaración de las especificaciones del rendimiento del método, que se encuentra en el informe de validación, incluye el margen de funcionamiento conforme para cada factor y también advertencias acerca de la interferencia conocida de otros analitos, o de la inaplicabilidad a determinadas matrices y situaciones. ^[2]

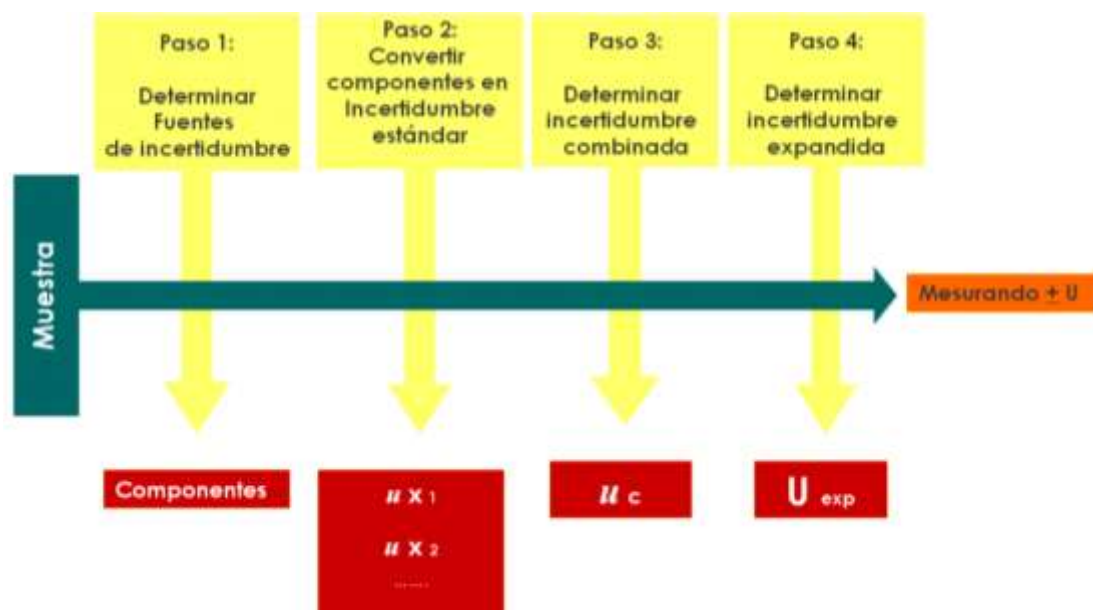
3.5. INCERTIDUMBRE

La incertidumbre es el parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los resultados, intervalo dentro del cual se puede confirmar que se encuentra el valor verdadero. Los componentes de la incertidumbre se pueden agrupar en dos categorías, según el método de evaluación:

- Incertidumbre de tipo A: se estiman aplicando métodos estadísticos a una serie de determinaciones repetidas.
- Incertidumbres de tipo B: se estiman a partir de datos del fabricante, certificados de calibración y características del equipo. [12]

Fuentes o componentes de la incertidumbre de la medición: muestreo, efectos de la muestra, sesgos instrumentales, pureza de reactivos, analistas, Condiciones de medición, método, tablas, pesada, alícuota, efectos computacionales, etc. [7]

Figura 3- 2. Procedimiento para determinar la incertidumbre



Fuente: INSTITUTO de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud, 2010 [7]

3.6. EVALUAR RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN

Se deberá determinar si los resultados obtenidos de los ensayos realizados son satisfactorios para cada parámetro de validación, si estos cumplieran con los criterios de aceptabilidad establecidos en el plan de validación, se considerará que el método es aceptable. ^[7]

3.7. INFORME DE VALIDACIÓN

El analista a cargo de la validación, deberá realizar un informe en el cual presentará los resultados y las conclusiones obtenidas de los diversos análisis desarrollados. El laboratorio debe tener disponible el procedimiento usado para la validación, y una declaración acerca de que el método se acomoda al uso propuesto. Este informe deberá ser revisado por una tercera persona que tenga conocimiento en el área, y que no haya formado parte del proceso de validación. En la revisión se establecerá si los criterios de aceptabilidad propuestos en el plan de validación son aceptables, y si el método es adecuado para el fin previsto. ^[7]

El informe debe contener:

- Identificación del método de ensayo validado.
- Identificación de materiales, insumo o equipos empleados.
- Parámetros de validación.
- Resultados de las pruebas experimentales realizadas.
- Incertidumbre de la medición.
- Personal que participo en el proceso de validación.
- Conclusiones, criterios de aceptación o rechazo.
- Declaración de la aplicabilidad del método. ^[7]

En el anexo N°2 de la Guía Técnica de validación de métodos y determinación de la incertidumbre, se encuentra un modelo tipo de informe de validación.

CAPÍTULO 4: PARTE EXPERIENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. ELECCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

Los parámetros de validación deben ser definidos por los requerimientos del laboratorio, mediante el resultado de estos parámetros se puede aceptar o rechazar la validez del método de determinación de silicio en biomasa. En la Tabla 4-1 se observa un ejemplo de los posibles parámetros elegidos.

Tabla 4-1. Parámetros establecidos para la validación

PARÁMETROS	OBJETIVOS DE VALIDACIÓN
Selectividad	Determinación de silicio en biomasa sólida.
Linealidad	Regresión lineal, Grado de ajuste $r^2 \geq 0.995$
Límites	LOD < LOQ
Repetibilidad %CV _r	CV _r ≤ 7%
Reproducibilidad %CV _{Ri}	CV _{Ri} ≤ 10%
Veracidad, sesgo	t _{calc} < t _{crit}
Incertidumbre	U ≤ 30% (K=2 para el 95% de confianza)
Intervalo de trabajo	15 mg/L – 70 mg/L

Fuente: QUISHPE, 2017, p.23 ^[14] y adición de información propia.

4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este punto se establecerá cómo se debería llevar a cabo la validación, las condiciones a través de las cuales va ser evaluado y la forma del análisis de los resultados.

4.2.1. Selectividad

Se analizarán tres testigos reactivos (blancos), tres blancos de matriz (agua mili-Q o destilada) y tres estándares de silicio cuyas concentraciones en mg/L se encuentren dentro de la curva de calibración, cada análisis se realizará por triplicado. Si se encuentran diferencias significativas deberán ser identificadas y en lo posible eliminadas.

4.2.2. Linealidad

El rango de linealidad que se ha de evaluar será entre 15 y 70 mg/L, siendo los niveles de concentración 15, 30, 40, 50, 60 y 70 mg/L. Se analizará por triplicado en sentido creciente a la concentración.

4.2.3. Sensibilidad y Límites

Para establecer sensibilidad se determinarán los límites (LOD y LOQ) realizando la experiencia de leer 10 veces el blanco (testigo reactivo). Se utilizará el criterio de aceptación adecuado de $LOD < LOQ < LMP$.

4.2.4. Exactitud

Para poder evaluar exactitud se determinará Veracidad y Precisión.

La Veracidad se determinará por sesgo, realizando la medición simultanea de 5 muestras por triplicado, utilizando un material de referencia. Se realizará la prueba t-Student y debe cumplirse que el $t_{calc} < t_{crit}$.

La precisión se establecerá por repetibilidad y reproducibilidad:

- La Repetibilidad se determinará realizando la medición simultánea de 5 muestras por triplicado del material de referencia. Estas mediciones se harán bajo las mismas condiciones (mismo operador, mismo laboratorio, mismo equipo, y en corto periodo de tiempo).

Se calculará el promedio de las concentraciones obtenidas (\bar{X}), la desviación estándar (S_r) y el porcentaje de coeficiente de variación ($\%CV_r$).

Se establece para la repetibilidad que el $CV_r\%$ obtenido debe ser $< (CV_h\%/2)$.

- La Reproducibilidad se determinará realizando la medición de 5 muestras por triplicado del material de referencia, en distintos días.

Se calculará el promedio de las concentraciones obtenidas (\bar{X}), la desviación estándar (S_{ri}) y el porcentaje de coeficiente de variación ($\%CV_{Ri}$).

Se establece para la reproducibilidad que el $CV_{Ri}\%$ obtenido debe ser $< (2CV_h\%/3)$.

4.2.5. Robustez

Se aplicará la Prueba de Robustez de Younden y Steiner. Las variables a evaluar son: analistas, pH, introducción de la muestra, ángulo del quemador, flujo de gases, tipo de llama, longitud de onda y slit (rendija espectral). Para la evaluación de la robustez se determinará realizando 8 análisis de la muestra. Las variables sensibles no deben modificarse, manteniendo el valor nominal establecido en el método, para esa condición.

4.2.6. Incertidumbre

Las fuentes de la incertidumbre a determinar para esta validación serán: material volumétrico, equipo, estándar de silicio, preparación de la muestra y material de referencia.

4.3. FORMULAS A UTILIZAR PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Nos ayudaran a establecer si el método se encuentra dentro de los parámetros establecidos y a determinar las fuentes de la incertidumbre.

1. Media:

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

2. Desviación estándar (S):

$$S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - X)^2}}{n - 1}$$

3. Coefficiente de Variación (CV):

$$\%CV = \frac{S}{X} * 100$$

4. Varianza:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X)^2}{n - 1}$$

5. Coefficiente de Variación de Horwitz (CV_h):

$$\boxed{CV_{h\%} = 2^{(1*0.5\log C)}} \quad \text{o} \quad \boxed{\sigma_H = 0.02 * C^{0.8495}}$$

6. Prueba t- student:

$$\boxed{t_{\text{calc}} = \frac{[X_a - X]}{S * \sqrt{n}}}$$

7. Prueba F (de Fisher):

1) Determinar los grados de libertad de la experiencia 1: n-1

2) Determinar los grados de libertad de la experiencia 1: n-2

3)
$$\boxed{F = \frac{\text{Varianza mayor}}{\text{Varianza menor}}}$$

8. Ecuación de la recta:

$$\boxed{y = mx + b}$$

9. Pendiente (m):

$$\boxed{m = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

10. Coeficiente de determinación (r^2) y de correlación (r):

$$r^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 * \sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

11. t-student para coeficiente de correlación (t_r):

$$t_r = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

12. Límite de detección (LOD)

$$\text{LOD} = 2t_{(1-\alpha;v)} * S_o \quad \text{Sí : } t(0.05, \infty) \rightarrow 1,645 \quad \text{LOD} = 3,29 * S_o$$

13. Límite de cuantificación (LOQ)

$$\text{LOQ} = 10 S_o$$

14. Sesgo (s)

$$s = X - X_a$$

15. Criterio de aceptación para Robustez

$$(X-x) < \sqrt{2} S_p$$

Este cálculo señalará si es o no sensible la variable.

16. Incertidumbre de calibración del material volumétrico

$$u_{cal} = \frac{U_{cert}}{K}$$

17. Incertidumbre relativa del material volumétrico

$$u_{rel} = \frac{u_{cal}}{V}$$

18. Incertidumbre de calibración del equipo

$$u_{cal}^2 = u_{estandares}^2 + u_{FR}^2 + u_{resolucion}^2$$

19. Incertidumbre del estándar comercial

$$u_{ec} = \frac{U_{cert}}{K}$$

20. Incertidumbre solución madre

$$u_{\text{solucion madre}} = [\]_{\text{solucion madre}} * \sqrt{\left(\frac{U_{\text{estándar}}}{[\]_{\text{estándar}}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{pipeta}}}{V_{\text{pipeta}}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{matraz}}}{V_{\text{matraz}}}\right)^2}$$

21. Incertidumbre de los estándares

$$u_{\text{estándares}} = \sqrt{\left(\frac{U_{\text{solución madre}}}{[\]_{\text{solución madre}}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{pipeta}}}{V_{\text{pipeta}}}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{matraz}}}{V_{\text{matraz}}}\right)^2}$$

22. Incertidumbre de la función respuesta

$$u_{\text{FR}}^2 = \left(\frac{S_{x/y}}{[\]}\right)^2$$

23. Incertidumbre de resolución del equipo

$$u_{\text{resol.}}^2 = \left(\frac{\frac{\text{minima absorbancia}/b_{\square}}{\sqrt{3}}}{[\]_{\text{min}}}\right)^2$$

24. Incertidumbre de preparación de la muestra

$$u_{\text{preparación}}^2 = \left(\frac{u_{\text{peso}}}{\text{peso}}\right)^2$$

25. Incertidumbre de precisión

$$u_{\text{precisión}}^2 = \left(\frac{S_R}{[]} \right)^2$$

26. Incertidumbre combinada

$$u_{\text{combinada}} = [] * \sqrt{u_{\text{calibración}}^2 + u_{\text{preparación}}^2 + u_{\text{precisión}}^2}$$

27. Incertidumbre expandida

$$U = u_c * K$$

28. Incertidumbre relativa

$$\%U = \frac{U}{[]} * 100$$

4.4. ACONDICIONAMIENTO DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA, PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y MATERIAL DE REFERENCIA

4.4.1. Puesta a punto

- Verificar el funcionamiento del equipo de absorción atómica, las líneas de gases, presiones dentro del laboratorio, y encendido de compresor GAST.
- Verificar el funcionamiento y calibración de la balanza analítica.
- Verificar el funcionamiento del Horno digestor de microondas MARS.
- Realizar curvas de calibración con diferentes concentraciones de estándares.
- Cambiar quemador de aire-acetileno a óxido nitroso-acetileno (quemador especial).

4.4.2. Preparación de la curva de calibración

Se debe utilizar un standard de 1000 mg/L de silicio, micro pipetas de 1000 μ L y matraces de plástico de 25 mL, para realizar los 6 puntos de calibración. Se realiza el aforo con agua Mili-Q o agua destilada.

Tabla 4-2. Preparación de soluciones estándar de silicio para curva de calibración

Numero de Estándar	Concentración de Estándar en mg/L	Volumen de la solución madre en mL	Volumen de aforo en mL
1	15	0,375	25
2	30	0,75	25
3	40	1,0	25
4	50	1,25	25
5	60	1,5	25
6	70	1,75	25

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros de validación

4.4.3. Preparación de controles

Se debe utilizar un standard de 1000 mg/L de silicio diferente al utilizado para la preparación de la curva de calibración, los equipos utilizados y el procedimiento a realizar son los mismos que en el punto 4.3.2. Se deben realizar 3 puntos de control, estos pueden ser cualquiera, solo que se encuentren dentro de la curva de calibración.

4.4.4. Preparación del material de referencia

Un material de referencia que puede ser utilizado es un pellet de madera de concentración de:

- 45793.46 mg/Kg de Si (Silicio) en las cenizas.
- 9.7998% de SiO₂ (Dióxido de silicio) en las cenizas.

La información del pellet certificado se encuentra Figura 4-3.

Los pellets de madera son un tipo de combustible biomásico granulado elaborado a partir de aserrín, su forma es alargada y parecen pequeños cilindros de unos pocos milímetros de diámetro y espesor. Para la fabricación de los pellets el aserrín es prensado y la lignina que contiene cumple la función de aglomerante. Los pellets poseen una apariencia brillante (como barnizados), son muy densos y duros. En la Figura 4-4 se puede observar la apariencia de los pellets.

Tabla 4-3. Documentación de Material de Referencia

lab		value 1	value 2	n	mean	ZU-score		
14	11.74	11.53	2	11.64	0.25	n	16	
18	14.30	15.30	2	14.80	0.67	Xmax	33.595	
26	15.17	15.17	2	15.17	0.72	Xmin	1.37	
32	7.49	7.94	2	7.72	- 0.53	Reprod.-STD absolute:	5.5949	
36	9.12	9.15	2	9.14	- 0.17	Reprod.-STD relative:	57.09%	
43	4.64	4.41	2	4.53	- 1.34	Repeat.-STD absolute:	0.355	
72	8.99	8.87	2	8.93	- 0.22	Repeat.-STD relative:	3.62%	
77	12.65	12.00	2	12.33	0.34	Hampel-estimator	9.7998	
91	7.81	8.07	2	7.94	- 0.47	std unc. mean abs.:	1.7484	
94	6.23	6.23	2	6.23	- 0.91	std unc. mean rel.:	17.84%	
101	9.15	9.45	2	9.30	- 0.13			
110	8.66	7.57	2	8.12	- 0.43			
111	34.07	33.12	2	33.60	1.20			
131	10.03	10.36	2	10.20	0.05			
149	18.36	19.99	2	19.18	1.26			
75	1.04	1.70	2	1.37	- 2.14			

Fuente: Laboratorio ASA-UDT

Figura 4-1. Pellet e madera



Fuente: <https://it.kisspng.com/kisspng-6ogbq8/>

4.4.4.1. Equipos y materiales

Reactivos:

- Agua desionizada o Mli-Q.
- Ácido nítrico (HNO_3) 65% (m/m).
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 30% (m/m).
- Ácido fluorhídrico (HF) 40% (m/m).
- Ácido bórico (H_3BO_3) 4% (m/m).

Equipos y materiales:

- Horno digestor de microondas.
- Recipientes para digestión de muestras.
- Balanza analítica.
- Placa petri.
- Triturador.
- Estufa.
- Matraces aforados de plástico de 100 mL.

4.4.4.2. Acondicionamiento de la muestra

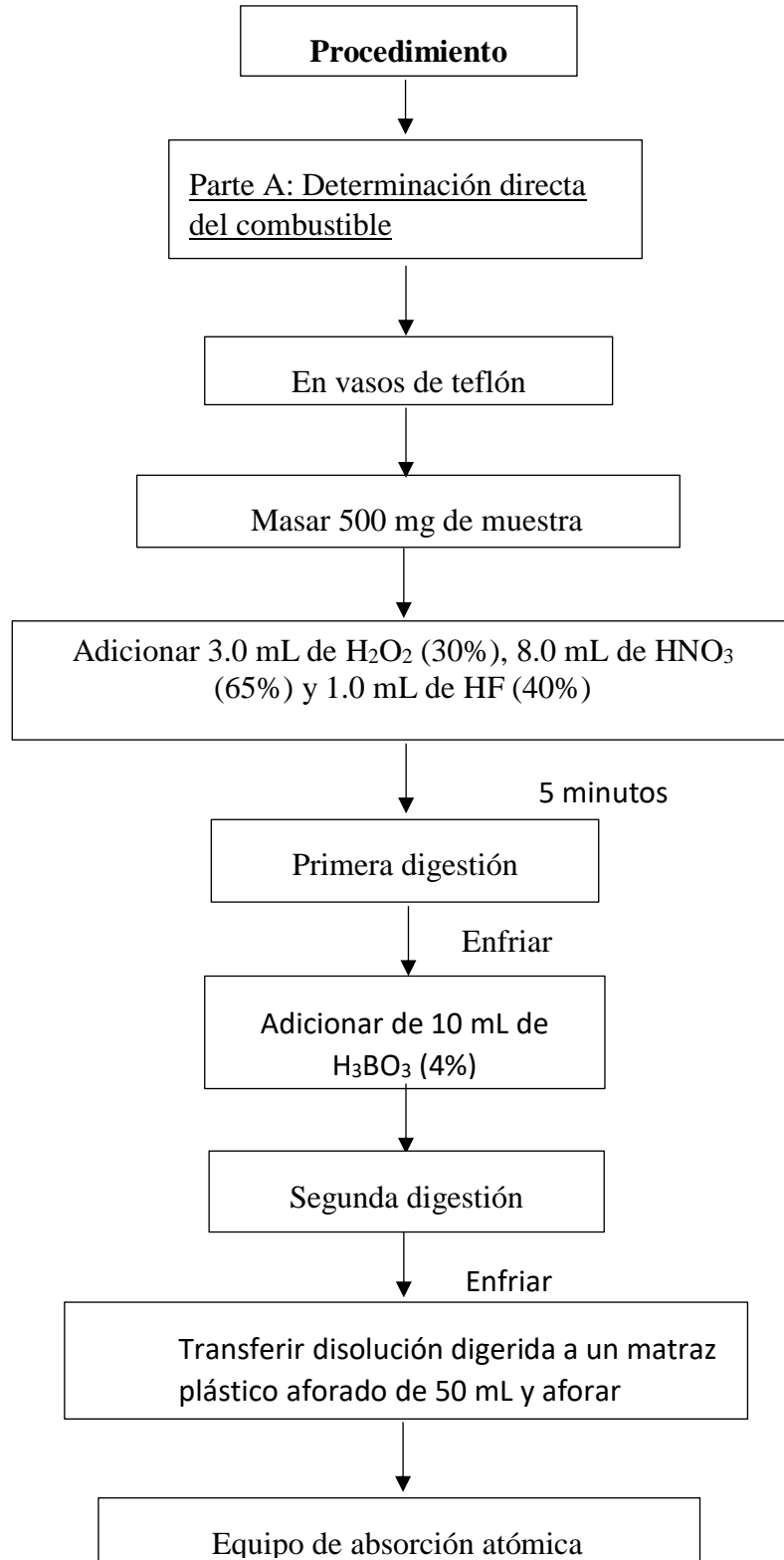
Esta debe tener un tamaño nominal máximo de 1 mm o menor, por lo que se triturara y el contenido de humedad de la muestra se debe determinar por: *Norma UNE-CEN/TS 14774: "Biocombustibles sólidos – Métodos para la determinación del contenido de humedad – Método de secado en estufa"*.

Características del método:

- Masa de la muestra 1 g en placa Petri o vidrio reloj.
- Temperatura de secado: 105 °C en estufa.
- Tiempo de secado: hasta que la variación de la masa sea inferior a 0.2% en un periodo de 2 h y después por 1 h hasta masa constante. Se retira de la estufa y se coloca en un desecador para enfriar por 25 min.
- Precisión de la balanza: 0.1 mg.

4.4.5. Procedimiento de extracción de silicio del material de referencia

Figura 4-2. Esquema del proceso de cuantificación de silicio



Fuente: Elaboración propia a partir de Norma UNE-EN

4.4.5.1. Cálculos

1. El contenido de silicio en la muestra en base seca w_i , expresado en mg/kg, se calcula a partir de la media de determinaciones utilizando la ecuación: ^[1]

$$w_i = \frac{(c_i - c_{i,0}) * V}{m} * \frac{100}{(100 - Mad)} \pm U$$

Donde:

w_i : es la concentración del silicio en la muestra, en base seca (mg/kg).

c_i : es la concentración del silicio en la disolución digerida diluida de la muestra (mg/L).

$c_{i,0}$: es la concentración del silicio en la disolución del ensayo del blanco (mg/L).

V : es el volumen de la disolución digerida diluida en la muestra (mL).

m : es la masa de la porción de ensayo utilizada (g).

U : Incertidumbre expandida (mg/kg).

Mad : es el contenido de humedad de la muestra de análisis en % m/m. (AENOR, 2011) ^[1]

2. El porcentaje de óxido de silicio en las cenizas, se calcula utilizando la ecuación:

$$[SiO_2]\% = \frac{w_i * Ad}{10000} \pm (U * Ad)$$

Donde:

$[SiO_2]$: es el porcentaje de óxido de silicio en las cenizas.

U : Incertidumbre expandida (mg/kg).

w_i : es la concentración del silicio en la muestra, en base seca (mg/Kg).

Ad : factor oxido, en este caso 2.14. (AENOR, 2011) ^[1]

4.4.6. Preparación del espectrofotómetro de absorción atómica para la validación

4.4.6.1. Equipos y materiales:

- Espectrofotómetro y autosampler.
- Fuente de energía eléctrica.
- Agua clase 1 (mili Q) o destilada.
- Óxido nitroso 99.999% pureza.
- Acetileno 99.999% pureza.
- Compresor GAST.
- Muestra previamente digerida en matraz de 50 mL.
- Soluciones estándar para la curva de calibración.

4.4.6.2. Encendido del equipo

1. Encender la fuente de energía eléctrica.
2. Dar los suministros de gases desde la caseta y encender el compresor Gats.
3. Dar gases dentro del laboratorio, verificando que las presiones sean las adecuadas.
4. Encender el espectrofotómetro y después el autosampler (si se prendiera por separado)
5. Insertar la lámpara LCH de silicio, se conecta directamente en uno de los espacios disponibles.
6. Encender computador y campana de extracción de gases.
7. Abrir el programa de control del equipo, el cual es el software del equipo, si este logra la comunicación con los instrumentos a los que está conectado, se observaran iconos de color verde en la pantalla principal, de lo contrario, se encontraran de color rojo con una cruz negra en su interior. De suceder esto último se deberá chequear el equipo nuevamente hasta que los iconos se observen de color verde.
8. Verificar el uso de mechero especial para óxido nitroso-acetileno.
9. Abrir el icono Lamps (lámpara) del tablero de control virtual del programa y encender la lámpara, transcribiendo la corriente en mA especificada por el fabricante.
10. La lámpara debe estabilizarse por lo menos 30 minutos antes de comenzar con la medición y se evidencia en la ventana continuous graphics, cuando la línea del grafico deja de descender.

11. Se aspira agua mili Q que contenga 1,5 ml de HNO_3 concentrado y se verifica la velocidad de aspiración (5-8 ml/L).
12. Alinear el camino óptico y flujo del nebulizador, con la llama encendida del espectrofotómetro con una solución que contenga el analito que se cuantificara hasta que se observe una absorbancia máxima.
13. La llama debe tener un cono rojo por encima del mechero, si no lo tiene regular el flujo de combustible hasta obtenerlo. Una vez encendida la llama de óxido nitroso, se deja que el mechero llegue al equilibrio térmico antes de comenzar el análisis.

4.4.6.3. Preparación del autosampler

1. Verificar los contenedores de agua de lavado (aproximadamente 500 mL de agua destilado o mili-Q) y desagüe.
2. Definir los nombres y posiciones de las muestras.
3. Definir los nombres, posiciones y concentraciones de los puntos de la curva de calibración y blancos.
4. Activar o desactivar la bomba del autosampler.

4.4.6.4. Lectura de estándares y muestras

1. Seleccionar si se trabajara de forma “manual” o “automático”.
2. Escoger el método a utilizar.
3. Dar el comienzo al encendido de la llama, esto demorara unos segundos y se evidenciara que está operativo en cuanto los iconos Flame estén de color verde.
4. Seleccionado el método, se creará un archivo para guardar las lecturas realizadas.
5. Se lee primero el blanco de la curva.
6. Posteriormente se lee la curva de calibración.
7. Finalizada la lectura de la curva de calibración se analiza el blanco correspondiente a la muestra.
8. Se comienzan a leer las muestras, las lecturas son realizadas por triplicado.

4.4.6.5. Apagado de llama

1. Con los datos guardados, se apaga la llama.
2. Apagar la lámpara utilizada y la campana de extracción de gases del equipo.
3. Salir programa del equipo.

4.4.6.6. Apagado del equipo

1. Apagar computador, el espectrofotómetro y autosampler (si se apagase por separado).
2. Cortar gases del laboratorio.
3. Apagar la Fuente de energía eléctrica.
4. Cortar los suministros de gases desde la caseta, cerrando las bombonas pertinentes y luego apagar el compresor Gast.

4.4.7. CONDICIONES DE LECTURA DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

4.4.7.1. Parámetros del instrumento:

Tipo de sistema: Flama

Elemento: Si

Matriz: Acuosa

Tipo de señal: AA puede ser con o sin corrector de fondo

Corriente lámpara: 3.00 mA

Longitud de onda: 251.61 nm

Slit (nm): 1.8/1.3 nm

4.4.7.2. Parámetros de calibración:

Ecuación: Linear bracketing

Unidades de concentración: mg/L

Punto decimal de concentración: 4

Acción de fallo de calibración: Parar

Medir muestra en blanco después de calibración: Si

Autoguardar método después de calibración: Si

4.4.7.3. Parámetros de medición de muestra:

Modo de medición: Integración

Introducción de la muestra: automático

Tiempo de lectura: 3.00 s

Tiempo de integración: 2.00 s

Replicas: 3

4.4.7.4. Parámetros de control de la flama:

Tipo de flama: Óxido nitroso-acetileno

Flujo de combustible (acetileno): 8.3 L/min

Flujo de oxidante (óxido nitroso): 6.0 L/min

Angulo del quemador: 0°

Aspirador nebulizador: 5-8 mL/min

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Se concluye que tanto el objetivo general y los específicos, propuestos en el trabajo de titulación se cumplieron satisfactoriamente. Se desarrolló el diseño experimental, estableciendo los procedimientos a realizar y los objetivos propuestos para los parámetros de validación definidos. Se establecieron las fórmulas para el análisis estadístico de los resultados obtenidos, para así poder determinar los parámetros de validación e incertidumbre de la medición, y también se fijaron las condiciones de lectura del espectrofotómetro. Se espera tener la posibilidad de poder realizar esta validación y demostrar a través de resultados la eficacia de la metodología presentada en este trabajo de titulación.

Respecto a la efectividad del tratamiento de digestión ácida asistida de acuerdo a lo establecido en la Norma UNE-EN 15290, el laboratorio ASA de la UDT la utiliza para sus análisis en espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros y en el ICP-OES, dándoles muy buenos resultados

Verificar tuberías de gases del espectrómetro de absorción atómica y de la campana de extracción de gases, para evitar accidentes con el acetileno y óxido nitroso. Revisar el flujo de absorción del capilar del nebulizador, mediante la lectura de un control, cada 10 o 15 muestras. Los flujos de oxidante y combustible pueden variar dependiendo del diseño del espectrofotómetro de absorción atómica.

Para la realización de las curvas de calibración es recomendable utilizar la ecuación de regresión lineal bracketing, aceptando coeficientes de correlación igual o mayor a 0,995, este permite establecer la proporcionalidad entre las absorbancias de las lecturas y la concentración de la muestra, con una confianza del 95%. Al determinar las incertidumbres con un factor de cobertura $K=2$ proporciona una confianza del 95%. Proponer a realizar revalidaciones futuras, por posibles cambios de equipos, materiales o nuevas metodologías más eficaces.

Se deberán realizar intercomparaciones entre diferentes laboratorios, bajo las mismas condiciones preestablecidas, para así evaluar y demostrar la confiabilidad de los datos entregados por el método validado. Utilizar material de polietileno (plástico) para muestras de silicio (digestiones y curvas de calibración), para así evitar contaminación por parte del material de vidrio.

Una vez obtenidos los resultados de los parámetros de validación y comparados con los objetivos establecidos por el laboratorio, se decidirá si se aceptara la validación del método, pasando a formar parte de los instructivos del laboratorio o si será rechazado.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] AENOR, Asociación Española de Normalización y Certificación. Norma UNE-EN 15290. Madrid, España. Noviembre 2011.
- [2] AGUIRRE L, GARCIA F y GARCIA T. Validación de métodos analíticos. Monografías de la AEFI (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria), Barcelona, España. 2001.
- [3] ALTAMIRANO, Adison. y MIRANDA, Alejandro. Disponibilidad y potencial energético de la biomasa del bosque nativo para el desarrollo de la dendroenergía en el centro- sur de Chile. 2015 [en línea]. < <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002015000200008>> [consulta: julio del 2019].
- [4] ARDERIU, X. CASTIÑEIRAS LACAMBRA, M. y QUERALTÓ COMPAÑÓ, J. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Bogotá: Reverté. 1998. 231 p.
- [5] DE LUCAS, Ana I. y TARANCO, Carlos. Biomasa, biocombustibles y sostenibilidad. Centro Tecnológico Agrario y Agroalimentario. Madrid, España. 2012 [en línea]. <<http://sostenible.palencia.uva.es/system/files/publicaciones/Biomasa%2C%20Biocombustibles%20y%20Sostenibilidad.pdf>> [consulta: agosto 2019].
- [6] EBASL. La biomasa: producir energía con un sistema ecológico [en línea]. <<http://ebasl.es/producir-energia-con-la-biomasa/>> [consulta: abril 2019].
- [7] INSTITUTO de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. 22 de diciembre de 2010 [en línea]. <<http://www.ispch.cl/content/guia-tecnica-de-validacion-de-metodos-y-determinacion-de-la-incertidumbre-de-la-medicion>> [consulta: agosto 2019].
- [8] LENNTECH. (s.f.). Silicio – Si [en línea]. <<https://www.lenntech.es/periodica/elementos/si.htm>> [consulta: mayo 2019].

- [9] MELISSARI, Blas. Comportamiento de Cenizas y su Impacto en Sistemas de Combustión de Biomasa. Mayo 2012 [en línea].
<http://www.um.edu.uy/docs/6_comportamiento_de_cenizas_y_suimpacto_en_sistemas_de_%20combustion_de_biomasa.pdf> [consulta: junio 2019].
- [10] MOLINA, Carolina I. y VALDÉS, Camila V. Validación del método de digestión ácida, para la determinación de cobre en muestras de minerales mediante espectrofotometría de absorción atómica. Trabajo titulación Viña del Mar, Chile: UTFSM. Sede de Viña del Mar. 2016 [en línea].
<<https://repositorio-usm-cl.usm.idm.oclc.org/>> [consulta: abril del 2019].
- [11] PÉREZ LOPEZ, A, et al. Composición de la biomasa. Universidad de Granada. Instituto Nacional del Carbón (CSIC), España. 2019 [en línea].
<<https://petrografiacarbon.es/introduccion/materia-organica/biomasa/>> [consulta: abril del 2019].
- [12] PÉREZ, M. Estimación de incertidumbres guía GUM. 12 de 2012 [en línea].
<http://www.uv.es/meliaj/Docencia/WebComplementarios/GuiaGUM_e_medida.pdf> [consulta: junio del 2019].
- [13] PerkinElmer instruments. Información sobre advertencias y seguridad de Analyst 400 Spectrometer. Bridgeport Avenue Shelton, Estados Unidos. 2005.
- [14] QUIISHPE, Magaly L. Validación métodos de ensayo silicio asimilable absorción atómica suelos. Trabajo de titulación Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 2017 [en línea]. <<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/11532>> [consulta: agosto del 2019].
- [15] UGR. ESPECTROSCOPIA ATÓMICA. (s.f) [en línea].
www.ugr.es/~clinares/webexp/fundamentos/espectroscopia%20atomica.doc.
[consulta: julio del 2019].

- [16] VERÓNICA BUSTAMANTE, García. Química de la biomasa vegetal y su efecto en el rendimiento durante la torrefacción: revisión. Universidad Juárez del Estado de Durango. México. 2016 [en línea].
<<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/11532>> [consulta: mayo del 2019]
- [17] VILCHIS, E. Cuantificación de plomo en leche cruda. 27 de 06 de 1991 [en línea].
<http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/24/063/24063112.pdf> [consulta: abril del 2019].

ANEXOS

ANEXO A: TABLAS DE PARÁMETROS Y INCERTIDUMBRE A COMPLETAR

Las tablas a realizar deberán ser similares a estas, puede variar el número de muestras, mediciones, los días en los que se realicen las lecturas y la concentración depende del analista y el laboratorio en el que se desarrolle la validación.

Tabla A-1. Selectividad

Muestra	Numero de mediciones	Absorbancias	Conc mg/L
Testigo reactivo 1	1		
	2		
	3		
Testigo reactivo 2	1		
	2		
	3		
Testigo reactivo 3	1		
	2		
	3		
Blanco matriz 1	1		
	2		
	3		
Blanco matriz 2	1		
	2		
	3		
Blanco matriz 3	1		
	2		
	3		
Estándar 1	1		
	2		
	3		
Estándar 2	1		
	2		
	3		
Estándar 3	1		
	2		
	3		

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A-2. Linealidad

Estándar	Conc. mg/L	Área 1	Área 2	Área 3	X (A)	S	CV %	S ²
1	15							
2	30							
3	40							
4	50							
5	60							
6	70							

r	r ²

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A-3. Límites

Medición (blanco testigo)	Conc. mg/L
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

X (Conc.)	S _o	LMP	LOD	LOQ

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A-4. Sesgo

Muestra	Numero de mediciones	Conc. mg/L	X mediciones	(X-X _a)	Sesgo s
1	1				
	2				
	3				
2	1				
	2				
	3				
3	1				
	2				
	3				
4	1				
	2				
	3				
5	1				
	2				
	3				
S	X_a	X (de los promedio)	n		
			10		

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A- 5. Repetibilidad

Muestra	Numero de mediciones	Conc. mg/L	X mediciones
1	1		
	2		
	3		
2	1		
	2		
	3		
3	1		
	2		
	3		
4	1		
	2		
	3		
5	1		
	2		
	3		
S_r	X (de los promedio)	CV_r%	CV_{hr}%

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A-6. Reproducibilidad

Muestra	Fecha	Numero de mediciones	Conc. mg/L	X mediciones
1	Día 1	1		
		2		
		3		
2	Día 2	1		
		2		
		3		
3	Día 3	1		
		2		
		3		
4	Día 4	1		
		2		
		3		
5	Día 5	1		
		2		
		3		
S_{Ri}	X (de los promedio)	$CV_{Ri}\%$	$CV_{hRi}\%$	

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos

Tabla A-7. Robustez

CONDICIÓN VARIABLE				ANÁLISIS							
Tipo	Clave	Valor Alto X	Valor Bajo x	1	2	3	4	5	6	7	8
Analistas	A,a										
pH muestra	B,b										
Angulo de quemador	C,c										
Introducción de la muestra	D,d										
Flujo de gases	E,e										
Tipo de llama	F,f										
Longitud de onda y Slit	G,g										
RESULTADOS (NTU)				s	t	u	v	w	x	y	z

Condición Variable		Resultados		Diferencia	Comparación
Valor Alto X	Valor Bajo x	Promedio X	Promedio x	$\Delta(X-x)$	$\Delta < \sqrt{2} DS$
A	a				
B	b				
C	c				
D	d				
E	e				
F	f				
G	g				

Fuente: Elaboración propia en base a parámetros establecidos [7]

Tabla A-8. Incertidumbre del material volumétrico

	Volumen (ml)	U	K	μ_{cal}	μ_{rel}
Pipetas					
Matraces					

Fuente: QUISHPE, 2017, p.35 ^[14]

Tabla A-9. Incertidumbre en estándares

Estándar	Conc. mg/L	Incertidumbre mg/L
1	15	
2	30	
3	40	
4	50	
5	60	
6	70	

Fuente: QUISHPE, 2017, p.36 ^[14]

Tabla A- 10. Resultados de incertidumbre

Fuentes de incertidumbre	Incertidumbre
Función respuesta	
Resolución del equipo	
Preparación de la muestra	
Precisión	
Veracidad	
Combinada	
Expandida	
Relativa (%)	

Fuente: QUISHPE, 2017, p.36 ^[14]

ANEXO B: TABLA t-Student PARA $\alpha = 0,05$ Y 2 COLAS:

2 colas $\alpha/2$	80% 0.10	90% 0.05	95% 0.025
1	3.078	6.314	12.706
2	1.886	2.920	4.303
3	1.638	2.353	3.182
4	1.533	2.132	2.776
5	1.476	2.015	2.571
6	1.440	1.943	2.447
7	1.415	1.895	2.365
8	1.397	1.860	2.306
9	1.383	1.833	2.262
10	1.372	1.812	2.228

Fuente: INSTITUTO de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud, 2010 ^[7]