

Propuesta de una guía de validación para la determinación de sólidos suspendidos totales en aguas residuales

Melina Uribe, Sheila Uribe y Jorge Acosta

M. Uribe, S. Uribe y J. Acosta
Universidad Politécnica del Centro, 22.5 km. carretera Villahermosa-Teapa, Villahermosa 86290 Tabasco,
México
muribel@hotmail.com

M. Ramos.,V.Aguilera.,(eds.). Ciencias de la Ingeniería y Tecnología, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago, Guanajuato, 2013.

Abstract

The validation of analytical methods is of great importance for testing laboratories wastewater want to ensure the quality and reliability of its results. In this paper we conducted a validation guide for the determination of Total Suspended Solids (TSS) in wastewater. This will set the parameters for limit of quantification, linearity, working range, recovery, bias and precision (repeatability). As a result of the work is concluded, this guide will enable testing laboratories develop each of the parameters to assess and meet the acceptance criteria in determining TSS. It also serves as a source of information for other testing laboratories (clinical, food, microbiological research centers, etc.) who wish to validate their methods.

10 Introducción

Un laboratorio de ensayo de aguas residuales tiene como objetivo proporcionar resultados que contribuyan a la preservación y mejora de los cuerpos de agua. Para ello necesita garantizar la calidad de sus resultados a través del uso de métodos analíticos que sean confiables, precisos y adecuados para su propósito.

Los laboratorios de ensayo que desean acreditarse y comprobar que son técnicamente competentes para generar resultados válidos, deben de cumplir con los requisitos de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 “Requisitos generales para los laboratorios de ensayo y de calibración”.

Es por ello, que los laboratorios deben validar los métodos que utilizan (Lazos y Hernández, 2004); ya que la validación confirma a través del examen y la aportación de evidencia objetiva, de que los requisitos particulares para un uso específico previsto se cumplen (ISO 1994b, citado en Boqué et al., 2002).

Los métodos analíticos utilizados para determinar la contaminación del agua y controlar los procesos de tratamientos de aguas residuales, además de cumplir con los límites máximos permisibles que marca la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 “Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales”, deben de ser sencillos, precisos y capaces de desarrollar por cualquier laboratorio de ensayo de aguas (Mayarí *et al.*, 2005).

Dentro de esos métodos analíticos se encuentran los SST, los cuales son sólidos constituidos por sólidos sedimentables, sólidos y materia orgánica en suspensión y/o coloidal, que son retenidos en un elemento filtrante (NMX-AA-034-SCFI-2001).El propósito de este trabajo es ofrecer una propuesta de una guía de validación de los SST de acuerdo con la normativa aplicable, en la que se describa detalladamente como obtener los parámetros (límite de cuantificación, linealidad, intervalo de trabajo, recuperación, sesgo y precisión) que servirán como fuente de información para los laboratorios de ensayo que deseen validar este método o para algún otro método gravimétrico análogo a este.

10.1 Materiales y método

Este método consiste en medir cuantitativamente los sólidos y la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación de la muestra filtrada, a temperaturas específicas (103 °C - 105 °C), en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.

Equipos y materiales:El material volumétrico a emplear debe ser clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado. Como material volumétrico se considera la pipeta volumétrica, empleada para la toma de alícuota de la muestra.

El equipo a utilizar debe encontrarse calibrado por un laboratorio de calibración acreditado y en condiciones favorables para su uso respectivo. La balanza analítica debe tener una precisión de 0,0001 g.

Preparación de soluciones:Las soluciones se deben preparar a través del uso de productos químicos grado reactivo o superior (a menos que se requiera otro grado). Los pesos de los reactivos deben ser lo más aproximado y preciso posible. El agua a utilizar debe ser destilada o un agua equivalente preferentemente esterilizada. El agua destilada a 25°C debe cumplir con las características de: 0,2 de resistividad (megohm-cm) como mínimo, 5,0 de conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) como máximo y un pH de 5,0 a 8,0.

Método de análisis:Utilizar una solución estándar con 50 mg de almidón, 50 mg de CaCO_3 y 100 mg de NaCl diluidos en un matraz aforado de 1 L, el cual tendrá una concentración aproximada de 200 mg/L para sólidos totales. Para la concentración de los SST solo se tomará en cuenta la suma de los reactivos de almidón y CaCO_3 , la cual debe ser de 100 mg/L.

Medir con pipeta volumétrica 20 mL de muestra previamente homogeneizada. Filtrar la muestra a través del crisol Gooch (puesto previamente a peso constante) aplicando vacío, lavar el disco tres veces con 10 mL de agua destilada, dejando que el agua drene totalmente en cada lavado. Suspender el vacío y secar el crisol en la estufa a una temperatura de 103°C a 105°C durante 1 h aproximadamente.

Sacar el crisol, dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente y determinar su peso hasta alcanzar peso constante. Registrar su peso.

Metodología de validación del método analítico:Límite de cuantificación: Realizar el análisis de 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno y de 5 soluciones control a diferentes concentraciones midiendo 10 réplicas a cada nivel. Las concentraciones pueden ser 17, 25, 30, 35 y 40 mg/L.

Elaborar la curva de calibración concentración teórica (abscisa) vs media de la concentración real (ordenada) y obtener la ecuación de regresión (Eurachem, 2005).

Linealidad: Preparar disoluciones patrón en 5 niveles de concentración más el blanco y 3 réplicas a cada nivel de concentración. Las concentraciones pueden ser 25, 50, 100, 200 y 400 mg/L. Graficar la media de las concentraciones obtenidas (ordenada) y con respecto a las concentraciones teóricas (abscisa, Eurachem, 2005).

Intervalo de trabajo: El extremo inferior del intervalo de trabajo, se limita por los valores del límite de cuantificación. En el extremo superior, por el valor hasta donde llega la respuesta lineal de la ecuación de regresión lineal (Eurachem, 2005).

Recuperación: Tomar la concentración del punto medio de la curva de calibración o la concentración de referencia de éste método (100 mg/L). Preparar 10 soluciones estándar a dicha concentración más el blanco reactivo, calcular la media de las concentraciones obtenidas y determinar la recuperación (Barlandas *et al.*, 2008).

Sesgo: Tomar la concentración del punto medio de la curva de calibración o la concentración de referencia de éste método (100 mg/L). Preparar 10 soluciones estándar a esa concentración más el blanco reactivo, calcular la media de las concentraciones obtenidas y con ese valor determinar el sesgo (Barlandas *et al.*, 2008).

Precisión (Repetibilidad): Preparar blancos de muestra fortificados al nivel medio del intervalo de trabajo y realizar 10 réplicas individuales a dicho nivel de concentración. Evaluar este parámetro bajo condiciones de repetibilidad, tales como: mismo analista, mismo material de laboratorio, mismos reactivos, mismo laboratorio y en periodos de tiempo pequeños y continuos (Eurachem, 2005).

10.2 Resultados y discusión

La propuesta de validación para la determinación de los sólidos suspendidos totales en una muestra de agua, se realizó a través de ejemplos prácticos que permitirán facilitar el desarrollo y obtención de cada uno de los parámetros de validación. Así mismo, permitirá que los laboratorios de ensayo realicen fácilmente el análisis estadístico y la interpretación de sus resultados, con base en el cumplimiento de los criterios de aceptación válidos para cada parámetro.

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa Microsoft EXCEL 2010 para calcular la media (X), desviación estándar (S), varianza (S^2), coeficiente de variación (CV) y coeficiente de determinación (R^2). Así mismo, se utilizó para realizar gráficas y ver el comportamiento de los ejemplos demostrados. El cuadro 1, muestra los valores obtenidos de los respectivos ejemplos dados, de acuerdo al procedimiento estadístico realizado y a los criterios de aceptación aplicables a los parámetros de validación.

Tabla 10 Resultados de los parámetros de validación conforme al procedimiento estadístico y los criterios de aceptación aplicables a la medición de SST en una muestra de agua

Parámetro	Procedimiento estadístico	Resultados	Criterio de aceptación
Límite de cuantificación	Coefficiente de variación	Concentraciones: 17, 25, 30, 35 y 40 mg/L CV = 2,92%; 1,11%; 0,87%; 0,83 y 0,91%	CV: ≤ 10 %
Linealidad	Coefficiente de determinación	$R^2 = 0,9999$	$R^2 \geq 0,98$
Intervalo de trabajo		17,5 mg/L – 400 mg/L	
Recuperación y sesgo	Coefficiente de variación	CV = 2,9934 %	CV: ≤ 3 %
Precisión: Repetibilidad	Coefficiente de variación	CV = 2,6396 %	CV: ≤ 3 %

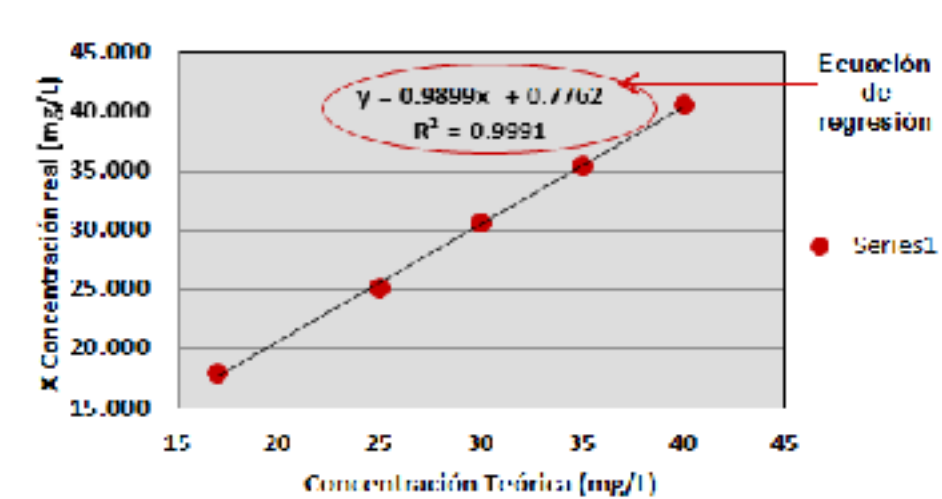
Límite de cuantificación:

Las 5 soluciones control propuestas se plantearon para elaborar la curva de calibración de concentración teórica vs concentración real y obtener la ecuación de regresión, la cual se utilizó en la expresión: $L_Q = (X_{LQ} - b)/m$. Donde L_Q es el límite de cuantificación, X_{LQ} es el valor obtenido de las X de las mediciones del blanco más la S del blanco por su respectivo factor numérico de $k=2$, b es el intercepto con el eje y m la pendiente de la ecuación de la regresión. El cuadro 2 muestra un ejemplo de los datos y de los cálculos realizados con ellos:

Tabla 10.1 Réplicas y cálculos de X, S y %DER a 5 niveles de concentración para curva de calibración de la DBO5: concentración teórica vs concentración real

Concentración mg/L	Réplicas: mg/L										X	S	CV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
17,0	17,58	18,20	17,45	17,45	18,42	19,00	17,61	17,45	17,58	17,86	17,860	0,522	2,92%
25,0	25,25	24,40	25,17	25,09	25,32	24,94	25,17	25,38	25,25	25,09	25,106	0,278	1,11%
30,0	30,70	30,06	30,81	30,45	30,30	30,57	30,30	30,96	30,57	30,62	30,534	0,266	0,87%
35,0	35,45	35,22	35,89	35,15	35,05	35,53	35,79	35,45	35,22	35,05	35,380	0,295	0,83%
40,0	40,17	40,91	40,55	40,17	40,55	39,90	40,80	40,91	40,30	40,91	40,517	0,367	0,91%

Los resultados obtenidos de las concentraciones dadas, muestran una buena repetibilidad, ya que el CV es menor al ≤ 10 % (Cuadro 1, Boqué *et al.*, 2002). Por lo tanto, se procedió a graficar la concentración teórica vs las concentraciones reales de cada uno de los ensayos (Figura 1), para generar la ecuación de la regresión lineal $y = mx + b$

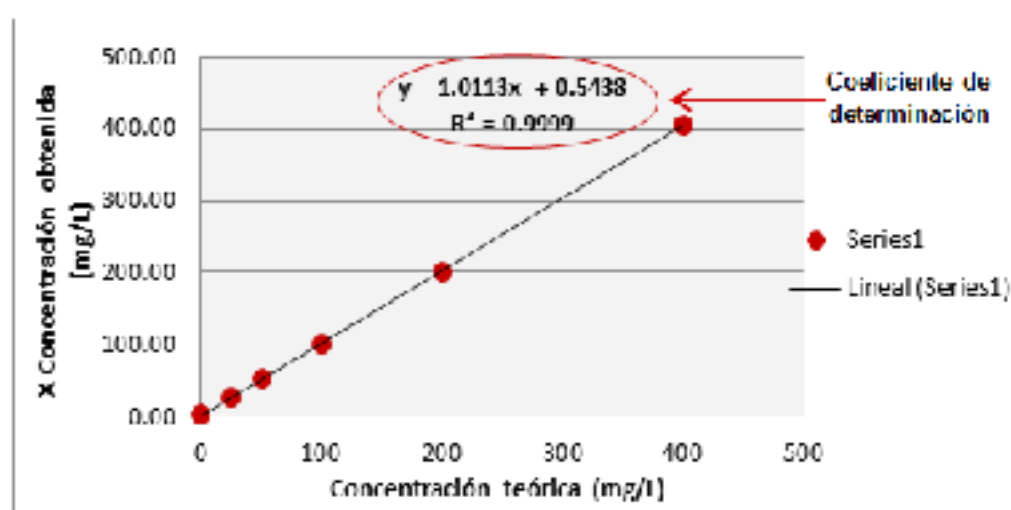
Grafico 10 Curva de calibración para determinar el límite de cuantificación de los SST

Seguidamente se propuso 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno obtuvo una $X=1,965$ y $S = 1,610$. Por lo tanto, el X_{LQ} es de $18,065$ mg/L y utilizando la expresión del L_Q y los valores de la ecuación de regresión lineal el límite de cuantificación para SST es de $17,5$ mg/L. Linealidad e intervalo de trabajo: Para los SST no se requiere realizar la linealidad (Aguilar *et al.*, 2008), pero ya que el intervalo de trabajo se evalúa hasta el valor lineal que demuestra la curva de calibración, se necesitó establecerla (Suárez *et al.*, 2009), utilizando como referencia el R^2 para determinar si es aceptable. El cuadro 3 muestra un ejemplo de mediciones resultantes, con las cuales se elaboró la curva de calibración.

Tabla 10.2 Mediciones para curva de calibración de SST y gráfico de residuales

Nivel	Concentración mg/L	Replicas: mg/L			X
		1	2	3	
Blanco	0	1,20	1,90	2,50	1,87
1	25	22,00	27,00	26,00	25,00
2	50	47,00	53,00	56,00	52,00
3	100	101,00	98,00	103,00	100,67
4	200	202,00	199,00	204,00	201,67
5	400	395,00	405,00	417,50	405,83

El gráfico 10.1, demuestra si el comportamiento de la curva de calibración elaborada con los datos de la tabla 10.2 es lineal o no lineal, así como el valor del R^2 .

Grafico 10.1 Curva de calibración para evaluar la linealidad de SST

La curva de calibración de los SST en el rango de concentraciones estudiadas responde a la ecuación $y = 1,0113x + 0,5438$ y un $R^2 = 0,9999$ y $> R^2 = 0,98$ (cuadro 1, Aguilera *et al.*, 2003 y Soto *et al.*, 2002) se considera lineal y aceptable para éste método. La linealidad determina la región de la curva respuesta o de cuantificación en que hay relación directa entre la señal instrumental y la concentración del producto analizado, siendo un método lineal (ICH, 1995, citado en Gomara *et al.*, 2004). Por lo tanto, el intervalo de trabajo para SST es de 17,5 mg/L – 400 mg/L. Recuperación: Los valores referentes a la recuperación de las mediciones a un solo nivel de concentración se encuentran en el cuadro 4, así como la X, S y CV calculados. El porcentaje de SST recuperado muestra que el método presenta exactitud, o sea, que los valores obtenidos están cercanos del valor verdadero y cumplen con el criterio de aceptación (Gomara *et al.*, 2004).

Tabla 10.3 Mediciones del blanco y soluciones estándar para el % Recuperación de los SST

Concentración Teórica: 100 mg/L	
Replicas	Concentración mg/L
Blanco	1,2000
1	95,0000
2	90,0000
3	90,0000
4	95,0000
5	95,0000
6	95,0000
7	98,0000
8	90,0000
9	95,0000
10	92,0000
X	93,5000
S	2,7988
CV	2,9934

La expresión $[R = (\text{valor obtenido}/\text{valor de referencia}) \cdot 100]$ donde R es la recuperación en porcentaje, *valor obtenido* es el valor promedio obtenido del análisis y el *valor de referencia* es el valor de la concentración conocida; dio un porcentaje de recuperación del 93,500 % lo que indica que la recuperación es menor que el mensurando, pero es aceptado ya que muestra la exactitud necesaria para su determinación de acuerdo al criterio de aceptación del $CV \leq 3 \%$ (cuadro 1). Así mismo, una buena recuperación del método está entre $100 \pm 20 \%$ (ICH, 1995), siempre y cuando no exista un intervalo de recuperación dado para el método analítico.

Sesgo: Utilizando los valores de la X del cuadro 4, se aplicó la fórmula $[\text{sesgo} = (\text{valor de referencia} - \text{valor obtenido}) / \text{valor de referencia}] \cdot 100$ donde el sesgo obtenido se expresa en porcentaje y las variables mencionadas son análogas a las empleadas en la recuperación.

Al interpretar los resultados se observa que el sesgo es igual a 6,5 %, lo que indica que el error es relativamente pequeño y la veracidad del método es aceptable, ya que de acuerdo a Barlandas *et al.*, (2008) entre menor sea el sesgo mayor será la veracidad del método. Considerando el criterio de aceptación de ICH (1995), el sesgo no debe ser mayor al $\pm 20\%$.

Repetibilidad: Para dar un ejemplo de cómo llevar a cabo la repetibilidad, el cuadro 5 muestra las concentraciones a utilizar para un nivel de concentración de referencia de 100 mg/L; así como la X , S y CV obtenidas estadísticamente a partir de dichos datos.

Tabla 10.4 Mediciones de blanco y soluciones estándar para repetibilidad de SST

Concentración Teórica: 100 mg/L	
Replicas	Concentración (mg/L)
Blanco	1,909
1	95,0000
2	90,0000
3	90,0000
4	95,0000
5	90,0000
6	95,0000
7	90,0000
8	90,0000
9	90,0000
10	90,0000
X	91,5000
S	2,4152
CV	2,6396

Estos resultados muestran que el CV calculado es igual al 2,6396 % y está por debajo del criterio de aceptación de $< 3 \%$ (cuadro 1, Soto *et al.* 2002). Los resultados obtenidos demuestran que el método es preciso ya que cumple con las especificaciones requeridas y puede ser aplicado con seguridad; en caso contrario, se deben evaluar las posibles interferencias del método, controlarlas y repetir nuevamente hasta alcanzar la adecuada repetibilidad.

10.3 Conclusiones

La validación de los sólidos suspendidos totales es imprescindible en los laboratorios de ensayo de aguas residuales que determinan los contaminantes de la norma NOM-001-SEMARNAT-1996, ya que a través de esta pueden garantizar la calidad, confianza y seguridad de sus resultados analíticos, cumplir con la satisfacción y necesidades de sus clientes, contribuir a la mejora y preservación de los cuerpos de agua, estar a la vanguardia del avance científico y tecnológico, y principalmente, controlar los factores que afectan sus métodos analíticos y resultados.

Con la finalidad de establecer una guía para la determinación de los SST, se propuso una metodología que cumpliera con los parámetros aplicables en la validación de este método de ensayo, siendo el límite de cuantificación, el intervalo lineal y de trabajo, la recuperación, el sesgo y la precisión (medida a través de la repetibilidad) los adecuados para este propósito, así como los criterios de aceptación válidos para cada uno de estos parámetros.

Por último, la metodología propuesta puede ser útil a los laboratorios que quieran validar los SST, ya que al definir y obtener sus resultados estadísticos pueden verificar y concluir si su proceso y técnica desarrollada ha sido apta para la medición, en caso contrario, las medidas a evaluar, repetir y/o modificar, que permitan cumplir con los criterios de aceptación de este método.

10.4 Referencias

Aguilar M.R. et al. 2008. Guía técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean la Técnica de Gravimetría de Masa. CENAM/ema. México.

Aguilera I.; Rodríguez S.; Pérez R.M.; Buzón J. y Camacho M. 2003. Validación de la determinación de la DQO en la unidad analítica del CEBI. Revista Cubana de Química. Vol. XV, No. 2. Centro de estudios de biotecnología industrial, Facultad de ciencias naturales, Universidad de Oriente. Cuba. 18-25.

Barlandas R.N. et al. 2008. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. CENAM/ema. México.

Boqué R.; Maroto A.; Riu J. y Rius F.X. 2002. Validation of Analytical Methods. Grasas y Aceites, International Journal of Fats and Oils. Vol. 53. Fasc. 1. Instituto de la Grasa (SCIC). 128-143.

Eurachem. 2005. Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. Guía de Laboratorio para la validación de Métodos y Temas Relacionados. Centro nacional de metrología. Publicación técnica cnm-mrd-pt-030. 2da. Edición. 67 pp.

Gomara F.L.; Correr C.J.; Sato M.E.O. y Pontarolo R. 2004. Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido fólico. *Ars Pharmaceutica*. Vol. 45. No. 2. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. España. 145-153.

ICH.2005. Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.

Lazos Martínez R.J. y Hernández Gutiérrez I. 2004. La validación de métodos: Un enfoque práctico. Simposio de metrología. 5 pp.

Mayarí N.R.; Espinosa L.M del C. y Gutiérrez M.R.J. 2005. Validación de la determinación de oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno en aguas y aguas residuales. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. Vol. 36, No. especial. La Habana, Cuba.

NMX-AA-034-SCFI-2001. Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba.

NMX-EC-17025-IMNC-2006. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.

NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

Soto C.; Cuello M.; Alfonso Y.; Cabrera O. y Sierra G. 2002. Validación de una técnica colorimétrica para la determinación de carbohidratos. Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros. Año 11 No. 3. La Habana Cuba. 11-14.

Suárez R; Arévalo E.; Linares L.; Ustáriz F. y Hernández G. 2009. Validación de un método analítico para la determinación de magnesio eritrocitario. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal REDALYC*. *Avances en Química*. Vol. 4, No. 2. 53-62.