

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO 3111B-SM PARA LA  
DETERMINACIÓN DE COBALTO EN AGUA NATURAL, RESIDUAL Y  
POTABLE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

LUIS JHONATAN PARDO SANABRIA

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE QUÍMICA

MONTERÍA – COLOMBIA

2020

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO 3111B-SM PARA LA  
DETERMINACIÓN DE COBALTO EN AGUA NATURAL, RESIDUAL Y  
POTABLE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

LUIS JHONATAN PARDO SANABRIA

DIRECTOR

BASILIO DIAZ PONGUTÁ

M.Sc. Ciencias Ambientales

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE QUÍMICA

MONTERÍA – COLOMBIA

2020

## NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado “**VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO 3111B-SM PARA LA DETERMINACIÓN DE COBALTO EN AGUA NATURAL, RESIDUAL Y POTABLE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**” realizado por LUIS JHONATAN PARDO SANABRIA, cumple con los requisitos exigidos por la facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías para optar por el título de Químico y ha sido aprobado

---

MSc. BASILIO DIAZ PONGUTÁ  
DIRECTOR

---

MSc. IVÁN URANGO  
JURADO

---

CAROLINA JIMENEZ  
JURADO

## DEDICATORIA

*A dios y mi familia, especialmente a mis padres por haberme apoyado en todo. En la vida hay momentos duros, pero siempre te los recompensa con ratos de felicidad infinita...*

*Jhonatan pardo*

## AGRADECIMIENTOS

*Me gustaría agradecer en estas líneas la ayuda que muchas personas y colegas me han prestado durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo. En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres Luis miguel Pardo Carvajal y Everlides Sanabria Carmona, que me han ayudado y apoyado en todo mi proyecto de vida, a mi tutor, Basilio Díaz Pongutá, por haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos.*

*Así mismo, deseo expresar mi reconocimiento al Laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba por todas las atenciones e información brindada a lo largo de este trabajo.*

*A todos mis amigos, vecinos y futuros colegas que me ayudaron de una manera desinteresada, gracias infinitas por toda su ayuda y buena voluntad.*

*A la Universidad de Córdoba por ser la sede de todo el conocimiento adquirido en estos años.*

## 1) CONTENIDO

1) RESUMEN.....	9
2) INTRODUCCION .....	10
2.1) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	11
2.2) JUSTIFICACIÓN.....	12
3) HIPOTESIS .....	13
4) OBJETIVOS.....	13
4.1) Objetivo general.....	13
4.2) Objetivos específicos.....	13
5) MARCO TEÓRICO .....	14
5.1) Agua en la naturaleza.....	14
5.2) Generalidades del Cobalto.....	14
5.3) Métodos espectrométricos.....	15
5.3.1) Absorción atómica.....	15
5.4) Importancia de la validación .....	17
5.5) Validación de un método analítico .....	17
5.6) Linealidad y rango lineal .....	18
5.7) Límite de detección.....	20
Límite detención del instrumento (LDI):.....	20
5.8) Límite de cuantificación .....	21
5.9) Precisión.....	21
Repetibilidad: .....	21
Reproducibilidad:.....	22
5.10) Exactitud.....	22
5.11) Incertidumbre .....	23
6) METODOLOGÍA .....	25
6.1) Reactivos .....	25

<b>6.2) Materiales .....</b>	<b>25</b>
<b>6.3) Equipos .....</b>	<b>25</b>
<b>6.4) Preparación de reactivos .....</b>	<b>26</b>
6.4.1) Soluciones de trabajo y calibración: .....	26
6.4.2) Condiciones de trabajo .....	26
<b>6.5) Análisis de muestras .....</b>	<b>27</b>
<b>6.6) Plan de validación .....</b>	<b>28</b>
<b>7) RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>30</b>
<b>7.1) Parámetros de validación analíticos .....</b>	<b>30</b>
7.1.1) Intervalo lineal e intervalo de trabajo .....	30
7.1.2) Intervalo lineal: .....	30
7.1.3) Intervalo de trabajo: .....	31
<b>7.2) Límite de detección .....</b>	<b>32</b>
<b>7.3) Límite de cuantificación .....</b>	<b>33</b>
<b>7.4) Exactitud .....</b>	<b>34</b>
<b>7.5) PRECISIÓN .....</b>	<b>36</b>
7.5.1) Repetibilidad: .....	36
7.5.2) Reproducibilidad: .....	37
<b>7.6) INCERTIDUMBRE .....</b>	<b>38</b>
7.6.1) Identificación de las fuentes de incertidumbre .....	38
7.6.2) Incertidumbre combinada total para el nivel bajo de cobalto. ....	39
7.6.3) Incertidumbre combinada total para el nivel medio de cobalto. ....	40
7.6.4) Incertidumbre combinada total para el nivel alto de cobalto. ....	41
<b>8) CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>9) RECOMENDACIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>10) BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>44</b>
<b>11) ANEXOS .....</b>	<b>46</b>
<b>11.1) Anexos A .....</b>	<b>46</b>
<b>11.2) Anexos B .....</b>	<b>48</b>

**11.3) Anexos C .....51**



## 1) RESUMEN

En el presente trabajo se validó un método analítico para la determinación de cobalto en agua potable, natural y residual, el cual fue implementado, usando un espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Electron modelo S4, según el método 3111–B: Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017, con el fin de ampliar el alcance de la acreditación del Laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba Para ello se evaluaron los parámetros de validación necesarios como lo son: Límites de detección y de cuantificación del método, linealidad, rango lineal, precisión (como repetibilidad y reproducibilidad), exactitud (como porcentaje de error y de recuperación) e incertidumbre.

Los parámetros de validación arrojaron resultados que se encuentran dentro de los límites establecidos para una validación, los cuales fueron: Los límites de detección del método y de cuantificación del método son 0.0218 mg Co/L y 0.05 mg Co/L respectivamente. El rango de trabajo se evaluó desde 0.05 hasta 3,000 mg Co/L, se avaluó el coeficiente de determinación  $R^2$ , el cual fue de 0.9993. La precisión de la medición del método se reportó como repetibilidad la cual arrojó valores de %CV de 2.12% para estándar bajo, 1.61% para estándar medio y 2.58% para estándar alto y reproducibilidad obteniendo valores de %CV de 2.41 % para el nivel bajo, 1.95 % para el nivel medio y 2.49% para el nivel alto.

La exactitud de medición del método se reportó cómo % de error el cual fue 2.1% para el rango bajo, 1.5% para el rango medio y 2.0% para el rango alto y % de recuperación obteniendo valores de para agua residual de 90.0 % para el nivel bajo, 88.7 % para el nivel medio y 90.2 % para el nivel alto. Por último, se obtuvo una incertidumbre de  $\pm 0.10$  para el nivel bajo,  $\pm 0.09$  para el nivel medio y  $\pm 0.11$  para el nivel alto.

El laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba actualmente se encuentra acreditado por el IDEAM, a su vez está implementando la norma NTC/ISO/IEC 17025:2017 la cual acredita la competencia de los laboratorios de ensayo y/o calibración. La validación realizada en el presente trabajo es soporte técnico para el proceso de acreditación del método.

## 2) INTRODUCCION

La contaminación por metales pesados es una gran preocupación en la actualidad debido a sus efectos tóxicos sobre los seres vivos. La industria, la urbanización y el pesado tráfico conducen a la contaminación del agua con metales pesados (Silva, 2015). Estos se caracterizan por tener efectos bioacumulativos y en concentraciones superiores a las recomendadas han sido responsables de causar daños en el sistema nervioso central, algunos también presentan efectos carcinogénicos. La gravedad de tales daños depende del grado y tiempo de exposición a dichos elementos (Segura et al., 2014).

El presente trabajo pretende realizar la validación del método analítico para la determinación de cobalto en agua potable, natural y residual; por el método 3111 –B: Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition.

Los análisis requeridos para cada parámetro del método se realizaron en el laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba, siguiendo las recomendaciones del estándar método para el análisis de cobalto.

## **2.1) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Existen las condiciones en el laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba, necesarias para el montaje, validación e implementación del método analítico útil para determinación de cobalto según el Estándar Métodos y Norma ISO 17025:2017??

El laboratorio de aguas de la universidad de Córdoba está acreditado; ante el IDEAM. En pro de ampliar el alcance de la acreditación, este busca poseer un sistema de calidad cuyo fin primordial sea generar resultados reproducibles y confiables. La forma de obtener estas características es la validación de los métodos analíticos utilizados en el laboratorio, proceso que establece por medio de estudios en el laboratorio que las características de funcionamiento como son la exactitud y confianza del método, y de comportamiento de un procedimiento, cumplen con los requisitos, siendo adecuadas para la aplicación analítica. De esta manera se validará el método 3111 –B: Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017. para la determinación de cobalto en aguas naturales, residuales y potables.

## 2.2) JUSTIFICACIÓN

La importancia de validar la metodología de absorción atómica es demostrar que las pruebas para la detección del metal cobalto sean confiables y así confirmar que el ensayo a consideración tiene las capacidades de desempeño consistentes con lo que la aplicación requiere, lo que lleva a determinar la calidad del agua mediante la detección del metal antes mencionado. El proceso de validación de metales utiliza el equipo de espectroscopia de absorción atómica; es importante evaluar las condiciones del equipo para así garantizar confiabilidad en los resultados. Se hará una serie de análisis estadísticos para evaluar este método con la mejor metodología analítica para su extracción.

El cobalto se encuentra en pequeñas cantidades en forma natural en la mayoría de las rocas, en el suelo, el agua, en plantas y en animales. El cobalto metálico generalmente se mezcla con otros metales para formar aleaciones; las aleaciones son más duras o más resistentes al desgaste y la corrosión. Estas aleaciones tienen una variedad de usos en aplicaciones militares e industriales como por ejemplo en motores de aviones, imanes y en herramientas cortantes y para triturar. También se usan en caderas y rodillas artificiales. Debido a la utilización de este metal en diferentes compartimientos ambientales puede llegar acumularse lo que generaría contaminación o daños en la salud, como por ejemplo la ingesta de alimentos y aguas contaminadas produce policitemia en los humanos; personas expuestas a 0.5 mg de cobalto/kg/años, les produce bocio tiroideo; exposiciones de 0.04 a 0.14 mg de cobalto/ kg produce cardiomiopatía, entre otras.

Por todo lo antes mencionado para tomar las medidas necesarias para mitigar la presencia de este metal se requiere conocer su concentración la cual, se logra entre otros con el método 3111 –B: Absorción atómica. Es por ello que se debe garantizar un adecuado análisis de este metal y eso se logra realizando la validación del método a implementar cumpliendo cada uno de los parámetros requeridos como lo son: Límites de detección y cuantificación, linealidad y rango, precisión, exactitud e incertidumbre; sumado a esto se debe realizar el análisis estadístico que ratifique y demuestre que el método cumple con las exigencias pertinentes para la aplicación de este y además que sirva de evidencia para las auditorias o requerimientos que se le haga al sistema de gestión de calidad del laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba.

### **3) HIPOTESIS**

En el laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba, existen las condiciones necesarias para el montaje, validación e implementación del método analítico útil para determinar de cobalto según el Estándar Métodos y Norma ISO 17025:2017.

### **4) OBJETIVOS**

#### **4.1) Objetivo general**

- ❖ Validar e implementar la metodología 3111 –B: Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017 para la determinación de cobalto en aguas naturales, residuales y potables por espectroscopia de absorción atómica.

#### **4.2) Objetivos específicos**

- ❖ Presentar el plan de validación resumido y adaptado a los procedimientos del laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba bajo la norma NTC: ISO/IEC 17025: 2017.
- ❖ Determinar los parámetros estadísticos: linealidad e intervalo lineal, límite de detección, límite de cuantificación, precisión de medición, exactitud de medición, e incertidumbre.
- ❖ Implementar la validación del método analítico para la determinación de cobalto en agua potable, natural y residual.

## **5) MARCO TEÓRICO**

### **5.1) Agua en la naturaleza**

El agua en la naturaleza no permanece estática, presenta un constante dinamismo en el cual se definen diferentes etapas o fases; estas, por su manera de enlazarse generan un verdadero ciclo, ya que su inicio ocurre donde posteriormente concluye. (Maderey, 2015). El ciclo del agua es el proceso mediante el cual se realiza el abastecimiento de agua para los animales, las plantas y el hombre. Su fundamento es que toda gota de agua recorre un circuito cerrado, por ejemplo, desde el momento en que es lluvia hasta volver a ser lluvia. (Maderey, 2015).

La contaminación del agua causada por actividades humanas se comienza a producir desde los primeros intentos de industrialización, para transformarse luego en un problema tan habitual como generalizado. Durante la revolución industrial los procesos de producción requerían de la utilización de una gran cantidad de agua para la transformación de las materias primas. A su vez, los efluentes de dichos procesos productivos eran vertidos en los cauces naturales de agua sin ningún tipo de depuración, con sus desechos contaminantes correspondientes. Aquí comenzó a extenderse el grave problema de la contaminación del agua. (Pascual, 2012). Entre los contaminantes que pueden encontrarse están elementos químicos como metales y no metales (Cobalto, Hierro, Cobre, Plomo, Arsénico, Mercurio entre otros), restos de detergentes e insecticidas, hormonas sexuales y demás.

### **5.2) Generalidades del Cobalto**

El cobalto es un elemento que ocurre naturalmente y que tiene propiedades similares al hierro y al níquel. El número atómico del cobalto es 27. Hay solamente 1 isótopo estable del cobalto, que tiene un peso atómico de 59.

Pequeñas cantidades de cobalto se encuentran en forma natural en la mayoría de las rocas, en el suelo, el agua, en plantas y en animales. También se encuentra cobalto en meteoritos. El cobalto elemental es un metal duro, gris-plateado. En el ambiente, el cobalto se encuentra combinado con otros elementos tales como oxígeno, azufre y arsénico. Pequeñas cantidades de estos compuestos químicos se pueden encontrar en rocas, el suelo, en plantas y en animales. Pequeñas cantidades de cobalto también se encuentran disueltas en forma de iones en el agua.

El cobalto no puede ser destruido en el ambiente. Solamente puede cambiar de forma o adherirse o separarse de partículas. El cobalto liberado desde plantas de energía nuclear y por otros procesos de combustión generalmente está adherido a partículas muy pequeñas. El cobalto que se encuentra en el aire generalmente se encuentra adherido a partículas de suelo de mayor tamaño que las partículas liberadas por plantas de energía. Estas partículas más grandes se depositan en el suelo debido a la gravedad o son arrastradas al suelo por la lluvia. El cobalto adherido a partículas muy pequeñas puede permanecer en el aire durante muchos días. El cobalto liberado al agua puede adherirse a partículas en el agua o al sedimento del fondo de la masa de agua en la que se liberó o puede permanecer en el agua en forma iónica

### **5.3) Métodos espectrométricos**

Los métodos espectrométricos son un amplio grupo de métodos analíticos que se basan en las espectroscopias atómica y molecular. La espectroscopia es un término general para la ciencia que trata de las distintas interacciones de la radiación con la materia. Históricamente las interacciones de interés se producían entre la radiación electromagnética y la materia, sin embargo, ahora el término espectroscopia se ha ampliado para incluir las interacciones entre la materia y otras formas de energía. Ejemplos de ellos son las ondas acústicas y los haces de partículas como iones o electrones. La espectrometría y los métodos espectrométricos hacen referencia a la medida de la intensidad de la radiación mediante un detector fotoeléctrico o con otro tipo de dispositivo electrónico.

#### **5.3.1) Absorción atómica**

Al suministrar una determinada cantidad de energía a un átomo cualquiera en estado fundamental ( $E_0$ ), ésta es absorbida por el átomo de tal forma que se incrementará el radio de giro de sus electrones de la capa externa llevando al átomo a un nuevo estado energético ( $E_1$ ) que llamamos excitado.

Cuando éste vuelve a su estado fundamental, cede una cantidad de energía cuantitativamente idéntica a su energía de excitación, emitiendo radiaciones a longitudes de onda determinadas.

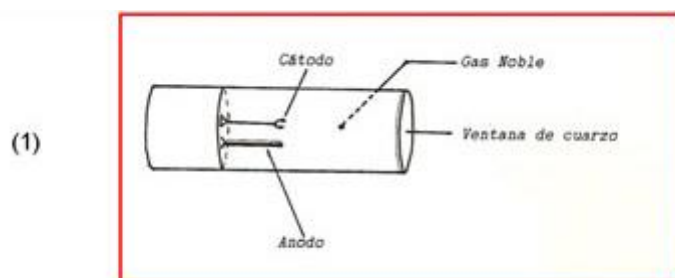
Cuando los átomos en estado fundamental se encuentran con las mismas radiaciones que ellos mismos son capaces de emitir, se produce una absorción de las mismas, desplazándose el equilibrio hacia la izquierda y pasando los átomos del estado fundamental al excitado. El fenómeno de absorción de

radiaciones a determinadas longitudes de onda en el caso particular en que el medio absorbente sean los átomos en estado fundamental, se conoce como Espectroscopia de Absorción Atómica.

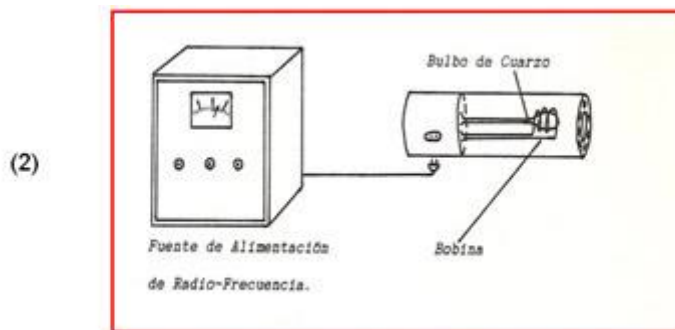
En EAA se emplean lámparas específicas dependiendo del elemento que se va a determinar. Estas son capaces de emitir una línea atómica característica. Existen dos tipos fundamentales: lámparas de cátodo hueco (LCH) y lámparas de descarga sin electrodos (EDL) (ver figura uno).

En las LCH, el ánodo y el cátodo se encuentran en un cilindro de vidrio sellado y lleno de neón o argón. El extremo del cilindro está compuesto de una ventana de cuarzo, transparente a la radiación emitida. Cuando se aplica una diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo (constituido por el elemento que queremos determinar), algunos de los átomos del gas de relleno se ionizan. Los iones cargados positivamente se aceleran a través del campo eléctrico y colisionan con el cátodo cargado negativamente, desalojando átomos metálicos individuales del mismo. Los átomos de metal desalojados son entonces excitados para la emisión por los impactos subsiguientes que tienen con más iones del gas de relleno.

En las EDL, una pequeña cantidad del elemento o sal del mismo, se encuentra sellada en el interior de un bulbo de cuarzo colocado dentro de un cilindro cerámico sobre el que se enrolla la antena de un generador de radio-frecuencia. Cuando se aplica un campo de radio-frecuencia, la energía asociada a él hará que se vaporicen y exciten los átomos en el interior del bulbo, emitiendo su espectro característico.







Fuente: [www.ugr.es/~fgil/proyecto/llama/fundamento.html](http://www.ugr.es/~fgil/proyecto/llama/fundamento.html)

**Figura 1. Lámparas en EAA. Lámpara de cátodo hueco (1) y de descarga sin electrodos (2)**

#### **5.4) Importancia de la validación**

Hoy en día los laboratorios deben demostrar que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables y adecuados para su finalidad y propósito perseguido ya que muchas de las decisiones que se toman están basados en la información que estos datos proporcionan. La validación de las metodologías, junto a otras actividades englobadas en el control del aseguramiento de la calidad, permite demostrar a los laboratorios que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables (Sandoval, 2010).

Según la norma ISO/IEC 17025:2017, los laboratorios deben validar todos los métodos que se utilicen en el laboratorio, tanto los desarrollados por ellos mismos como aquellos procedentes de fuentes bibliográficas o desarrollados por otros laboratorios. Además, también es necesario que el laboratorio valide los métodos de referencia, aunque, en este caso, no es necesario que el laboratorio realice una validación completa. Asimismo, el laboratorio debe validar todo el procedimiento analítico teniendo en cuenta el intervalo de concentraciones y de matrices de las muestras de rutina. Los criterios de calidad que al menos deben verificarse son la exactitud, la precisión y la incertidumbre de los resultados obtenidos con el método ya que, de esta forma, se obtienen resultados rastreables y comparables (ICONTEC, 2015).

#### **5.5) Validación de un método analítico**

En química analítica es de gran importancia reportar resultados confiables, para lo cual es necesario establecer el procedimiento de validación para los métodos aplicados en el laboratorio. Dicho proceso de validación consiste en establecer mediante estudios de laboratorios las características de ejecución del método las cuales deben cumplir los requerimientos para las aplicaciones

analíticas en el que se va a ser ensayado, confirma y documenta estadísticamente que los resultados obtenidos poseen alto grado de confiabilidad, que puede ser aplicado a un amplio número de muestras y matrices y que es práctico con relación al costo y tiempo requerido en el análisis. Entre los parámetros generalmente empleados en la validación de un método analítico se consideran linealidad, precisión, exactitud, límite de detección, y límite de cuantificación (Thompson et al., 2015).

Para la validación de un método analítico, sabiendo que se trata de un método normalizado se determinan por lo general los siguientes criterios de calidad.

- ❖ Intervalo de Trabajo
- ❖ Límite de detección
- ❖ Límite de cuantificación
- ❖ Precisión
- ❖ Exactitud
- ❖ Incertidumbre de la medición.

### **5.6) Linealidad y rango lineal**

**La Linealidad:** es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcional a la concentración de analito en la muestra dentro de un rango establecido (Aguirre, 2014).

**Rango lineal:** No existe una definición universal para el establecimiento correcto del rango lineal ni mucho menos un procedimiento sistemático bien establecido para su determinación. Sin embargo, se puede definir como el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito para el cual se ha demostrado la correcta precisión, exactitud y linealidad del método descrito (Báguena-Polo et al., 2015).

La validación de métodos analíticos establece que el rango lineal se define como el intervalo entre la concentración superior e inferior de analito para el cual se satisfacen que la señal sea proporcional a la concentración del analito en la muestra además de la precisión, exactitud y linealidad del método. Este parámetro es calculado mediante el conocimiento de la dispersión de una serie de resultados alrededor de un valor medio o central.

Para evaluar la linealidad existen unos criterios mínimos aplicables a cualquier procedimiento. Dentro del intervalo establecido se recomienda estudiar al

menos 4 niveles de concentración. Con los resultados del estudio de la linealidad se prepara una tabla relacionando las concentraciones  $x$  y la respuesta  $y$ . La relación entre ambas variables se expresa matemáticamente como una recta de regresión del tipo:

$$y = mx + b$$

En la recta de regresión  $x$  es la concentración,  $y$  la respuesta,  $m$  el valor de la pendiente y,  $b$  el término independiente. La pendiente  $b$  se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad, respuesta del método frente a los cambios de la concentración del analito. El término independiente  $b$ , u ordenada en el origen, es la intersección de la recta con el eje de las ordenadas y es indicativo del error sistemático, no difiriendo estadísticamente de cero en caso de no existir sesgo.

El coeficiente de correlación ( $r$ ) nos indica el grado de relación entre la variable  $x$  (concentración), y la variable  $y$  (respuesta). Su valor máximo es 1, si  $r$  es cercano a la unidad significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Un valor nulo indica ausencia de relación lineal entre variables. El valor recomendable para el coeficiente de correlación es  $\geq 0.999$ , aunque en el caso de impurezas se admite  $\geq 0.990$ , la viabilidad del método de la curva de calibrado queda establecida por el coeficiente de determinación esta asegurar que los datos experimentales se ajustan al modelo lineal escogido, normalmente se acepta  $r^2 > 0,990$  (Castro M, Gascón S, Pujol M, Sans JM, 1989).

Se realizará el test estadístico de homogeneidad de varianza de Cochram

$$G_{\text{calc.}} = \left( \frac{S_{\text{MAX}}^2}{\sum S_i^2} \right)$$

Donde:

$S_{\text{MAX}}^2$  = Varianza mayor en la curva de calibrado.

$\sum S_i^2$  = Suma de las varianzas de todos los puntos de la curva de calibrado.

### 5.7) Límite de detección

Se define como la mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado, aunque no necesariamente cuantificado con precisión y exactitud.

**Límite de detección del instrumento (LDI):** Concentración de componente que produce una señal superior a cinco veces la relación señal/ruido del instrumento. Similar en muchos aspectos al «nivel crítico» y al «criterio de selección ». Es limite se ha establecido en 1,645 veces el valor  $S$  de los análisis en blanco (Methods: S, 2015).

$$LDI = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{m}$$

Donde:

$m$  = es la pendiente de la curva de calibrado.

$S_{bl}$  = desviación estándar de las réplicas del banco.

$Y_{bl}$  = promedio de las réplicas del blanco.

El laboratorio adopta la utilización del límite de detección del método (LDM): como la concentración de componente que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco. Durante siete repeticiones de la muestra, la media debe ser 3,14( $s$ ) superior al blanco, donde  $s$  es la desviación estándar de siete lecturas de una muestra. El LDM es mayor que el LDI, ya que las repeticiones y las fases de proceso demuestras pueden variar con los componentes (Methods: S, 2015).

$$LDM = C_{EB} + t_{n-1} \times S$$

Donde

$C_{EB}$  = concentración estándar bajo (el más bajo posible)

$S$  = desviación estándar de los blancos

$t_{n-1}$  con 99% de confianza y 1 grado de libertad

### 5.8) Límite de cuantificación

Se define como la mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con una adecuada exactitud y precisión, es aquel que se considera como el primer punto de la curva realizada para cuantificación (Miller, 2016).

$$LC = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{m}$$

Donde:

$m$  = es la pendiente de la curva de calibrado.

$S_{bl}$  = desviación estándar de las réplicas del blanco.

$Y_{bl}$  = promedio de las réplicas del blanco.

### 5.9) Precisión de la medición

La precisión es la medida de cuán cerca o dispersos están los resultados uno de otros, depende exclusivamente de la dispersión del error aleatorio y varía inversamente a éste. La precisión es una propiedad cualitativa y no tiene valor numérico por lo que la variabilidad debido a fluctuaciones aleatorias se cuantifica mediante otro concepto distinto: la imprecisión del procedimiento de medida. La imprecisión es la desviación típica  $P$ , la varianza o el coeficiente de variación de un conjunto de mediciones de una magnitud bajo las condiciones especificadas (Duffau et al., 2010).

**Repetibilidad:** Grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mensurando bajo las mismas condiciones de medición; es la medida de la variabilidad de los resultados cuando el método es aplicado por un solo analista, con un mismo equipo, en corto período de tiempo.

**Reproducibilidad:** Grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mensurado efectuadas bajo condiciones de medición modificadas. Es el caso al realizar diversas réplicas en diversos días cambiando instrumento, analista e incluso el laboratorio.

La precisión de un método analítico se expresa como el coeficiente de variación (CV) de una serie de medidas y se calcula matemáticamente como la siguiente ecuación

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

Dónde:

S= desviación estándar

$\bar{X}$ =media aritmética de los resultados

Para el análisis de trazas y/o productos de degradación, la Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), propone una serie de valores límites de coeficientes de variación del método en función de la concentración del analito que se muestran en la tabla 1 (Judith et al, 2008).

Tabla 1 Límites del coeficiente de variación para análisis de trazas en función de la concentración de analito (AOAC).

% Analito	Relación	Unidades	CV (%)
10	$10^{-1}$	10%	2.8
1	$10^{-2}$	1%	2.7
0.1	$10^{-3}$	0.1%	3.7
0.01	$10^{-4}$	100 ppm	5.3
0.001	$10^{-5}$	10 ppm	7.3
0.0001	$10^{-6}$	1 ppm	11
0.00001	$10^{-7}$	100 ppb	15
0.000001	$10^{-8}$	10 ppb	21
0.0000001	$10^{-9}$	1 ppb	30

### 5.10) Exactitud de la medición

Es la proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando. El concepto “exactitud de medida” no es una magnitud y no se expresa numéricamente (VIM-3ª edición (2012)). Se dice que una medición es más

exacta cuanto más pequeño es el error de medida. Se expresa en términos de porcentaje de error (%E) y/o como porcentaje de recuperación (%R) (Miller, 2016).

Porcentaje de error

$$\%error = \frac{(\text{valor teórico} - \text{valor experimental})}{\text{valor teórico}} * 100$$

Porcentaje de recuperación

$$\%R = \frac{X_m}{\mu} * 100$$

Dónde:

$X_m$ : es valor medio hallado.

$\mu$ : Valor aceptado como verdadero.

La recuperación esperada depende de la matriz de la muestra, de la complejidad del procedimiento y tratamiento de las concentraciones de analito en la misma. Aunque es deseable alcanzar valores de recuperación cercanos al 100%, en matrices complejas y en análisis de trazas son habitualmente valores 90%, 80%, 70% y hasta de un 50%. En estos casos es importante que, aunque la recuperación sea baja, la precisión del método sea alta ya que entonces se puede aplicar un factor de corrección (Eurachem, 2012).

### **5.11) Incertidumbre**

La incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición, el cual caracteriza la dispersión de los valores, que podrían ser atribuidos razonablemente al mesurando, el parámetro puede ser por ejemplo la desviación estándar o un múltiplo de ellos. La expresión de incertidumbre está basada en los valores de reproducibilidad interna calculados a lo largo del estudio de validación. Los fenómenos que contribuyen a la incertidumbre y al hecho de que el resultado de una medición no pueda ser caracterizado con un único valor, se denominan fuentes de incertidumbre (AEFI, 2001).

En la práctica, la incertidumbre sobre los resultados puede provenir de muchas posibles fuentes. Las fuentes típicas de incertidumbre son: efectos instrumentales, estequiometría, efectos de cálculo, efectos aleatorios, pureza de reactivos, condiciones de medición, efectos de operador. El diagrama de causa efecto (Ishikawa) que se muestra en la figura 2 es una forma conveniente de hacer una lista de las causas de incertidumbre, mostrando cómo se relacionan unas con otras e indicando su influencia en la incertidumbre del resultado. Para calcular la incertidumbre que aporta cada fuente es necesario calcular los errores aleatorios y sistemáticos, los cuales se relacionan dependiendo del número de mediciones, los equipos usados o materiales de referencia. El propósito es identificar cuantas fuentes sea posible y cuantificarlas por estudios de precisión y exactitud (Schmid, 2015).



## 6) METODOLOGÍA

### 6.1) Reactivos

- ❖ Agua desionizada.
- ❖ Ácido nítrico, HNO<sub>3</sub>; al 65% grado ultrapuro. Merck, RL-19-8B-01.
- ❖ Ácido sulfúrico; al 98%.
- ❖ Solución Patrón Titrisol. Merck de 1000 mg/L Co, RI-047-02

### 6.2) Materiales

- ❖ Frascos de polietileno, para almacenamiento de muestras o estándares.
- ❖ Transferpipeta de 10 – 100 µL, clase A, de plástico, BRAND.
- ❖ Transferpipeta de 100 – 1000 µL, clase A, de plástico, BRAND.
- ❖ Transferpipeta de 0.5- 5 mL, de plástico, BRAND.
- ❖ Balones volumétricos de 25± 0.04 mL, clase A, de vidrio.
- ❖ Balones volumétricos de 50± 0.06 mL, clase A. de vidrio.
- ❖ Balones volumétricos de 1000± 0.4 mL, clase A. de vidrio.
- ❖ Pipetas graduadas de 10 mL, de vidrio.
- ❖ Pipetas graduadas de 5 mL, de vidrio.
- ❖ Pipetas volumétricas de 50 mL, de vidrio clase A.
- ❖ Beaker de 100 mL, de Vidrio, SCHOTT DURAN.
- ❖ Erlenmeyers de 250 mL, de Vidrio, SCHOTT DURAN.

### 6.3) Equipos

- ❖ Espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Electron modelo S4. Código 0004683.
- ❖ Lámparas de cátodo hueco para Co. Thermo Electron
- ❖ Plancha de calentamiento.
- ❖ Extractor de Gases y Humos, Marca C4, Modelo C 120X, serie 189826.
- ❖ Equipo de filtración Swinnex.
- ❖ Compresor de aire, con sistema de purificación y eliminación de humedad.
- ❖ Extractor de vapores y humos producidos por la llama.

## 6.4) Preparación de reactivos

### 6.4.1) Soluciones de trabajo y calibración:

La solución de trabajo se preparó a partir de la solución patrón de 1000 mg/L de cobalto; mediante dilución a 50 mL. Su preparación se puede realizar como estándares compartido para los distintos metales teniendo en cuenta las interferencias entre ellos.

Los estándares para la curva de calibración no se digieren. Las curvas se hacen con tres o más estándares hasta cubrir el rango de linealidad de acuerdo a lo obtenido en la validación y lo establecido en el Standard Methods for the examination of water and wastewater 23th Edition, y son renovadas como mínimo mensualmente o de acuerdo a la frecuencia del análisis.

Los estándares de trabajo y calibración para el metal se prepararon de la siguiente forma:

Tabla 2. Estándares de trabajo y calibración

Estándar	mg Co/L	Volumen de estándar patrón a utilizar	Aforo (mL)
Calibración	0,05	12,5 µl de una solución de 100 mg Co/L	25
	0,1	25 µl de la solución de 100 mg Co/L	25
	0,5	125 µl de la solución de 100 mg Co/L	25
Trabajo	1	250 µl de una solución de 100 mg Co/L	25
	2	500 µl de la solución de 1000 mg Co/L	25
	3	750 µl de la solución de 1000 mg Co/L	25

### 6.4.2) Condiciones de trabajo

Metal: cobalto

Longitud de onda: 240.7 nm

Llama: aire-acetileno

Resolución: alta

N<sup>o</sup> de muestra: 3

## 6.5) Análisis de muestras

- ❖ Se Preparó erlenmeyer de 250 mL marcados con blanco, estándar de chequeo de Co los necesarios para las muestras con duplicados requeridos.
- ❖ Se agitó vigorosamente la muestra para homogeneizarla.
- ❖ Se tomó una alícuota de 50 mL de muestra, estándar de control de Co agua destilada para el blanco, incluyendo duplicados con una pipeta volumétrica de 50 mL. Entre cada toma de alícuota se enjuaga la pipeta dos veces con agua destilada.
- ❖ Se adicionó a cada erlenmeyer 2.5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, iniciar el proceso de digestión con calentamiento suave a una temperatura de  $95^\circ\text{C}$  durante 2 horas aproximadamente, hasta que quede un residuo cercano de 15 a 20 mL.
- ❖ Se agregó 2.5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado y 5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado dejar enfriar el Erlenmeyer entre adiciones. Calentar hasta remover todo el ácido nítrico.
- ❖ Se transfirió cuantitativamente el producto de la digestión de los Erlenmeyer a los balones de 50 mL correspondientes, realizando varios enjuagues. Completar a volumen con agua acidulada. Preparar el sistema de filtración Swinnex que el vástago quede dentro de los balones aforados clase A de 50 mL.
- ❖ Se agitó los balones para homogenizar la solución y filtrar utilizando el sistema de filtración swinnex transfiriendo el filtrado directamente a los frascos de polipropileno, previamente identificados con el código de la muestra o el estándar. En este momento se puede proceder a la lectura en el espectrofotómetro de absorción atómica.
- ❖ En caso de que la lectura no se vaya a realizar inmediatamente, es necesario almacenar los frascos en el cuarto frío.

## 6.6) Plan de validación

LDI	Se preparó y se leyó 10 blancos, previa calibración (leídos en concentración). Calcular la desviación estándar de los blancos, $s$ , y calcular el $LDI = 1,645 s$ .
LDM lectura	Se preparó un estándar de concentración 4 veces el LDI. Leer 10 alícuotas del estándar, previa calibración (leídos en concentración). Calcular el promedio $C_{Eb}$ y la desviación estándar, $s$ . calcular $LDM = C_{Eb} + t_{n-1}x_s$
LDM	Se preparó un estándar de concentración = LDM de lectura. Analizar (digerir y leer) 10 alícuotas del estándar, previa calibración (leídos en concentración). Calcular el promedio $C_{Eb}$ y la desviación estándar $s$ . calcular. $LDM = C_{Eb} + t_{n-1}x_s$
INTERVALO DE TRABAJO	Se preparó y se analizó una vez estándares del intervalo de trabajo actual predispuesto en la prevalidación y teniendo en cuenta los resultados de muestras típicas del laboratorio. Graficar absorbancia vs concentración y evaluar visualmente el intervalo lineal aproximado.
INTERVALO LINEAL	Se preparó y se analizó blanco y seis o más estándares de diferentes concentraciones dentro del intervalo lineal. Graficar absorbancia vs concentración y evaluar visualmente si hay puntos que puedan excluirse de la regresión (tendencia a curvatura en el extremo superior). Si se elimina un punto preparar y analizar un estándar que este en la mitad entre este y el ultimo aceptado. Repetir examen visual, calcular la regresión lineal y graficar la línea recta; debe obtenerse una distribución aleatoria de puntos alrededor de la línea recta.
EXACTITUD	Se prepararon y analizaron por quintuplicado estándares que cubren los tres niveles de concentración: bajo, medio y alto para el metal, a partir de una solución patrón de 1000 mg/L, durante 3 días distintos.
MATRIZ	Se analizaron por quintuplicado muestras de aguas naturales (superficial y subterránea), potable y residuales. Se almacenó en cuarto frío todas las muestras desde el primer día. Se preservan llevándolas a pH cercano 2

	<p>mediante HNO<sub>3</sub></p> <p>Analizar (digerir y leer) cada muestra por triplicado por día.</p>
RECUPERACIÓN	<p>A cada muestra se le adicionó una cantidad conocida de solución concentrada de metal para obtener adiciones de entre 50 y 100% del valor de la muestra y que se puedan analizar sin necesidad de dilución. Analizar (digerir y leer) 5 alícuotas de cada adicionado por día.</p>
PRECISIÓN: Repetibilidad	<p>Se analizaron soluciones, muestras por triplicado en un mismo día.</p>
PRECISIÓN: Reproducibilidad	<p>Entre días: se realizó las mismas mediciones de repetibilidad durante 3 días.</p> <p>Entre analistas: se realizó los mismos ensayos de repetibilidad con 1 analista diferente durante 1 día; pero solo para los estándares.</p>

## 7) RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1) Parámetros de validación analíticos

El control de calidad analítico del laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba establece que las validaciones incluyen la determinación experimental de los parámetros límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y rango de trabajo, exactitud, precisión e incertidumbre. Y por ser un método normalizado no se evalúa experimentalmente la selectividad, la robustez ni la sensibilidad contra interferencias, pero siempre se siguen las recomendaciones del método original para la eliminación de interferencias.

#### 7.1.1) Intervalo lineal e intervalo de trabajo

##### 7.1.2) Intervalo lineal:

Para evaluar el intervalo lineal se realizaron lecturas de diferentes intervalos de concentración de cobalto entre 0.0 y 3.0 mg Co/L, se analizó la respuesta lineal de dichas curvas para un coeficiente de correlación mayor de 0.99 y se determinó que el intervalo más apropiado para continuar con el proceso de validación fue el de soluciones estándar de concentraciones de cobalto entre 0.05 y 3 mg/L.

El intervalo lineal estudiado está representado en la figura 2, donde se muestra la ecuación de la recta obtenida y el coeficiente de correlación de los valores graficados

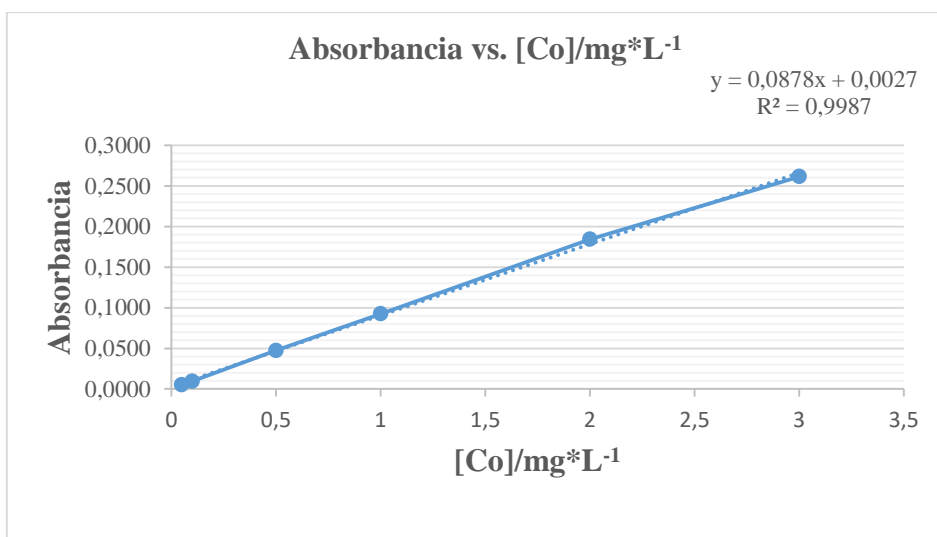


Figura 2. Intervalo lineal para el Co

### 7.1.3) Intervalo de trabajo:

Para establecer el intervalo de trabajo se prepararon y analizaron una serie de soluciones estándar teniendo en cuenta el intervalo de respuesta lineal cuyos resultados se graficaron y se eligió la curva que presentó mejor coeficiente de correlación.

Se realizaron cinco análisis para la construcción de la curva de calibrado partiendo de una Solución Patrón Titrisol. Merck de 1000 mg/L Co, RI-047-02, preparando soluciones de concentración: 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00 mg Co/L obteniendo un valor del coeficiente de determinación  $r^2$  de 0,999 lo cual indica un buen grado de ajuste. Los datos se reportan en la tabla 3.

Tabla 3. Datos para la construcción de la curva de calibrado

<b>Concentración de Co mg/L</b>	<b>Absorbancia</b>
0,05	0,0029
0,1	0,0063
0,5	0,043
1	0,0861
2	0,184
3	0,2666

En la figura 3 se muestra la curva de calibrado para los datos de la tabla 2

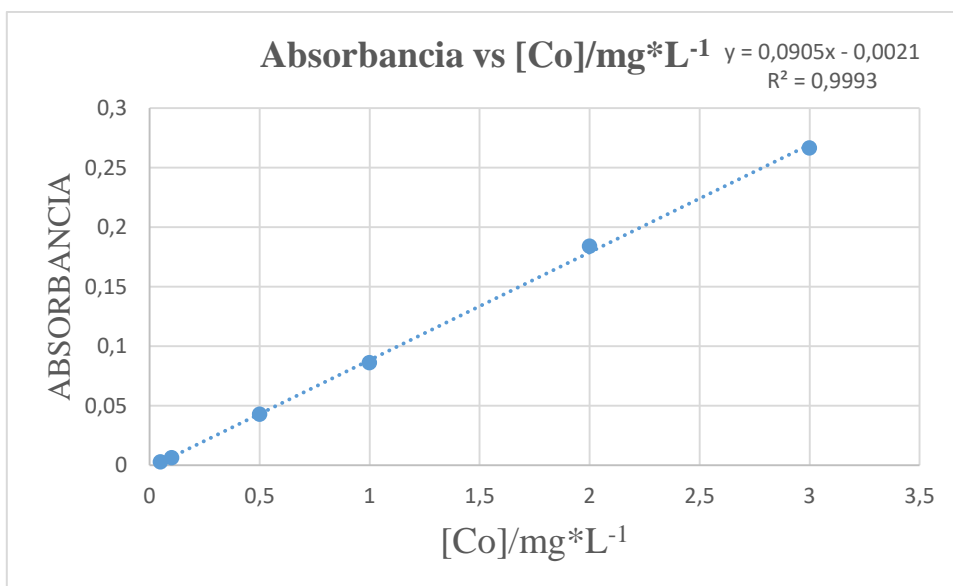


Figura 3. Curva de calibrado para la determinación de Cobalto.

## 7.2) Límite de detección

El límite de detección se evaluó como límite de detección instrumental (LDI) y límite de detección del método (LDM). Para establecer el LDI se prepararon y se analizaron siete blancos de reactivo, cuyos resultados se muestran en la tabla 4. Luego se calcula el LDI multiplicando la Desviación estandar por t, el valor de la distribución Student para  $n-1$  grados de libertad y un grado de significación  $\alpha$  igual a 0,05.

Tabla 4. Tabla de datos de límite de detección instrumental

<b>Límite De Deteccion Instrumental</b>		
<b>LDI</b>	<b>Abs</b>	<b>Concentración</b>
1	0,0052	0,0285
2	0,0037	0,0114
3	0,0039	0,0137
4	0,0035	0,0091



5	0,004	0,0148
6	0,0048	0,0239
7	0,0055	0,0319
Promedio		0,0190
Desviacion estandar		0,009
LDI		0,017

Para establecer el LDM se prepararon y se analizaron siete estándares cuya concentración es el primer punto de la curva dividido entre 3, cuyos resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Tabla de datos de límite de detección del método.

<b>Límite De Deteccion Del Método</b>		
<b>LDM</b>	<b>Abs</b>	<b>Concentración</b>
1	0,0042	0,0171
2	0,0041	0,0159
3	0,0045	0,0205
4	0,0043	0,0182
5	0,0042	0,0171
6	0,0039	0,0137
7	0,0044	0,0194
Promedio		0,0174
Desviación Estándar		0,002
LDM		0,0218

### **7.3) Límite de cuantificación**

El LCM se tomó como primer punto de la curva de calibrado siendo este 0.05 mg Co/L.

#### 7.4) Exactitud de la medición

Este parámetro se evaluó como porcentaje de error (%E) y como porcentaje de recuperación (%R). En la tabla 6 y 7 se muestra la exactitud de la medición expresada como porcentaje de error y como porcentaje de recuperación respectivamente.

Tabla 6. Valores obtenidos para la exactitud de medición como %E del método.

	% ERROR		
	0,2	1,2	2,5
<b>DIA 1</b>	2,7624	0,8250	3,9560
	1,1050	3,2250	3,5080
	1,1050	0,4583	0,1560
	2,7624	0,0917	1,1280
	0,5525	0,2750	1,2880
<b>DIA 2</b>	1,10	0,7417	2,0320
	5,00	4,1167	0,2920
	0,55	0,0417	2,0440
	0,60	1,4083	1,0480
	0,10	2,2333	4,00
<b>DIA 3</b>	2,10	1,2000	2,0960
	0,50	3,2417	2,0960
	4,75	1,0250	2,26
	4,40	0,3750	2,0040
	3,75	3,3167	1,96
<b>Promedio</b>	<b>2,1</b>	<b>1,5</b>	<b>2,0</b>

Tabla 7. Valores obtenidos para la exactitud de medición cómo %R para la muestra de agua residual.

	% RECUPERACIÓN		
	Residual Bajo 0,2	Residual Medio 1,2	Residual Alto 2,5
<b>DIA 1</b>	82,0	90,6	90,5
	83,8	84,9	90,1
	92,3	86,4	90,8
	95,1	86,3	90,4
	93,4	86,7	89,8
<b>DIA 2</b>	93,4	90,5	90,4
	83,4	86,5	90,0
	83,4	91,1	89,4
	89,4	90,7	90,2
	95,1	91,1	90,9
<b>DIA 3</b>	94,0	91,7	89,5
	86,6	90,5	90,7
	91,1	91,0	90,1
	96,2	86,8	89,8
	90,4	86,2	90,5
<b>Promedio</b>	<b>90,0</b>	<b>88,7</b>	<b>90,2</b>

No se reportaron valores de %R para agua potable y natural ya que las muestras analizadas no contenían cobalto, en cuanto a la muestra de agua residual el cálculo se realizó en cuanto a la cantidad de cobalto que contenía la muestra y la cantidad adicionada.

## 7.5) PRECISIÓN DE LA MEDICIÓN

Para conocer la variación de los resultados entre los ensayos repetidos, se determinó el parámetro de validación conocido como precisión de la medición y fue evaluada en función de la repetibilidad para los ensayos realizados en el análisis de soluciones estándar y muestras por un mismo analista y de la reproducibilidad para los ensayos realizados por diferentes analistas.

### 7.5.1) Repetibilidad:

Se tomaron tres concentraciones de nivel alto, medio y bajo, estas se leyeron por triplicado en el mismo día. los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Datos obtenidos para la repetibilidad del método.

DIA 1						Promedio	Desv	%CV
<b>0,2</b>	0,2055	0,1978	0,2022	0,1945	0,2011	<b>0,200</b>	<b>0,0042365</b>	<b>2,12</b>
<b>1,2</b>	1,1901	1,2387	1,1945	1,1989	1,2033	<b>1,205</b>	<b>0,0194174</b>	<b>1,61</b>
<b>2,5</b>	2,4011	2,4123	2,5039	2,5282	2,5322	<b>2,476</b>	<b>0,0638828</b>	<b>2,58</b>
DIA 2						Promedio	Desv	%CV
<b>0,2</b>	0,2022	0,21	0,1989	0,2012	0,1998	<b>0,202</b>	<b>0,0044229</b>	<b>2,19</b>
<b>1,2</b>	1,1911	1,1506	1,2005	1,1831	1,1732	<b>1,180</b>	<b>0,019126</b>	<b>1,62</b>
<b>2,5</b>	2,5508	2,5073	2,4489	2,4738	2,4	<b>2,476</b>	<b>0,0572054</b>	<b>2,31</b>
DIA 3						Promedio	Desv	%CV
<b>0,2</b>	0,2042	0,199	0,2095	0,2088	0,2075	<b>0,206</b>	<b>0,0043122</b>	<b>2,10</b>
<b>1,2</b>	1,1855	1,2389	1,2123	1,1955	1,2398	<b>1,214</b>	<b>0,0247095</b>	<b>2,03</b>
<b>2,5</b>	2,4476	2,5524	2,5565	2,4499	2,549	<b>2,511</b>	<b>0,056967</b>	<b>2,27</b>

Los coeficientes de variación de los datos obtenidos de los estándares, analizados en un mismo día mostraron una buena repetibilidad debido a que se encuentran dentro de los valores de aceptación establecidos por la AOAC, los cuales son <11% para 1ppm y <7.3% para concentraciones que no superen las 10 ppm.

### 7.5.2) Reproducibilidad:

Se realizó el mismo procedimiento descrito en la repetibilidad, pero en diferentes días y cambiando al analista. los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Datos para la reproducibilidad de ambos analistas para el método.

<b>Co</b>			
	<b>Estándares</b>		
	<b>0,2</b>	<b>1,2</b>	<b>2,5</b>
<b>Analista 1</b>	0,2044	1,1600	2,5949
	0,2034	1,1655	2,6000
	0,2011	1,1645	2,5989
	0,1945	1,1698	2,5968
	0,2011	1,2033	2,4983
	0,1900	1,2086	2,5898
	0,2014	1,1590	2,5673
	0,1989	1,1590	2,4489
	0,1993	1,1566	2,5989
	0,1976	1,1732	2,3641
	0,2100	1,1228	2,5941
	0,2004	1,1621	2,5962
	0,2014	1,1559	2,5766
	0,2101	1,1166	2,4999
	0,2075	1,1486	2,5989
<b>Analista 2</b>	0,2033	1,1950	2,5966
	0,1984	1,1689	2,5989
	0,2053	1,1444	2,6023
	0,2062	1,1625	2,5989
	0,2016	1,1435	2,5968
<b>Promedio</b>	<b>0,2020</b>	<b>1,1620</b>	<b>2,5660</b>
<b>Desv</b>	<b>0,0049</b>	<b>0,0226</b>	<b>0,0638</b>
<b>%CV</b>	<b>2,4100</b>	<b>1,9500</b>	<b>2,4900</b>

Los coeficientes de variación de los datos para la reproducibilidad para los patrones, mostraron un buen comportamiento debido a que no superan los criterios de aceptación establecidos por la AOAC (Tabla 1) los cuales son <11% para concentraciones que no sobrepasen 1 ppm y <7.3% para concentraciones que no sobrepasen 10 ppm.

## 7.6) INCERTIDUMBRE

Los cálculos de la incertidumbre del método para la determinación de cobalto fueron realizados para tres rangos de concentración: baja, media y alta. A continuación, se obtuvieron:

### 7.6.1) Identificación de las fuentes de incertidumbre

A continuación, se muestra en la figura 4 el diagrama de causa-efecto (Diagrama de Ishikawa) que evidencia la relación entre las fuentes de incertidumbre del método y su influencia en los resultados.

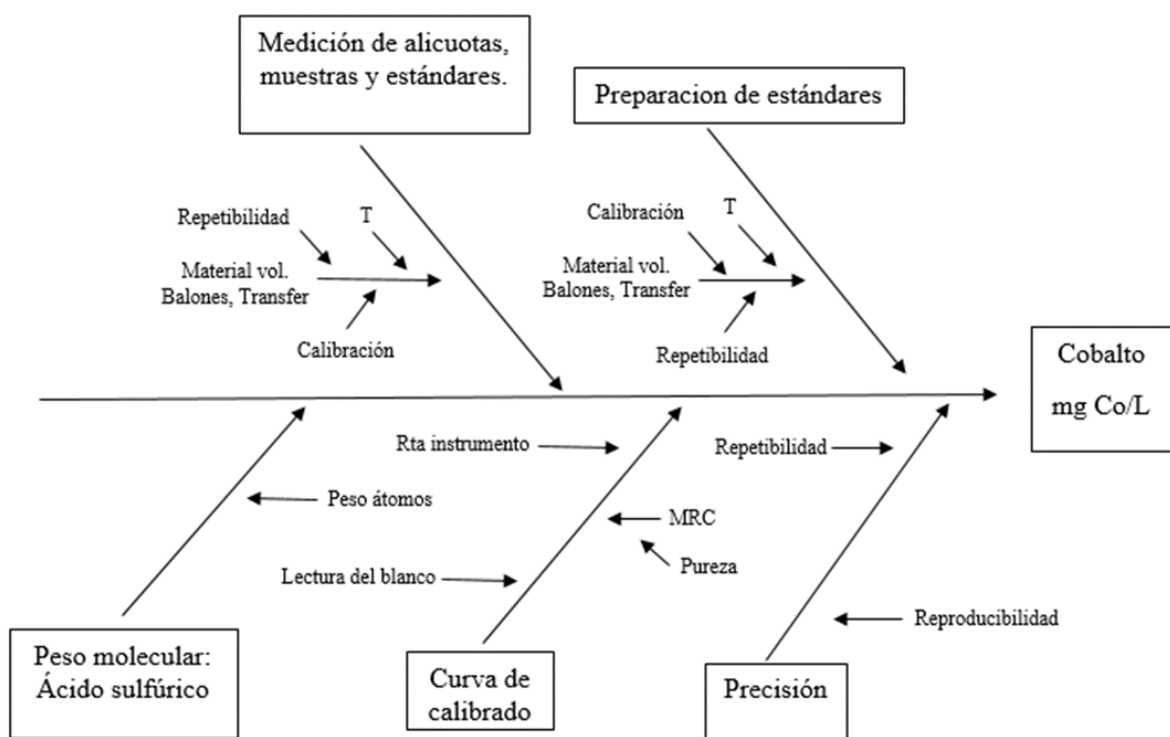


Figura 4. Diagrama causa – efecto para la cuantificación de las fuentes de incertidumbre del método para la determinación de cobalto.

### 7.6.2) Incertidumbre combinada total para el nivel bajo de cobalto.

Para la determinación de cobalto se trabajó con una solución estándar de 0.2 mg Co/L, La expresión de la incertidumbre para este nivel es de  $0.2 \pm 0.10$

Tabla 10. Incertidumbre combinada total nivel bajo.

<b>INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL</b>		
<b>nivel Bajo</b>	<b>cuadrado</b>	<b>FUENTE</b>
2,31E-04	5,33E-08	<b>IER Patrón concentrado</b>
3,94E-03	1,55E-05	<b>IER preparación estandar bajo</b>
8,44E-04	7,12E-07	<b>IER Medición aforo solución digestión</b>
4,26E-03	1,81E-05	<b>IER Medición muestra</b>
9,46E-03	8,95E-05	<b>Repetibilidad</b>
2,59E-01	6,73E-02	<b>Reproducibilidad</b>
8,32E-03	6,92E-05	<b>curva de calibrado</b>
<b>Sumatoria</b>	6,75E-02	
<b>Raíz</b>	2,60E-01	
<b>INCERTIDUMBRE FINAL EXP</b>	0,2	
1,0E-01	0,10	
<b>El valor es reportado como</b>		
0,2	±	0,10

**7.6.3) Incertidumbre combinada total para el nivel medio de cobalto.**

Para la determinación de cobalto se trabajó con una solución estándar de 1.2 mg Co/L, La expresión de la incertidumbre para este nivel es de  $1.2 \pm 0.09$ .

Tabla 11. Incertidumbre combinada total nivel medio

<b><i>INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL</i></b>		
<b>nivel medio</b>	<b>cuadrado</b>	
2,31E-04	5,33E-08	<b>IER Patron concentrado</b>
1,31E-03	1,71E-06	<b>IER preparacion estandar medio</b>
8,44E-04	7,12E-07	<b>IER Medición aforo solucion digestion</b>
4,26E-03	1,81E-05	<b>IER Medición muestra</b>
7,21E-03	5,19E-05	<b>Repetibilidad</b>
3,68E-02	1,35E-03	<b>Reproducibilidad</b>
1,32E-03	1,75E-06	<b>curva de calibrado</b>
<b>Sumatoria</b>	1,43E-03	
<b>Raíz</b>	3,78E-02	
<b>INCERTIDUMBRE FINAL EXP</b>		1,2
9,1E-02		0,09
<b>El valor es reportado como</b>		
1,2 ±		0,09



#### 7.6.4) Incertidumbre combinada total para el nivel alto de cobalto.

Para la determinación de cobalto se trabajó con una solución estándar de 2.5 mg Co/L, La expresión de la incertidumbre para este nivel es de  $2.5 \pm 0.11$ .

Tabla 12. Incertidumbre combinada total nivel alto.

<b><i>INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL</i></b>		
<b>nivel alta</b>	<b>cuadrado</b>	
2,31E-04	5,33E-08	<b>IER Patrón concentrado</b>
2,08E-02	4,33E-04	<b>IER preparación estándar alta</b>
8,44E-04	7,12E-07	<b>IER Medición aforo solución digestión</b>
4,26E-03	1,81E-05	<b>IER Medición muestra</b>
3,57E-03	1,28E-05	<b>Repetibilidad</b>
7,19E-03	5,17E-05	<b>Reproducibilidad</b>
7,06E-04	4,99E-07	<b>curva de calibrado</b>
<b>Sumatoria</b>	5,16E-04	
<b>Raíz</b>	2,27E-02	
<b>INCERTIDUMBRE FINAL EXP</b>		2,5
1,1E-01		0,11
<b>El valor es reportado como</b>		
2,5 ±		0,11

## 8) CONCLUSIONES

- ❖ Se validó e implementó en el laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba la metodología 3111 –B: Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017 para la determinación de cobalto en aguas naturales, residuales y potables por espectroscopia de absorción atómica, mostrando así que este laboratorio cumple con los requerimientos analíticos de calidad exigidos por la norma NTC/ISO/IEC/17025:2017.
  
- ❖ Se presentó una buena linealidad del método satisfaciendo los supuestos de la regresión lineal.
  
- ❖ La precisión de medición y exactitud de medición del método presenta coeficientes de variación dentro de los límites permitidos por la AOAC para el factor de coeficiente de variación en función de la concentración del analito.
  
- ❖ Para un nivel de confianza del 95% se obtuvo una incertidumbre experimental de  $\pm 0.10$  para el nivel bajo,  $\pm 0.09$  para el nivel medio y  $\pm 0.11$  para el nivel alto lo cual es acorde para el análisis del método.

## 9) RECOMENDACIONES

- ❖ Lavar cuidadosamente la cristalería a utilizar para el análisis ya que este es un factor clave en el momento de analizar metales pesados como el cobalto. En el desarrollo del Método absorción atómica del Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017, deberá usarse cristalería clase A.
  
- ❖ Utilizar agua ultra pura libre de cobalto que no afecte el análisis de determinación de este metal pudiendo dar así origen a falsos positivos. Para ello se debe revisar el sistema de destilación del laboratorio, asegurándose que esté limpio, al igual que la fuente de donde se toma el agua a destilar.
  
- ❖ Controlar la temperatura del proceso de digestión debido a que puede haber pérdida del analito.

## 10) BIBLIOGRAFIA

- ❖ SKOOG HOLLER NIEMAN, Op. Cit., pág. 42.
- ❖ Aguirre L, García T, Illera M JM. Validación de métodos analíticos AEFI. Madrid, Asoc Española Farm la Ind. 2014;87.
- ❖ Báguena-Polo, J., Gotor-Navarra, G., Broto-Puig, F., & Blanco-Roca, M. J. (2015). Cálculo de la incertidumbre asociada a los resultados basado en la validación de un procedimiento de análisis. Aplicación en la determinación de cloruros por HPLC en lixivia.
- ❖ Castro M, Gascón S, Pujol M, Sans JM, V. L. (1989). Validación de métodos analíticos, AEFI, Sec. Catalana, España.
- ❖ Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., Roa, L., Rodríguez, L., & Soto, M. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. Aspectos generales sobre la validación de métodos. Santiago de Chile: Departamento de salud ambiental.
- ❖ Li, M., Liu, Z., Chen, Y., & Hai, Y. (2016). Characteristics of iron corrosion scales and water quality variations in drinking water distribution systems of different pipe materials. *Water Research*, 106, 593–603. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.044>
- ❖ Kumar, V., Bharti, P. K., Talwar, M., Tyagi, A. K., & Kumar, P. (2017). Studies on high iron content in water resources of Moradabad district. *Water Science*. <https://doi.org/10.1016/j.wsj.2017.02.003>.
- ❖ Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 23th Edition 2017.
- ❖ Galeano, C. B. (2016). ALUMINIO RESIDUAL EN AGUA POTABLE MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA VISIBLE VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF RESIDUAL Resumen, 2(2), 56–65.
- ❖ González, A., Mesquita, R. B. R., Avivar, J., Moniz, T., Rangel, M., Cerdà, V., & Rangel, A. O. S. S. (2017). Talanta Microsequential injection lab-on-valve system for the spectrophotometric bi-parametric determination of iron and copper in natural waters. *Talanta*, 167(February), 703–708. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.02.055>.
- ❖ Leao, D. J., Junior, M. M. S., Brandao, G. C., & Ferreira, S. L. C. (2016). Talanta Simultaneous determination of cadmium , iron and tin in canned foods using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 153, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.023>.

- ❖ Behera, B., Das, M., Rana, G.S., 2015. Studies on ground water pollution due to iron content and water quality in and around, Jagdalpur, Bastardistrict, Chattisgarh, India. *J. Chem. Pharm. Res.* 4 (8), 3803–3807.
- ❖ (AEFI) AE de F de la. Validación de métodos analíticos. Sociedad de Validación de Sistemas, S. L Barcelona. 2014.
- ❖ Bedoya, L.F. (2014), Homologación de métodos de análisis fisicoquímicos empleados en Postobón S.A. para materias primas y producto terminado, y validación del método para la determinación de Grados Brix, informe de práctica. Universidad de Antioquía.
- ❖ Broekaert, J.A.C. (2015), *Analytical Atomic Spectrometry with Flame and Plasmas*, Germany WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.
- ❖ Mustafa, Soytak., A.A. (2016). “Determination of some heavy metals in food and environmental samples by flame atomic absorption spectrometry after coprecipitation”, *Food and Chemical technology* 49, pag. 1242-1248.
- ❖ Rocha, C. (2016) principios básicos de espectroscopia, UACH, México.
- ❖ Lugo, C. C., Yolanda, L., Fiallo, V., & Alberto, C. (2013). Remoción de Fe y Mn en aguas naturales por adsorción-oxidación sobre clinoptilolita Fe and Mn retention in natural water by adsorption-oxidation on clinoptilolite, *Rev Fac. Ing. Uni. Antioquia*, N° 66, 24–44. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfiua/n66/n66a03.pdf>
- ❖ Judith, B., Gotor-navarra, G., Broto-puig, F., Blanco-roca, M. J., & Augusta, V. (2008). los resultados basados en la validación por HPLC en lixiviados. *Revista de química teórica y aplicada*, (2), 11–19. Recuperado <http://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/viewFile/281370/369153>
- ❖ Harris, D. (2012). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona, España: Reverté, S.A. ISBN.
- ❖ Sandoval, S. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos” Vol. guía 1.
- ❖ Jaramillo. (2010). *Desinfección del agua para uso humano*. escuela politecnica nacional.

## 11) ANEXOS

### 11.1) Anexos A

#### ❖ Preparacion de estándares de calibración

	Conc (mg/L)	Volumen	μ3 (reporte transferpipeta)	U14	X3(Vol material)	U15	U6(s de transferpipeta)	UC9	IER	
Estandar 1	0,05	0,5 ml	0,001	0,000288675	0,0125	7,57772E-06	0,0002	0,000	3,0E-02	IER09
Estandar 2	0,1	25 μl	0,001	0,000288675	0,025	1,51554E-05	0,0005	0,001	2,2E-02	IER10
Estandar 3	0,5	125 μl	0,0001	2,88675E-05	0,125	7,57772E-05	0,0011	0,001	8,9E-03	IER11
Estandar 4	1	250 μl	0,0001	2,88675E-05	0,25	0,000151554	0,0011	0,001	4,5E-03	
Estandar 5	2	375 μl	0,0001	2,88675E-05	0,5	0,000303109	0,0010	0,001	2,1E-03	
Estandar 6	3	376 μl	0,0001	2,88675E-05	0,75	0,000454663	0,0180	0,018	2,4E-02	

#### ❖ Aforo de estándares

	Conc (mg/L)	Volumen	μ3 (reporte balón)	U14	X3(Vol Balón)	U15	U6(s de balón)	UC9	IER		IER TOTAL
Estandar 1	0,05	25 ml	0,04	0,016329932	25	0,015155445	0,0448	0,050	2,0E-03	IER11	3,0E-02
Estandar 2	0,1	25 ml	0,04	0,016329932	25	0,015155445	0,0448	0,050	2,0E-03	IER11	2,2E-02
Estandar 3	0,5	25 ml	0,04	0,016329932	25	0,015155445	0,0448	0,050	2,0E-03	IER11	9,1E-03
Estandar 4	1	25 ml	0,04	0,016329932	25	0,015155445	0,0448	0,050	2,0E-03		5,0E-03
Estandar 5	2	25 ml	0,04	0,016329932	25	0,015155445	0,0448	0,050	2,0E-03		2,9E-03
Estandar 6	3	26 ml	1,04	0,424578222	26	0,015761662	0,0448	0,427	1,6E-02		2,9E-02

❖ Preparacion de soluciones de trabajo

	Conc (mg/L)	Volumen	μ3 (reporte transferpipeta)	U14	X3(Vol material)	U15	U6(s de transfer)	UC9	IER	
Alicuota STD bajo	0,2	30 μl	0,0001	2,88675E-05	0,1	6,06218E-05	0,0004	0,000	3,8E-03	IER09
Alicuota STD medio	1,2	0,7 ml	0,0001	2,88675E-05	0,6	0,000363731	0,0005	0,001	1,0E-03	IER10
Alicuota STD Alto	2,5	0,6 ml	0,0001	2,88675E-05	0,125	7,57772E-05	0,0026	0,003	2,1E-02	IER11

❖ Aforo de estándares

	Conc (mg/L)	Volumen	μ3 (reporte balón)	U14	X3(Vol Balón)	U15	U6(s del balon)	UC9	IER		IER Total
Alicuota STD bajo	0,2	50 ml	0,06	0,024494897	50	0,030310889	0,0161	0,042	8,4E-04	IER11	3,9E-03
Alicuota STD medio	1,2	50 ml	0,06	0,024494897	50	0,030310889	0,0117	0,041	8,1E-04	IER11	1,3E-03
Alicuota STD Alto	2,5	50 ml	0,06	0,024494897	50	0,030310889	0,0296	0,049	9,8E-04	IER11	2,1E-02

❖ Aforo de soluciones de trabajo-digestion

	Conc (mg/L)	Volumen	μ3 (reporte balón)	U14	X3(Vol Balón)	U15	U6(s del balon)	UC9	IER	
Estandar 1	0,2	50	0,06	0,024494897	50	0,030310889	0,0161	0,042	8,4E-04	IER11
Estandar 2	1,2	50	0,06	0,034641016	50	0,030310889	0,0161	0,049	9,8E-04	IER11
Estandar 3	2,5	50	0,06	0,034641016	50	0,030310889	0,0161	0,049	9,8E-04	IER11

## 11.2) Anexos B

### ❖ Recuperación

Rango Bajo 1					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0678	0,7415	0,2	0,0822	0,905	82,0
0,0678	0,7415	0,2	0,0834	0,919	88,8
0,0678	0,7415	0,2	0,084	0,926	92,3
0,0678	0,7415	0,2	0,0845	0,932	95,1
0,0678	0,7415	0,2	0,0842	0,928	93,4

Rango Bajo 2					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0903	0,998	0,2	0,1067	1,185	93,4
0,0903	0,998	0,2	0,1046	1,161	81,4
0,0903	0,998	0,2	0,1053	1,169	85,4
0,0903	0,998	0,2	0,106	1,177	89,4
0,0903	0,998	0,2	0,107	1,188	95,1

Rango Bajo 3					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0801	0,882	0,2	0,0966	1,069	94,0
0,0801	0,882	0,2	0,0953	1,055	86,6
0,0801	0,882	0,2	0,0961	1,064	91,1
0,0801	0,882	0,2	0,097	1,074	96,2
0,0801	0,882	0,2	0,0965	1,068	93,4

Rango Medio 1					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0678	0,7415	1,2	0,1633	1,829	90,6
0,0678	0,7415	1,2	0,1573	1,761	84,9
0,0678	0,7415	1,2	0,1588	1,778	86,4
0,0678	0,7415	1,2	0,1587	1,777	86,3
0,0678	0,7415	1,2	0,1591	1,781	86,7



Rango Medio 2					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0903	0,998	1,2	0,1899	2,132	94,5
0,0903	0,998	1,2	0,1867	2,096	91,5
0,0903	0,998	1,2	0,1884	2,115	93,1
0,0903	0,998	1,2	0,1859	2,087	90,7
0,0903	0,998	1,2	0,1863	2,091	91,1

Rango Medio 3					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0801	0,882	1,2	0,1788	2,006	93,7
0,0801	0,882	1,2	0,1776	1,992	92,5
0,0801	0,882	1,2	0,1791	2,009	94,0
0,0801	0,882	1,2	0,1779	1,995	92,8
0,0801	0,882	1,2	0,1783	2,000	93,2


Rango Alto 1					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0678	0,7415	2,5	0,2642	2,978	89,5
0,0678	0,7415	2,5	0,2656	2,994	90,1
0,0678	0,7415	2,5	0,265	2,987	89,8
0,0678	0,7415	2,5	0,2662	3,001	90,4
0,0678	0,7415	2,5	0,2649	2,986	89,8

Rango Alto 2					
Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0903	0,998	2,5	0,2689	3,032	81,4
0,0903	0,998	2,5	0,2703	3,048	82,0
0,0903	0,998	2,5	0,2734	3,083	83,4
0,0903	0,998	2,5	0,2729	3,077	83,2
0,0903	0,998	2,5	0,2744	3,095	83,9

Rango Alto 3

Abs Prom M	Conc. Muestra	Conc. Adicionado	Abs	Concentración	% Recuperación
0,0801	0,882	2,5	0,2589	2,918	81,5
0,0801	0,882	2,5	0,2616	2,949	82,7
0,0801	0,882	2,5	0,2624	2,958	83,1
0,0801	0,882	2,5	0,2619	2,952	82,8
0,0801	0,882	2,5	0,2633	2,968	83,5

### 11.3) Anexos C

	UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA									CÓDIGO
	INCERTIDUMBRE DE ANALISIS GRAVIMETRICOS									VERSIÓN: N° 01
	LABORATORIO DE AGUAS									Página 1 de 6
Material Volumetrico a ser calibrado	Volumen Vertido, mL	Temperatura, °C		Peso, g				Volumen		Desviación estandar
		del agua	ambiente	Tara WT	con agua WB	agua W2	corregido W1	a Ambiente VT	a 20°C V20	
0,05	23,0	25	33,6540	33,6658	0,0118	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6540	33,6657	0,0117	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,0117	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,0117	0,01	0,01	0,01		
0,1	23,0	25	33,6541	33,6658	0,0117	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,0117	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6540	33,6658	0,0118	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,654	33,6658	0,0118	0,01	0,01	0,01		
0,5	23,0	25	33,6540	33,6657	0,0117	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6540	33,6659	0,0119	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,654	33,6658	0,0118	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6539	33,6658	0,0119	0,01	0,01	0,01		
1	23,0	25	33,6539	33,6658	0,0119	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,0117	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6540	33,6657	0,0117	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6539	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01		
2	23,0	25	33,6539	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6541	33,6657	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6542	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
3	23,0	25	33,6541	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6540	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6540	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01		
100	23,0	25	33,6542	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6541	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6540	33,6657	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
0,2	23,0	25	33,6541	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,654	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6657	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6542	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01		
1,2	23,0	25	33,6542	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001	
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6542	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,654	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
2,5	23,0	25	33,6542	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0000	
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6542	33,6659	0,01	0,01	0,01	0,01		
	23,0	25	33,6541	33,6658	0,01	0,01	0,01	0,01		
DILIGENCIA		REVISAR		APRUEBA		N° Consecutivo				
CARGO		CARGO		CARGO						
FECHA		FECHA		FECHA						

