

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE
COBRE (Cu) POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA
EN AGUA POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL EN EL LABORATORIO DE
AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.**



MARIA ANGELICA VILLADIEGO CESPEDES

Estudiante

Director

M.Sc EDINELDO LANS CEBALLOS

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONTERÍA – CÓRDOBA**

2020

**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE
COBRE (Cu) POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA
EN AGUA POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL EN EL LABORATORIO DE
AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.**

MARIA ANGELICA VILLADIEGO CESPEDES

Estudiante

TRABAJO DE GRADO

Requisito para optar al título de Químico

Director

M.Sc EDINELDO LANS CEBALLOS

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
MONTERÍA - CÓRDOBA**

2020

CARTA DE ACEPTACIÓN

El informe de trabajo de grado titulado “**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE COBRE (Cu) POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA EN AGUA POTABLE, NATURAL Y RESIDUAL EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.**” realizado por la estudiante: **MARÍA ANGELICA VILLADIEGO CÉSPEDES**, cumple con los requisitos exigidos por la facultad de Ciencias Básicas para optar por el título de **QUÍMICO** y ha sido aprobado.



EDINELDO LANS CEBALLOS. MSc

Director

BASILIO DÍAZ PONGUTA. MSc

Jurado

MAURICIO LORA AGAMEZ. MSc.

Jurado

DEDICATORIA

A mis padres Ana Milena Céspedes y Edwin Villadiego Martínez, mi hermana Ana Carolina Villadiego y mi sobrino Antonio González, a mi abuela María Angelica Falco y mi tía Sandra Elena Céspedes, a mi Ángel en el cielo José Antonio Céspedes y en general a toda la familia Villadiego Céspedes, esto es de ustedes y para ustedes.

María Angélica Villadiego Céspedes

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme guiado a lo largo de este camino, brindándome fortaleza y sabiduría en aquellos momentos de debilidad.

A mis padres Milena Céspedes y Edwin Villadiego, mi hermana Carolina Villadiego, mi Sobrino Antonio González, mi tía Sandra Céspedes, a mi Abuela María Falco y al Sr. Jorge Vega, por siempre brindarme su apoyo, por motivarme a ser una mejor persona y a nunca rendirme.

A Yuly Romero, Alexander Contreras, José Mora, Luis Arrieta, Daniel Vélez y Jorge Ortega por ser mis amigos incondicionales, brindarme la mano cuando lo necesite y creer siempre en mí.

A mis compañeros del grupo fusión y muy especialmente a Angela González, Thalía Pinedo, Hernando Guerrero, Lucas Humanéz y Carlos Madera, quienes han compartido conmigo maravillosos momentos a lo largo de todos estos años, brindándome su apoyo y ayuda en todo momento.

Al profesor Edilneldo Lans y al grupo GIAMP de la universidad de Córdoba, en especial a Arnaldo Trujillo, Diana Pérez, Cristian Vega, Luis Atencia y Liney Negrete, quienes compartieron conmigo buenos momentos y me brindaron sus conocimientos y apoyo para culminar este trabajo.

A los profesores Basilio Díaz y Mauricio Lora por sus observaciones y sugerencias que me permitieron finalizar un trabajo exitoso y a la universidad de Córdoba y todo su cuerpo de docentes por formarme como una profesional íntegra.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCIÓN	2
3	OBJETIVOS	3
3.1	GENERAL	3
3.2	ESPECÍFICOS	3
4	MARCO TEORICO	4
4.1	PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.....	4
4.1.1	Límite de detección (LD).....	4
4.1.2	Intervalo lineal	5
4.1.3	Intervalo de trabajo	5
4.1.4	Exactitud	6
4.1.5	Precisión.....	6
4.2	INCERTIDUMBRE.....	7
4.2.1	Componentes de la incertidumbre	8
4.2.2	Tipos de incertidumbre	9
4.2.3	Cuantificación de los componentes de incertidumbre	10
4.3	TÉCNICA Y MÉTODO DE ANÁLISIS DE COBRE (Cu) EN AGUA.	12
5	METODOLOGÍA	13
5.1	RECURSOS	13
5.1.1	Equipos	13
5.1.2	Insumos y materiales.....	13
5.1.3	Reactivos.....	14
5.1.4	Elementos de seguridad	14
5.1.5	Muestras.....	14
5.1.6	Interferencias y limitaciones	15
5.2	PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS.....	16
5.2.1	Preparación de estándares (soluciones de trabajo y calibración).....	16
5.2.2	Preparación de muestras (Digestión: de blancos, estándares de trabajo y muestras)	16
5.2.3	Lectura en el equipo.....	17

5.2.4	LDI.....	18
5.2.5	LDM.....	18
5.2.6	LC	18
5.2.7	Linealidad e intervalo de trabajo.....	19
5.2.8	Exactitud	19
5.2.9	Precisión.....	20
5.2.10	Incertidumbre.....	21
5.3	PLAN DE ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	24
5.3.1	Análisis de varianza ANOVA.....	24
5.3.2	Prueba de Colchram.....	24
5.3.3	Test de Durbin-Watson.....	25
5.3.4	Prueba de Grubbs.....	25
5.3.5	Coefficiente de variación	26
6	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	27
6.1.1	Límite de detección y cuantificación	27
6.1.2	Linealidad e intervalo de trabajo.....	29
6.1.3	Exactitud	32
6.1.4	Precisión.....	33
6.1.5	Incertidumbre.....	37
7	CONCLUSIONES.....	41
8	BIBLIOGRAFÍA.....	42
9	ANEXOS.....	45
9.1	Curvas de calibración.....	45
9.2	Exactitud.....	46
9.3	Precisión.....	48
9.4	Incertidumbre	49
9.5	Plan de validación	52

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1 Funciones de Distribución para cálculo de Incertidumbre.	11
Tabla 2 Preparación de estándares.	16
Tabla 3 Condiciones de trabajo para Cu	17
Tabla 4 Prueba de Colchram G_{tablas}	25
Tabla 5 Prueba de Grubbs T_{tabla}	26
Tabla 6 Determinación del límite de detección instrumental LDI.....	27
Tabla 7 Determinación del límite de detección del método LDM.....	28
Tabla 8 Datos para la curva de calibrado de Cu.	29
Tabla 9 Análisis de varianza ANOVA.....	30
Tabla 10 Test de Colchram	31
Tabla 11 Determinación del porcentaje de error.....	32
Tabla 12 Determinación del porcentaje de recuperación.....	33
Tabla 13 Test de rechazo para % de recuperación.....	33
Tabla 14 Repetibilidad de estándares.....	34
Tabla 15 Repetibilidad de muestras	34
Tabla 16 Test de rechazo para repetibilidad de estándares	35
Tabla 17 Test de rechazo para repetibilidad de muestras	35
Tabla 18 Reproducibilidad.....	36
Tabla 19 Test de rechazo para reproducibilidad	36
Tabla 20 Curva 1 Cu	45
Tabla 21 Curva 2 Cu	45
Tabla 22 Curva 3 Cu	46

Tabla 23 Anexo de exactitud (%E).....	46
Tabla 24 Anexo de exactitud (%R).....	47
Tabla 25 Anexo de precisión (repetibilidad-rangos).....	48
Tabla 26 Anexo de precisión (repetibilidad-muestras).....	48
Tabla 27 Anexo de precisión (reproducibilidad).....	49
Tabla 28 Incertidumbre final para nivel muy bajo.....	49
Tabla 29 Incertidumbre final para nivel bajo.....	50
Tabla 30 Incertidumbre final para nivel medio.....	50
Tabla 31 Incertidumbre final para nivel alto.....	51
Tabla 32 Plan de validación.....	52

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1 Experimento de absorción atómica de llama.....	12
Figura 2 Diagrama de causa y efecto.....	21
Figura 3 Curva de calibrado de Cu	29
Figura 4 Grafica de Residuos Vs. Concentración.....	31
Figura 5 Incertidumbre total combinada para estándar muy bajo	37
Figura 6 Incertidumbre total combinada para estándar bajo.....	38
Figura 7 Incertidumbre total combinada para estándar medio.	38
Figura 8 Incertidumbre total combinada para estándar alto	39
Figura 9 Curva 1 Cu.....	45
Figura 10 Curva 2 Cu.....	45
Figura 11 Curva 3 Cu.....	46

LISTADO DE ABREVIATURAS, UNIDADES Y SIMBOLOS

Cu	Cobre
IDEAM	Instituto de hidrología meteorología y estudios ambientales
AOAC	Asociación oficial de Química Analítica
ISO	Organización Internacional de Estandarización
NTC	Norma Técnica Colombiana
IEC	Comisión Electrotécnica Internacional
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LDI	Límite de detección instrumental
LDM	Límite de detección del método
S	Desviación estándar
R	Coefficiente de correlación
r²	Coefficiente de determinación
%CV	% de coeficiente de variación
%E	Porcentaje de error
%R	Porcentaje de recuperación
C_{EB}	Concentración promedio Del estándar analizado
U_{exp}	Incertidumbre
U_c	Incertidumbre combinada
μ_{est}	Incertidumbre estándar
A	Absorbancia
C	Concentración
M	Muestras
μL	Microlitros
mL	Mililitros
AA	Absorción atómica
nm	Nanómetros

1 RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el propósito de validar un método analítico (3111-B del *Standard Methods*. 2017- Método de llama directa Aire-Acetileno) para la determinación de Cobre (Cu) en agua potable, natural y residual mediante espectroscopia de absorción atómica de llama, en el laboratorio de aguas de la universidad de Córdoba ya que esta se encuentra en el proceso de ampliación de los parámetros acreditados ante el IDEAM, bajo la norma NTC-ISO/IEC 17025:2017.

Los análisis fueron realizados en el laboratorio antes mencionado, a una longitud de onda de 324,8 nm utilizando un Espectrofotómetro de absorción atómica Agilent Technologies 240 AA. Los parámetros de validación arrojaron resultados favorables como: rango de trabajo de 0,200 a 4,000 mg/L Cu, límite de detección 0,076 mg/L Cu. La precisión fue reportada como %CV obteniéndose valores de 0,62% (rango bajo), 0,61% (rango medio), 1,65% (rango alto) y 2,86% (M. Potable), 6,86% (M. Natural) y 1,34% (M. Residual) para repetibilidad y 2,95% (rango bajo), 1,39% (rango medio) y 1,48% (rango alto) para reproducibilidad. La exactitud se reportó como %E arrojando valores de 2,02% (rango bajo), 2,87 % (rango medio), 0,30 (rango alto); y %R de 82,38% (M. Potable), 95,64% (M. Natural) y 84,06% (M. Residual).

Por último, se evaluó la incertidumbre obteniendo valores $\pm 0,003$ mg/L Cu, $\pm 0,102$ mg/L Cu, $\pm 0,108$ mg/L Cu, y $\pm 0,117$ mg/L Cu, para los niveles muy bajo (LDM), bajo, medio y alto respectivamente. Se concluye que el laboratorio de aguas de la universidad de Córdoba puede aplicar el método ya antes mencionado, para la determinación de Cobre (Cu) en agua potable, natural y residual, ya que cumplen los requisitos exigidos por el IDEAM para la acreditación de laboratorios de ensayo y calibración, bajo la norma internacional NTC-ISO/IEC 17025:2017.

2 INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua por metales pesados ocasionada por vía antrópica y natural, está afectando drásticamente la seguridad alimentaria y salud pública. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y algunas autoridades ambientales, han establecido niveles de riesgo en función de la concentración de metales en aguas de consumo humano y alimentos (*Yulieth C. Reyes, Inés Vergara, Omar E. Torres, Mercedes Díaz, 2016*). Para garantizar el control de los niveles de metales pesados como el Cobre, en aguas potable, natural y residual, y el impacto que estos generan en el medio ambiente, se requiere de metodologías analíticas que posean atributos como exactitud, precisión, sensibilidad y selectividad, estos atributos se encuentran asignados al proceso de validación mediante el cual se asegura la calidad de los resultados, cumpliendo con condiciones que garanticen el bienestar y la satisfacción de los consumidores.

En Colombia de acuerdo a la resolución 2115 del 22 de junio de 2007 artículo 5, se establece que la concentración máxima de Cu debe ser de 1 mg/L para agua potable (*Doria Argumedo & Deluque Vilorio 2015*); por esta razón es necesario llevar un control sobre este metal, ya sea en el control de las descargas, en los procesos de tratamiento y/o en los distintos efluentes. Una de las técnicas más efectiva para este control es la espectroscopia de absorción atómica de llama la cual es una técnica bien establecida, fácil de usar y presenta buena detección y niveles de cuantificación.

El Laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba y su grupo de investigación GIAMP requiere verificar si es posible bajo las condiciones de dicho laboratorio la validación para la determinación de Cobre, mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica de llama en agua potable, natural y residual, ya que se encuentra en un proceso de ampliación de los parámetros acreditados ante el IDEAM, bajo la norma NTC-ISO/IEC 17025:2017. La

acreditación significa que el sistema de calidad del laboratorio, su personal, sus instalaciones, equipos, sus métodos de prueba, sus archivos y reportes han sido evaluados, y la evaluación indica que el laboratorio tiene la capacidad de proveer resultados confiables.

3 OBJETIVOS

3.1 GENERAL

- Validar el método analítico (3111-B del *Standard Methods*) para la determinación de cobre (Cu) por espectroscopia de absorción atómica de llama en agua potable, natural y residual en el laboratorio de aguas de la universidad de córdoba.

3.2 ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros estadísticos del método aplicado como: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad e intervalo lineal, precisión exactitud e incertidumbre.
- Realizar un análisis estadístico de los valores obtenidos durante la validación: desviación estándar, porcentaje de coeficiente de variación, porcentaje de error y porcentaje de recuperación.
- Presentar un plan de validación resumido y adaptado a los procedimientos del Laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba, que permita la implementación del método validado.
- Realizar un informe de validación del método analítico estudiado y los resultados obtenidos, incluyendo los atributos o características de la metodología analítica.

4 MARCO TEORICO

4.1 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

La validación de un método de ensayo es un requisito primordial cuando se desea obtener resultados técnicamente válidos, exactos y confiables. Validar un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones requeridas. Inherente a esto está la necesidad de evaluar el desempeño del método (*IDEAM, 2018*).

Los dos objetivos primordiales de una validación son establecer un método y confirmar su desempeño por medio de tratamientos estadísticos y apreciaciones cualitativas por parte del laboratorio en general. La validación proporciona garantía de confiabilidad en las mediciones minimizando el número de fallos y a su vez un ahorro de costos. (*Magaly Quishpe, 2017*)

Entre los parámetros estadísticos que se evaluaron durante el desarrollo de esta validación con el fin de garantizar la calidad analítica del método se encuentran:

4.1.1 *Límite de detección (LD)*

Se entiende por límite de detección la mínima cantidad de analito en la muestra que se puede detectar, aunque no sea necesariamente cuantificar bajo dichas condiciones experimentales. Los valores por encima del LD pueden ser atribuidos a la presencia del analito y los valores por debajo del LD son indicativos de la ausencia de analito en cantidades detectables (*IDEAM, 2006*).

4.1.1.1 Límite de detección instrumental (LDI).

Concentración de analito que produce una señal superior a cinco veces la relación señal/ruido del instrumento; se ha establecido en 1,645 veces el valor *S* de los análisis de

blancos. Resulta muy útil para valorar la concentración de analito o la cantidad de un extracto necesaria para producir una señal que permita calcular un LDM estimado (*IDEAM, 2006*).

4.1.1.2 Límite de detección del método (LDM).

Concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco. Para siete réplicas de la muestra, la media debe ser $3,14 * S$ veces superior al blanco, donde S es la desviación estándar de siete muestras (*IDEAM, 2006*).

4.1.1.3 Límite de cuantificación (LC).

Es la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar, bajo las condiciones experimentales descritas con una adecuada precisión y exactitud (*Montoya & Castaño, 2005*).

El Laboratorio de Aguas de la Universidad de Córdoba adopta el límite de cuantificación como el primer punto de la curva de calibrado, debido a que es la menor cantidad que se puede cuantificar con precisión y exactitud con un 95% de confianza.

4.1.2 Intervalo lineal

Intervalo de concentración de analito sobre el cual el método produce resultados proporcionales a la misma (*IDEAM, 2006*).

4.1.3 Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, LOQ. El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las

concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica (*Eurolab España, 2016*)

4.1.4 *Exactitud*

Proximidad entre el valor medio obtenido de un conjunto de resultados y el valor de referencia aceptado; normalmente se expresa en términos de error. Se tendrán como referencia los patrones preparados en el laboratorio, y por lo menos un patrón externo certificado. La concentración de estos patrones deberá estar localizada dentro del rango de aplicación del método (*IDEAM, 2006*).

4.1.5 *Precisión*

Precisión (precisión de la medida) es una medida de cuán cerca están los resultados entre sí. Por lo general, se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, típicamente la desviación estándar (o desviación estándar relativa), calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones repetidas en un material adecuado en condiciones específicas. La precisión comprende la repetibilidad y la reproducibilidad (*UNODC, 2010*).

4.1.5.1 Repetibilidad.

La repetibilidad, supone dar la más pequeña variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista trabajando bajo unas mismas condiciones (concentraciones, equipos, reactivos y materiales) en un corto plazo de tiempo (*Eurolab España, 2016*).

4.1.5.2 Reproducibilidad

Es una medida de la precisión de los datos obtenidos entre dos o más analistas y/o laboratorios que utilizan el mismo método en similares condiciones por un tiempo determinado (*IDEAM, 2006*).

4.2 INCERTIDUMBRE

La incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando, el parámetro puede ser por ejemplo la desviación estándar o un múltiplo de ellos (Mensurando: concentración de un analito) (*Eurolab España, 2016*).

En la práctica, en química analítica es más habitual considerar incertidumbres asociadas con elementos del desempeño global del método, algunas fuentes de incertidumbre durante la realización de la validación son: muestreo, condiciones de almacenamiento, efectos instrumentales, pureza de reactivos, condiciones de medida, efectos de la muestra, efectos computacionales, corrección del blanco, efectos del operador y efectos aleatorios.

Después de identificadas cada una de las fuentes de incertidumbre se procede a la evaluación de la incertidumbre asociada a cada una de estas fuentes, esto se puede hacer primero en forma individual para luego combinarlas todas o se puede calcular directamente la contribución combinada a la incertidumbre de los resultados de algunas o todas estas fuentes, usando datos del desempeño del método (*Ellison & Williams, 2012*).

4.2.1 *Componentes de la incertidumbre*

Al estimar la incertidumbre global, puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarla de forma separada para obtener la contribución de esa fuente. Cada una de las contribuciones separadas a la incertidumbre es un componente de la incertidumbre. Cuando se expresa como desviación estándar, un componente de la incertidumbre se conoce como incertidumbre estándar. Si hay una correlación entre algunos de los componentes entonces esto tiene que tenerse en cuenta mediante la determinación de la covarianza. Sin embargo, a menudo es posible evaluar el efecto combinado de diversos componentes. Esto puede reducir el esfuerzo global y, cuando los componentes cuyas contribuciones se evalúan conjuntamente están correlacionados, puede entonces que no sea necesario considerar la correlación (*EURACHEM, 2019*).

Para un resultado de medida y , la incertidumbre total, expresada como incertidumbre estándar combinada y anotada como $U_C(y)$, es una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida por combinación de todos los componentes de la incertidumbre, sin importar cómo sea evaluada, utilizando la ley de propagación de la incertidumbre.

Para la mayor parte de los propósitos en química analítica, se debería utilizar la incertidumbre expandida U . La incertidumbre expandida proporciona un intervalo en el que se cree que está el valor del mensurando con un mayor nivel de confianza. La U se obtiene multiplicando $U_C(y)$, la incertidumbre estándar combinada, por un factor de cobertura k . La elección del factor k se basa en el nivel de confianza que se desea. Para un nivel aproximado de confianza del 95%, k es habitualmente 2 (*Eurolab España, 2016*).

4.2.2 *Tipos de incertidumbre*

- **Tipo A:** componentes que pueden ser evaluados a partir de distribuciones estadísticas de series de resultados que pueden caracterizarse por desviaciones estándar.
- **Tipo B:** pueden caracterizarse también por desviaciones estándar, pero se evalúan a partir de distribuciones de probabilidad supuestas, basadas en la experiencia o en otro tipo de información. (Pérez, 2012)

4.2.2.1 Incertidumbre combinada (A, B).

Se plantea cuando la magnitud a medir depende de otra o varias magnitudes, es decir, medidas indirectas, por lo que la incertidumbre de la variable a medir depende de la de otro parámetro ya medido de forma directa o indirecta. Para que sea aplicable la teoría que va a exponerse, es necesario que todas las medidas se realicen con las mismas condiciones, por lo que debe utilizarse el mismo instrumento y escala para medir una magnitud dentro de todo el proceso experimental, igualmente en lo posible mantener las condiciones ambientales, así como cualquier otro factor que pueda afectar la medición (Maria Paula, 2008).

4.2.2.2 Incertidumbre Expandida (U).

Proporciona un intervalo en el cual el valor de la medida es determinado con un alto nivel de confianza. (U) es obtenida por el producto entre la incertidumbre estándar combinada con un factor de cobertura k.

El valor del factor de K está basado en el nivel de confianza requerido. Para un nivel de confianza aproximadamente del 95%, K es 2 (Miranda, 2010).

El factor de cobertura K, depende de nivel de confianza requerido. Para la mayoría de los propósitos se recomienda k igual a 2. Sin embargo, este valor puede ser insuficiente cuando la

incertidumbre combinada está basada en observaciones estadísticas con pocos grados de libertad. La escogencia de este factor depende del número de grados de libertad efectivos.

La incertidumbre combinada está dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{U_{Ci}}{C_i} = \sqrt{\left[\frac{U_a}{a}\right]^2 + \left[\frac{U_b}{b}\right]^2 + \left[\frac{U_c}{c}\right]^2 + \dots + \left[\frac{U_n}{n}\right]^2} \quad (\text{Ec. 1})$$

$$U_c = U * C \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde: $U_a, U_b, U_c \dots U_n$ corresponden a la incertidumbre o tolerancia de cada una de las fuentes involucradas en el cálculo de la incertidumbre, a, b, c ... n corresponden a las magnitudes de dichas fuentes de incertidumbre y C_i corresponden a la concentración para la cual se está determinando la incertidumbre. (Guillén, 2012)

La incertidumbre expandida está dada por:

$$U = K * U_c \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

K: es el factor de cobertura

Uc: es la incertidumbre combinada.

4.2.3 *Cuantificación de los componentes de incertidumbre*

Para convertir cada componente de la incertidumbre a su respectiva incertidumbre estándar, $u(x)$, se emplean los siguientes criterios para seleccionar el tipo de función de distribución que presenta el componente en cuestión (Tabla 1):

Tabla 1 Funciones de Distribución para cálculo de Incertidumbre.

Distribución	Significado	Se utiliza cuando	Incertidumbre
Rectangular	Cada valor en el intervalo tiene la misma probabilidad de suceder	Un certificado u otra especificación establece límites ($\pm a$) sin especificar un nivel de confianza, o cuando se hace un estimado en la forma de un intervalo ($\pm a$) sin conocimiento del tipo de distribución.	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$ (Ec. 4)
Triangular	La probabilidad de ocurrencia es mayor para valores en el centro del intervalo y menor hacia los límites	Los valores cercanos a x son más frecuentes que los cercanos a los límites ($\pm a$), o cuando se hace una estimación en la forma de un intervalo ($\pm a$) descrito por una distribución simétrica.	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$ (Ec. 5)
Normal	Los datos varían aleatoriamente con distribución normal de probabilidad	Se obtiene un estimado por observaciones repetidas.	$u(x) = s$ (Ec. 6)
		Se reporta una incertidumbre como desviación estándar relativa o coeficiente de variación, sin que se especifique la distribución. Se reporta una incertidumbre en la forma de un intervalo de confianza (c), sin que se especifique la distribución.	$u(x) = s * u(x)$ $= x \left(\frac{s}{\bar{x}} \right)$ (Ec. 7)
			$u(x)$ $= x * CV/100$ (Ec. 8)
			$u(x) = \frac{c}{2 \text{ ó } 3}$ (Ec. 9) Para un 95 o 99.7%

Fuente. (Lemes, 2001).

4.3 TÉCNICA Y MÉTODO DE ANÁLISIS DE COBRE (Cu) EN AGUA.

La espectroscopia de absorción atómica, es una técnica instrumental en la cual los átomos presentes en la llama absorben parte de la radiación, por lo tanto, la señal disminuye y ese dato es lo que mide el detector, el cual posteriormente es transformado en una concentración. De acuerdo con la medición de la cantidad de luz absorbida, se puede hacer una determinación cuantitativa de la cantidad de analito. El uso de fuentes de luz especiales y una cuidadosa selección de las longitudes de onda permiten determinar elementos específicos (Skoog, 2015).

Entre los métodos más utilizados para la determinación de cobre se encuentran la espectroscopia de absorción atómica de llama y la espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotrémica. Para la realizaci3n de esta validaci3n el laboratorio de aguas de la universidad de C3rdoba decide trabajar con el primer m3todo (llama), ya que con el segundo es necesario m3s tiempo para el an3lisis de cada elemento, adem3s tiene un l3mite de detecci3n muy bajo, y la normatividad para agua permite valores relativamente altos para Cobre.

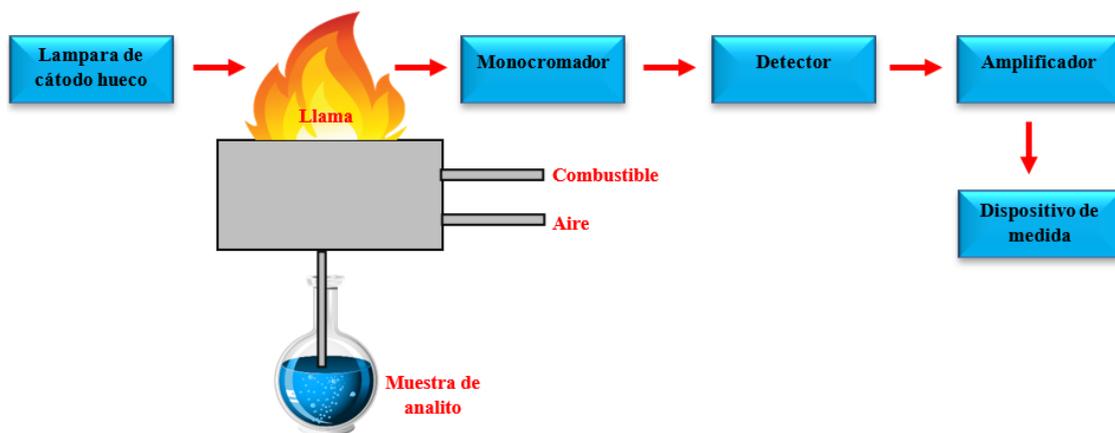


Figura 1 Experimento de absorci3n at3mica de llama. *Fuente:* Autor.

5 METODOLOGÍA

La determinación de Cobre (Cu) en agua potable, natural y residual, por espectroscopia de absorción atómica de llama, se realizó mediante el método 3111-B (Método de llama directa Aire-Acetileno) establecido en el *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 2017.

5.1 RECURSOS

5.1.1 Equipos

- Espectrofotómetro de absorción atómica *Agilent Technologies 240 AA*.
- Lámpara de cátodo hueco para Cu.
- Plancha de calentamiento.
- Extractor de Gases y Humos.
- Extractor de vapores del quemador.

5.1.2 Insumos y materiales

- Transferpipeta de 10 – 100 μL , clase A, de plástico, BRAND.
- Transferpipeta de 100 – 1000 μL , clase A, de plástico, BRAND.
- Balones volumétricos de 25 ± 0.04 mL clase A, de vidrio, SCHOTT DURAN.
- Balones volumétricos de 50 ± 0.06 mL clase A. de vidrio, SCHOTT DURAN.
- Balones volumétricos de 100 ± 0.1 mL clase A. de vidrio, SCHOTT DURAN.
- Balones volumétricos de 1000 ± 0.4 mL clase A. de vidrio, SCHOTT DURAN.
- Beaker de 100 mL, de Vidrio, SCHOTT DURAN.

- Papel filtro de 125 mm
- Frasco lavador

5.1.3 *Reactivos*

- Agua ultrapura.
- Ácido nítrico, HNO₃; al 65% grado ultrapuro. Merck, RL-19-8B-01.
- Solución Patrón. Merck de 1000 mg/L Cu

5.1.4 *Elementos de seguridad*

- Bata de laboratorio.
- Guantes de Nitrilo.
- Gafas de seguridad.
- Máscara de protección facial y/o respirador con filtros de vapores ácidos.

5.1.5 *Muestras*

Se emplearon muestras de agua natural, potable y residual. Las muestras se colectaron en envases de plástico previamente enjuagados con ácido nítrico, de acuerdo al procedimiento para lavado de material del laboratorio de aguas. Las muestras fueron preservadas con ácido nítrico concentrado hasta $\text{pH} < 2$ durante la toma y almacenadas en refrigeración a una temperatura $\leq 6^{\circ}\text{C}$, durante la ejecución de los análisis.

Las muestras de agua potable fueron tomadas del grifo del laboratorio de aguas de la universidad de Córdoba, la muestra de agua residual fue tomada de las muestras de descarte del laboratorio mencionado, procedente de la caja de registro de un taller mecánico ubicado en la ciudad de montería y la muestra natural fue tomada del Rio Sinú.

5.1.6 *Interferencias y limitaciones*

Las siguientes son las interferencias que se pueden presentar en el análisis de Cobre:

- Interfieren contenidos de Cromo (VI), Manganeso, Cobalto, Níquel, Zinc, Cadmio, y Plomo superiores a 5,000 mg/L y de hierro superior a 1,000 mg/L, igualmente altos contenidos de materia orgánica.
- Una solución de lantano de 5,000 mg/L preparada por disolución de óxido de lantano en ácido clorhídrico diluido permite eliminar las interferencias debidas a sílice, fósforo, aluminio y hierro.
- Los sólidos suspendidos que se presentan en muestras se deben eliminar por filtración.
- Se debe evitar la contaminación por metales de los recipientes, tapas, agua destilada, o de filtros de membrana, usando recipientes plásticos, tratados con ácido nítrico. El plomo es un contaminante presente en el aire y el polvo urbanos, mantener las muestras tapadas.
- Se debe evitar la contaminación con compuestos volátiles, polvo, hollín, y aerosoles.

5.2 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

5.2.1 Preparación de estándares (soluciones de trabajo y calibración)

Las soluciones de trabajo se prepararon a partir de la solución patrón de 1000 mg/L de cobre; mediante dilución con agua ultrapura en balones de 50 mL, para las soluciones de calibración la dilución se realiza en balones de 25 mL. Los estándares para la curva de calibración no se sometieron a digestión. Las curvas se prepararon con 7 estándares hasta cubrir el rango de linealidad de acuerdo a lo establecido en el *Standard Methods*. Los estándares de trabajo y calibración para la validación de cobre se preparan de la siguiente forma:

Estándar	mg /L Cu	Volumen de estándar patrón a utilizar	Aforo (mL)
Calibración	0,200	500 µL de la solución de 10 mg/L Cu	25
	0,500	1250 µL de la solución de 10 mg /L Cu	25
	1,000	25 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	25
	1,500	37,50 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	25
	2,000	50 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	25
	3,000	75 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	25
	4,000	100 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	25
Trabajo	0,600	30 µL de una solución de 1000 mg/L Cu	50
	1,500	75 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	50
	2,500	125 µL de la solución de 1000 mg/L Cu	50

Tabla 2 Preparación de estándares.

5.2.2 Preparación de muestras

Cada muestra (natural, potable y residual) se digesto por quintuplicado, adicional a esto se digesto un blanco que consiste en agua ultrapura, este procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- Se tomaron 50 mL de muestra, y 50 mL de agua ultrapura para el blanco, se transfirieron a un Erlenmeyer de 250 mL previamente marcado con el tipo de muestra y blanco.
- A cada Erlenmeyer se le adiciono 2,5 mL de HNO₃ concentrado y se inició el proceso de digestión a una temperatura de 95°C en una plancha de calentamiento, durante un promedio de dos horas hasta que quedo un residuo cercano a los 15 o 20 mL.
- El residuo se filtró en un balón de 50 mL aforado (se realizaron varios enjuagues del Erlenmeyer con agua ultrapura) y se completó volumen con agua ultrapura.

La digestión de los estándares de trabajo se realizó siguiendo el mismo procedimiento, (en este caso no fue necesario filtrar) el residuo se transfirió directamente a los balones de 50 mL y se completó volumen con agua ultrapura.

5.2.3 *Lectura en el equipo*

Para la realización de la lectura en el equipo se tuvo en cuenta las condiciones de trabajo establecidas en el *Standard Methods*.

Tabla 3 *Condiciones de trabajo para Cu*

Condiciones de trabajo					
Metal	λ , (nm)	Llama	Resolución	N° Re muestra	Ancho de ranura (nm)
Cobre	324,8	Aire-Acetileno	Alta	3	0,5

5.2.4 *LDI*

Para evaluar este parámetro se analizaron una serie de 10 blancos (agua ultrapura), a los resultados obtenidos se les calculo inicialmente la desviación estándar (*S*), luego se procedió a calcular el límite de detección mediante la siguiente formula:

$$LDI = 1,645 * S \quad (\text{Ec. 10})$$

El LDI es expresado en unidades de mg/L.

5.2.5 *LDM*

Para evaluar este parámetro se analizaron 10 estándares diferentes cuya concentración debe ser tres veces menor que el límite de cuantificación. A los resultados obtenidos se les calculo el promedio y la desviación estándar (*S*), luego se procedió a calcular el LDM utilizando la siguiente formula:

$$LDM = C_{Eb} + t_{n-1} \times S \quad (\text{Ec. 11})$$

Dónde:

C_{Eb} = Concentración promedio Del estándar analizado

t = Distribución de student para un nivel de confianza del 95% con n-1 grados de libertad

n = Número de replicas

S = Desviación estándar en el análisis de las réplicas.

5.2.6 *LC*

El límite de cuantificación se tomó como el primer punto de la curva de calibración (0,200 mg/L Cu)

5.2.7 *Linealidad e intervalo de trabajo*

Para determinar la linealidad se analizaron los estándares preparados a partir de la solución patrón de 1000 mg/L Cu comprendidos en el intervalo de trabajo de 0,200 – 4,000 mg/L Cu. Los estándares se analizaron por triplicado. Se procedió a realizar la gráfica de concentración Vs absorbancia y se definió visualmente la linealidad de los estándares.

5.2.8 *Exactitud*

La exactitud se expresa en términos de porcentaje de error (%E) y/o como porcentaje de recuperación (%R). Para analizar este parámetro cómo %E se analizaron 5 veces los estándares correspondientes a los 3 niveles de concentración: 0,600 mg /L Cu para el nivel bajo, 1,500 mg/L Cu para nivel medio y 2,500 mg/L Cu para nivel alto, durante 3 días distintos.

Para analizar la exactitud cómo %R se analizaron 5 veces, muestras de agua natural, potable y residual sin dopar y dopadas a una concentración de 1,000 mg/L Cu, durante 3 días distintos.

- La exactitud expresada como el porcentaje de error, se calcula por:

$$\%E = \left| \frac{X_i - X_t}{X_t} \right| \times 100 = \left| \frac{\text{Valor medido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} \right| \times 100 \quad (\text{Ec. 12})$$

- La exactitud expresada como porcentaje de recuperación, se calcula por:

$$\%R = \left| \frac{X}{X_a} \right| \times 100 = \left| \frac{\text{concentracion de analito hallado}}{\text{concentracion de analito añadido}} \right| \times 100 \quad (\text{Ec. 13})$$

5.2.9 *Precisión*

La precisión se establece en términos de repetibilidad y reproducibilidad, medidos en función de 3 rangos de concentración: 0,600 mg/L Cu (rango bajo), 1,500 mg/L Cu (rango medio), 2,500 mg/L Cu (rango alto).

- **Repetibilidad:** Se analizaron 5 veces cada una de las muestras (potable, natural y residual) y los estándares correspondientes a los 3 niveles de concentración que cubren el intervalo lineal (bajo, medio y alto), estas muestras y estándares fueron preparadas y analizadas bajo las mismas condiciones durante 1 día, por un mismo analista (1° analista).

- **Reproducibilidad:** Se analizan 5 veces cada una de los estándares correspondientes a los 3 niveles de concentración que cubren el intervalo lineal (bajo, medio y alto), los cuales fueron preparados y analizados bajo las mismas condiciones durante 1 día, por un analista diferente (2° analista).

5.2.10 Incertidumbre

Se establecieron todas las fuentes de incertidumbre usadas en todo el proceso de acuerdo al diagrama de causa y efecto (Figura 2):

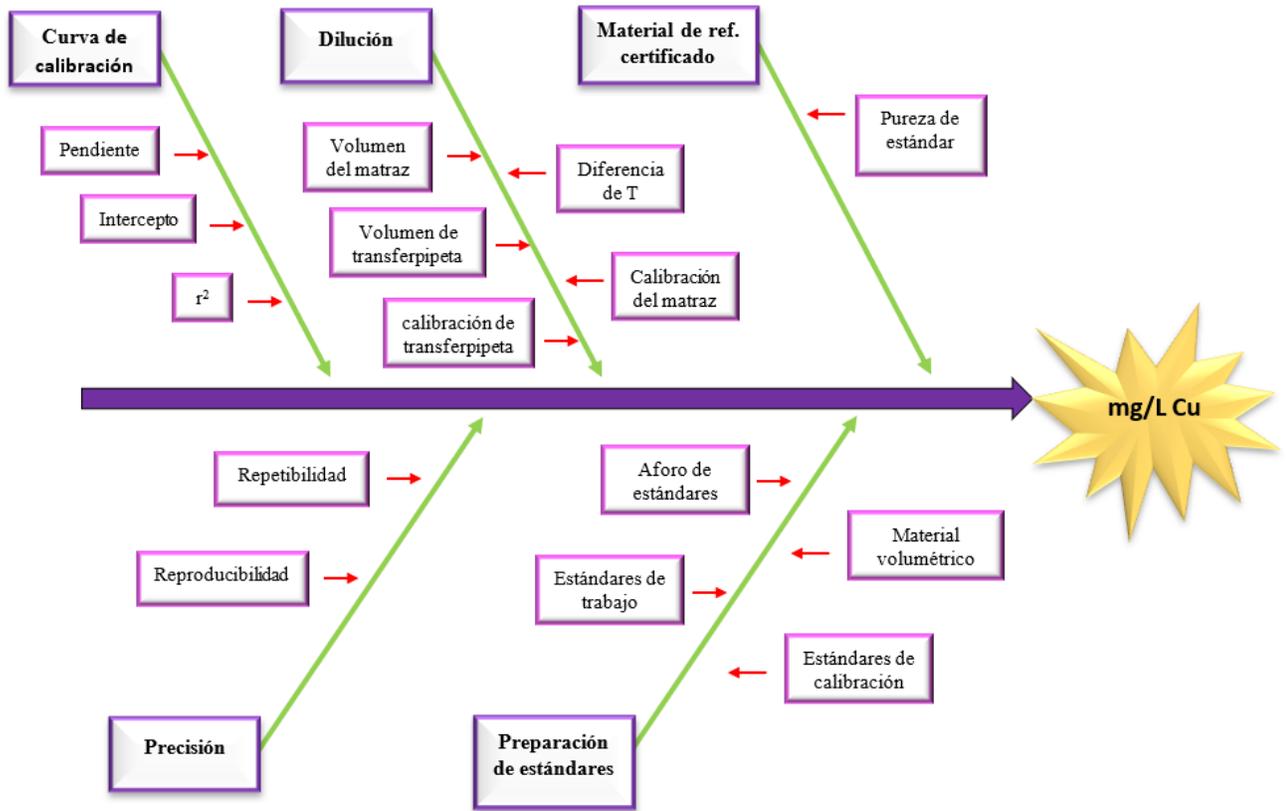


Figura 2 Diagrama de causa y efecto. Fuente: Autor.

➤ Incertidumbre por el material de referencia certificado.

Se calculo con el valor de incertidumbre del material de referencia y se utiliza la siguiente ecuación:

$$\mu_{MRC} = \frac{\mu_{RC}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 14})$$

Donde:

μ_{RC} : Es la incertidumbre reportada por el material de referencia.

➤ **Incertidumbre debida a la dilución.**

Durante el proceso de dilución se pueden identificar 2 fuentes de incertidumbre, las cuales están relacionadas con el aforo y la toma de la alícuota de la muestra. Por lo cual se hace necesario realizar una combinación de estas fuentes para hallar la incertidumbre asociada a la dilución de la muestra, pero antes se calcularon individualmente de la siguiente forma:

❖ **Incertidumbre por la variabilidad de la medición**

$$\mu_{\text{rep}} = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 15})$$

Donde:

S: desviación estándar de los datos.

n: Número de replicas

❖ **Incertidumbre por la tolerancia del material volumétrico**

$$\mu_{\text{tol}} = \frac{\mu_{\text{material}}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 16})$$

Donde:

μ_{material} : Incertidumbre reportada por el material volumétrico

❖ **Incertidumbre por la diferencia de temperatura.**

$$u_{\Delta T} = \frac{V \cdot \Delta T \cdot 2.1 \cdot 10^{-4}}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 17})$$

Donde:

V: Volumen del material.

ΔT : Diferencia de temperatura.

Finalmente, para el cálculo de la incertidumbre por el factor de dilución, se combinaron las dos fuentes de incertidumbres anteriormente mencionadas por medio de la siguiente ecuación.

$$\frac{\mu_{al}}{V_{al}} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{\Delta T}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{tol}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{rep}}{V_1}\right)^2} \quad (\text{Ec. 18})$$

➤ **Incertidumbre asociada a la curva de calibrado.**

Esta incertidumbre se obtuvo por medio de la siguiente ecuación:

$$\frac{S_{yx}}{B_1} = \sqrt{\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(C-\bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad (\text{Ec. 19})$$

Donde:

S_{yx} : desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal.

B_1 : Pendiente de la recta.

P : Número de réplicas de la muestra de estudio.

n : número de puntos en la curva de calibración multiplicado por el número de réplicas de cada punto (total de puntos).

C : Concentración de masa en estudio

\bar{C} : El promedio de las concentraciones calculadas de la solución patrón de referencia

S_{xx} : Suma de cuadrados de los residuales de la concentración obtenida.

➤ **Incertidumbre asociada a la repetibilidad de las muestras.**

Esta incertidumbre se determinó mediante el análisis de 5 muestras.

$$\mu_m = \frac{S_m}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 20})$$

Con el cálculo de la incertidumbre asociada a cada una de las fuentes señaladas, se calculó el cuadrado de las mismas, luego se calculó la incertidumbre total combinada y por último se calculó la incertidumbre final expandida (*Burgos & Estrada, 2016*).

5.3 PLAN DE ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para realizar el análisis de los resultados obtenidos se realizaron las siguientes pruebas:

5.3.1 *Análisis de varianza ANOVA*

El análisis de varianza ANOVA es una herramienta básica para el estudio del efecto de uno o más factores sobre la media de una variable continua. Se emplea para comparar las medias de dos o más grupos (*Bakieva, 2010*).

5.3.2 *Prueba de Colchram*

El Test de la Q de Cochran es un test para comprobar la igualdad de varias muestras relacionadas en una variable dicotómica. Es un test equivalente al test de McNemar pero para más de dos poblaciones.

El contraste de hipótesis tiene como hipótesis nula la igualdad de proporciones y se tiene en cuenta la siguiente tabla para hallar el valor de G_{tablas} .

Tabla 4 Prueba de Colchram G_{tablas}

Prueba de homogeneidad de varianzas de Colchram															
$\alpha=0,05$ (95%)															
G_{tablas}	N														
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17	37	145	1000	
k	2	0,998	0,975	0,939	0,905	0,877	0,853	0,833	0,815	0,801	0,788	0,734	0,660	0,581	0,500
	3	0,966	0,870	0,797	0,745	0,707	0,677	0,653	0,633	0,616	0,602	0,546	0,474	0,403	0,333
	4	0,906	0,767	0,684	0,628	0,589	0,559	0,536	0,517	0,501	0,488	0,436	0,372	0,309	0,250
	5	0,841	0,683	0,598	0,544	0,506	0,478	0,456	0,438	0,424	0,411	0,364	0,306	0,251	0,200
	6	0,780	0,616	0,532	0,480	0,444	0,418	0,398	0,381	0,368	0,336	0,313	0,261	0,211	0,166
	7	0,727	0,561	0,480	0,430	0,397	0,372	0,353	0,338	0,352	0,315	0,275	0,227	0,183	0,142
	8	0,679	0,515	0,437	0,391	0,350	0,336	0,318	0,304	0,292	0,282	0,246	0,202	0,161	0,125
	9	0,638	0,477	0,402	0,358	0,328	0,306	0,290	0,276	0,265	0,256	0,222	0,182	0,144	0,111
	10	0,602	0,445	0,373	0,331	0,302	0,282	0,266	0,254	0,243	0,235	0,203	0,165	0,130	0,100

Fuente. (Serrano & Angel, 2019)

5.3.3 Test de Durbin-Watson

El Test de Durbin-Watson permite evaluar si existe autocorrelación en una Regresión lineal, sea simple o múltiple. Con ello se pretende ver si los valores presentan algún tipo de dependencia en cuanto al orden de obtención. Si fuera así se estaría incumpliendo una de las condiciones del modelo y cuando se incumplan las condiciones de un modelo de Regresión lineal (normalidad, homogeneidad de varianzas, independencia de los datos) las estimaciones de los parámetros del modelo (los coeficientes del modelo) no tienen los criterios de calidad que se suponen (Arranz & Zamora, 2015).

5.3.4 Prueba de Grubbs

La prueba de Grubbs se utiliza para detectar valores atípicos en un conjunto de datos univariante y se basa en el supuesto de normalidad. Es decir, primero debe verificarse que sus datos pueden aproximarse razonablemente a una distribución normal antes de aplicar la prueba y se tiene en cuenta la siguiente tabla para hallar el valor de T_{tabla}

Tabla 5 Prueba de Grubbs T_{tabla}

T_{tabla} para prueba de Grubbs							
n	Rechazo datos (95%)	n	Rechazo datos (95%)	n	Rechazo datos (95%)	n	Rechazo datos (95%)
3	1,15	13	2,33	23	2,62	60	3,03
4	1,46	14	2,37	24	2,64	100	3,21
5	1,67	15	2,41	25	2,66		
6	1,82	16	2,44	26	2,67		
7	1,94	17	2,47	27	2,69		
8	2,03	18	2,5	28	2,71		
9	2,11	19	2,53	29	2,72		
10	2,18	20	2,56	30	2,74		
11	2,24	21	2,58	40	2,87		
12	2,29	22	2,6	50	2,96		

Fuente. (Serrano & Angel, 2019)

5.3.5 *Coefficiente de variación*

Es una medida de la variabilidad, también conocido como desviación estándar relativa (DER), cuyas unidades se expresan en tanto por ciento, el %CV es un ejemplo del error relativo. Para calcularla se utiliza la ecuación, donde S es la desviación estándar y \bar{X} es el promedio de las mediciones.

$$\% CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100 \quad (\text{Ec. 21})$$

6 RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados obtenidos en cada parámetro evaluado durando la validación se describen a continuación:

6.1.1 Límite de detección y cuantificación

- Para la determinación del límite de detección instrumental (LDI) se analizaron 10 blancos independientes y se procedió a realizar el cálculo de desviación estándar de las concentraciones para así aplicar la ecuación 10, obteniéndose los siguientes resultados. (Tabla 9):

Tabla 6 Determinación del límite de detección instrumental LDI

LDI (BK)	
Absorbancia	Concentración (mg/L)
0,0002	0,018
0,0000	0.019
0,0001	0,018
0,0002	0,018
0,0002	0,018
0,0005	0.016
0,0004	0,016
0,0006	0,015
0,0006	0,015
0,0007	0,015
S	0,0013
LDI	0,002

- Para la determinación del límite de detección del método (LDM) se tomó en cuenta el control de calidad analítico del *Standard Methods*, el cual establece que el límite de detección del método (LDM) debe ser 3 veces menor que el límite de cuantificación (LC), el cual como lo dice ítem 5.2.7 es el primer punto de la curva

de calibración. Se añadió analito (Cu) al agua grado reactivo para obtener una concentración (CEb) próxima al LDM estimado. Se analizaron 10 estándares independientes de 0,070 mg/L Cu, y se procedió a determinar el promedio y la desviación estándar de las concentraciones usando la ecuación 11, obteniéndose los siguientes resultados. (Tabla 10):

Tabla 7 Determinación del límite de detección del método LDM

LDM (0,07 mg/L Cu)	
Absorbancia	Concentración (mg/L Cu)
0,0173	0,073
0,0162	0,068
0,0164	0,069
0,0165	0,069
0,0172	0,073
0,0158	0,065
0,0164	0,069
0,0162	0,068
0,0164	0,069
0,0164	0,069
S	0,0024
Promedio	0,069
LDM	0,076

- El límite de cuantificación (LC), se tomó como el primer punto de la curva de calibración, obteniéndose el LC de 0,200 mg/L Cu, debido a que es la menor cantidad de analito que se puede cuantificar con una mayor precisión y exactitud.

6.1.2 Linealidad e intervalo de trabajo

Como se describe en el ítem 5.2.4 la linealidad y el intervalo de trabajo se definió desde 0,200 a 4,000 mg/L Cu. Los estándares fueron analizados por triplicado y se procedió a graficar las curvas de Concentración vs. Absorbancia (Ver anexo A), de estas 3 curvas se realizó un promedio de las concentraciones y se realizó una curva la cual representa la linealidad del sistema.

Tabla 8 Datos para la curva de calibrado de Cu.

Concentración (mg /L Cu)	Absorbancia
0,200	0,0276
0,500	0,0671
1,000	0,1306
1,500	0,1912
2,000	0,2564
3,000	0,3846
4,000	0,5268

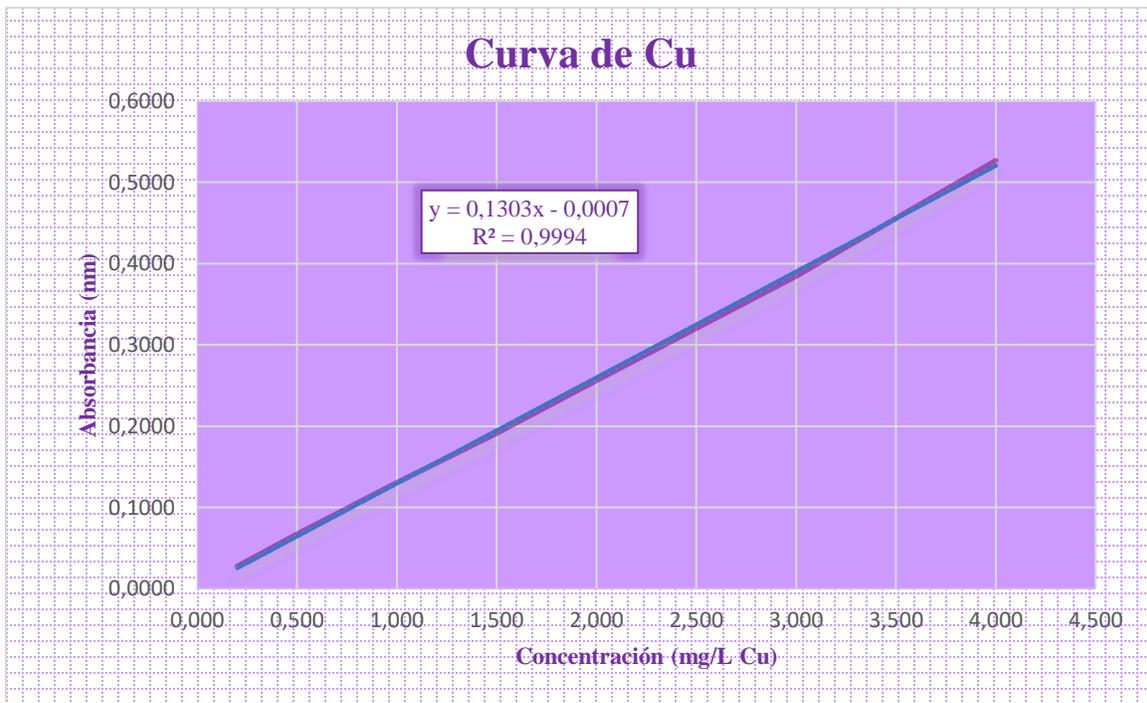


Figura 3 Curva de calibrado de Cu

La figura 2 representa un modelo lineal de la forma $Y = a + b \cdot X$ que describe la relación entre la Absorbancia y Concentración, donde:

$$a = -0,0007$$

$$b = 0,1303$$

Obteniéndose la ecuación del modelo ajustado:

$$Y = 0.1303 * X - 0,0007 \quad (\text{Ec. 22})$$

El coeficiente de correlación r es igual a 0,9997, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El coeficiente de determinación r^2 es igual a 0,9994, indicando que el modelo ajustado explica 99,94% de la variabilidad en Absorbancia.

Para comprobar la relación estadística entre la concentración y la absorbancia se realiza un análisis de varianza ANOVA, el cual nos arroja los siguientes datos. (Tabla 7):

Tabla 9 Análisis de varianza ANOVA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad Valor-P	Valor crítico para F
Entre grupos	8,0495	1	8,0495	8,4225	0,0133	4,7472
Dentro de los grupos	11,4686	12	0,9557			
Total	19,5181	13				

Puesto que el valor-P (0.0133) en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre Absorbancia y Concentración con un nivel de confianza del 95,0%. Adicionalmente se realizó una prueba de Colchram obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 8):

Tabla 10 Test de Colchram

Test de Colchram	G_{exp}	G_{tabla}
	0,718	0,561

Como se puede observar el $G_{tablas} < G_{exp}$, por lo tanto, no se encuentra homogeneidad entre las varianzas, esto se debe a que el supuesto de homogeneidad establece que los grupos con tamaños muestrales pequeños son los que presenta mayor varianza, en este caso el tamaño muestral es de tres a lo que se le atribuye este resultado.

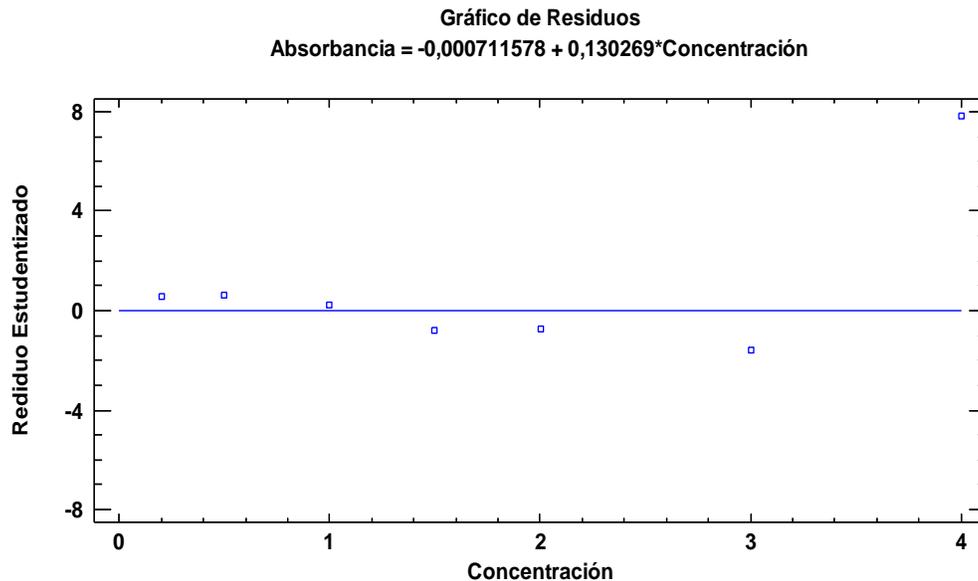


Figura 4 Grafica de Residuos Vs. Concentración

La figura 3 despliega los residuos versus los valores de Concentración. Cualquier patrón no aleatorio indicaría que el modelo seleccionado no es adecuado para describir los datos observados, para este caso se encontró que el grafico no refleja tendencia alguna, y se distribuye aleatoriamente con un error absoluto medio (MAE) de 0,00355 que corresponde al valor promedio de los residuos.

Se aplica la prueba de Durbin-Watson (DW) la cual examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa, arrojando un valor $P= 0,1041$. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de una autocorrelación serial en los residuos con un nivel de confianza del 95,00%.

6.1.3 *Exactitud*

- **% Error:** Para determinar la exactitud como porcentaje de error se analizaron tres estándares a los niveles de concentración bajo, medio y alto, como se establece en el ítem 5.2.8 y se expresaron en % error utilizando la ecuación 12 (Ver anexo B-1), los datos obtenidos se promediaron y arrojaron los siguientes resultados. (Tabla 11):

Tabla 11 Determinación del porcentaje de error

Concentración	Estándar bajo (0,6 mg/L Cu)	Estándar medio (1,5 mg/L Cu)	Estándar alto (2,5 mg/L Cu)
(mg/L Cu)	0,591	1,546	2,489
Promedio	0,590	1,552	2,562
	0,582	1,532	2,472
% Error	2,02	2,87	0,30

Como se puede observar los % de error no sobrepasan el 10%, el cual es el valor máximo aceptado por la AOAC.

- **% Recuperación:** Para determinar la exactitud como porcentaje de recuperación se analizaron muestras de agua natural, potable y residual, dopadas y sin dopar como se establece en el ítem 5.2.8, los resultados se expresaron en % recuperación utilizando la ecuación 13 (Ver anexo B-2), los datos obtenidos se promediaron y arrojaron los siguientes resultados (Tabla 12):

Tabla 12 Determinación del porcentaje de recuperación

Concentración de adicionado (mg/L Cu)	Potable dopada	Natural dopada	Residual dopada
1	83,599%	95,696%	84,648%
	84,351%	95,869%	83,568%
	79,202%	95,352%	83,959%
Promedio de %R	82,38	95,64	84,06

Como se puede observar los mejores % de recuperación se obtuvieron para la muestra natural y residual respectivamente. En conjunto los % de recuperación de cada una de las muestras de agua, se encuentran dentro de los valores establecidos por la AOAC (80% - 110%). A estos datos se les aplico un test de rechazo para descartar los datos anómalos, utilizando el contraste de Grubbs, arrojando los siguientes resultados (Tabla 13):

Tabla 13 Test de rechazo para % de recuperación

Contraste de Grubbs	Potable	Natural	Residual
T (tabla n:15. $\alpha=0,05$)	2,41	2,41	2,41
T (valor mínimo)	1,34	2,05	1,84
T (valor máximo)	2,23	1,79	1,15

De acuerdo a la tabla 13, los valores de T mínimo y T máximo que se reportan para cada rango de concentración no sobrepasan el T de tabla, por lo tanto, se cumple que T calculado < T tablas y se acepta la hipótesis nula (H₀): No se evidencian datos atípicos en la muestra.

6.1.4 *Precisión*

- **Repetibilidad:** para determinar la repetibilidad se analizaron 5 veces las muestras (potable, natural y residual) y los estándares (bajo, medio y alto), como se establece en el ítem 5.2.9, los datos obtenidos (Ver anexo C-1) fueron

promediados y se expresaron en porcentaje de coeficiente de variación mediante la ecuación 21, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 14 y 15):

Tabla 14 Repetibilidad de estándares

Concentración	Estándar bajo (0,6 mg/L Cu)	Estándar medio (1,5 mg/L Cu)	Estándar alto (2,5 mg/L Cu)
(mg/L Cu) Promedio	0,588	1,543	2,507
S	0,003	0,008	0,039
Coefficiente de variación (%CV)	0,55	0,54	1,56

Tabla 15 Repetibilidad de muestras

Muestra	Potable	Natural	Residual
(mg/L Cu) Promedio	0,065	0,015	1,882
S	0,001	0,001	0,006
Coefficiente de variación (%CV)	1,55	4,92	0,34

Como se puede observar en las tablas 14 y 15 los coeficientes de variación de todos los estándares (bajo, medio y alto) y las muestras (potable, natural y residual), se encuentran por debajo de los límites establecidos por la AOAC 2016 la cual establece que para un nivel de concentración próximo a 10 mg/L se acepta como coeficiente de variación un valor de 11%, se tiene en cuenta que ninguna de las concentraciones de los estándares o muestras supera la concentración de 3,000 mg/L, por lo cual se comprueba que los % de coeficiente de variación se encuentran en un rango aceptable. Adicionalmente se cumple el requisito establecido por el IDEAM en el que se establece que los % de coeficiente de variación para precisión deben ser menores al 10%. A estos

datos se les aplico un test de rechazo para descartar los datos anómalos, utilizando el contraste de Grubbs, arrojando los siguientes resultados (Tabla 16 Y 17):

Tabla 16 Test de rechazo para repetibilidad de estándares

Contrastes de Grubbs	Estándar bajo (0,6 mg/L Cu)	Estándar medio (1,5 mg/L Cu)	Estándar alto (2,5 mg/L Cu)
T (tabla n:15. $\alpha=0,05$)	2,41	2,41	2,41
T (valor mínimo)	1,40	1,48	1,12
T (valor máximo)	1,33	1,71	1,75

Tabla 17 Test de rechazo para repetibilidad de muestras

Contraste de Grubbs	Potable	Natural	Residual
T (tabla n:15. $\alpha=0,05$)	2,41	2,41	2,41
T (valor mínimo)	1,69	1,45	1,53
T (valor máximo)	1,27	1,55	1,58

De acuerdo a la tabla 16 y 17, los valores de T mínimo y T máximo que se reportan para cada rango de concentración no sobrepasan el T de tabla, por lo tanto, se cumple que $T_{\text{calculado}} < T_{\text{tablas}}$ y se acepta la hipótesis nula (H_0): No se evidencian datos atípicos en la muestra

- **Reproducibilidad:** Se analizan 5 veces los estándares (bajo, medio y alto) como se establece en el ítem 5.2.9, preparados y analizados bajo las mismas condiciones durante 1 día, por un analista diferente (2° analista), los valores obtenidos se promedian con los datos del 1° analista (Ver anexo C-2) y los resultados se expresaron en porcentaje de coeficiente de variación (%CV), obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 18):

Tabla 18 Reproducibilidad

Concentración	Estándar bajo (0,6 mg/L Cu)	Estándar medio (1,5 mg/L Cu)	Estándar alto (2,5 mg/L Cu)
(mg/L Cu) Promedio	0,598	1,532	2,512
S	0,017	0,020	0,035
Coefficiente de variación (%CV)	2,84	1,33	1,39

Los coeficientes de variación de todos los estándares (bajo, medio y alto), se encuentran por debajo de los límites establecidos por la AOAC correspondiente al 11% y por el IDEAM correspondiente al 10%. A estos datos se les aplicó un test de rechazo para descartar los datos anómalos, utilizando el contraste de Grubbs, arrojando los siguientes resultados (Tabla 19):

Tabla 19 Test de rechazo para reproducibilidad

Contrastes de Grubbs	Estándar bajo (0,6 mg/L Cu)	Estándar medio (1,5 mg/L Cu)	Estándar alto (2,5 mg/L Cu)
T (tabla n:20. $\alpha=0,05$)	2,56	2,56	2,56
T (valor mínimo)	0,84	1,78	1,38
T (valor máximo)	1,93	1,27	1,82

De acuerdo a la tabla 19, los valores de T mínimo y T máximo que se reportan para cada rango de concentración no sobrepasan el T de tabla, por lo tanto, se cumple que $T_{calculado} < T_{tablas}$ y se acepta la hipótesis nula (H_0): No se evidencian datos atípicos en la muestra.

6.1.5 Incertidumbre

Se establecieron todas las fuentes que contribuyeron a la incertidumbre del método como se establece en el ítem 5.2.10, estas fuentes se calcularon a partir de cuatro niveles de concentración: muy bajo (0,070 mg/L Cu), bajo (0,600 mg/L Cu), medio (1,500 mg/L Cu) y alto (2,500 mg/L Cu), correspondientes a los valores de LDM y rangos de trabajo. El cálculo de incertidumbre se realizó mediante el programa Microsoft Excel (Ver anexo D), obteniéndose los siguientes resultados (figura 4,5,6 y 7), los cuales fueron expresados en porcentaje mediante gráficos circulares para una mejor comprensión:

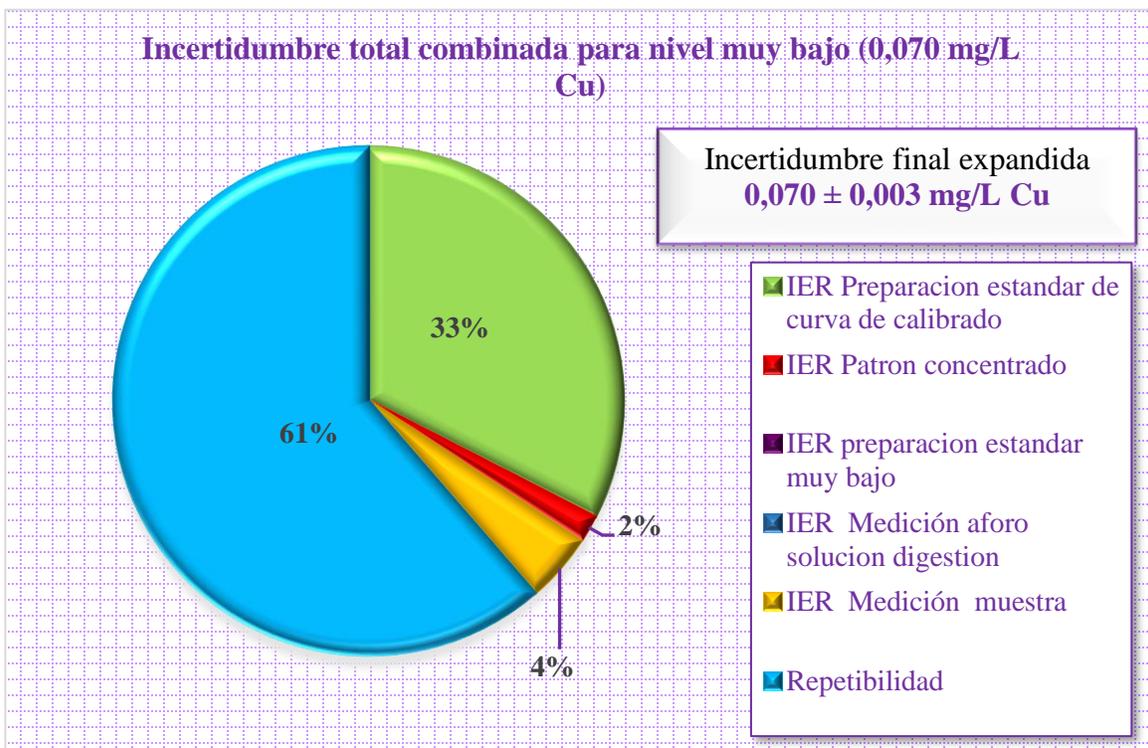
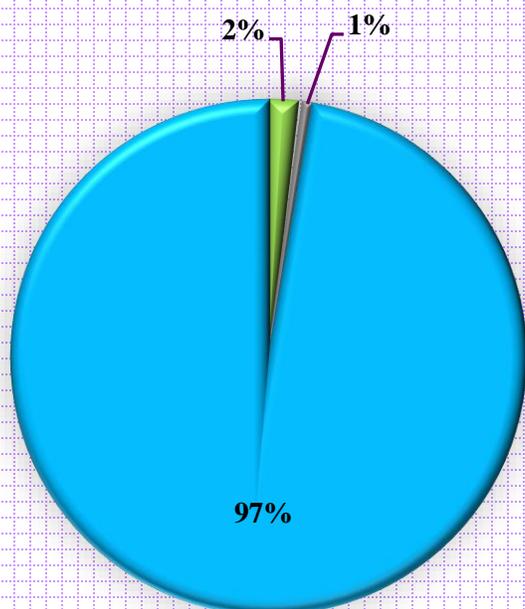


Figura 5 Incertidumbre total combinada para estándar muy bajo

Incertidumbre total combinada para nivel bajo (0,600 mg/L Cu)

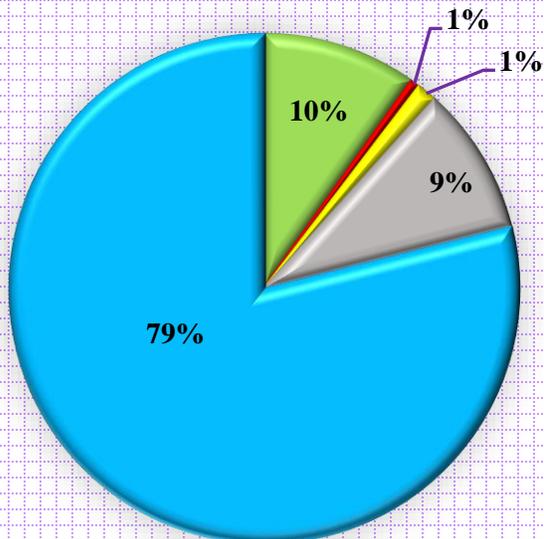


Incertidumbre final expandida
0,600 ± 0,102 mg/L Cu

- IER Preparacion estandar de curva de calibrado
- IER Patron concentrado
- IER Preparacion estandar bajo
- IER Medicion aforo solucion digestion
- IER Medicion muestra
- Reproducibilidad
- Repetibilidad
- Curva de calibrado

Figura 6 Incertidumbre total combinada para estándar bajo

Incertidumbre total combinada para nivel medio (1,500 mg/L Cu)



Incertidumbre final expandida
1,500 ± 0,108 mg/L Cu

- IER Preparacion estandar de curva de calibrado
- IER Patron concentrado
- IER Preparacion estandar medio
- IER Medicion aforo solucion digestion
- IER Medicion muestra
- Reproducibilidad
- Repetibilidad
- Curva de calibrado

Figura 7 Incertidumbre total combinada para estándar medio.

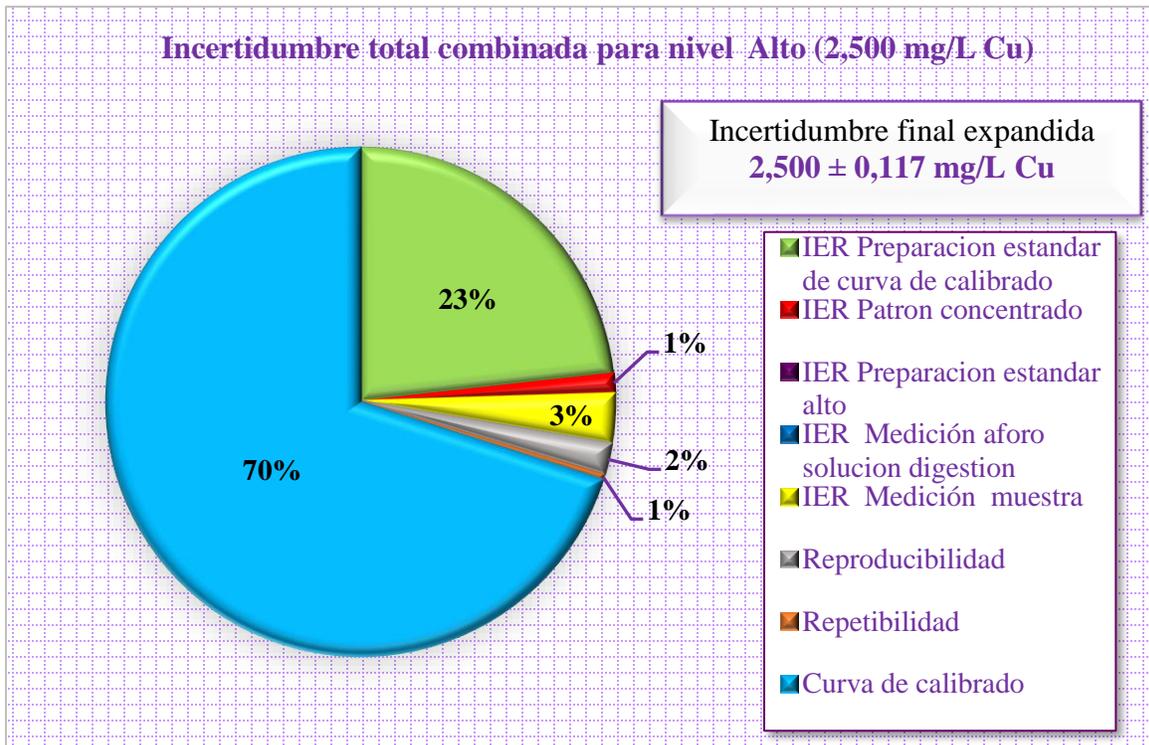


Figura 8 Incertidumbre total combinada para estándar alto

De acuerdo a los gráficos se puede determinar que las fuentes que más aportaron incertidumbre son la curva de calibrado y la preparación de los estándares de dicha curva respectivamente, esto se atribuye a que las mediciones de la curva y la preparación de los estándares son realizadas durante tres días distintos y las condiciones del laboratorio pueden variar, así como también se debe tener en cuenta que para estándares de concentraciones muy bajos se hace necesario emplear dilución en su preparación, lo que puede generar un significativo aporte de incertidumbre a las fuentes mencionadas.

La técnica de Espectroscopia de absorción atómica por el método 3111-B del *Standard Methods* (llama directa Aire-Acetileno) utilizado para la determinación de Cobre, arroja resultados favorables para ser aplicado en el laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba, ya que cumple todos los requerimientos establecidos en la norma NTC-ISO/IEC 17025:2017, también se tiene en cuenta que este método posee atributos favorables con respecto a otros como lo son: manejo del equipo más sencillo, costo de análisis relativamente bajo, volúmenes pequeños de muestra y tiempo de análisis corto.

Para la implementación del método 3111-B del *Standard Methods* en futuros análisis de Cobre se debe tener en cuenta ciertas recomendaciones como:

- Calentar la lámpara de Cu por un periodo de 10 minutos aproximadamente antes de ser utilizada, ya que esto permite un óptimo funcionamiento y estabilidad.
- Utilizar agua desionizada en todo el desarrollo del método ya que permite una señal más clara del analito previniendo errores producidos por interferencias.
- El material requerido se debe lavar siguiendo el manual de lavado para metales establecido por el laboratorio de aguas de la Universidad de Córdoba, el cual indica que este debe dejarse en Extran y solución de Ácido Nítrico al 5 % por un periodo de 30 minutos respectivamente, para luego ser enjuagado con agua desionizada y posteriormente dejar secar a temperatura ambiente. En lo posible se recomienda que durante la realización del análisis de Cobre el material no sea utilizado para otros análisis de metales, ya que el Cobre presenta mucha interferencia con otros metales como Cr, Mn, Fe, Cd y Pb.

7 CONCLUSIONES

Se comprueba la linealidad del método para el análisis de Cobre (Cu) en agua potable, natural y residual en el intervalo de trabajo de (0,200 – 4,000 mg/L Cu, asimismo, se determinó que el límite de detección del método fue de 0,076 mg/L Cu.

La precisión del método expresada como coeficiente de variación arrojó resultados que se encuentran dentro del rango aceptado por la AOAC, correspondiente al 11% y de los permitidos por el IDEAM, el cual establece que debe ser menor del 10%, por lo que se concluye que el método aplicado es preciso.

La exactitud del método cumple con los requisitos establecidos por la AOAC (%E inferior al 10% y %R entre 80-110%), de lo cual se infiere que el método es exacto, ya que los resultados tienen un alto grado de proximidad al valor verdadero.

Las fuentes que más aportaron incertidumbre al método son la curva de calibrado y la preparación de los estándares de dicha curva.

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo comprobar que el laboratorio de aguas de la universidad de Córdoba puede aplicar el método de espectroscopia de absorción atómica de llama (3111-B del *Standard Methods*) para la determinación de Cobre (Cu) en agua potable, natural y residual, ya que se confirma mediante evidencias concisas que se cumplen los requisitos exigidos por el IDEAM para la acreditación de laboratorios de ensayo y calibración, bajo la norma internacional NTC-ISO/IEC 17025:2017.

8 BIBLIOGRAFÍA

- American public Health Association, American Water Works Association, W. E. F. (2017). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2017). (A. E. G. Andrew D. Eaton, Lenore S. Clesceri (Ed.); 23rd ed.).
- Arranz, J. M., & Zamora, M. M. (2015). Análisis de Autocorrelación.
- Bakieva, M., Such, J., & Jornet, J. (2010). SPSS: ANOVA de un factor. Universidad de Valencia: Grupo de Innovación Educativa.
- Carlos Burgos Galeano Paula Estrada Palencia. (2016). Aluminio residual en agua potable mediante espectrofotometría visible validation of an analytical method for the determination of residual Resumen. Revista Nova (Colombia).
- Doria Argumedo, C., & Deluque Vilorio, H. (2015). Niveles y distribución de metales pesados en el agua de la zona de playa de Riohacha, La Guajira, Colombia. Revista de Investigación Agraria y Ambiental.
- Ellison, S. L. R., & Williams, A. (2012). Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas, Guía CG 4 EURACHEM / CITAC. In Eurachem/Citac: Vol. 3rd Edicio.
- EURACHEM, & CITAC. (2019). Establecimiento y Empleo de la Incertidumbre Objetivo en la Medición Química.
- Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. (2016). Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (Issue 1).
- Guillén, E. (2012). Incertidumbre En La Medición.

IDEAM, I. de H. M. y E. A. (2006). Estandarización De Métodos Analíticos.

IDEAM, I. de H. M. y E. A. (2018). Instructivo de confirmación o validación de métodos analíticos.

Magaly Lucía Quishpe. (2017). Validación del método para determinación de silicio asimilable en suelos mediante absorción atómica en la empresa agrocalidad. Universidad central del Ecuador.

Maria Paula, V. (2008). Estandarización de métodos analíticos usados para el análisis de agua, en el laboratorio del centro de estudios e investigaciones ambientales (CEIAM). Universidad Industrial De Santander.

Miranda, J. (2010). Evaluación de la incertidumbre en datos experimentales.

Montoya, P., & Castaño, J. G. (2005). Validación de un método cromatográfico y determinación de sulfatos en productos de corrosión atmosférica del zinc expuesto en ambientes de SO₂ y NO₂ Validation of a chromatographic method and its use in the determination of sulphates in the products of.

NTC-ISO/IEC 17025:2017 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. (2017).

Pérez, M. del M. (2012). Estimación de incertidumbres. Guía GUM. Revista Española de Metrología.

Serrano, R. C. A., & Angel, H. O. M. (2019). Estadística básica laboratorios. ASECAL.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, J., & Crouch, S. R. (2015). Fundamentos de química analítica. In CENGAGE Larning.

UNODC (Oficina de las naciones unidas contra la droga y el delito). (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos.

Yulieth C. Reyes, Inés Vergara, Omar E. Torres, Mercedes Díaz, E. E. G. (2016). Contaminacion por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo.

9 ANEXOS

9.1 Curvas de calibración

Tabla 20 Curva 1 Cu

Curva 1 Cu	
C	Abs
0,200	0,0216
0,500	0,0626
1,000	0,1237
1,500	0,1888
2,000	0,2417
3,000	0,3692
4,000	0,5155
Bk	0,0000

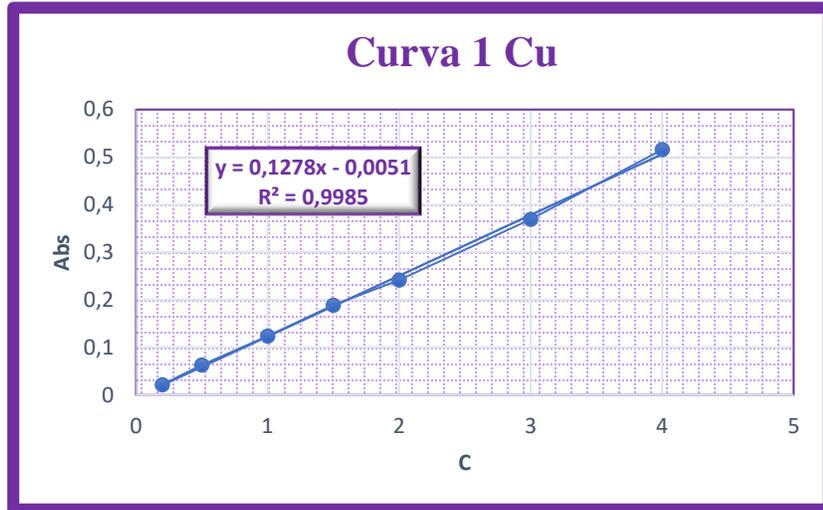


Figura 9 Curva 1 Cu

Tabla 21 Curva 2 Cu

Curva 2 Cu	
C	A
0,200	0,0292
0,500	0,0655
1,000	0,1327
1,500	0,1913
2,000	0,2493
3,000	0,3939
4,000	0,5257
Bk	0,0003

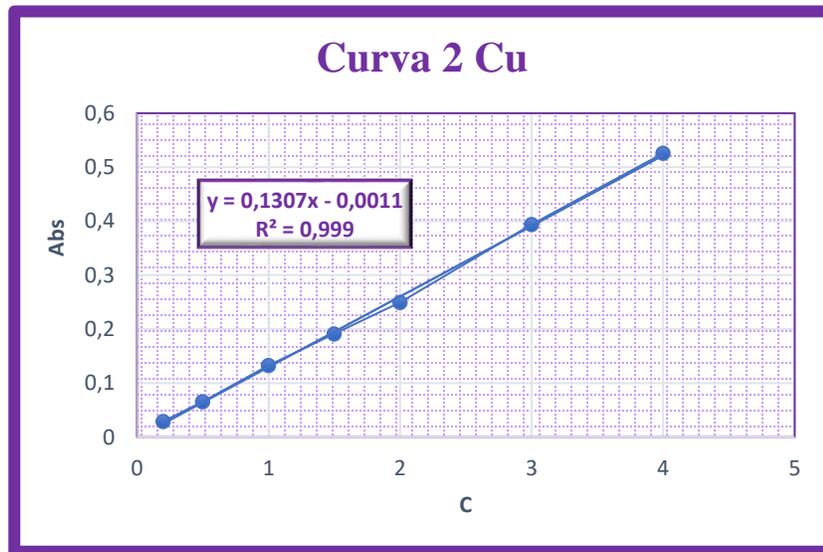


Figura 10 Curva 2 Cu

Tabla 22 Curva 3 Cu

Curva 3 Cu	
C	A
0,2	0,0319
0,5	0,0731
1	0,1355
1,5	0,1936
2	0,2782
3	0,3907
4	0,5391
Bk	-0,0006

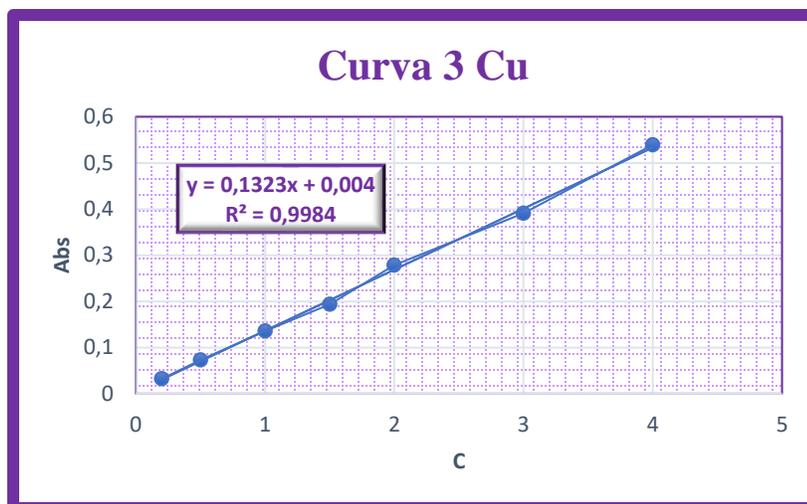


Figura 11 Curva 3 Cu

9.2 Exactitud

Tabla 23 Anexo de exactitud (%E)

		C				C				C			
		C	equipo	A	%error	C	equipo	A	%error	C	equipo	A	%error
Analista 1	día 1	0,600	0,588	0,0745	1,99	1,500	1,545	0,1968	3,00	2,500	2,494	0,3181	0,23
		0,600	0,592	0,0750	1,34	1,500	1,544	0,1967	2,95	2,500	2,482	0,3166	0,70
		0,600	0,590	0,0747	1,73	1,500	1,546	0,1969	3,05	2,500	2,481	0,3164	0,77
		0,600	0,591	0,0749	1,47	1,500	1,547	0,1971	3,16	2,500	2,489	0,3174	0,45
		0,600	0,593	0,0751	1,21	1,500	1,547	0,1970	3,10	2,500	2,498	0,3186	0,08
	día 2	0,600	0,588	0,0758	1,94	1,500	1,559	0,2027	3,95	2,500	2,580	0,3361	3,20
		0,600	0,591	0,0762	1,43	1,500	1,558	0,2025	3,85	2,500	2,559	0,3333	2,34
		0,600	0,587	0,0756	2,19	1,500	1,548	0,2012	3,19	2,500	2,563	0,3339	2,52
		0,600	0,591	0,0761	1,56	1,500	1,542	0,2005	2,83	2,500	2,542	0,3312	1,70
		0,600	0,591	0,0761	1,56	1,500	1,551	0,2016	3,39	2,500	2,565	0,3341	2,59
	día 3	0,600	0,584	0,0812	2,75	1,500	1,534	0,2069	2,24	2,500	2,475	0,3314	1,01
		0,600	0,583	0,0811	2,87	1,500	1,531	0,2066	2,09	2,500	2,474	0,3313	1,04
0,600		0,584	0,0812	2,75	1,500	1,533	0,2068	2,19	2,500	2,461	0,3296	1,56	
0,600		0,583	0,0811	2,87	1,500	1,529	0,2063	1,94	2,500	2,475	0,3314	1,01	
Analista 2	día 4	0,600	0,619	0,1220	3,14	1,500	1,502	0,2880	0,14	2,500	2,511	0,4776	0,44
		0,600	0,625	0,1231	4,11	1,500	1,495	0,2866	0,36	2,500	2,524	0,4801	0,97
		0,600	0,632	0,1241	5,00	1,500	1,509	0,2893	0,60	2,500	2,523	0,4799	0,93
		0,600	0,630	0,1237	4,64	1,500	1,496	0,2868	0,29	2,500	2,535	0,4821	1,39
		0,600	0,632	0,1244	5,26	1,500	1,494	0,2865	0,39	2,500	2,545	0,4840	1,80
Promedio Analista 1	0,600	0,588	0,0773	2,02	1,500	1,543	0,2018	2,87	2,500	2,507	0,3274	1,35	
Promedio Analista 2	0,600	0,627	0,1235	4,43	1,500	1,499	0,2874	0,36	2,500	2,528	0,4807	1,10	

Tabla 24 Anexo de exactitud (%R)

	M. potable Dopada			M. natural Dopada			M. residual Dopada		
	A	C	% REC	A	C	% REC	A	C	% REC
Dia 1	0,1124	0,885	81,85	0,1237	0,973	95,93	0,3474	2,723	82,94
	0,1132	0,891	82,55	0,1238	0,974	96,01	0,3513	2,754	85,92
	0,1165	0,917	85,21	0,1235	0,971	95,70	0,3471	2,721	85,29
	0,1152	0,907	84,27	0,1232	0,969	95,54	0,3406	2,670	82,71
	0,1154	0,908	84,12	0,1231	0,968	95,31	0,3481	2,729	86,38
Dia 2	0,1089	0,857	79,03	0,1242	0,977	96,17	0,3414	2,676	83,26
	0,1101	0,867	80,20	0,1235	0,971	95,54	0,3514	2,755	83,33
	0,1145	0,901	83,96	0,1234	0,971	95,54	0,3505	2,748	83,33
	0,1204	0,947	88,03	0,1245	0,979	96,24	0,3512	2,753	84,90
	0,1235	0,971	90,53	0,1239	0,975	95,85	0,3430	2,689	83,02
Dia 3	0,1065	0,838	77,54	0,1237	0,973	95,70	0,3459	2,712	81,14
	0,1094	0,861	79,73	0,1235	0,971	95,70	0,3514	2,755	86,38
	0,1088	0,856	79,19	0,1226	0,964	94,91	0,3451	2,705	84,35
	0,1099	0,865	80,20	0,1224	0,963	94,60	0,3463	2,715	81,46
	0,1086	0,855	79,34	0,1238	0,974	95,85	0,3481	2,729	86,46
Promedio	0,1129	0,888	82,38	0,1235	0,972	95,64	0,3473	2,722	84,06

9.3 Precisión

Tabla 25 Anexo de precisión (repetibilidad-rangos)

		Rango bajo (0,600 mg/L Cu)	Rango medio (1,500 mg/L Cu)	Rango alto (2,500 mg/L Cu)
		C	C	C
		Analista 1	Día 1	0,588
0,592	1,544			2,482
0,590	1,546			2,481
0,591	1,547			2,489
0,593	1,547			2,498
Día 2	0,588		1,559	2,580
	0,591		1,558	2,559
	0,587		1,548	2,563
	0,591		1,542	2,542
	0,591		1,551	2,565
Día 3	0,584		1,534	2,475
	0,583		1,531	2,474
	0,584	1,533	2,461	
	0,583	1,529	2,475	
		0,584	1,532	2,474
X	0,588	1,543	2,507	
S	0,003	0,008	0,039	
%CV	0,55	0,54	1,56	

Tabla 26 Anexo de precisión (repetibilidad-muestras)

	Potable	Natural	Residual
	C	C	C
Dia 1	0,066	0,014	1,894
	0,065	0,014	1,895
	0,065	0,014	1,868
	0,064	0,014	1,843
	0,067	0,015	1,865
Dia 2	0,067	0,015	1,844
	0,065	0,016	1,921
	0,061	0,015	1,914
	0,067	0,017	1,904
	0,066	0,016	1,859
Dia 3	0,063	0,016	1,900
	0,064	0,014	1,891
	0,065	0,015	1,862
	0,063	0,017	1,900
X	0,061	0,015	1,864
X	0,065	0,015	1,882
S	0,001	0,001	0,006
%CV	1,55	4,92	0,34

Tabla 27 Anexo de precisión (reproducibilidad)

Concentración	Rango bajo (0,600 mg/L Cu)	Rango medio (1,500 mg/L Cu)	Rango alto (2,500 mg/L Cu)
Promedio Analista 1	0,588	1,543	2,507
Promedio Analista 2	0,627	1,499	2,528
X	0,598	1,532	2,512
S	0,017	0,020	0,035
%CV	2,84	1,33	1,39

9.4 Incertidumbre

Tabla 28 Incertidumbre final para nivel muy bajo

INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL		
Nivel muy bajo (0,070 mg/L Cu)	Cuadrado	Fuente
1,13E-02	1,28E-04	IER Preparación estándar de curva de calibrado
2,50E-03	6,25E-06	IER Patrón concentrado
2,46E-06	6,04E-12	IER preparación estándar muy bajo
8,35E-04	6,97E-07	IER Medición aforo solución digestión
4,15E-03	1,72E-05	IER Medición muestra
1,55E-02	2,42E-04	Repetibilidad
Sumatoria	3,94E-04	
Raíz	1,99E-02	
INCERTIDUMBRE FINAL EXP	0,070	
2,8E-03	0,003	
El valor es reportado como		
0,070	±	0,003 mg/L Cu

Tabla 29 Incertidumbre final para nivel bajo

INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL		
Nivel bajo (0,600 mg/L Cu)	Cuadrado	Fuente
1,13E-02	1,28E-04	IER Preparación estándar de curva de calibrado
2,50E-03	6,25E-06	IER Patrón concentrado
8,93E-06	7,98E-11	IER Preparación estándar bajo
8,81E-04	7,76E-07	IER Medición aforo solución digestión
4,15E-03	1,72E-05	IER Medición muestra
6,60E-03	4,35E-05	Reproducibilidad
1,43E-03	2,04E-06	Repetibilidad
8,41E-02	7,07E-03	Curva de calibrado
Sumatoria	7,26E-03	
Raíz	8,52E-02	
INCERTIDUMBRE FINAL EXP	0,600	
1,0E-01	0,102	
El valor es reportado como		
0,600	±	0,102 mg/L Cu

Tabla 30 Incertidumbre final para nivel medio

INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL		
Nivel medio (1,500 mg/L Cu)	Cuadrado	Fuente
1,13E-02	1,28E-04	IER Preparación estándar de curva de calibrado
2,50E-03	6,25E-06	IER Patrón concentrado
3,82E-06	1,46E-11	IER Preparación estándar medio
8,81E-04	7,76E-07	IER Medición aforo solución digestión
4,15E-03	1,72E-05	IER Medición muestra
3,24E-03	1,23E-04	Reproducibilidad
4,35E-04	1,90E-07	Repetibilidad
3,21E-02	1,03E-03	Curva de calibrado
Sumatoria	1,31E-03	
Raíz	3,61E-02	
INCERTIDUMBRE FINAL EXP	1,5	
1,1E-01	0,108	
El valor es reportado como		
1,500	±	0,108 mg/L Cu

Tabla 31 Incertidumbre final para nivel alto

INCERTIDUMBRE COMBINADA TOTAL		
nivel alto (2,500 mg/L Cu)	Cuadrado	Fuente
1,13E-02	1,28E-04	IER preparación estándar de curva de calibrado
2,50E-03	6,25E-06	IER Patrón concentrado
3,06E-06	9,37E-12	IER preparación estándar alto
8,81E-04	7,76E-07	IER Medición aforo solución digestión
4,15E-03	1,72E-05	IER Medición muestra
3,30E-03	1,09E-05	Reproducibilidad
1,33E-03	1,76E-06	Repetibilidad
1,96E-02	3,86E-04	curva de calibrado
Sumatoria	5,51E-04	
Raíz	2,35E-02	
INCERTIDUMBRE FINAL EXP	2,5	
1,2E-01	0,117	
El valor es reportado como		
2,500	±	0,117 mg/L Cu

9.5 Plan de validación

Tabla 32 Plan de validación

PARÁMETRO:	Metales pesados (CU)
MÉTODO:	Absorción atómica
UNIDADES:	mg/L
MATRICES DE MUESTRAS:	Agua natural, agua residual y potable
VARIABLES A CUANTIFICAR:	LDI, LDM, exactitud, repetibilidad y reproducibilidad entre analistas y días, recuperación, lectura directa y proceso de digestión.
MATERIALES DE REFERENCIA:	Soluciones patrón del metal de 1000 mg/L, que sean MR trazable a NIST o PTB. Alternativamente puede usarse una sal del metal o metal purificado que MR trazable a NIST o PTB. Con esta sustancia se prepara la solución concentrada de 1000 mg/L.
ENSAYOS A REALIZAR:	
Observaciones	Para los intervalos de trabajo y línea, tener en cuenta la experiencia previa y el tipo de método a validar. Cada método (según sea absorción o emisión y según el tipo de llama) se debe validar por separado.
LDI	Preparar y leer 10 blancos, previa calibración (leídos en concentración). Calcular la desviación estándar de los blancos s y calcular el $LDI = 1,645 s$.
LDM lectura	Preparar 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 $LDM = C_{EB} + t_{n-1} \times s$
LDM	Preparar 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 $LDM = C_{EB} + t_{n-1} \times s$
INTERVALO DE TRABAJO	Preparar y analizar 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	Preparar y analizar blanco y seis o más estándares de diferentes concentraciones dentro del intervalo lineal.

	<p>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.</p>
EXACTITUD	<p>Se prepararon y analizaron 5 veces estándares que cubren los tres niveles de concentración: bajo, medio y alto para cada metal, a partir de una solución patrón de 1000 mg/L, durante 3 días distintos.</p>
MATRIZ	<p>Se analizan 5 veces muestra de aguas naturales, potable y residuales. Almacenar en cuarto frio todas las muestras desde el primer día. Se preservan llevándolas a pH cercano a 2 mediante HNO₃. Analizar (digerir y leer) cada muestra por quintuplicado por día.</p>
RECUPERACIÓN	<p>A cada muestra adicionar una cantidad conocida de solución concentrada de metal que se puedan analizar sin necesidad de dilución. Analizar (digerir y leer) 5 alícuotas de cada adicionado por día.</p>
PRECISIÓN: repetibilidad	<p>Analizar soluciones, muestras 5 veces en un mismo día.</p>
PRECISIÓN: reproducibilidad	<p>Entre días: hacer las mismas mediciones de repetibilidad durante 3 días. Entre analistas: Realizar los mismos ensayos de repetibilidad con 1 analista diferente durante 1 día; pero solo para los estándares.</p>