



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS  
PARA AGUA POTABLE EN EL LABORATORIO DE SALUD  
PÚBLICA DEL TOLIMA**

**Juan David Rincón Preciado**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos  
Bogotá, Colombia  
2019



# **VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS PARA AGUA POTABLE EN EL LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DEL TOLIMA**

**Juan David Rincón Preciado**

Trabajo final presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Magister Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Director:

PhD. Luis Felipe Gutiérrez Álvarez

Codirector:

Ingeniero químico, Axel Lombardo Ramírez Rivera.

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Bogotá, Colombia

2019



## Resumen

En este documento se presenta el procedimiento implementado para la validación y determinación de los parámetros de desempeño de las metodologías de análisis de pH, cloruros, dureza total, alcalinidad total y hierro en aguas para consumo humano, en el Laboratorio de Salud Pública del Tolima. Los parámetros determinados fueron límite de detección y cuantificación, linealidad, exactitud y precisión como repetibilidad, y precisión intermedia, en la que se evalúan las contribuciones de la variación entre días y entre analistas.

Para la validación de las cinco metodologías analíticas se obtuvieron coeficientes de variación menores al 5% evidenciando que estas son precisas bajo condiciones de repetibilidad. No hubo diferencias significativas entre los valores medidos por dos analistas diferentes en días distintos; por lo tanto, las metodologías son precisas en condiciones de precisión intermedia. Los errores relativos en la medición de pH fueron menores al 5% para los tres niveles (4,004, 6,863 y 7,415) y los porcentajes de recuperación no fueron significativamente diferentes del 100% para las demás metodologías, de manera que es posible afirmar que no existe un error sistemático significativo y que los ensayos llevados a cabo en el Laboratorio de Salud Pública son veraces.

La validación de las técnicas mencionadas proporciona herramientas necesarias para el proceso de acreditación en la Norma ISO 17025:2017.

**Palabras clave: Validación. Análisis de aguas. Trazabilidad. Control de calidad en laboratorios.**

# Contenido

	Pág.
<b>1. Antecedentes .....</b>	<b>5</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>8</b>
2.1 Objetivo general.....	8
2.2 Objetivos específicos .....	8
<b>3. Marco Teórico .....</b>	<b>9</b>
3.1 Validación .....	9
3.2 Fuentes de error .....	12
3.3 Metodología de validación .....	13
3.4 Descripción de las metodologías validadas.....	15
3.4.1 pH .....	15
3.4.2 Cloruros.....	16
3.4.3 Dureza total.....	16
3.4.4 Alcalinidad.....	17
3.4.5 Hierro .....	18
3.5 Resolución 2115 de 2007 .....	19
<b>4. Metodología.....</b>	<b>21</b>
4.2 Método de análisis .....	21
4.3 Estimación de parámetros de desempeño .....	22
4.3.1 Límite de detección y cuantificación .....	22
4.3.2 Linealidad.....	23
4.3.3 Veracidad.....	24
Error porcentual .....	24
Porcentaje de recuperación .....	25
4.3.4 Precisión .....	25
Repetibilidad .....	25
Precisión intermedia .....	26
4.3.5 Características químicas .....	27
Determinación de pH .....	27
Determinación de cloruros .....	28

---

Determinación de dureza total.....	30
Determinación de la Alcalinidad total.....	32
Determinación de Hierro.....	35
<b>5. Resultados y análisis.....</b>	<b>38</b>
5.2 Validación pH.....	38
5.3 Validación Cloruros.....	40
5.4 Validación de dureza total.....	43
5.5 Validación de alcalinidad total.....	46
5.6 Validación de hierro total.....	49
<b>6. Conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>57</b>
6.2 Conclusiones.....	57
6.3 Recomendaciones.....	57
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>61</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1-1. Relación entre los tipos de error y su medida Fuente: (Eurachem, 2016) ....	13
Figura 1-2. Procedimiento general de validación de metodologías Adaptado de: (ENFSI, 2014) .....	14
Figura 2-1. Protocolo de análisis de pH.....	28
Figura 2-2. Análisis de cloruros.....	30
Figura 2-3. Análisis de dureza total.....	32
Figura 2-4. Análisis de alcalinidad total.....	34
Figura 2-5. Análisis muestra de determinación de hierro.....	37

## Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1. Formas de alcalinidad y su relación con diferentes formas de titulaciones ....	17
Tabla 1-2. Parámetros de calidad del agua .....	19
Tabla 3-1. Datos de pH para la estimación de la repetibilidad y la exactitud a 25°C .....	39
Tabla 3-2. Datos de pH para la estimación de la precisión intermedia.....	39
Tabla 3-3. Resultados ANOVA de precisión intermedia de pH .....	40
Tabla 3-4. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y exactitud de cloruros en aguas para consumo humano.....	41
Tabla 3-5. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de cloruros en aguas para consumo humano .....	41
Tabla 3-6. Resultados de repetibilidad para el análisis de cloruros en aguas para consumo humano.....	42
Tabla 3-7. Datos concentración para la estimación de precisión intermedia de cloruros en aguas para consumo humano .....	42
Tabla 3-8. Resultados ANOVA de precisión intermedia para cloruros en aguas para consumo humano.....	43
Tabla 3-9. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y exactitud de dureza total en aguas para consumo humano .....	44
Tabla 3-10. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de la dureza total en aguas para consumo humano .....	44
Tabla 3-11. Resultados de repetibilidad para el análisis de la dureza total en aguas para consumo humano.....	45
Tabla 3-12. Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia para dureza total en aguas para consumo humano .....	45
Tabla 3-13. Resultados ANOVA de precisión intermedia para dureza total .....	46
Tabla 3-14. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y veracidad de la alcalinidad total en aguas para consumo humano. ....	46
Tabla 3-15. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de la alcalinidad total en aguas para consumo humano.....	47
Tabla 3-16. Resultados de repetibilidad en el análisis de alcalinidad total en aguas para consumo humano.....	47
Tabla 3-17. Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia para alcalinidad total en aguas para consumo humano .....	48
Tabla 3-18. Resultados ANOVA de precisión intermedia para alcalinidad total .....	48

---

Tabla 3-19 Estimadores de la regresión lineal para curvas de calibración de hierro total en aguas para consumo humano .....	52
Tabla 3-20 Datos de concentración para la estimación de exactitud y repetibilidad de hierro total en aguas para consumo humano .....	53
Tabla 3-21 Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de hierro total en aguas para consumo humano.....	54
Tabla 3-22 Resultados de repetibilidad en el análisis de hierro total en aguas para consumo humano .....	54
Tabla 3-23 Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia de hierro total en aguas para el consumo humano.....	55
Tabla 3-24 Resultados ANOVA para cálculo de precisión intermedia en hierro total.....	55

## Lista de gráficas

Gráfica 3-1 Curva de calibración Fe total No. 1 .....	50
Gráfica 3-2 Curva de calibración Fe total No. 2 .....	50
Gráfica 3-3 Curva de calibración Fe total No. 3 .....	51
Gráfica 3-4 Curva de calibración Fe total No. 4 .....	51
Gráfica 3-5 Curva de calibración Fe total No. 5 .....	51
Gráfica 3-6 Curva de calibración de la regresión, Fe total .....	52



# Introducción

El aseguramiento de la calidad, de acuerdo con el Instituto Nacional de Salud, se define como “el conjunto de actividades planificadas y sistemáticas aplicadas en un sistema de calidad para que los requisitos de calidad de un producto o servicio sean satisfechos”(Instituto Nacional de Salud, 2015).

En un laboratorio de ensayos existen diversas actividades orientadas a la prevención y minimización de errores en la calidad de sus resultados, entre las que se encuentran la creación de procedimientos de control de calidad de los ensayos, el registro y análisis de datos, una estricta documentación de la información necesaria para llevar a cabo las funciones y la definición de acciones correctivas ejecutables en el escenario de que no se satisfagan los criterios definidos.

Estas actividades hacen parte de lo que se denomina Sistema de Gestión de Calidad.

Es necesario que dicho Sistema se desarrolle bajo estándares definidos por entidades internacionales como la International Standardization Organization (ISO), de modo que al adoptarlos se pueda llegar a reconocer la competencia técnica del laboratorio. La Norma ISO 17025 proporciona los requisitos que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración, cuyo objetivo es garantizar la competencia técnica y fiabilidad de los resultados analíticos. En ella están contenidos los requisitos técnicos y de gestión, que repercuten sobre la calidad del trabajo en el laboratorio. El reconocimiento formal de que se cumple con los requisitos establecidos en esta Norma es la acreditación.

Dentro de la normatividad colombiana, el Ministerio de Salud y Protección Social expide en 2006 el Decreto 2323, por el cual reglamenta la creación de la Red Nacional Laboratorios y define las competencias de los Laboratorios Nacionales de Referencia, el Instituto Nacional de Salud - INS, y el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - INVIMA, quienes en conjunto ejercen como coordinadores de la Red a nivel nacional, siendo competencia de dichos coordinadores definir, vigilar y controlar los

estándares de calidad que deben cumplir los Laboratorios de Salud Pública Departamentales y del Distrito Capital.

Posteriormente, el Ministerio de Salud y Protección Social emite la Resolución 1619 de 2015 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2015), la cual tiene por objeto establecer el sistema de gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes de vigilancia en salud pública y gestión de calidad.

Entre los requisitos básicos definidos en la Resolución para evaluar la operación y la gestión de los laboratorios pertenecientes a la Red, se establecen criterios organizacionales y de gestión, de talento humano, de infraestructura y dotación, de referencia y contrarreferencia, de bioseguridad y manejo de residuos y procesos prioritarios, como vigilancia en salud pública y control sanitario.

Los criterios relativos a la organización y la gestión comprenden aspectos referentes al funcionamiento y los procesos que garantizan que el laboratorio efectúe con calidad, de una manera eficiente y oportuna sus actividades. Dentro de estos criterios se requiere contar con certificación o acreditación del sistema de gestión de calidad (Buenas Prácticas de Laboratorio o ISO 17025, respectivamente) (ISO, 2005).

Con el fin de lograr la acreditación en la Norma ISO 17025:2017, es necesario aportar toda la información que demuestre que el laboratorio es competente tanto técnicamente, como en el ámbito de la gestión.

Para garantizar la competencia técnica, el laboratorio debe contar con la estructura y los recursos que le permitan desempeñar sus funciones de manera eficiente y oportuna, personal y equipos calificados, métodos validados y un sistema documental que soporte la trazabilidad de las muestras. De esta manera se asegura que los resultados emitidos cuentan con un nivel de confianza acorde al fin previsto.

Por lo anterior, la validación de las metodologías es un requerimiento esencial para la acreditación en la Norma. Aunque existen definiciones que pueden variar ligeramente, dicha validación se refiere a la confirmación que los sistemas analíticos se ajustan y cumplen con los requisitos específicos para un fin previsto.

En el marco del aseguramiento de la calidad, el Laboratorio de Salud Pública del Tolima y su área de Análisis Físicoquímico tiene como objetivo obtener la acreditación en las

pruebas de determinación de pH, alcalinidad, cloruros, hierro total y dureza total en aguas de consumo humano, según la norma ISO 17025:2017, para lo cual es necesario la validación de dichas técnicas en orden de obtener evidencia que sustente la correcta aplicación de las metodologías analíticas.



# 1. Antecedentes

Es sabido que el déficit de cobertura y la calidad de los servicios de abastecimiento de agua en el país son unas de las causas generadoras de enfermedades de origen hídrico, las cuales inciden en la morbilidad y mortalidad de la población.

Si bien desde la década de los 40 se le otorgó al agua el estatus de servicio público, 80 años después el país aún no cuenta con una cobertura completa de este, actualmente declarado, *Derecho fundamental*. Por otra parte, no toda la población que tiene acceso al agua puede decir que obtiene agua de "calidad", esto debido a que no existe en todas las poblaciones la infraestructura necesaria para realizar un adecuado tratamiento de potabilización.

Es por esto por lo que en 2007 el Ministerio de la Protección Social expide el Decreto 1575, el cual establece en el Capítulo III los responsables del control y la vigilancia para garantizar la calidad del agua para el consumo humano. En él se dictan las responsabilidades de las direcciones territoriales (municipal, distrital y departamental) de las cuales se encargan los Laboratorios de Salud Pública, que, junto a otras actividades, llevan a la creación de un registro detallado que pueda dar origen a un mapa de riesgo mediante el cálculo del índice de riesgo de calidad del agua, IRCA.

Con el fin de dar cumplimiento a las responsabilidades establecidas a nivel departamental, los Laboratorios deben demostrar frente al laboratorio nacional de referencia, en este caso el Instituto Nacional de Salud, que están en capacidad de emitir resultados confiables, de manera que los mapas de riesgo sean veraces y así, se logre una optimización de los recursos al destinarlos al mejoramiento de los verdaderos focos de riesgo.

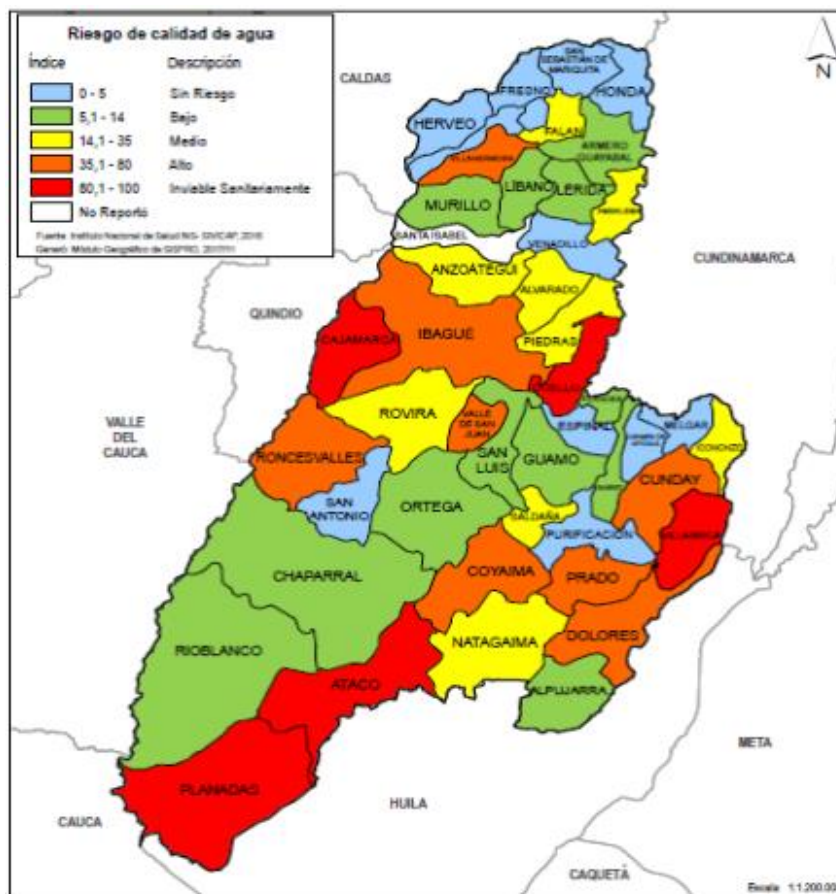
Entre las actividades realizadas por los Laboratorios de Salud Pública se encuentra la participación en el programa interlaboratorio de control de calidad de aguas potables - PICCAP, como programa de evaluación externa del desempeño. Con esta prueba se observa a desviación del laboratorio con respecto a los demás participantes. Adicionalmente, es posible demostrar la competencia técnica del laboratorio mediante el sometimiento de sus metodologías a validación.

La coordinación de las pruebas PICCAP se encuentra entre las actividades de las cuales el Instituto Nacional de Salud es responsable según lo establecido en el Decreto 1575 de

2007, junto con la definición de los requisitos necesarios para la validación y revalidación de las metodologías analíticas.

Según el último reporte del Ministerio de Salud y Protección Social en el año 2016, de los 32 departamentos en el país hubo 5 departamentos sin riesgo, Bogotá junto a 7 departamentos se clasificaron en nivel de riesgo bajo, 15 departamentos ubicados en un nivel de riesgo medio, 4 departamentos en riesgo alto y ninguno se clasificó como inviable sanitariamente (Ministerio de Salud y Protección Social, 2018). Para ese año el departamento del Guaviare no aportó información.

El departamento del Tolima hace parte de los 15 departamentos que tienen un nivel de riesgo medio; lo cual implica una mejoría con respecto al año 2015, en el cual se encontraba con un riesgo alto (Ministerio de Salud y Protección Social, 2016). El motivo por el que se cataloga de esta manera es que 5 de sus 47 municipios se encuentran etiquetados como inviable sanitariamente. A continuación, se muestra el mapa de riesgo del departamento del Tolima.



Fuente:(Ministerio de Salud y Protección Social, 2018)

Con el objetivo de mejorar la calidad de los resultados analíticos emitidos y así, poder determinar de una manera veraz los focos de riesgo en el Departamento, junto con otras razones de gestión que se comentarán más adelante, se evidencia la necesidad de realizar ensayos de validación en el Laboratorio de Salud Pública del Tolima.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo general**

Validar las metodologías para la determinación de pH, alcalinidad, dureza total, cloruros y hierro en el análisis de aguas para el consumo humano en el Laboratorio de Salud Pública del Departamento del Tolima.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Documentar el proceso de validación de las metodologías para la determinación de pH, alcalinidad total, dureza total, cloruros y hierro total en el análisis de aguas para el consumo humano en el Laboratorio de Salud Pública del Tolima.
- Determinar los parámetros de desempeño para cada metodología como los límites de detección y cuantificación, exactitud, repetibilidad y precisión intermedia.
- Elaborar el informe de validación para cada una de las metodologías según lo establecido en el protocolo de validación del laboratorio y planes de validación de cada una.

## 3. Marco Teórico

### 3.1 Validación

La validación de un método analítico puede definirse de diferentes maneras: Según la Norma ISO 17025:2005, la validación es 'la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico' (ISO, 2005). Así mismo, el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM), la define como 'la verificación de que los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto' (JCGM, 2012). Por otra parte, para la AOAC es 'el proceso de demostración o confirmación de las características de desempeño de un método de análisis' (AOAC International, 2002).

Según las definiciones anteriores la validación de una metodología analítica es básicamente la confirmación y documentación de que su implementación cuenta con los requisitos necesarios para satisfacer una aplicación, es decir, su desempeño es aceptable conforme a unos criterios previamente establecidos, y que sus resultados se ajustan de acuerdo al fin previsto.

La validación aplica, según lo estipulado en la Norma ISO 17025, a aquellos métodos no normalizados o desarrollados por el laboratorio, métodos estándar que son empleados fuera de su alcance previsto, o aquellos métodos que han sufrido modificaciones. A su vez, señala que un laboratorio debe confirmar que puede operar adecuadamente los métodos normalizados antes de introducir los ensayos o calibraciones (ISO, 2005). Lo anterior es lo que el VIM define como validación de la metodología. Esta verificación se puede encontrar definida de igual manera por diferentes instituciones como validación parcial o estandarización (IDEAM, 2006). A menudo suele verse el procedimiento de verificación como un proceso menos extenso y demandante que el de validación (INAB, 2012) Los términos validación y verificación se emplearán indistintamente en el presente documento.

La extensión o alcance de la validación depende tanto de las necesidades del cliente y del laboratorio, como del fin previsto de la metodología. Dentro de los diferentes tipos de validación existen aquellos que incluyen ensayos colaborativos interlaboratorios, usados principalmente al momento de realizar transferencias tecnológicas debidas al desarrollo de metodologías en un sector o dentro de una compañía específica a sus filiales ubicadas en diferentes puntos. Por otra parte, está la validación realizada por un único laboratorio, en la cual las características de desempeño de una metodología son estimadas por el o los analistas pertenecientes al laboratorio, dentro de sus instalaciones.

La IUPAC, en su guía para la validación de metodologías analíticas en un laboratorio, lista una serie de escenarios en los que la validación puede variar según el fin previsto. Luego, el alcance de la validación puede variar si (IUPAC, 2002):

- Se emplea una metodología validada, que ha tenido estudios colaborativos, y el laboratorio debe verificar que es capaz de alcanzar el desempeño alcanzado por la publicación. Este puede ser el caso de las metodologías dadas por el Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water o por la AOAC.
- Se emplea una metodología validada pero aplicada a una matriz nueva, y el laboratorio debe verificar que la matriz no introduce fuentes de variación al sistema analítico.
- Se emplea una metodología ampliamente conocida y bien establecida, mas ésta no cuenta con estudios colaborativos interlaboratorios.
- Se emplea un método publicado en literatura científica que pueda o no haber compartido sus características analíticas.
- Existe cambios de equipos, instrumentos o lotes de reactivos variables, o personal nuevo. En este caso se busca demostrar que los cambios efectuados no perjudican el desempeño de la metodología. Ensayos de sesgo y experimentos antes y después del cambio sobre material de control pueden ayudar a tomar decisiones sobre la necesidad de una revalidación.

En los casos anteriores es necesaria la determinación de diferentes características de desempeño como la precisión de la metodología, tanto repetibilidad como precisión intermedia, la veracidad, los límites de detección y cuantificación, la linealidad y la incertidumbre. Como tal, la incertidumbre de medida no es una característica del desempeño de un procedimiento de medida particular, pero sí de los resultados obtenidos al usar dicho procedimiento (Eurachem, 2016). Características como la especificidad del

método y la robustez pueden ser omitidas si la metodología implementada se encuentra estandarizada y completamente validada por alguna institución. Las definiciones de los parámetros de desempeño se muestran a continuación.

- **Precisión:** Es la proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones específicas de acuerdo con el vocabulario metroológico internacional elaborado por la *Joint Committee for Guides in Metrology* (JCGM, 2012). Se suele expresar mediante medidas de dispersión tales como la desviación estándar o el coeficiente de variación. Esta puede a su vez referirse a Repetibilidad, Precisión Intermedia o Reproducibilidad. La primera medida de precisión es aquella obtenida a partir de ensayos en condiciones de repetibilidad, es decir, las mismas condiciones de operación, mismo lugar y mismo operador, en un intervalo corto de tiempo. La precisión intermedia, por su parte, comprende la variación de diversos factores, ya sea debida a diferente analista, calibraciones o tiempo. Finalmente, la reproducibilidad es la precisión obtenida en un conjunto de mediciones que han sido realizadas bajo diferentes condiciones en diferentes laboratorios (JCGM, 2012).
- **Veracidad:** Es la proximidad entre la media de una serie de valores medidos y un valor de referencia. Este término es comúnmente interpretado como la Exactitud en la literatura; sin embargo, la Exactitud hace referencia a la proximidad entre un valor medido y un valor verdadero (JCGM, 2012). Algunas fuentes incluso se refieren a la exactitud como la combinación de la veracidad y la precisión (Eurachem, 2016). La medida cuantitativa se proporciona en términos de sesgo, el cual es inversamente proporcional a la veracidad, y se determina mediante el uso de material de referencia certificado (MRC) o material de referencia (MR) en caso de no contar con MRC. De igual manera, otra indicación de la veracidad puede ser otorgada por la determinación del porcentaje de recuperación. La recuperación es la proporción de la cantidad de analito adicionado a una muestra la cual puede ser determinada cuantitativamente mediante la metodología empleada. Usualmente se asocia con la preparación de la muestra, extracción del analito de la muestra y otros procedimientos previos a la determinación (NATA, 2015).
- **Rango de trabajo:** Corresponde al intervalo de concentración del analito dentro del cual el método se puede considerar como validado (ICH, 2013).

- **Linealidad:** Es la capacidad, dentro de un rango dado, de obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en la muestra (ICH, 2013).
- **Límite de detección:** Es la cantidad o concentración más pequeña de analito que puede distinguirse con confianza de cero (ISO, 2006). En otras palabras, es la concentración mínima detectable del analito.
- **Límite de cuantificación:** Este límite corresponde a la mínima cantidad o concentración de analito que puede ser cuantificada con un nivel aceptable de repetibilidad y veracidad (Eurachem, 2016).
- **Incertidumbre:** Es un parámetro asociado con el resultado de la medición que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mesurando (AOAC International, 2002).

### 3.2 Fuentes de error

En el análisis químico pueden distinguirse tres tipos de error; error grosero o accidental, fácilmente identificable para un analista debido a su magnitud, error aleatorio que provoca que los resultados individuales difieran unos de otros de manera que se ubican alrededor de la media, y error sistemático, el cual tiene como consecuencia que los resultados experimentales serán erróneos en el mismo sentido, es decir, sesgado (Miller & Miller, 2002).

En las mediciones analíticas se presentan errores provenientes de diversas fuentes. Errores aleatorios en la medición, efectos de la corrida, efectos del laboratorio, sesgo del método y el efecto matriz.

Los errores dentro de la corrida se agrupan en la repetibilidad e incluyen la contribución de cualquier parte del procedimiento que pueda variar dentro de la misma, tales como errores de pesada y volumétricos, heterogeneidad de los reactivos y variaciones en las etapas del tratamiento de la muestra. El efecto de la corrida también considera variaciones entre días, cambios en los analistas, lotes de reactivos o calibraciones; estas últimas variaciones se agrupan en la precisión intermedia (Miller & Miller, 2002).

Durante la validación en un laboratorio se corre el riesgo de que el sesgo del laboratorio se pase por alto. Esta fuente de error suele ser la de mayor magnitud, entre las que se mencionaron anteriormente, y la que más contribuye a la incertidumbre del resultado.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, ilustra la relación entre los tipos de error y su medida.

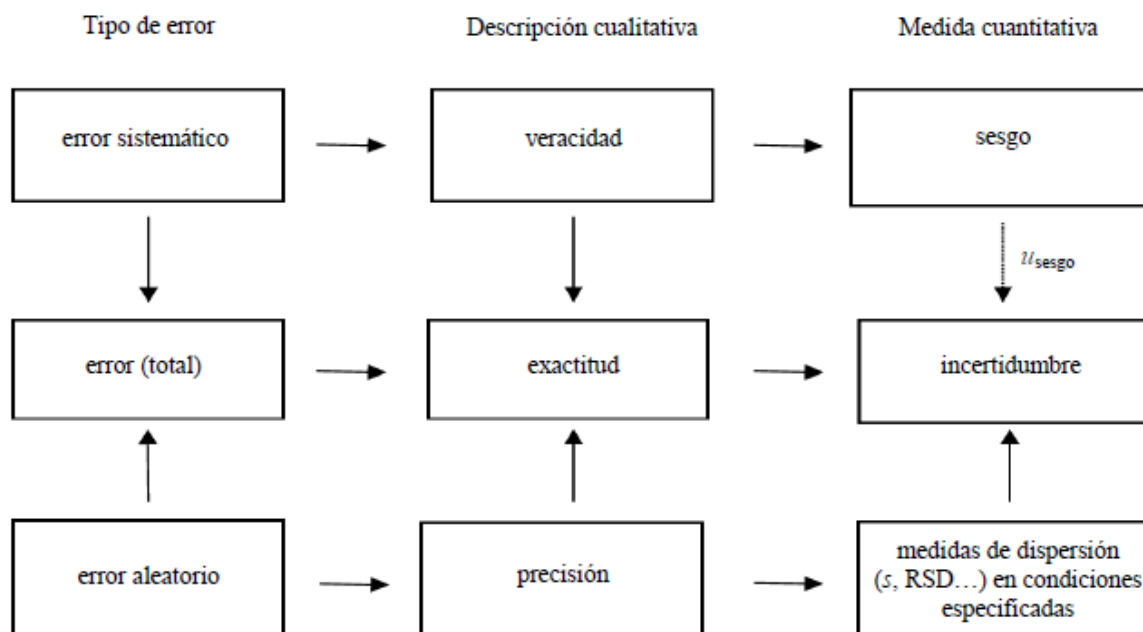


Figura 3-1. Relación entre los tipos de error y su medida Fuente: (Eurachem, 2016)

### 3.3 Metodología de validación

Durante la etapa inicial de la validación, se designa una persona quien es la encargada de realizar el plan de validación. A su vez, debe encargarse de llevar toda la documentación requerida para el proceso.

El plan de validación debe contener entre otras cosas el alcance, el principio de la metodología, los parámetros de desempeño a determinar y los criterios de aceptación para los mismos, y el diseño experimental que se llevará a cabo.

El plan de validación debe ser revisado por el Coordinador del laboratorio o el jefe de calidad con el fin de asegurar que su contenido es pertinente con las necesidades del laboratorio.

El trabajo de validación se debe desarrollar tal y como se especifica en el plan de validación. Es necesario realizar una revisión regular de los resultados durante la ejecución de la validación con el fin de observar si los criterios de aceptación se cumplen. Cuando los criterios no se cumplen debe señalarse las modificaciones requeridas; sin embargo, si dichas modificaciones son mayores, se hace necesario el rediseño del plan de validación (ENFSI, 2014).

El informe de validación debe incluir toda la información necesaria para determinar los parámetros de desempeño y medir así la aptitud de la metodología. Es importante incluir en este informe los datos crudos obtenidos durante el proceso de validación.

El procedimiento general para la validación de las metodologías analíticas llevadas a cabo se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

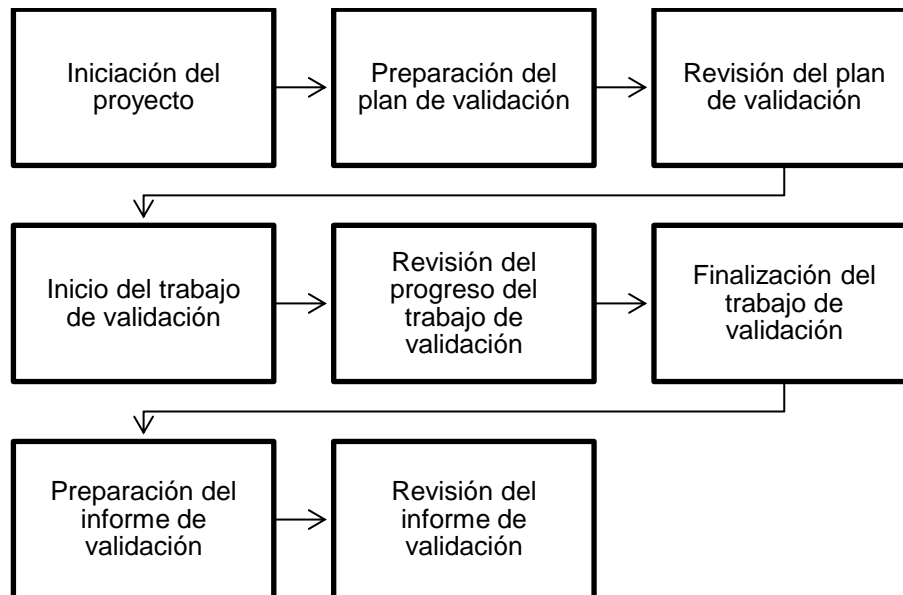


Figura 3-2. Procedimiento general de validación de metodologías Adaptado de: (ENFSI, 2014)

## 3.4 Descripción de las metodologías validadas

### 3.4.1 pH

La medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Todas las operaciones realizadas durante su tratamiento para el suministro y disposición de agua residual, como la neutralización, suavizado, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión son dependientes del pH (Londoño, Giraldo, & Gutierrez, 2010).

El pH puede definirse en términos de la actividad de los protones en una solución como  $pH = -\log a_{H^+} = -\log (m_{H^+}\gamma_{H^+}/m^\circ)$

Donde  $a_H$  es la actividad del protón en solución acuosa,  $\gamma_{H^+}$  es el coeficiente de actividad de los protones en la solución a la molalidad  $m_{H^+}$ , y  $m^\circ$  es la molalidad estándar (IUPAC, 1997).

El principio básico de la medida electrométrica del pH es la determinación de la actividad de los iones hidrogenión con medidas potenciométricas mediante el uso de un electrodo estándar de hidrógeno y un electrodo de referencia. Debido a la dificultad del manejo, en la práctica es comúnmente utilizado el electrodo de vidrio. La fuerza electromotriz (FEM) producida en el sistema del electrodo de vidrio varía linealmente con el pH. Esta relación lineal se describe al graficar la FEM medida en función del pH de diferentes soluciones tampón. El pH de la muestra es determinado, luego, por interpolación (AWWA, 1995).

El instrumento consiste en un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo para la compensación por temperatura. Al sumergir los electrodos en la solución de la muestra se completa un circuito a través del potenciómetro.

Muchos pH-metros son capaces de dar lecturas en unidades de pH o milivoltios, y algunos están en la capacidad de medir hasta 0.001 unidades de pH. Sin embargo, estos instrumentos no suelen ser muy precisos (AWWA, 1995).

### 3.4.2 Cloruros

El anión cloruro es uno de los iones inorgánicos más abundantes en aguas superficiales y de desecho. Su concentración aumenta normalmente con el aumento de minerales (Londoño et al., 2010).

Los cloruros en concentraciones considerables no afectan la salud humana. Concentraciones sobre los 250 mg Cl/L dan sabor salino al agua, haciéndola desagradable para el consumo humano. Industrialmente, altas concentraciones de este anión aceleran la corrosión en reactores y calderas.

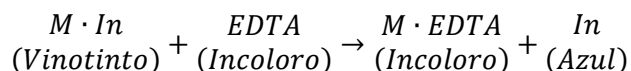
Para su determinación el ion cloruro puede ser titulado con nitrato mercúrico,  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , debido a la formación de cloruro de mercurio. En el rango de pH comprendido entre 2.3 y 2.8, la difenilcarbazona indica el punto final de la titulación por la formación de un complejo purpura con el exceso de iones mercúricos (AWWA, 1995).

### 3.4.3 Dureza total

La dureza total se define como la suma de los iones calcio y magnesio. Químicamente la dureza del agua es una propiedad causada por la presencia de cationes metálicos bivalentes y se manifiesta por su reacción con el jabón para formar precipitados y con ciertos aniones para formar incrustaciones (Londoño et al., 2010).

El ácido etilendiaminotetraacético y su sal sódica (EDTA) forman un quelato soluble cuando se adicionan a una solución de ciertos cationes metálicos. Si una pequeña cantidad de colorante, como el negro de eriocromo T o la calmagita, se adiciona a una solución acuosa que contenga iones de calcio y magnesio a un pH de 10, la solución se torna de color vinotinto. Si se adiciona EDTA como titulante, el calcio y el magnesio formarán un complejo. Cuando se hayan acomplejado todos los iones la solución virará de vinotinto a azul, marcando el final de la titulación. En la titulación debe haber presencia del ion magnesio para garantizar un punto final satisfactorio (AWWA, 1995).

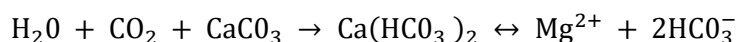
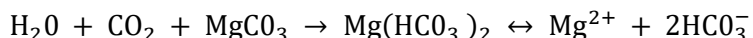
La reacción de la titulación junto con el indicador es



Siendo M el metal bivalente, calcio o magnesio en este caso, e In el indicador, negro de eriocromo T (Harris, 1992).

### 3.4.4 Alcalinidad

La alcalinidad de la mayor parte de los recursos hídricos naturales es causada por las sales de bicarbonato disueltas, que se forma por la acción del dióxido de carbono sobre los materiales básicos (Londoño et al., 2010):



La alcalinidad es importante en el uso y tratamiento de aguas naturales y residuales. Debido a que la alcalinidad de algunas aguas superficiales es principalmente una función del contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, se toma como indicador de la concentración de estos compuestos. Otras sales débiles como silicatos, fosfatos, boratos también contribuyen en pequeñas cantidades a la alcalinidad, al igual que el amoníaco.

La alcalinidad está expresada como alcalinidad a la fenolftaleína, o como alcalinidad total. La primera corresponde al contenido total de hidróxido y carbonato presentes en la muestra, y la segunda, además de los anteriores, incluye el contenido de bicarbonato.

La Tabla 3-1, presenta las diferentes formas de alcalinidad y su relación con los resultados de las diferentes titulaciones. La clasificación asume que toda la alcalinidad se debe a hidroxilos, carbonatos y bicarbonatos, y también asume la ausencia de otras bases orgánicas e inorgánicas (AWWA, 1995).

Tabla 3-1. Formas de alcalinidad y su relación con diferentes formas de titulaciones

Resultado de la titulación	Hidróxidos (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Carbonatos (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	Bicarbonatos (mg CaCO <sub>3</sub> /L)
F = 0	0	0	T
F < ½ T	0	2F	T-2F
F = ½ T	0	2F	0
F > ½ T	2F-T	2(T-F)	0

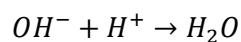
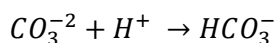
---

F = T	T	0	0
-------	---	---	---

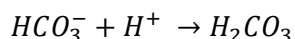
---

\*F= Alcalinidad a la fenolftaleína; T= Alcalinidad total. Fuente: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters (AWWA, 1995).

Para muestras con pH por encima de 8,3, la titulación se hace en dos etapas, si se requiere la distinción de los tipos de alcalinidad. En una primera etapa se titula la muestra hasta pH 8,3, punto de viraje de la fenolftaleína, allí se neutralizan los hidróxidos y se da la conversión de carbonatos en bicarbonatos, como se muestra a continuación.

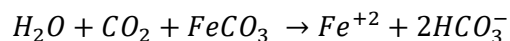


Durante la segunda fase, se continúa adicionando ácido hasta pH 4,5, que corresponde al viraje del indicador mixto utilizado (mezcla de verde de bromocresol y rojo de metilo) de un color azul a rosa champaña. A este pH se neutralizan los bicarbonatos en ácido carbónico (Londoño et al., 2010).

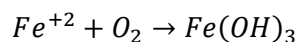


### 3.4.5 Hierro

Este metal crea problemas en aguas de servicio público, siendo mayores cuando se trata de aguas subterráneas. Por lo general se encuentra en solución en su forma bivalente. Al estar presente en el suelo, puede solubilizarse con ayuda del dióxido de carbono del agua, como se muestra a continuación (Perez, 1981).



Al momento en que el agua que contiene hierro entra en contacto con el aire y el oxígeno, se torna turbia e inaceptable sensorialmente por la formación de óxido férrico hidratado insoluble, dado por la oxidación del hierro ferroso a hierro férrico, el cual produce una coloración roja.



Altas concentraciones de hierro en el agua causan manchas en tuberías, baterías sanitarias, ropa y utensilios de cocina, y puede ocasionar la aparición de un sabor y un color cuestionable en los alimentos (ASTM, 1985).

El método empleado para su determinación se basa en la lectura espectrofotométrica de una solución en la que ocurre la formación de un complejo de color rojo anaranjado, debido a que los átomos de hierro ferroso son quelados por las moléculas de fenantrolina. Dicha solución obedece a la ley de Beer y su intensidad es independiente del pH en el rango de 3 a 9 (AWWA, 1995).

### **3.5 Resolución 2115 de 2007 del Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo territorial.**

En la resolución 2115 de 2007 se señalan, entre otras cosas, las características que debe tener el agua para el consumo humano. Allí se estipulan los valores máximos aceptables para las características físicas y químicas del agua. Se listan las características químicas que tienen un reconocido efecto adverso en la salud humana, aquellas que tienen implicaciones sobre la salud y aquellas que tienen consecuencias económicas y afectan en menor medida la salud.

Los cloruros, alcalinidad total, dureza total y de hierro total hacen parte de las características químicas que tienen consecuencias económicas e indirectas sobre la salud humana (Ministerio de la Protección, Social, & Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007).

Los valores máximos permitidos de parámetros de calidad de agua mencionados anteriormente, se encuentran descritos en la Tabla 3-2.

Tabla 3-2. Parámetros de calidad del agua

<b>Característica</b>	<b>Expresada como</b>	<b>Valor máximo aceptable</b>
-----------------------	-----------------------	-------------------------------

---

<b>pH</b>	Unidades de pH	6,5-9,0
<b>Cloruros</b>	Cl <sup>-</sup>	250 mg/L
<b>Dureza total</b>	CaCO <sub>3</sub>	300 mg/L
<b>Alcalinidad total</b>	CaCO <sub>3</sub>	200 mg/L
<b>Hierro total</b>	Fe	0,3 mg/L

---

Adaptado: Resolución 2115 de 2007 (Ministerio de la Protección et al., 2007)

## 4. Metodología

Durante la pasantía realizada en el Laboratorio de Salud Pública del Tolima se apoyaron todas las actividades que allí se realizan en el área de Análisis Físicoquímico, entre ellas: el monitoreo de la calidad físicoquímica de los alimentos y aguas de consumo humano de los 47 municipios del Departamento para la determinación del índice de riesgo; el desarrollo, actualización y corrección de procedimientos para las metodologías de análisis; elaboración y puesta en marcha del protocolo de validación que se ajusta a las necesidades del laboratorio, junto con los planes de validación de las metodologías.

### 4.2 Método de análisis

En el planteamiento del proceso de validación se tomaron en consideración las recomendaciones dadas por varias guías para establecer el número de determinaciones necesarias en la recolección de información analítica, algunas de ellas son las guías de validación de la IUPAC (IUPAC, 2002), de la *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use*, o ICH, y la *National Association of Testing Authorities, Australia*, o NATA (NATA, 2015).

Para la determinación de los parámetros de desempeño de las diferentes metodologías se prepararon soluciones tampón estándar, en el caso del pH, y soluciones patrón con concentraciones conocidas y soluciones de matrices enriquecidas con el analito de interés.

La concentración de las soluciones a analizar se ha establecido teniendo en cuenta los intervalos de concentración que contienen las muestras que son analizadas regularmente.

Para la determinación de las características de desempeño, veracidad y repetibilidad, se prepararon tres lotes de muestras fortificadas independientes a tres niveles, los cuales fueron analizados por triplicado:

- M1 + 0.5M1
- M1 + 0.25C
- M1 + 0.75C

Para la determinación de la precisión intermedia cada analista preparó diariamente la solución madre, que se empleó para la preparación de los niveles seleccionados para la medición,

- 0.09C
- 0.9C
- C

Donde M1 es la concentración de una matriz real de agua y C es la concentración máxima permitida para el parámetro según lo estipulado en la Resolución 2115 del 22 de junio de 2007; el valor máximo para los parámetros se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

En el caso del pH, ya que el parámetro de recuperación no aplica, se determinó el error relativo y los demás parámetros que aplican para dicha metodología empleando las soluciones estándar de pH mencionadas más adelante.

Adicionalmente, las determinaciones se realizaron en un orden especificado por una tabla de números aleatorios, según las posiciones relativas asignadas durante cada corrida con el objeto de minimizar el error sistemático.

## 4.3 Estimación de parámetros de desempeño

### 4.3.1 Límite de detección y cuantificación

Para la estimación de estos parámetros se emplearon dos aproximaciones, dependiendo del tipo de metodología.

Se utilizaron muestras blanco o muestras con bajas concentraciones de analito, que se puede obtener mediante diluciones sucesivas. Se obtuvieron 10 valores de réplicas del blanco de matriz y se calcula el valor promedio obtenido y la desviación estándar de los datos; el Límite de Detección y de Cuantificación es

$$LD = X + 3,3 * SD_b$$

$$LC = X + 10 * SD_b$$

Donde, LD y LC son límite de detección y límite de cuantificación, respectivamente,  $X$  la concentración promedio obtenida y  $SD_b$  la desviación estándar de los datos de señal obtenidos (ICH, 2013).

Por otra parte, teniendo en cuenta que la estimación de estas características de desempeño para métodos espectrofotométricos puede realizarse basado en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente de la curva de calibración, se prepararon 5 curvas compuestas de 7 niveles de concentración. Posteriormente se realizó la regresión lineal por mínimos cuadrados para determinar los parámetros de la curva de calibración (Pendiente, intercepto, coeficiente de determinación) y sus correspondientes desviaciones. Luego, los límites pueden expresarse de la siguiente manera.

$$LD = \frac{3,3 * Sa}{b}$$

$$LC = \frac{10 * Sa}{b}$$

Donde  $Sa$  es la desviación estándar de la respuesta, basada en la curva de calibración y se obtiene a partir de la regresión por mínimos cuadrados de las diferentes curvas, y  $b$  es la pendiente de la curva promedio, obtenida también de la regresión (ICH, 2013).

### 4.3.2 Linealidad

Se analizaron 7 concentraciones en el rango de trabajo, obteniendo 5 réplicas de cada nivel de concentración. Las soluciones se prepararon a partir de la dilución de una solución estándar madre.

La evaluación de la linealidad se efectuó mediante el análisis de los estimadores de la regresión como la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación momento - producto,  $r$ , calculando el estadístico *t-student* para cada estimador y comparando con el valor tabulado con  $n-2$  grados de libertad y un nivel de confianza del 95% (ICH, 2013).

Para la pendiente se tiene:

$$t_b = \frac{b}{S_b}$$

Donde  $b$  es el valor de la pendiente obtenido a partir de la regresión y  $S_b$  es la desviación estándar de la pendiente. Siendo la hipótesis nula  $H_0$  que la pendiente sea igual a cero, el criterio de aceptación del parámetro linealidad es el rechazo de  $H_0$ , o en otras palabras que el  $t$  calculado sea mayor que el  $t$  tabulado.

Para el intercepto se calculó de la siguiente manera:

$$t_a = \frac{a}{S_a}$$

Donde  $a$  es el valor del intercepto y  $S_a$  es la desviación estándar del intercepto, ambos obtenidos a partir de la regresión. El criterio de aceptación en este caso es contrario al de la pendiente. Siendo  $H_0$ :  $a = 0$ , el criterio de aceptación de la linealidad es la aceptación de  $H_0$ .

Para el coeficiente de correlación el  $t$  calculado de estimó como se muestra a continuación:

$$t = \frac{|r| \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

La hipótesis  $H_0$  es  $r_{xy} = 0$ , no existe correlación entre  $x$  e  $y$ , por lo tanto, el criterio de aceptación está dado por el rechazo de  $H_0$  cuando  $t$  calculado es mayor al tabulado.

### 4.3.3 Veracidad

#### Error porcentual

Para determinar el error porcentual se utilizó material de referencia ante la falta de material de referencia certificado. Para este fin, se realizaron 9 determinaciones con el método seleccionado; 3 repeticiones a 3 niveles. Se determinó la diferencia entre el valor conocido y las lecturas o media del valor obtenido.

$$\%E = \frac{X - \bar{X}}{X} * 100$$

Dónde:

$\%E$  = error porcentual

$\bar{X}$  = Valor promedio obtenido

X = valor asignado, valor certificado del material de referencia o valor teórico.

## Porcentaje de recuperación

Se realizaron 9 determinaciones sobre mínimo 3 concentraciones del rango de trabajo.

$$\%R = \frac{X}{\bar{X}} * 100$$

Donde:

%R = Porcentaje de recuperación.

X= Valor obtenido.

$\bar{X}$ = Valor esperado o teórico de la fortificación.

El análisis de los datos se realizó aplicando la prueba *t*-student a los porcentajes de recuperación obtenidos teniendo en cuenta que el valor esperado es 100%. Con n-1 grados de libertad y un nivel de confianza de 95%, a dos colas. Lo anterior teniendo en cuenta que no se realiza el cálculo por concentración, sino que se evalúa la recuperación promedio de todo el conglomerado (ICH, 2013).

$$t_{calc} = \frac{|100 - R|}{CV} \sqrt{n}$$

Ho en este caso es que la recuperación promedio de las muestras no es significativamente diferente de 100%. El criterio de aceptación es entonces que el t calculado debe ser menor al t tabulado.

### 4.3.4 Precisión

#### Repetibilidad

Para el ensayo de repetibilidad se realizaron 9 determinaciones en el rango de linealidad. Debido a que junto con la determinación de la veracidad se deben garantizar condiciones de repetibilidad, se emplearon las mismas soluciones, y por lo tanto determinaciones, en su cálculo.

Se obtuvo para cada concentración:

- Media
- Desviación estándar
- % Coeficiente de variación de la Repetibilidad, RSD
- $G_{exp}$  de Cochran para evaluar la equivalencia de las varianzas.

Si se cumple la hipótesis nula de varianzas equivalentes es posible reportar un solo coeficiente de variación promedio para las concentraciones analizadas; en caso contrario se debe reportar individualmente cada RSD.

El criterio de aceptación del coeficiente de variación de la repetibilidad es que debe ser menor al 5%.

### **Precisión intermedia**

Se tomó como factor variable el tiempo y el analista. Se realizó el análisis en tres días distintos, dentro de los cuales cada analista ejecutó las pruebas por triplicado.

Al grupo de muestras preparadas cada día o cada vez y por cada analista se le denominó lote.

La evaluación de la precisión intermedia se realizó a través de un análisis de varianza, ANOVA. Se aplicó test de Fisher con un nivel de confianza de 95% ( $\alpha=0.05$ ). Se comparó F calculado con el F crítico el cual se obtiene de la tabla de distribución de F con los grados de libertad determinados por cada fuente.

La precisión intermedia de la metodología se acepta si el estadístico F experimental para cada fuente de variación es menor que el F crítico obtenido directamente de la tabla de distribución F.

Lo anterior significa que la fuente de variación no tiene incidencia en el desarrollo del diseño experimental, y, por lo tanto, los factores: tiempo, analista y réplica no afectan la calidad de las mediciones realizadas.

### 4.3.5 Características químicas

#### Determinación de pH

##### a) Reactivos

- Ftalato ácido de potasio grado analítico J.T. Baker
- Fosfato diácido de potasio grado analítico J.T. Baker
- Fosfato ácido disódico grado analítico J.T. Baker

##### b) Preparación de soluciones

#### Solución reguladora estándar pH 4,004.

1. Secar en horno a 120 °C el ftalato ácido de potasio.
2. Pesar 1.012g de ftalato ácido de potasio en una balanza analítica de cuatro cifras.
3. Agregar el reactivo pesado a un balón aforado de 100 mL clase A. Completar el volumen con agua destilada y desionizada.

#### Solución reguladora estándar pH 6.863.

1. Secar en horno a 120 °C el fosfato diácido de potasio y el fosfato ácido disódico durante 3 horas.
2. Pesar 0.387g de fosfato diácido de potasio y 0.3533g de fosfato ácido disódico en una balanza analítica de cuatro cifras.
3. Agregar los reactivos anteriormente pesados a un balón aforado de 100 mL clase A. Completar el volumen con agua destilada y desionizada recién hervida y enfriada.

#### Solución reguladora estándar pH 7.415.

1. Secar en horno a 120 °C el fosfato diácido de potasio y el fosfato ácido disódico durante 3 horas.
2. Pesar 0.1179g de fosfato diácido de potasio y 0.4303g de fosfato ácido disódico en una balanza analítica de cuatro cifras.
3. Agregar los reactivos anteriormente pesados a un balón aforado de 100 mL clase A. Completar el volumen con agua destilada y desionizada recién hervida y enfriada.

#### Análisis de las muestras

El protocolo de análisis se muestra a en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** La muestra es de alrededor de 15 ml de solución reguladora de cada pH, y su medición debe realizarse por triplicado.

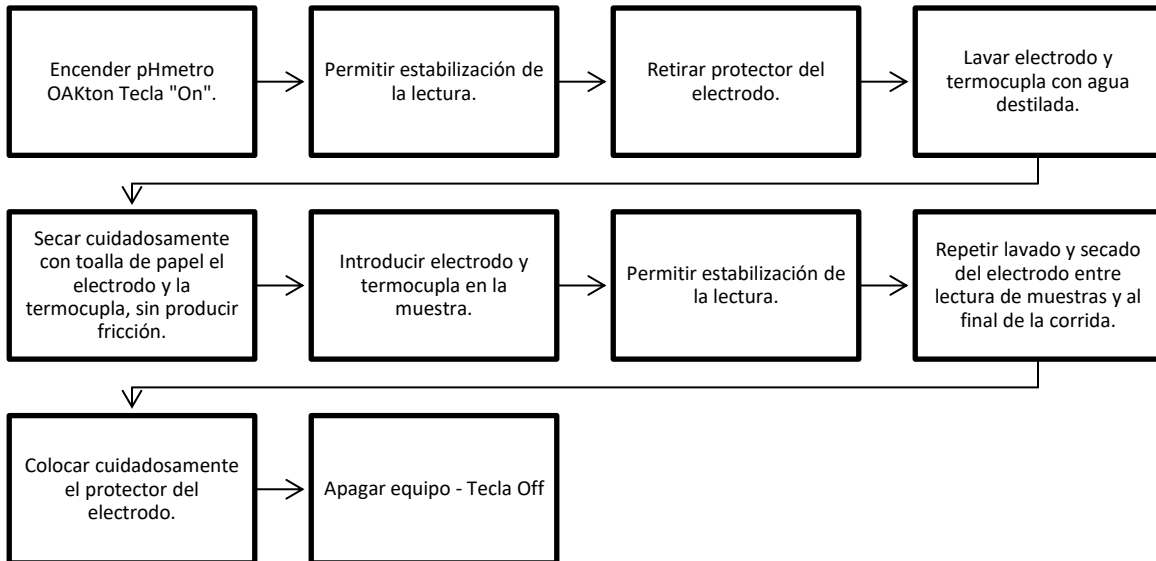


Figura 4-1. Protocolo de análisis de pH.

## Determinación de cloruros

### a) Reactivos

- Cloruro de sodio, grado analítico J.T. Baker
- Difenilcarbazona HACH
- Nitrato de mercurio Panreac Applichem

### b) Preparación de soluciones

#### Solución madre 500mgCl/L.

1. Secar en el horno a 120 °C el cloruro de durante 3 horas en una cápsula de porcelana y enfriar en desecador.
2. Pesar 0.8240g de cloruro de sodio y transferir a un balón aforado de 1 L clase A.
3. Completar el volumen con agua destilada y desionizada.

**Solución 0.09C.**

1. Tomar de la solución madre de 500mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 22.5mL con pipetas aforadas clase A de 20mL y 2mL, y con Transferpipette de 100-1000µL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL marca y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Solución 0.9C.**

1. Tomar de la solución madre de 500 mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 225 mL con pipetas aforadas clase A de 100 mL y 25 mL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500 mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Solución C.**

1. Tomar de la solución madre de 500 mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 250 mL con pipetas aforadas clase A de 100 mL y 50 mL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500 mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Soluciones fortificadas**

1. Secar en el horno a 120 °C el cloruro de sodio grado analítico marca J.T Baker durante 3 horas en una cápsula de porcelana y enfriar en desecador.
2. Pesar 0.8240 g de cloruro de sodio y transferir a un balón aforado de 1 L clase A.
3. Determinar la concentración de cloruros en la matriz a emplear, mediante la titulación de 100 mL de muestra medidos con pipeta aforada clase A de 100 mL marca Brand. Realizar 3 mediciones y promediar.
4. Realizar el cálculo de la cantidad de solución madre necesaria para llevar la matriz a la concentración de fortificación deseada con un volumen de 500 mL.
5. Dependiendo del volumen calculado medir con pipetas aforadas clase A del volumen requerido.
6. Transferir a balones clase A de 500 mL y llevar al aforo con la matriz seleccionada.

**c) Análisis de la muestra**

El procedimiento de análisis se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** Cada vez que se inicie una corrida debe valorarse un blanco de reactivos.

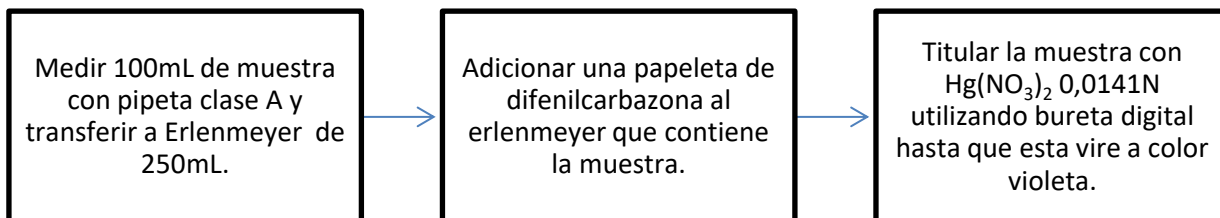


Figura 4-2. Análisis de cloruros

#### d) Cálculos

$$\left( mg \text{ de } \frac{Cl^-}{L} \right) = \frac{(A - B) \times C \times N \times 1.000}{V_m}$$

Donde:

A= volumen de solución de  $Hg(NO_3)_2$  gastado en la titulación de la muestra, en mL

B= volumen de solución de  $Hg(NO_3)_2$  gastado en la titulación del blanco, en mL

C= peso equivalente del cloruro, en g/eq

N= normalidad del  $Hg(NO_3)_2$

$V_m$ = volumen de la muestra, en mL

1.000= factor de conversión

### Determinación de dureza total

#### a) Reactivos

- Carbonato de calcio anhidro.
- Hidróxido de amonio concentrado.
- EDTA sódico
- Cloruro de magnesio hexahidratado
- Negro de eriocromo T
- Ácido clorhídrico concentrado
- Rojo de metilo

**b) Preparación de soluciones****Solución madre 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/L**

1. Secar en el horno a 120 °C el carbonato de calcio anhidro durante 3 horas en una cápsula de porcelana y enfriar en desecador.
2. Pesar 1.000 g de cloruro de sodio y transferir a un Erlenmeyer de 500mL.
3. Adicionar poco a poco ácido clorhídrico 1+1 hasta disolver todo el carbonato de calcio.
4. Adicionar 200mL de agua destilada desionizada y hierva por unos minutos para eliminar el dióxido de carbono.
5. Deje enfriar y adicione unas gotas de rojo de metilo. Ajuste el color a naranja adicionando hidróxido de amonio 3N o ácido clorhídrico 1+1.
6. Transfiera a un balón aforado clase A de 1000mL y afore con agua destilada y desionizada.

**Solución 0.09C**

1. Tomar de la solución madre de 1000 mgCaCO<sub>3</sub>/L una alícuota de 13.5mL con pipetas aforadas clase A de 10mL y 3mL, y con Transferpipette de 100-1000µL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Solución 0.9C**

1. Tomar de la solución madre de 1000 mgCaCO<sub>3</sub>/L una alícuota de 135mL con pipetas aforadas clase A de 100mL, 20mL y 15mL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Solución C**

1. Tomar de la solución madre de 1000 mgCaCO<sub>3</sub>/L una alícuota de 150mL con pipetas aforadas clase A de 100mL y 50mL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Soluciones fortificadas**

1. Preparar solución madre de 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/L, como se especificó anteriormente.

2. Determinar la dureza en la matriz a emplear, mediante la titulación de 100mL de muestra medidos con pipeta aforada clase A de 100mL marca Brand. Realizar 3 mediciones y promediar.
3. Realizar el cálculo de la cantidad de solución madre necesaria para llevar la matriz a la concentración de fortificación deseada con un volumen de 500mL.
4. Dependiendo del volumen calculado medir con pipetas aforadas clase A del volumen requerido.
5. Transferir a balones clase A de 500mL y llevar al aforo con la matriz seleccionada.

### c) Análisis de la muestra

El procedimiento de análisis se muestra en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

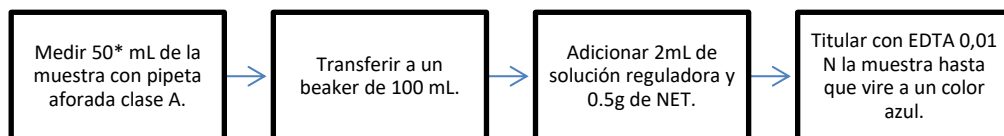


Figura 4-3. Análisis de dureza total

### d) Cálculo

$$\left( mg \text{ de } \frac{CaCO_3}{L} \right) = \frac{A \times B \times C \times 1.000}{V_m}$$

Donde:

A= volumen de solución de EDTA gastado en la titulación de la muestra, en mL

B= concentración molar de la solución de EDTA

C= peso fórmula del carbonato de calcio, (100g/mol)

$V_m$  = volumen de la muestra.

## Determinación de la Alcalinidad total

### a) Reactivos

- Carbonato de sodio grado analítico
- Ácido clorhídrico
- Tiosulfato de sodio pentahidratado
- Verde de bromocresol
- Rojo de metilo

### b) Preparación de soluciones

#### Solución madre 2500mgCl<sup>-</sup>/L.

1. Secar en el horno a 250°C de 3 a 5 g de carbonato de sodio durante 3 horas en una cápsula de porcelana y enfriar en el desecador.
2. Pesar 2.5g ±0.2g de carbonato de sodio y transferir a un balón aforado de 1 L clase A.
3. Completar el volumen con agua destilada y desionizada. Esta solución no es estable por más de una semana.

#### Solución 0.09C.

1. Tomar de la solución madre de 2500mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 3.6mL con pipetas aforadas clase A de 3mL, y con Transferpipette de 100-1000µL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

#### Solución 0.9C.

1. Tomar de la solución madre de 2500mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 36mL con pipetas aforadas clase A de 20mL y 15mL, y Transferpipette de 100-1000µL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

#### Solución C.

1. Tomar de la solución madre de 2500mgCl<sup>-</sup>/L una alícuota de 40mL con pipeta aforada clase A de 40mL marca Brand.
2. Transferir a un balón aforado clase A de 500mL y lleve al aforo con agua destilada desionizada.

**Soluciones fortificadas**

1. Secar en el horno a 250°C de 3 a 5 g de carbonato de sodio durante 3 horas en una cápsula de porcelana y enfriar en el desecador.
2. Pesar 2.5g ±0.2g de carbonato de sodio y transferir a un balón aforado de 1 L clase A.
3. Determinar la alcalinidad total en la matriz a emplear, mediante la titulación de 100mL de muestra medidos con pipeta aforada clase A de 100mL marca Brand. Realizar 3 mediciones y promediar.
4. Realizar el cálculo de la cantidad de solución madre necesaria para llevar la matriz a la concentración de fortificación deseada con un volumen de 500mL.
5. Dependiendo del volumen calculado medir con pipetas aforadas clase A del volumen requerido.
6. Transferir a balones clase A de 500mL y llevar al aforo con la matriz seleccionada.

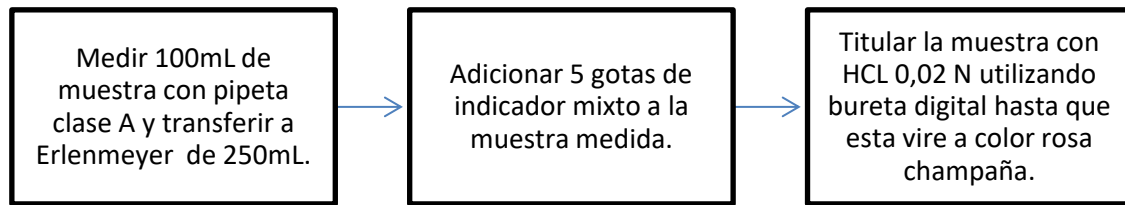
**c) Análisis de la muestra**

Figura 4-4. Análisis de alcalinidad total

**d) Cálculos**

$$\left( mg \text{ de } \frac{CaCO_3}{L} \right) = \frac{A \times B \times C \times 1.000}{V_m}$$

Donde:

A= volumen de solución de ácido gastado en la titulación de la muestra, en mL

B= normalidad de la solución del ácido clorhídrico

C= peso equivalente del carbonato de calcio, patrón escogido para la expresión de los resultados, 50 g/eq

$V_m$  = volumen de la muestra, en mL

1.000 = factor de conversión

## **Determinación de Hierro**

### **a) Reactivos**

- Solución estándar de hierro 1.000 mg/L Panreac
- Reactivo para la determinación de hierro, Ferrover® HACH

### **b) Preparación de soluciones**

#### **Solución de trabajo 10 mg/L**

- 1) Medir 1 ml de solución estándar de hierro 1.000 mg/L con Transferpipette
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,05 mg/L**

- 1) Medir 500 $\mu$ L de solución estándar de hierro 10 mg/L con Transferpipette
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,1 mg/L**

- 1) Medir 1 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con Transferpipette
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,2 mg/L**

- 1) Medir 2 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,4 mg/L**

- 1) Medir 4 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,6 mg/L**

- 1) Medir 6 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 0,8 mg/L**

- 1) Medir 8 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Solución de trabajo 1,0 mg/L**

- 1) Medir 10 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **Soluciones fortificadas**

- 1) Medir 4 ml de solución estándar de hierro 10 mg/L con una pipeta aforada clase A.
- 2) Transferir a un balón aforado clase A de 100 ml.
- 3) Llevar a aforo con agua destilada y desionizada.

#### **c) Análisis de la muestra**

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se muestra el procedimiento del análisis de muestras para la determinación de hierro.

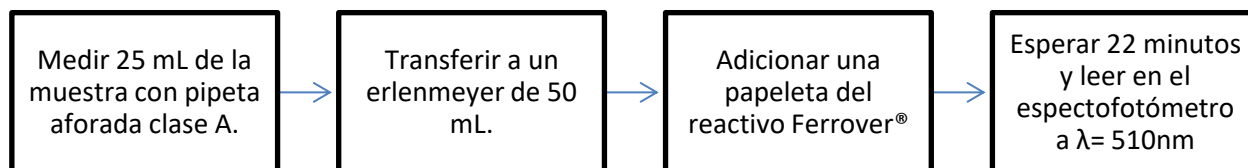


Figura 4-5. Análisis muestra de determinación de hierro

**d) Cálculos**

A partir de la curva de calibración se realiza la interpolación de la absorbancia media para obtener la concentración.

## 5. Resultados y análisis

La validación realizada es aplicable solamente a las matrices agua tratada y agua envasada; la matriz agua no tratada no fue considerada debido a la heterogeneidad de la misma, lo cual no permite que los parámetros de desempeño se ajusten a los diversos tipos de aguas no tratadas (ríos, quebradas, pozos, etc.). El someter el agua a un tipo de tratamiento con el que se busque cumplir con la normatividad correspondiente (Resolución 2115 de 2007, Resolución 12186 de 1991), conlleva a la eliminación de factores que contribuyen potencialmente con el efecto matriz.

### 5.2 Validación pH

Los valores de pH trabajados son de especial importancia debido a que en el intervalo de pH 6,5 a 8,0 se agrupa más del 80% de los resultados de pH obtenidos para muestras aguas tratadas el Laboratorio de Salud Pública del Tolima desde el 2015, según el registro histórico. Menos del 1% de los resultados estuvieron por encima de pH 9 y menos del 4% por debajo de pH 6,5.

Así, con el fin de proporcionar un resultado de confianza, se realizaron los ensayos cuyos resultados se muestran a continuación.

En la Tabla 5-1, se presentan los resultados obtenidos de la determinación de pH para los ensayos de la estimación de la precisión debida a la repetibilidad y la veracidad de la metodología.

El cálculo del estadístico  $t$  de student en este caso permite afirmar que los valores de pH obtenidos no son significativamente diferentes de los valores esperados, ya que, para los tres valores, el valor de  $t$  calculado es inferior al del encontrado en tablas. Para  $n-1$  grados de libertad igual a 9 y un grado de confianza del 95% el valor de  $t$  es 2.26.

En cuanto a la repetibilidad de la metodología, en los tres valores de pH definidos se logró alcanzar un coeficiente de variación menor al 5%, valor adoptado como criterio de aceptación. El Standard Methods reporta una desviación estándar de  $\pm 0,13$  unidades de pH para un ensayo colaborativo interlaboratorios y una desviación de  $\pm 0,02$  para ensayos en condiciones de repetibilidad; las desviaciones estándar obtenidas en los tres casos se encuentran por debajo de los valores de desviación mencionados anteriormente.

Con los valores obtenidos para estas dos características de desempeño es correcto decir que, dentro del Laboratorio de Salud Pública del Tolima, la metodología adoptada es veraz, o no hay sesgo, y que es precisa bajo condiciones de repetibilidad.

Tabla 5-1. Datos de pH para la estimación de la repetibilidad y la exactitud a 25°C

Replica	Solución pH		
	4,004	6,863	7,415
1	4,02	6,87	7,42
2	4,01	6,86	7,42
3	4,01	6,86	7,41
4	3,99	6,85	7,40
5	4,01	6,87	7,41
6	4,01	6,87	7,41
7	4,02	6,86	7,42
8	4,00	6,86	7,41
9	4,03	6,86	7,43
10	4,01	6,87	7,41
<b>x</b>	4,011	6,863	7,414
<b>sd</b>	0,0110	0,00675	0,00843
<b>t calc</b>	0,2874	0	0,3751
<b>%CV</b>	0,27	0,10	0,11

Por otra parte, en la Tabla 5-2, se muestran los resultados obtenidos por los dos analistas durante tres días, en los cuales cada analista preparó dos lotes de muestra.

Tabla 5-2. Datos de pH para la estimación de la precisión intermedia.

pH	ANALISTA	Lectura		
		DIA 1	DIA 2	DIA 3
4,004	1	4,01	4,01	4,02
		4,02	4,00	4,01
	2	3,99	4,02	4,02
		4,01	4,00	4,01
6,863	1	6,85	6,86	6,87
		6,86	6,86	6,86
	2	6,87	6,86	6,87
		6,87	6,86	6,86
7,414	1	7,42	7,42	7,42
		7,42	7,41	7,42
	2	7,41	7,41	7,41
		7,41	7,41	7,41

Al realizar un análisis de varianza teniendo en cuenta como fuentes de variación los analistas, los días y las réplicas, se obtienen los resultados mostrados en la Tabla 5-3.

El valor de F calculado para las tres fuentes de variación es menor que el tabulado, indicando que no existe diferencia significativa entre los análisis realizados por los dos

analistas y a su vez, que el factor día no aporta variación a los ensayos realizados. La variación debida a la réplica puede ser considerada como una medida de la repetibilidad, sustentando la conclusión de que, en condiciones de repetibilidad, la metodología es precisa.

Por lo anterior se puede afirmar que, en condiciones de precisión intermedia, entre analistas y días, la metodología adoptada es precisa.

Tabla 5-3. Resultados ANOVA de precisión intermedia de pH

FUENTE	gl	SC	CM	Fcalc.	F. tab.
<b>Analista</b>	1	4,444E-05	4,444E-05	<b>1,72E-05</b>	<b>4,18</b>
<b>Día</b>	2	0,0001556	7,778E-05	<b>3,01E-05</b>	<b>3,33</b>
<b>Réplica</b>	1	4,444E-05	4,444E-05	<b>1,72E-05</b>	<b>4,18</b>
<b>Error</b>	31	80,119244	2,5844918		
<b>Total</b>	35	80,119489	2,2891283		

\*gl= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; cuadrado medio; Fcalc= estadístico F calculado; Ftab= estadístico F crítico.

### 5.3 Validación Cloruros

Como se mencionó anteriormente, la presencia del ion cloruro en el agua no tiene efectos negativos sobre la salud humana, los efectos de este ion son netamente sensoriales puesto que en concentraciones superiores de 250 mg Cl<sup>-</sup>/L aportan sabor salino, tornándola desagradable. Esta es la razón de que se hayan realizado análisis en concentraciones que rondan el valor admisible. Sin embargo, las aguas tratadas, y en general la mayor parte de las aguas del Departamento del Tolima, no suelen tener concentraciones elevadas de dicho ion (cerca al 98% se encuentra bajo los 25 mg Cl<sup>-</sup>/L) resaltando la importancia de la estimación de las características de desempeño a bajos niveles de concentración, tal y como se realizó.

Para la estimación de los límites de detección y cuantificación se siguió lo propuesto en la sección 4.3. Así, los límites obtenidos son:

$$LD = 1,53 \text{ mg Cl}^- / L$$

$$LC = 2,85 \text{ mg Cl}^- / L$$

En cuanto a los ensayos de estimación veracidad y repetibilidad, los resultados obtenidos de concentración se presentan en la Tabla 5-4, mientras que los de datos de recuperación

se encuentran en la Tabla 5-5. La concentración de la matriz empleada en los ensayos fue de 37,14 mg Cl<sup>-</sup>/L.

Tabla 5-4. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y exactitud de cloruros en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg Cl<sup>-</sup>/L)</b>		<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	55,71	56,24	55,48	56,39
<b>M1+50%C</b>	162,14	162,46	163,11	162,16
<b>M1+75%C</b>	224,64	220,00	223,35	222,25

Los valores de recuperación obtenidos se encuentran en su totalidad en el rango de 97-102%, el cual corresponde al rango establecido por la (AOAC International, 2002), dentro del cual debe estar la recuperación para la concentración establecida.

La estimación del estadístico *t*-student para el conjunto de datos de recuperación obtenidos da como resultado un *t* calculado de 0,36, menor que el hallado en tablas para 8 grados de libertad: 2,31; de esta manera, la recuperación promedio obtenida no es diferente del 100% y la metodología es veraz en el rango de concentraciones trabajada.

Tabla 5-5. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de cloruros en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg Cl<sup>-</sup>/L)</b>		<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	55,71	100,95 %	99,60 %	101,22 %
<b>M1+50%C</b>	162,14	100,20 %	100,60 %	100,01 %
<b>M1+75%C</b>	224,64	97,93 %	99,43 %	98,94 %

Los coeficientes de variación obtenidos para cada nivel se presentan en la Tabla 5-6. En esta tabla se puede observar que, en los tres niveles de concentración evaluados, los coeficientes de variación son inferiores al 5%, por lo tanto, cumplen en criterio de aceptación establecido, y la metodología es precisa bajo condiciones de repetibilidad.

Por otra parte, el Standard Methods reporta un valor de desviación estándar relativa de 3,3%, obtenida a partir de un ensayo interlaboratorio con una solución de trabajo de 241 mg Cl<sup>-</sup>/L. De manera que durante el proceso de validación de cloruros en agua en este laboratorio se lograron coeficientes de variación menores a los obtenidos por el Standard Methods.

Al aplicar la prueba de Cochran, se obtiene que el valor calculado de *G*, 0,86, es menor que la que se encuentra en tablas, 0,871, aceptando así la hipótesis nula de igualdad de varianzas. Por lo anterior es posible reportar un coeficiente de variación promedio para la metodología. El RSDp obtenido es de 0,688%.

Tabla 5-6. Resultados de repetibilidad para el análisis de cloruros en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg Cl<sup>-</sup>/L)</b>	<b>m*</b>	<b>s*</b>	<b>s<sup>2</sup>*</b>	<b>%CV*</b>
<b>M1+50%M1</b>	56,04	0,4821	0,2323	0,86
<b>M1+50%C</b>	162,58	0,4855	0,2357	0,29
<b>M1+75%C</b>	221,86	1,7072	2,9145	0,77

\*m= promedio; s= desviación estándar; s<sup>2</sup>= varianza; %CV= coeficiente de variación.

La Tabla 5-7 muestra los datos de concentración obtenidos por los analistas durante los tres días de ensayo.

Tabla 5-7. Datos concentración para la estimación de precisión intermedia de cloruros en aguas para consumo humano

<b>Concentración (mg Cl<sup>-</sup>/L)</b>	<b>ANALISTA</b>	<b>Concentración (mg Cl<sup>-</sup>/L)</b>		
		<b>DIA 1</b>	<b>DIA 2</b>	<b>DIA 3</b>
<b>22,5</b>	<b>1</b>	24,29	22,74	24,31
		22,74	23,28	23,26
	<b>2</b>	23,79	24,09	23,64
		22,19	22,29	23,49
<b>225</b>	<b>1</b>	224,43	224,27	225,43
		224,52	223,58	224,27
	<b>2</b>	219,90	226,65	226,95
		220,75	225,50	227,50
<b>250</b>	<b>1</b>	249,43	249,30	251,13
		249,01	249,01	249,29
	<b>2</b>	244,94	248,84	247,64
		249,34	247,64	249,99

En la Tabla 5-8 se muestran los resultados de la ANOVA. Para las tres fuentes de variación definidas, el F calculado es menor que el F tabulado, luego, las variaciones debidas al analista, al día y la réplica no son representativas.

Tabla 5-8. Resultados ANOVA de precisión intermedia para cloruros en aguas para consumo humano

FUENTE	gl	SC	CM	Fcalc.	F. tab.
<b>Analista</b>	1	2,3085146	2,3085146	<b>0,000195</b>	<b>4,18</b>
<b>Día</b>	2	19,43469	9,7173449	<b>0,00082</b>	<b>3,33</b>
<b>Réplica</b>	1	0,4709173	0,4709173	<b>3,97E-05</b>	<b>4,18</b>
<b>Error</b>	31	367564,32	11856,913		
<b>Total</b>	35	367586,53	10502,472		

\*gl= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; cuadrado medio; Fcalc= estadístico F calculado; Ftab= estadístico F crítico.

## 5.4 Validación de dureza total

En general, en el Departamento del Tolima, las aguas empleadas para el consumo humano no tienen una dureza muy alta. Luego, las aguas del Departamento se pueden catalogar entre aguas blandas y de dureza moderada con el 53% y 34% de las muestras analizadas durante los años 2015 al 2018, respectivamente. Es por esto que los niveles de concentración analizados durante la validación permiten la estimación de parámetros de desempeño de la metodología para los valores usuales de concentración presentes en las muestras del Departamento y a su vez para la concentración límite permitida, asegurando así resultados confiables para el fin previsto.

La determinación de los límites de detección y cuantificación para la dureza total se realizó mediante la titulación de soluciones a bajas concentraciones o patrones casi cero, debido a que la ausencia de los cationes responsables de la dureza produce que la solución vire inmediatamente al adicionar la solución buffer y el indicador, imposibilitando la realización de un blanco de reactivos.

Inicialmente se trabajó con una concentración de 1,0 mg CaCO<sub>3</sub>/L, sin embargo, al realizar la estimación del límite de cuantificación a partir de la determinación de la concentración de diez muestras, el valor hallado no cumplía con los criterios de precisión y veracidad establecidos: coeficiente de variación menor al 5% y un valor de *t de student* calculado menor al crítico a un 95% de confianza. De esta manera, se aumentó paulatinamente la concentración de la solución casi cero hasta 4,0 mg CaCO<sub>3</sub>/L, la cual fue tomada en cuenta al momento de realizar la estimación del límite de cuantificación.

Es de anotar que para la estimación del límite de detección no se implementó la relación de la concentración media del patrón casi cero y la desviación estándar de la misma, esto debido a que la detección de la dureza total de las muestras era posible a una concentración de 1,0 mg CaCO<sub>3</sub>/L, gracias a que la coloración vinotinto en la muestra se debe a la presencia de cationes de calcio y magnesio.

De esta manera, los límites de detección y cuantificación obtenidos siguiendo la metodología son:

$$LD = 1,0 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$$

$$LC = 7,53 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$$

Por otra parte, las concentraciones calculadas para los ensayos de repetibilidad y veracidad se presentan en la Tabla 5-9. El valor de dureza para la matriz fue de 112,53 mg CaCO<sub>3</sub>/L.

Tabla 5-9. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y exactitud de dureza total en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>	<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	168,80	168,60	169,33
<b>M1+50%C</b>	262,53	259,67	260,60
<b>M1+75%C</b>	337,53	336,40	342,47

Los valores de recuperación para la estimación de la veracidad se muestran en la Tabla 5-10. Las recuperaciones alcanzadas siguiendo la metodología se encuentran en el rango del 98-102%, que acorde a la (AOAC International, 2002), corresponde al intervalo según la concentración trabajada.

Según el cálculo del estadístico *t* para el grupo de ensayos de recuperación se obtiene un valor *t* de 0,44, el cual es menor que el *t* tabulado (2,33), por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se puede afirmar que la metodología posee la veracidad requerida.

Tabla 5-10. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de la dureza total en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>	<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	168,80	99,88 %	100,32 %
<b>M1+50%C</b>	262,53	98,91 %	99,26 %
<b>M1+75%C</b>	337,53	99,66 %	101,46 %

En cuanto a la repetibilidad de la metodología, los valores de desviación estándar relativa, o coeficiente de variación, se encuentran en la Tabla 5-11. Para los tres niveles trabajados se cuenta con un coeficiente de variación menor al 5%, luego, cumple con el criterio de aceptación establecido. Por otra parte, los coeficientes de variación estimados durante la validación en el Laboratorio son inferior al reportado en el Standard Methods para un ensayo colaborativo interlaboratorio, con una solución de concentración 610 mg CaCO<sub>3</sub>/L, el cual es de 2,9%:

Al aplicar la prueba de Cochran se obtiene un G calculado mayor al tabulado, de modo que no se acepta la hipótesis nula de igualdad de varianzas y no es posible ponderar los valores del coeficiente de variación.

Tabla 5-11. Resultados de repetibilidad para el análisis de la dureza total en aguas para consumo humano

Nivel	m	S	s2	%CV
<b>M1+50%M1</b>	169,04	0,39	0,15	0,23
<b>M1+50%C</b>	260,33	0,58	0,34	0,22
<b>M1+75%C</b>	338,76	3,25	10,58	0,96

\*m= promedio; s= desviación estándar; s2= varianza; %CV= coeficiente de variación

En cuanto a la precisión intermedia, en la Tabla 5-12 se presentan los resultados obtenidos por los analistas en tres días de ensayo distintos.

Tabla 5-12. Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia para dureza total en aguas para consumo humano

Concentración (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	ANALISTA	Concentración (mg CaCO <sub>3</sub> /L)		
		DIA 1	DIA 2	DIA 3
27	1	25,87	27,20	26,27
		27,20	26,33	26,67
	2	23,20	25,20	22,40
		24,00	25,40	24,70
270	1	269,20	267,60	268,47
		266,00	267,20	270,00
	2	264,70	266,30	262,40
		264,20	265,30	265,60
300	1	299,33	297,73	299,07
		298,40	297,93	300,27
	2	294,10	295,30	294,30
		294,30	295,40	295,00

Los resultados del análisis de varianza realizados se presentan en la Tabla 5-13. Allí se puede observar que los valores del estadístico F calculados son inferiores a los tabulados; por lo tanto, los factores trabajo no son una fuente importante de variación, y la metodología es precisa en condiciones de precisión intermedia.

Tabla 5-13. Resultados ANOVA de precisión intermedia para dureza total

FUENTE	gl*	SC*	CM*	Fcalc*	F. tab*
<b>Analista</b>	1	96,48	96,48	0,005635	4,18
<b>Día</b>	2	1,82	0,91	5,317E-05	3,33
<b>Réplica</b>	1	0,77	0,77	4,500E-05	4,18
<b>Error</b>	31	530742,84	17120,74		
<b>Total</b>	35	530841,91	15166,91		

\*gl= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; cuadrado medio; Fcalc= estadístico F calculado; Ftab= estadístico F crítico.

## 5.5 Validación de alcalinidad total

La alcalinidad total en muestras de agua tratada en el Departamento del Tolima se encuentra en un 90% por debajo de 100 mg CaCO<sub>3</sub>/L. En los últimos cuatro años de muestreo solamente el 1,5% de las muestras de agua tratada superó el límite permitido. Así, los niveles de concentración analizados son pertinentes en cuanto a que corresponden a las concentraciones de trabajo usuales, sin dejar de lado la necesidad de estimar la exactitud y precisión en el valor límite permitido.

Los límites de detección y cuantificación se estimaron según lo mencionado en la sección 4.3 para los métodos tirtrimétricos. Tras la determinación de 10 muestras blanco de reactivos, compuestas de agua destilada y desionizada e indicador mixto, valorando con ácido clorhídrico en solución (0,0194 N), los valores de los límites hallados fueron los siguientes:

$$LD = 1,95 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$$

$$LC = 3,49 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$$

Las concentraciones calculadas para la estimación de las características de veracidad y repetibilidad se muestran en la Tabla 5-14.

Tabla 5-14. Valores de concentración para la estimación de repetibilidad y veracidad de la alcalinidad total en aguas para consumo humano.

NIVEL (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
<b>M1+50%M1</b>	72,65	72,99	72,90
<b>M1+50%C</b>	148,44	147,68	147,34
<b>M1+75%C</b>	198,44	198,55	199,28

En la Tabla 5-15 se listan las recuperaciones para los tres niveles de concentración trabajados. Los valores obtenidos se encuentran en el rango de 98-101%, el cual se encuentra contenido dentro del intervalo de concentración descrito por la (AOAC International, 2002) para los niveles objeto de estudio.

El cálculo del estadístico  $t$  arroja un valor de  $t$  calculado de 0,13, inferior al  $t$  tabulado el cual, con 8 grados de libertad y un 95% de confianza, es de 2,31. De acuerdo con estos resultados, se acepta la hipótesis nula de que la recuperación no es estadísticamente diferente del 100% y que la metodología cuenta con la veracidad requerida.

Tabla 5-15. Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de la alcalinidad total en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>		<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	72,65	100,47 %	100,33 %	100,80 %
<b>M1+50%C</b>	148,44	99,49 %	99,26 %	100,05 %
<b>M1+75%C</b>	198,44	100,12 %	100,86 %	98,30 %

Los coeficientes de variación para los niveles estudiados son inferiores al 5%, lo que indica que la metodología es precisa bajo condiciones de repetibilidad en estas concentraciones. Según el Standard Methods, para la alcalinidad debida a carbonatos y bicarbonato, es posible alcanzar una desviación estándar de hasta 1 mg CaCO<sub>3</sub>/L; sin embargo, esta no fue posible para la concentración de 198,20 mg CaCO<sub>3</sub>/L, donde no se obtuvo una desviación muy lejana, de 1,29 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Para una concentración de 65 mg CaCO<sub>3</sub>/L, un ensayo interlaboratorio del Standard Methods arrojó una desviación estándar de 5 mg CaCO<sub>3</sub>/L empleando la titulación potenciométrica hasta un pH preestablecido, la cual es superior a las obtenidas en durante esta validación, utilizando la titulación con un punto final dado por el viraje del indicador.

Al aplicar el test de Cochran se obtiene un G calculado de 0,81, el cual es menor al G tabulado (0,871). Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula de equivalencia de varianzas y es posible reportar un coeficiente de variación ponderado; en este caso, la desviación estándar relativa ponderada fue de RSDp = 0,466%.

Los datos utilizados para los cálculos anteriores se presentan en la Tabla 5-16.

Tabla 5-16. Resultados de repetibilidad en el análisis de alcalinidad total en aguas para consumo humano

<b>Nivel</b>	<b>m</b>	<b>s</b>	<b>s<sup>2</sup></b>	<b>%CV</b>
<b>M1+50%M1</b>	73,04	0,176	0,031	0,241
<b>M1+50%C</b>	147,84	0,602	0,362	0,407
<b>M1+75%C</b>	198,20	1,297	1,681	0,654

\*m= promedio; s= desviación estándar; s<sup>2</sup>= varianza; %CV= coeficiente de variación

Los datos recolectados durante los ensayos de precisión intermedia se muestran en la Tabla 5-17.

Tabla 5-17. Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia para alcalinidad total en aguas para consumo humano

Concentración (mg CaCO <sub>3</sub> /L)]	ANALISTA	Concentración (mg CaCO <sub>3</sub> /L)		
		DIA 1	DIA 2	DIA 3
18	1	20,03	18,48	19,55
		19,64	18,58	18,96
	2	18,82	19,11	18,87
		18,92	19,11	18,96
180	1	177,41	175,33	174,45
		178,72	175,33	175,13
	2	174,16	175,76	173,73
		174,75	175,62	185,27
200	1	197,93	191,24	194,53
		204,04	193,27	193,81
	2	194,29	191,43	194,15
		192,88	192,74	192,79

Los resultados del análisis de varianza realizados a los datos recolectados presentados en la Tabla 5-18 permite ver que no existen diferencias significativas entre los grupos de mediciones realizadas por los dos analistas, ni entre los grupos de mediciones realizadas en días distintos, esto debido a que el F calculado, para los factores de variación considerados son menores que el F tabulado.

Por lo anterior, se puede afirmar que, en condiciones de precisión intermedia, la metodología adoptada para la determinación de la alcalinidad en agua es precisa.

Tabla 5-18. Resultados ANOVA de precisión intermedia para alcalinidad total

FUENTE	gl	SC	CM	Fcalc.	F. tab.
<b>Analista</b>	1	6,319777007	6,319777007	0,000877	4,18
<b>Día</b>	2	27,43363835	13,71681917	0,001903	3,33
<b>Réplica</b>	1	10,29821584	10,29821584	0,001429	4,18
<b>Error</b>	31	223362,9863	7205,257624		
<b>Total</b>	35	223407,038	6383,058228		

\*gl= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; cuadrado medio; Fcalc= estadístico F calculado; Ftab= estadístico F crítico.

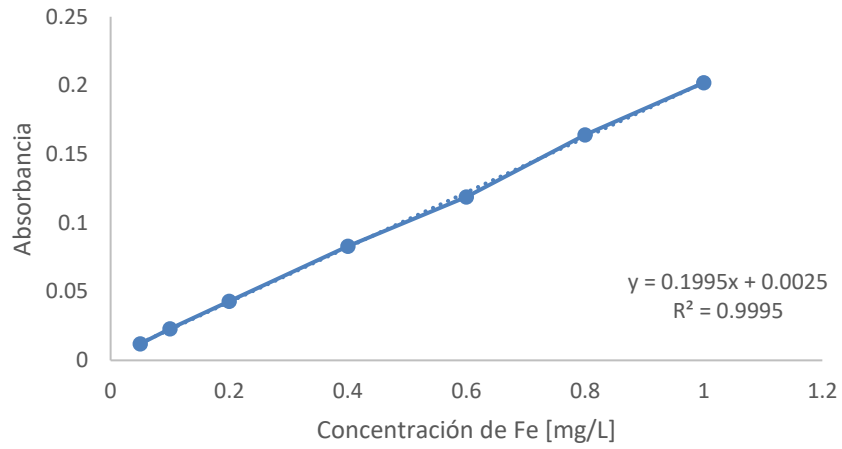
## 5.6 Validación de hierro total

De los parámetros que inciden en la calidad del agua analizados hasta ahora, el hierro es quizás el que mayor incidencia tiene en la salud humana y en actividades económicas.

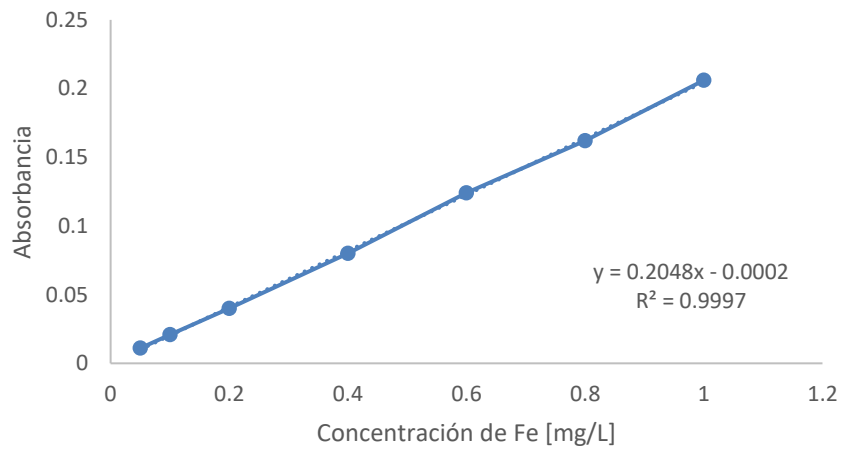
Los niveles de concentración trabajados, tanto para las curvas de calibración, como para los ensayos de estimación de características de desempeño, fueron elegidos en función del registro histórico de concentración de hierro en muestras de agua tratada analizadas por el Laboratorio.

Tal como se describió en la sección 4.3.1 para cálculo de los límites de detección y cuantificación, se prepararon 5 curvas de calibración durante diferentes días. Los resultados de dichas curvas se muestran en las gráficas a continuación, cada curva muestra a su vez la ecuación que la describe y su coeficiente de determinación.

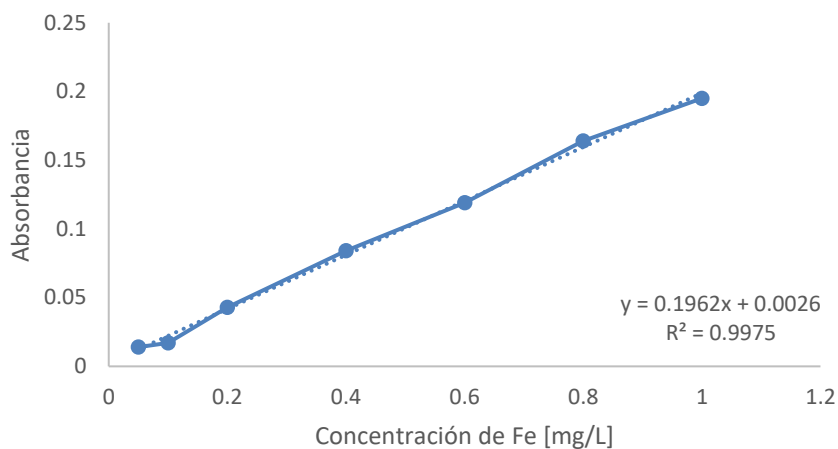
Gráfica 5-1 Curva de calibración Fe total No. 1.



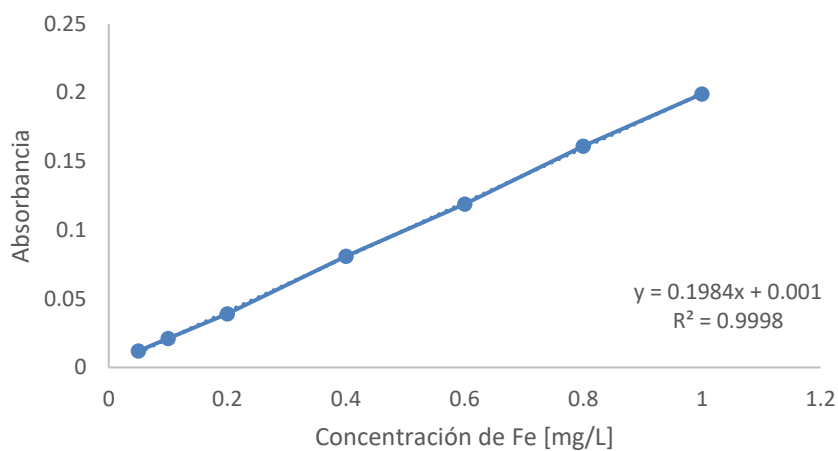
Gráfica 5-2 Curva de calibración Fe total No. 2.



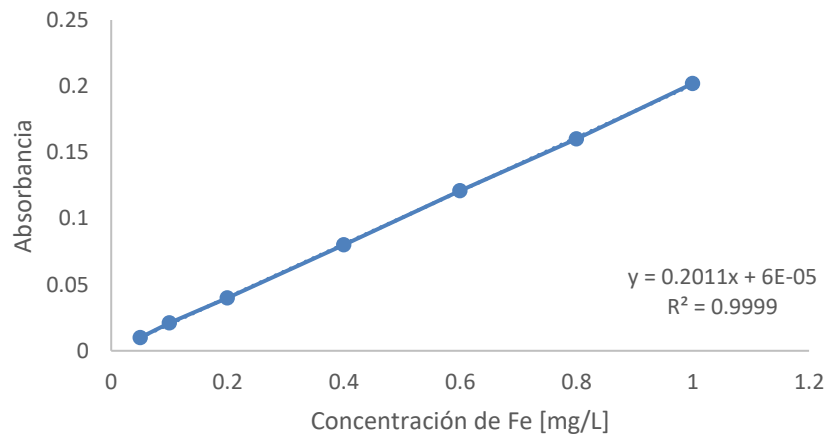
Gráfica 5-3 Curva de calibración Fe total No. 3.



Gráfica 5-4 Curva de calibración Fe total No. 4.



Gráfica 5-5 Curva de calibración Fe total No. 5.



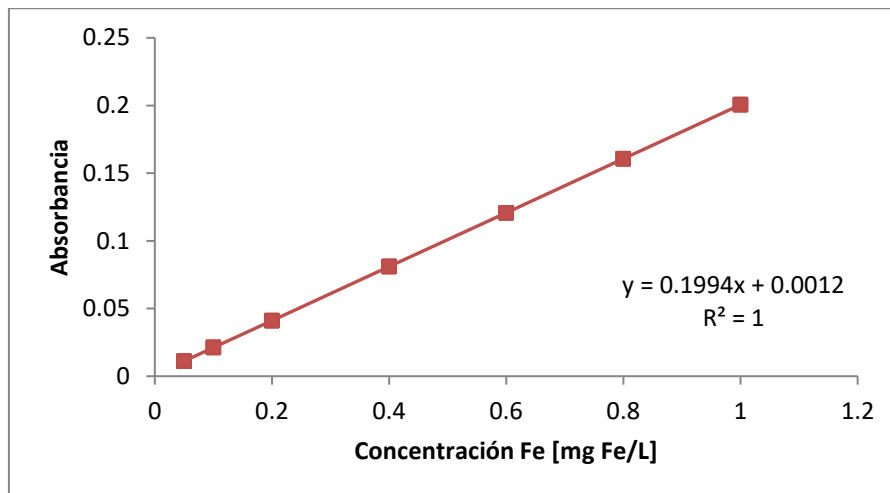
Luego de realizarse la regresión lineal de los datos de las curvas de calibración, se obtuvieron los estimadores presentados en la Tabla 5-19.

Tabla 5-19 Estimadores de la regresión lineal para curvas de calibración de hierro total en aguas para consumo humano

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepto	0,0012	0,000872	1,326	0,1939	-0,000618	0,00293
Variable X 1	0,1994	0,001552	128,450	3,915E-46	0,196238	0,20255

La curva de calibración obtenida a partir de los estimadores de la regresión se muestra en la gráfica a continuación.

Gráfica 5-6 Curva de calibración de la regresión lineal por mínimos cuadrados para hierro total.



Los límites de detección y cuantificación obtenidos, basados en la desviación estándar de la respuesta y la pendiente estimados por la regresión, son los siguientes:

$$LD = 0,014 \frac{mg Fe}{L}$$

$$LC = 0,044 \frac{mg Fe}{L}$$

Comparado con un análisis retrospectivo, realizado con las curvas de calibración empleadas años anteriores, se encontró una mejora en los límites de detección y cuantificación; los obtenidos en el ejercicio retrospectivo fueron 0,043 mg Fe/L y 0,13 mg Fe/L para el límite de detección y cuantificación, respectivamente. Lo anterior puede deberse a diversos factores como el analista quien realiza la curva, el equipo empleado,

lotes de reactivos y tiempo entre preparación de las curvas, entre otras fuentes de variación que pueden ser estudiadas en los ensayos de precisión intermedia. Posteriormente se muestra el análisis realizado teniendo en cuenta como fuentes de variación el analista y el día de realización del análisis, además de un análisis de las réplicas como análisis adicional de la repetibilidad de la metodología.

Con respecto a la linealidad del método en el intervalo trabajado, en la tabla 3-19 se encuentran los valores estimados del estadístico  $t$  para la pendiente y el intercepto. El valor de  $t$  crítico es de 2,03 ( $n-2=33$ ,  $\alpha = 0,05$ ). En el caso del intercepto se obtuvo un valor  $t$  calculado de 1,33, y por tanto se acepta la hipótesis nula de que no es significativamente diferente de cero, asegurando la proporcionalidad de la respuesta analítica y la ausencia de un error sistemático. Por otra parte, el valor de  $t$  calculado que corresponde a la pendiente es de 128,45, indicando que no se acepta la hipótesis nula y que la pendiente es significativamente diferente de cero, es decir, que la respuesta analítica es sensible a las variaciones en la concentración del analito en las soluciones.

El coeficiente de correlación por su parte se estimó en 0,999 según la regresión lineal. Al calcularse el estadístico  $t$  se obtuvo un valor de 128,45. El  $t$  crítico nuevamente es de 2,03 en este caso, por lo que se puede rechazar la hipótesis nula y afirmar que existe correlación entre la absorbancia y la concentración de hierro en agua en el intervalo de 0,05 a 1,0 mg Fe/L.

Los datos de los ensayos de veracidad y repetibilidad se presentan en la Tabla 5-20. Para este ensayo la concentración de hierro en la matriz fue de 0,041 mg Fe/L.

Tabla 5-20 Datos de concentración para la estimación de exactitud y repetibilidad de hierro total en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg Fe/L)</b>		<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	0,062	0,064	0,064	0,060
<b>M1+50%C</b>	0,191	0,180	0,185	0,195
<b>M1+75%C</b>	0,266	0,265	0,260	0,270

En la Tabla 5-21 se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos durante los ensayos. La recuperación de las muestras se encuentra entre el 94 y el 105%, que una vez más se encuentra dentro de los valores recomendados para las concentraciones trabajadas por (AOAC International, 2002).

El cálculo del estadístico  $t$  en este caso da como resultado 0,19, el cual es menor al valor de  $t$  crítico de 2,31; luego, es posible aceptar la hipótesis nula y decir que la recuperación de la metodología no es significativamente diferente del 100%, de manera que los resultados obtenidos a partir de la misma son veraces y no se cuenta con un error sistemático apreciable.

Tabla 5-21 Valores de recuperación para la estimación de la exactitud de hierro total en aguas para consumo humano

<b>NIVEL (mg Fe/L)</b>		<b>LOTE 1</b>	<b>LOTE 2</b>	<b>LOTE 3</b>
<b>M1+50%M1</b>	0,062	104,72 %	104,72 %	96,56 %
<b>M1+50%C</b>	0,191	94,11 %	96,74 %	101,99 %
<b>M1+75%C</b>	0,266	99,63 %	97,74 %	101,51 %

La estimación de la precisión de la repetibilidad arrojó como resultado los datos que se muestran en la Tabla 5-22.

Tabla 5-22 Resultados de repetibilidad en el análisis de hierro total en aguas para consumo humano

<b>Nivel</b>	<b>m</b>	<b>s</b>	<b>s2</b>	<b>%CV</b>
<b>M1+50%M1</b>	0,0627	0,0029	8,38E-06	4,62
<b>M1+50%C</b>	0,1864	0,0077	5,87E-05	4,11
<b>M1+75%C</b>	0,2650	0,0050	2,52E-05	1,89

\*m= promedio; s= desviación estándar; s2= varianza; %CV= coeficiente de variación

El coeficiente de variación es en todos los casos fue menor al 5%, cumpliendo así el criterio de aceptación definido. Con relación al coeficiente de variación reportado por el Standard Methods en un ensayo interlaboratorio para una muestra de concentración 0,3 mg Fe/L, el cual fue de 25,5%, también se lograron coeficientes de variación menores en todos los casos.

Al estimar el estadístico G de Cochran se obtuvo un valor de 0,64, el cual es menor al valor de G tabulado (0,87). Así, al demostrar que el factor concentración no influye en la dispersión de los datos, es posible reportar un valor coeficiente de variación ponderado. El RSDp calculado para este caso es de 3,73%

En la Tabla 5-23 se presentan los resultados obtenidos por los dos analistas durante tres días con el fin de verificar la precisión intermedia de la metodología.

Tabla 5-23 Datos de concentración para la estimación de precisión intermedia de hierro total en aguas para el consumo humano

Concentración (mg Fe/L)	ANALISTA	Concentración (mg Fe/L)		
		DIA 1	DIA 2	DIA 3
0,050	1	0,054	0,039	0,044
		0,044	0,044	0,049
	2	0,054	0,034	0,039
		0,064	0,049	0,054
0,270	1	0,265	0,265	0,270
		0,265	0,265	0,270
	2	0,255	0,255	0,265
		0,265	0,270	0,270
0,300	1	0,315	0,290	0,300
		0,290	0,295	0,295
	2	0,300	3,003	0,295
		0,300	0,285	0,295

En la Tabla 5-24 se encuentran los resultados del análisis de varianza realizado para determinar si existen diferencias significativas debidas a cada una de las fuentes de variación analizadas.

El estadístico  $F$  calculado para las tres fuentes de variación en este caso es menor al  $F$  calculado, luego, no se rechaza la hipótesis nula y se puede afirmar que la metodología es precisa en condiciones de precisión intermedia entre días y analista. Adicionalmente, el análisis de la réplica como factor de variación dentro del mismo día soporta la conclusión de que la metodología es precisa bajo condiciones de repetibilidad.

Tabla 5-24 Resultados ANOVA para cálculo de precisión intermedia en hierro total

FUENTE	GI	SC	CM	Fcalc.	F. tab.
Analista	1	0,2014708	0,2014708	<b>0,857291</b>	<b>4,18</b>
Día	2	0,3858945	0,1929472	<b>0,821022</b>	<b>3,33</b>
Réplica	1	0,1984806	0,1984806	<b>0,844567</b>	<b>4,18</b>
Error	31	7,2852694	0,2350087		
Total	35	8,0711153	0,2306033		

\*gl= grados de libertad; SC= suma de cuadrados; cuadrado medio; Fcalc= estadístico F calculado; Ftab= estadístico F crítico.



---

## 6. Conclusiones y recomendaciones

### 6.2 Conclusiones

La validación de las metodologías analíticas para la determinación de pH, cloruros, alcalinidad total, hierro total y dureza total en agua tratada para el consumo humano, según los métodos propuestos en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater demostró la aptitud de las mismas conforme al fin previsto, debido a que cumplieron con los criterios de aceptación establecidos por el Laboratorio de Salud Pública del Tolima. Adicionalmente, la comparación entre los resultados obtenidos durante la validación y los reportados por la American Water Works Association, AWWA, en el Standard Methods proporciona evidencia de la confianza de los datos.

Al validarse estas metodologías analíticas, el Laboratorio asegura el cumplimiento de requisitos necesarios para su funcionamiento y gestión en lo correspondiente a la Resolución 1619 de 2015; y da un paso hacia la acreditación en la Norma ISO 17025:2017 al garantizar la competencia técnica y asegurar la emisión de resultados confiables.

### 6.3 Recomendaciones

- Continuar con las actividades de validación, extendiéndolas a las demás metodologías analíticas de mayor influencia sobre la salud y el índice de riesgo de la calidad del agua, como también a las metodologías que corresponden a la vigilancia del área de análisis fisicoquímico de alimentos.
- Participar en pruebas de aptitud para los respectivos ensayos con el fin de determinar el sesgo del laboratorio.
- Contar con Material de Referencia Certificado, MRC, el cual posea trazabilidad internacional para los futuros ensayos de validación.
- Continuar con el programa de calibración de equipos con entes certificados ante el Organismo Nacional de Acreditación de Colombia, ONAC.







## 7. Bibliografía

- AOAC International. (2002). Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. *AOAC International*, 19. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200778200>
- ASTM. (1985). Standard test methods for iron in water. *Water*, 11, 1–6. <https://doi.org/10.1520/D1068-15.2>
- AWWA. (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th Edition (19th ed.).
- ENFSI. (2014). Guidelines for the single laboratory Validation of Instrumental and Human Based Methods in Forensic Science. *European Network of Forensic Science Institutes*, 34.
- Eurachem. (2016). *La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados*.
- Harris, D. C. (1992). *Análisis químico cuantitativo* (3rd ed.). W. H.. Freeman and Company.
- ICH. (2013). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, 1994(November). [https://doi.org/http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_R1/Step4/Q2\\_R1\\_\\_Guideline.pdf](https://doi.org/http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf)
- IDEAM. (2006). ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, 1–7.
- INAB. (2012). Guide to Method Validation for Quantitative Analysis in Chemical Testing Laboratories.
- Instituto Nacional de Salud. (2015). Como implementar un programa de aseguramiento de calidad analítico. Retrieved from [http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Publicaciones/2016/Como implementar un programa de aseguramiento analitico.pdf](http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Publicaciones/2016/Como%20implementar%20un%20programa%20de%20aseguramiento%20analitico.pdf)
- ISO. (2005). NTC-ISO/IEC REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y CALIBRACIÓN.
- ISO. (2006). ISO 6107-2 Water quality -- Vocabulary.
- IUPAC. (2002). HARMONIZED GUIDELINES FOR SINGLE- LABORATORY VALIDATION OF METHODS OF ANALYSIS, 74(5), 835–855.

<https://doi.org/10.1351/pac200274050835>

IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")*. Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8.

<https://doi.org/10.1351/goldbook>.

JCGM. (2012). Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados 3ª edición 2012. [https://doi.org/10.1016/0263-2241\(85\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0263-2241(85)90006-5)

Londoño, A., Giraldo, G., & Gutierrez, Á. (2010). Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua. *Environment International*, 1(1), 1–149.

<https://doi.org/10.1080/01463370500101352>

Miller, J., & Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (4th Edición). Pearson Education S.A.

Ministerio de la Protección, Social, & Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución N°2115, Minambiente § (2007).

<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 2323, 2006 § (2006).

Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1619 (2015).

Ministerio de Salud y Protección Social. (2016). *Informe nacional de calidad del agua para consumo humano INCA 2015*. Bogotá D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social.

Ministerio de Salud y Protección Social. (2018). *Informe nacional de calidad del agua para consumo humano INCA 2016*. Bogotá D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social.

NATA. (2015). Guidelines for the validation and verification of chemical methods.

Perez, J. (1981). *Manual de tratamiento de aguas*.

Varón, J. E. O. (2011). Manual análisis físico químico aguas.