

# VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE COLOR REAL EN AGUA<sup>a</sup>

## VALIDATION OF A METHOD FOR REAL COLOR ANALYSIS IN WATER

MARCELO MARTÍNEZ<sup>b</sup>, ANDRÉS OSORIO<sup>c</sup>

Recibido 02-17-2017, aceptado 19-01-2018, versión final 23-01-2018.

Artículo Investigación

**RESUMEN:** El color como una de las propiedades organolépticas del agua es afectado por la presencia de material disuelto, suspendido o coloidal. El objetivo de este estudio es exponer los resultados de la validación del análisis de color real evaluado a 3 longitudes de onda usando como referencia la norma UNE-EN ISO 7887: 2012 método B, con el objetivo de evaluar la calidad del agua según los requerimientos de la resolución 0631 de 2015. Se propuso un método de análisis para la determinación de color real, se verificó la linealidad, límite de cuantificación, exactitud, precisión, porcentaje de recuperación y la incertidumbre de la medición. Se demostró que el método validado cumple con los niveles de aceptación establecidos por las normas nacionales e internacionales relacionadas con la calidad en el laboratorio NTC ISO IEC 17025:2005, y aseguran que el método es adecuado para la determinación rutinaria de color real en aguas naturales, residuales domésticas y no domésticas.

**PALABRAS CLAVE:** Calidad del agua; color; color verdadero; espectrofotometría; validación.

**ABSTRACT:** Color as one of the organoleptic properties of water is affected by the presence of organic, inorganic or colloidal material. The objective of this study is to present the results of the validation of the true color analysis evaluated at 3 wavelengths using as reference the UNE-EN ISO 7887: 2012 method B, with the objective of evaluating the water quality according to the requirements of resolution 0631 of 2015. We proposed a method of analysis for the determination of actual color, we verified the linearity, limit of quantification, accuracy, precision, percentage of recovery and measurement uncertainty. With the acceptance levels established by the national and international standards related to quality in the laboratory NTC ISO IEC 17025, and assure that the method is suitable for routine determination of true color in natural, domestic and non-domestic waste water.

**KEYWORDS:** Spectrophotometry; color; true color; validation; water quality.

---

<sup>a</sup>Martínez, M. & Osorio, A. (2018). Validación de un método para el análisis de color real en agua. *Rev. Fac. Cienc.*, 7(1), 143–155. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v7n1.68086>

<sup>b</sup>Ingeniero biológico, Escuela de Biociencias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Antioquia, Colombia. [maemartinezca@unal.edu.co](mailto:maemartinezca@unal.edu.co)

<sup>c</sup>Técnico operativo, Laboratorio de Análisis de Aguas, CORNARE, Autopista Medellín- Bogotá, Kilómetro 54 El Santuario, Antioquia, Colombia. [afosorio@cornare.gov.co](mailto:afosorio@cornare.gov.co)

# 1. INTRODUCCIÓN

Encontrar una definición clara sobre el concepto de color es sumamente complejo, ya que esta propiedad por ser una respuesta ocular y de los mecanismos nerviosos a un estímulo que produce una sensación subjetiva percibida por el observador (Kuehni, 2012). De acuerdo con esto el color se dice que es un conjunto de sensaciones las cuales son interpretadas por nuestro cerebro, que dependen de la composición espectral de la luz con la que se ilumina y la capacidad del objeto para absorber, reflejar, reflectar o emitir estas ondas electromagnéticas (ICARO, 2006). En recientes estudios se ha ampliado y reconocido el intervalo visible por el ojo humano a longitudes de onda entre 310 nm en el ultravioleta hasta 1100 nm en el infrarrojo, pero dependen mucho de la luminosidad de la fuente “brillo” (Sloney, 2016). La radiación que incide sobre la materia puede ser absorbida total o parcialmente, el color percibido de los objetos corresponde a la luz reflejada por este, este color es complementario al color absorbido por el medio. Cuando una molécula absorbe a ciertas longitudes de onda de luz visible y transmite o refleja otras, se dice que la molécula tiene un color, si absorbe todas las longitudes de onda el objeto aparece color negro, si por el contrario refleja todas las longitudes de onda se observa color blanco (González & Hernández, 2002). Debido a que en la mayoría de los casos los colores no solo son producidos por una sola longitud de onda monocromática o de espectro puro, el determinar el color mediante la absorbancia o viceversa no es sencillo, ya que el color puede ser el resultado de una interferencia a diversas longitudes de onda, generando un color observado como resultado de la interferencia ya sea constructiva o destructiva de ciertas longitudes de onda.

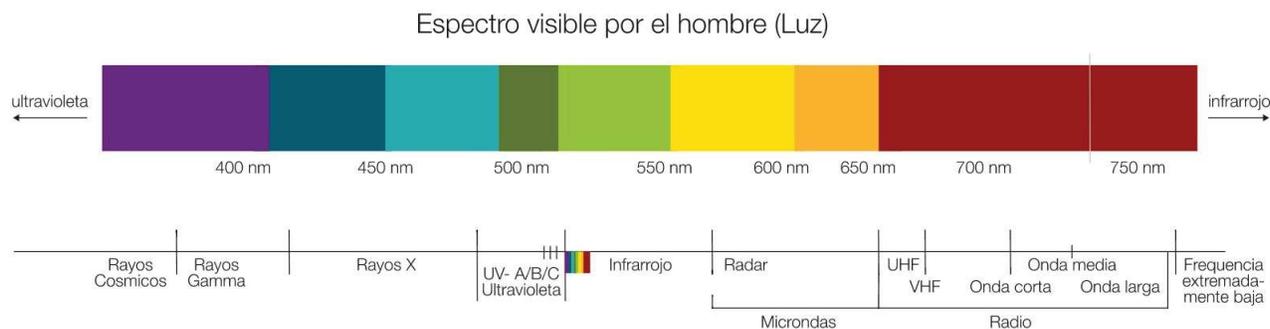


Figura 1: Espectro visible por el hombre (Luz). Fuente: [www.gafasyvision.com](http://www.gafasyvision.com)

Aunque el espectro entre 380 y 780 nm se considera como visible por el ojo humano, no se debe confundir el color absorbido con el color reflejado, la Figura 1 ilustra los colores absorbidos en el espectro visible.

La Tabla 1 presenta los colores que pueden ser vistos por el hombre en relación con la longitud de onda a la cual absorben:

El color en cuerpos de agua natural podría reflejar la presencia de moléculas orgánicas complejas derivadas de materias vegetales (húmicas) tales como turba, hojas, ramas, etcétera. Su efecto puede ser aumentado por la presencia de materia en suspensión, pero esto se elimina normalmente en el análisis por filtración.

Tabla 1: Colores reflejados y visibles por el ojo humano de acuerdo a la longitud de onda absorbida (González &amp; Hernández, 2002).

$\lambda$ (nm)	Color absorbido	Color reflejado
380 - 420	Violeta	Amarillo-Verde
420 - 440	Azul-Violeta	Amarillo
440 - 470	Azul	Anaranjado
470 - 500	Verde-Azul	Rojo
500 - 520	Verde	Purpura
520 - 550	Amarillo-Verde	Violeta
550 - 580	Amarillo	Azul-Violeta
580 - 620	Anranjado	Azul
620 - 680	Rojo	Verde-Azul
680 - 780	Purpura	Verde

Con menor frecuencia el color en cuerpos de agua natural puede surgir de la presencia de iones de hierro y/o manganeso. El color que podemos observar en estos tipos de agua están asociados a las longitudes entre 380 y 490 nm. En cuerpos de agua residual por el contrario el color es producto de residuos y colorantes industriales (EPA, 2001). El color en cuerpos de agua es el resultado de la presencia de tanto sustancias suspendidas como disueltas y se denomina color aparente, mientras que al color producto únicamente de sustancias disueltas es llamado color real o verdadero (APHA, AWWA & WEF, 2012). La filtración permite eliminar estas sustancias suspendidas usando un filtro de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ .

Debido al alto impacto ambiental causado por vertimientos coloreados a cuerpos de agua la medición de color en aguas ha venido siendo estudiada con el fin de buscar metodologías que permitan ofrecer resultados confiables y así permitir legislar este parámetro. En Colombia en el año 2016 por medio de la Resolución 0631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, se establecieron los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público, incluyendo el parámetro de color real medido a 3 longitudes de onda (436, 525 y 620 nm) el cual es de interés para este estudio de validación, aunque en dicha norma no se fijan límites para dicho parámetro, esta establece en su artículo 18 que los responsables de la actividad realizarán la determinación de los parámetros solicitados como de análisis y reporte en las longitudes de onda antes mencionadas (MINAMBIENTE, 2015).

Una de las metodologías más usadas en la actualidad para el análisis del parámetro color verdadero o real es el método de platino-cobalto (UPC) de (APHA, AWWA & WEF, 2012) en su método 2120C, el cual se mide a una sola longitud de onda que es propia de tonalidades amarillas, este método se ajusta muy bien al perfil de aguas naturales y residuales domésticas producto de una coloración por la presencia de sustancias orgánicas, húmicas y flúvicas (Kao *et al.*, 2001), pero no se ajusta a la gran variedad de perfiles encontrados en matrices de agua residual no domésticas producto de colorantes industriales. Algunos países ya

están implementando este parámetro dentro de su legislación, como lo son Taiwan, Filipinas, Mainland-China, Corea, los Estados de Alabama, Rhode Island (USA), Hochiminh-Vietnam y Hon Kong (Kang & Kuo, 1999). Dentro de las ventajas del método planteado se encuentran su facilidad de implementación y análisis rápido, adicionalmente el método propone un análisis a tres longitudes de onda que pretenden abarcar el espectro visible midiendo absorbancias y reportando coeficientes de absorción espectral, algunas desventajas se encuentran en que se aparta de métodos estándar habituales, por lo tanto no hay criterios restrictivos y no hay pruebas de laboratorio internacionales (Umek, 2016). Dentro de las posibles interferencias en los métodos de medición de color se tienen, reacciones fotoquímicas que se inician a partir de la excitación de una molécula por la luz (Ueno & Misawa, 2013), reacciones de oxidación y el tiempo de análisis, estas pueden presentarse alterando el comportamiento de la muestra generando desviaciones en la medición.

El proceso de validación de este método se vuelve importante debido a ciertas consideraciones que se han encontrado en la literatura respecto al método descrito por la norma, especialmente en el control de calidad que se propone con el ácido húmico. Se han hecho varios intentos para componer estructuras químicas definidas del ácido húmico, pero muy a menudo estas actividades han conducido a la mala interpretación (Frimmel, 2005), se sabe que sus grupos funcionales principales incluyen restos carboxílicos, fenólicos, carbonilo, hidroxilo, amina, amida y alifáticos, entre otros (Peña *et al.*, 2005). Por tanto, el desconocimiento de la naturaleza del estándar y la dificultad de poder prepararlo, hace que el proceso de validación sea riguroso y se opta por utilizar ácido húmico comercial para desarrollar la validación.

## 2. METODOLOGÍA

Los estándares de ácido húmico fueron preparados a partir de un extracto sólido proporcionado por el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín al cual se le realizaron las pruebas para su aceptación según el criterio establecido por la norma UNE-EN ISO 7887:2012 Anexo A Informativo CONTROL DE CALIDAD (preparación solución madre), se verificó la solución madre la cual debe tener una concentración aproximada de 3000 mg/L Pt según el método C de la misma norma, como resultado se obtuvo que la concentración de la solución madre fue de 2937.3 mg/L Pt, con un error del 2.09% debido a que en este formulación que no es importante obtener una concentración exacta de los estándares ya que en el mercado no existen hasta el momento distribuidores de ácido húmico con un alto grado de pureza, se optó por trabajar en unidades de volúmenes de dilución preparados en un balón de 100 mL. Seguido se realiza un análisis de linealidad, al cumplir los criterios de aceptabilidad se realizan las pruebas de precisión y exactitud para posteriormente usar soluciones de ácido húmico en el proceso de validación y determinar el límite de cuantificación, evaluar el porcentaje de recuperación y respetabilidad en matriz.

Para los ensayos que exigen repetibilidad se realizaron 12 réplicas a las cuales se les aplicó test de Dixon para el rechazo de datos (Gopal, 2006). Los resultados son expresados como se estipula en la norma en

unidades de  $\text{m}^{-1}$  como medida del coeficiente de absorción espectral.

El cálculo del coeficiente de absorción espectral  $\alpha$  ( $\text{m}^{-1}$ ) en función de la longitud de onda se realizó según lo estipulado en la norma:

$$\alpha(\lambda) = \frac{A}{d}f \quad (1)$$

Donde,  $A$  es la absorbancia de la muestra,  $d$  es la longitud de la celda (mm),  $f$  es un factor de conversión ( $f=1000$ ) para cambiar las unidades de centímetros a metros.

Todos los ensayos con ácido húmico se efectuaron lo más pronto posible garantizando que no pasen más de 5 minutos desde la preparación de la muestra y en caso de no poder hacer el análisis inmediatamente almacenar por máximo 24 horas en refrigeración y cubriendo los recipientes con papel aluminio o en frascos color ámbar para evitar interferencias por reacciones fotoquímicas.

## 2.1. Materiales y reactivos

Se utilizó como blanco y línea base de los barridos agua ultra pura desionizada tipo I, la cual cumple con estrictos criterios de pH, conductividad y cloro residual (ASTM, 2001).

Como matriz se utilizó agua natural original de una bocatoma de una fuente de agua superficial, residual doméstica del vertimiento de una planta de tratamiento de agua residual municipal (ARD) y dos muestras de agua residual no doméstica o industriales, ambas eran vertimientos a cuerpos de agua, una del sector textil y otra del sector floricultor, las cuales fueron almacenadas a  $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  en oscuridad por un tiempo máximo de 5 días.

Los estándares fueron preparados a partir de la solución madre mencionada en el Anexo de la norma, la cual se preparó pesando 4.2 g de bicarbonato de sodio  $\text{NaHCO}_3$  y 9.2 mg de Ácido Húmico en 500 mL agua tipo I.

## 2.2. Equipos e instrumentos

En la preparación de estándares se empleó una balanza analítica de precisión marca Sartorius<sup>®</sup> modelo CP225D (resolución 0.00001 g). Para filtrar la muestra se usó una bomba de vacío marca Boeco R300 con sistema de filtración de polisulfona de 300 mL y papel filtro de  $0.45 \mu\text{m}$  marca Advantec<sup>®</sup>. Para la medición del pH se utilizó un pHmetro marca WTW<sup>®</sup> modelo 330 con un electrodo marca SI Analytics de referencia Blue Line. En la medición de la absorbancia se empleó un espectrofotómetro U.V. visible marca Spectronic<sup>®</sup> Genesys 5 ( $\Delta\lambda = 5 \text{ nm}$ ) para leer a las longitudes de onda de 436, 525 y 620 nm. Celdas de cuarzo de 50 mm. Para las mediciones volumétricas se utilizó vidriería Brand<sup>®</sup> clase A.

### 2.3. Protocolo de medición

Se filtraron aproximadamente 100 mL de las muestras o matrices que son usadas en la validación con un filtro de membrana de  $0.45 \mu\text{m}$ , se midió el pH después de filtrado según el método SM 4500  $\text{H}^+\text{B}$  (APHA, AWWA & WEF, 2012). Las muestras altamente coloreadas se diluyeron con agua tipo I y se midió nuevamente el pH después de la dilución, se tuvo en cuenta el factor de dilución multiplicándolo por la absorbancia al momento de reportar los datos, los primeros 50 mL del filtrado se descartaron para evitar interferencias.

Se ubico la celda de 50 mm en el espectrofotómetro y se ajustó con la longitud de onda de 436 nm, se fijó el agua tipo I como blanco en el equipo y sin retirar la celda se hizo el mismo procedimiento para las longitudes de onda de 525 y 620 nm, luego se realizó un chequeo del agua tipo I como blanco y se registró la absorbancia la cual estaba por debajo de 0.001 unidades para cada longitud.

Posterior a esto se realizaron los ensayos con el ácido húmico y las diferentes matrices propuestas.

## 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1. Validación del método

El control analítico fue llevado a cabo mediante el seguimiento de los parámetros de linealidad, límite de cuantificación, repetibilidad, porcentaje de recuperación y estimación de incertidumbre en la medición.

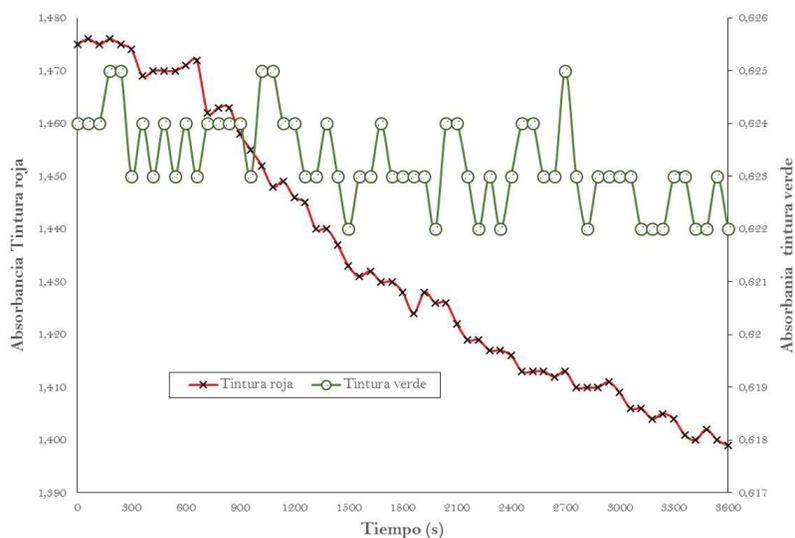


Figura 2: Barrido de absorbancia de tintura roja y azul-verdoso a 436 nm durante 1 hora. Fuente: Elaboración propia.

Se realizó un ensayo previo donde se evalúan los cambios de absorbancia de dos matrices de agua provenientes del sector floricultor y así evaluar la estabilidad de estas, se evaluó su respuesta a una hora de medición de la absorbancia usando la longitud de onda de 436 nm. Como se observa en la Figura 2, se

obtuvo dos perfiles donde la tintura roja resulto más inestable, evidenciando un cambio de absorbancia de aproximadamente 0.077 unidades desde el valor más alto hasta el más bajo lo que se refleja en un disminución del coeficiente de absorción de  $1.5 \text{ m}^{-1}$  en 1 hora, con la matriz de color azul-verdoso se observó un comportamiento más estable en el cual hubo una variación máxima de aproximadamente 0.003 unidades de absorbancia, lo que refleja un cambio en el coeficiente de absorción del orden de  $0.1 \text{ m}^{-1}$ . Lo anterior evidenció la importancia del tiempo de análisis para la generación de resultados confiables y la gran variabilidad en las distintas matrices se recomienda que el análisis para estas muestras problema no supere los 5 minutos ya que después de ese tiempo se evidencia un cambio significativo en el coeficiente de absorción espectral, de lo contrario se debe almacenar máximo 24 horas en refrigeración, preferiblemente en frasco ámbar.

### 3.1.1. Análisis de linealidad

Mediante un estudio previo se prepararon estándares tomando volúmenes de solución madre de ácido húmico de 0.5 - 1 - 2 - 3 - 5 - 10 - 15 - 20 - 25 y 50 mL aforando en balones volumétricos de 100 mL con agua tipo I, este ejercicio permitió evidenciar que existe un intervalo lineal en las 3 longitudes de onda hasta un volumen de dilución de 10 mL. Posteriormente se construyeron curvas lineales en cada longitud de onda tomando alícuotas de 0.25 - 0,5 - 1 - 2 - 5 y 10 mL por triplicado, en balones de 100 mL con agua tipo I para así definir un intervalo de trabajo a 436, 525 y 620 nm. En la Figura 3 se muestra las curvas correspondientes y en la Tabla 2 los resultados de la prueba de linealidad, se realizaron pruebas de hipótesis usando t-student con 95 % de confianza para evaluar los criterios de pendiente y correlación además se verifico la inclusión del cero en el intercepto con la misma prueba, como resultado se cumplieron los requisitos establecidos en el laboratorio donde se realizó el ensayo los cuales establecen coeficientes de variación y porcentaje de error menores al 15 %.

Tabla 2: Datos de linealidad del ácido húmico para volumen de dilución 0.25 - 0.5 - 1 - 2 - 5 y 10 mL.

Longitud de onda (nm)	Pendiente	Intercepto	R <sup>2</sup>
436	0.0515	-0.0012	0.9999
525	0.0276	-0.0002	0.9999
620	0.0133	0.001	0.9999

### 3.2. Precisión y Exactitud de estándar

Este parámetro se evaluó en tres niveles, alto, medio y bajo con soluciones preparadas a partir de la solución madre de ácido húmico usando alícuotas de 0.25; 3 y 10 mL respectivamente. Se realizaron 10 réplicas y las absorbancias esperadas se calcularon a partir de las curvas de calibración y son presentadas en la Tabla 3. Como medición de la dispersión de los datos se presenta el coeficiente de variación y el porcentaje de error para los tres niveles a las respectivas longitudes de onda con un criterio de aceptación de Cv y %Error menor al 15 % (AOAC, 2016).

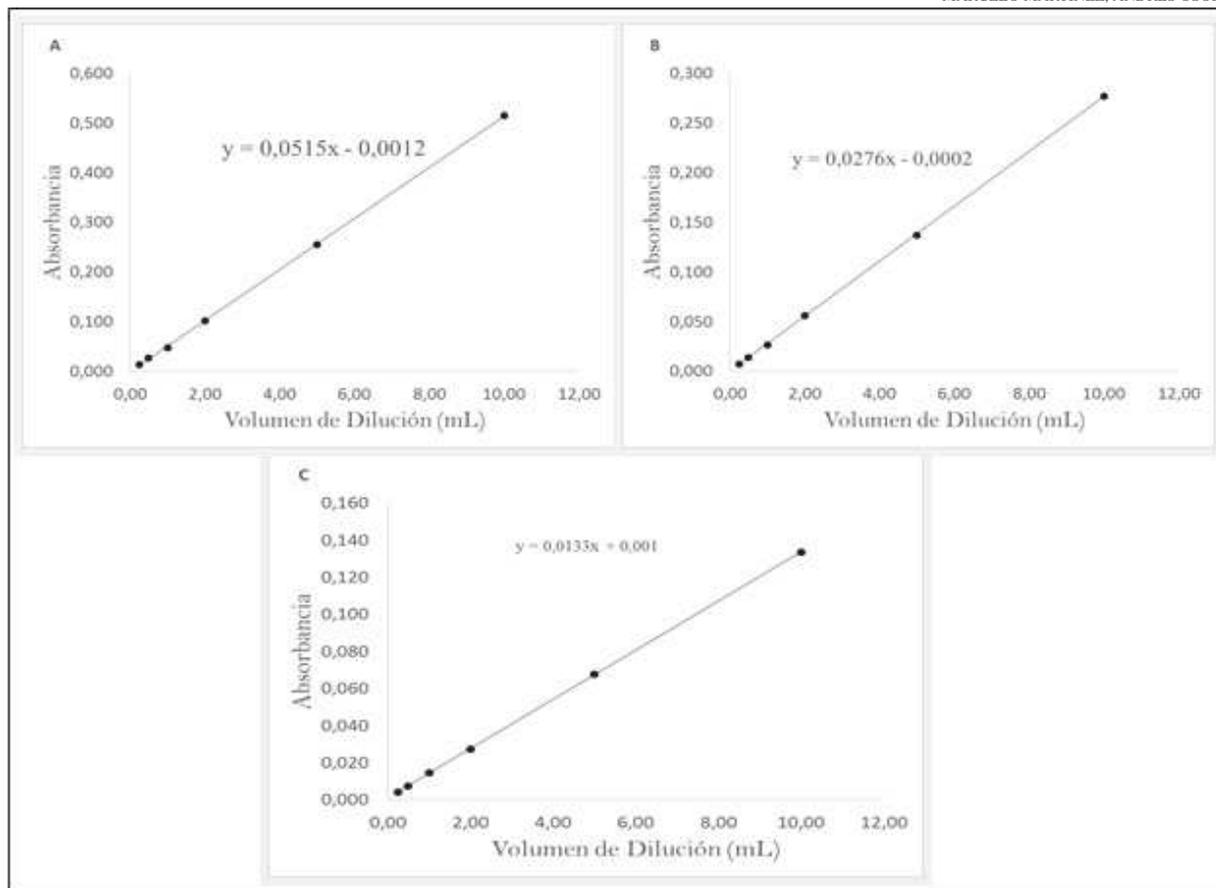


Figura 3: Curvas calibración ácido húmico.  $\lambda=436$  nm (A).  $\lambda=525$  nm (B).  $\lambda=620$  nm (C). Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3: Precisión y exactitud de estándar.

Nivel	$\lambda=436$ nm	$\lambda=525$ nm	$\lambda=620$ nm
Nivel bajo	0.014 A ( $\alpha= 0.3 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 6.295 % %Error = 4.028 %	0.007 A ( $\alpha= 0.1 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 8.784 % %Error = 1.868 %	0.004 A ( $\alpha= 0.1 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 7.713 % %Error = 4.004 %
Nivel medio	0.155 A ( $\alpha= 3.1 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 0.436 % %Error = 0.596 %	0.082 A ( $\alpha= 1.6 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 0.813 % %Error = 1.303 %	0.040 A ( $\alpha= 0.8 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 2.391 % %Error = 0.814 %
Nivel alto	0.513 A ( $\alpha= 10.3 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 0.305 % %Error = 0.516 %	0.272 A ( $\alpha= 5.4 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 2.033 % %Error = 1.690 %	0.134 A ( $\alpha= 2.7 \text{ m}^{-1}$ ) Cv = 0.883 % %Error = 0.030 %

### 3.2.1. Límite de cuantificación

Se prepararon estándares para límite de cuantificación (LC) iguales al primer nivel de las curvas de calibración (nivel bajo), tomando 0.25 mL (250  $\mu\text{L}$ ) de la solución madre de ácido húmico y llevando a

100 mL, se realizaron ensayos de repetibilidad (10 réplicas) para verificar el cumplimiento de los criterios de aceptación con coeficiente de variación y porcentaje de error menor al 15 % (AOAC, 2016). La Tabla 3 ilustra los valores obtenidos de LC en  $m^{-1}$  para cada longitud de onda.

Tabla 4: Límites de cuantificación para cada longitud de onda.

Longitud de onda (nm)	LC ( $m^{-1}$ )
436	0.3 Cv=4.6 %; %Error= 13.0%
525	0.1 Cv=8.8 %; %Error= 1.9%
620	0.1 Cv=11.7 %; %Error= 5.4%

### 3.2.2. Exactitud- Porcentaje de recuperación

El análisis de recuperación se realizó basados en la ley de Beer, donde se esperaba que la mezcla de las muestras (matriz) con los estándares de ácido húmico no reaccionaran entre sí para que la absorbancia total a cualquier longitud de onda fuera la suma de las absorbancias de los componentes de la mezcla (Harris, 2006). Se realizaron ensayos para 10 réplicas de las diferentes matrices (agua natural, residual doméstica y residual no doméstica), con dos adiciones a cada una de ácido húmico de 1 mL y 2.5 mL tomados directamente de la solución madre en 100 mL de muestra, la absorbancia esperada de estas soluciones se calculó a partir de las curvas de calibración de ácido húmico. El criterio de aceptación usado fueron porcentajes de recuperación entre el 80 y el 110 % (AOAC, 2016). Los porcentajes de recuperación son reportados en las Tablas 6 y 7. Las absorbancias registrada para las matrices sin adición a las longitudes de onda respectivas se encuentran en la Tabla 5.

Tabla 5: Absorbancia matriz sin adición.

Matriz (sin adición)	$\lambda=436$ nm		$\lambda=525$ nm		$\lambda=620$ nm	
	A	$\alpha$ ( $m^{-1}$ )	A	$\alpha$ ( $m^{-1}$ )	A	$\alpha$ ( $m^{-1}$ )
Agua natural	0.030 A	0.6	0.015 A	0.3	0.006 A	0.1
Agua residual doméstica (ARD)	0.071 A	1.4	0.035 A	0.7	0.024 A	0.5
Agua residual no doméstica (ARnD)	0.257 A	5.1	0.182 A	3.6	0.274 A	5.5

### 3.2.3. Precisión

Este parámetro se evaluó con 10 réplicas para dos matrices de agua natural, residual domestica (ARD) y 2 muestras residual no doméstica provenientes del sector floricultor, una con coloración azul-verdoso (ARnD)

Tabla 6: Recuperación adición 1 mL de Solución Madre  
436 nm ( $\sim 0.050$  A;  $\alpha=1.0$ ) / 525 nm ( $\sim 0.025$  A;  $\alpha=0.5$ ) / 620 nm ( $\sim 0.013$  A;  $\alpha=0.3$ ).

Matriz	Recuperación 436 nm	Recuperación 525 nm	Recuperación 620 nm
Agua natural	0.083 A ( $\alpha=1.7$ m <sup>-1</sup> ) 105.17 %	0.044 A ( $\alpha=0.9$ m <sup>-1</sup> ) 106.18 %	0.019 A ( $\alpha=0.4$ m <sup>-1</sup> ) 92.96 %
Agua residual doméstica (ARD)	0.112 A ( $\alpha=2.2$ m <sup>-1</sup> ) 80.72 %	0.057 A ( $\alpha=1.1$ m <sup>-1</sup> ) 81.09 %	0.036 A ( $\alpha=0.7$ m <sup>-1</sup> ) 83.10 %
Agua residual no doméstica (ARnD)	0.304 A ( $\alpha=6.1$ m <sup>-1</sup> ) 93.44 %	0.208 A ( $\alpha=4.2$ m <sup>-1</sup> ) 94.55 %	0.286 A ( $\alpha=5.7$ m <sup>-1</sup> ) 81.69 %

Tabla 7: Recuperación adición 2.5 mL de Solución Madre  
436 nm ( $\sim 0.125$  A;  $\alpha=2.5$ ) / 525 nm ( $\sim 0.075$  A;  $\alpha=1.5$ ) / 620 nm ( $\sim 0.035$  A;  $\alpha=0.7$ ).

Matriz	Recuperación 436 nm	Recuperación 525 nm	Recuperación 620 nm
Agua natural	0.135 A ( $\alpha=2.7$ m <sup>-1</sup> ) 82.35 %	0.072 A ( $\alpha=1.4$ m <sup>-1</sup> ) 82.58 %	0.034 A ( $\alpha=0.7$ m <sup>-1</sup> ) 81.82 %
Agua residual doméstica (ARD)	0.197 A ( $\alpha=3.9$ m <sup>-1</sup> ) 98.82 %	0.104 A ( $\alpha=2.1$ m <sup>-1</sup> ) 100.00 %	0.058 A ( $\alpha=1.2$ m <sup>-1</sup> ) 99.71 %
Agua residual no doméstica (ARnD)	0.389 A ( $\alpha=7.8$ m <sup>-1</sup> ) 103.53 %	0.254 A ( $\alpha=5.1$ m <sup>-1</sup> ) 104.50 %	0.303 A ( $\alpha=6.1$ m <sup>-1</sup> ) 85.04 %

1) y la otra de color rojo (ARnD 2), las condiciones de repetibilidad y precisión son expresadas en términos de coeficientes de variación para observar la dispersión de datos y con un criterio de aceptación menor al 15 %.

La Figura 4 muestra los tipos de matrices utilizados tanto para agua residual domestica (ARD) como para agua residual no domestica de color azul-verdoso (ARnD 1) y rojo (ARnD 2) y los resultados de precisión para las matrices seleccionadas se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Precisión en matrices.

Matriz	Cv $\lambda=436$ nm	Cv $\lambda=525$ nm	Cv $\lambda=620$ nm
Agua natural	0.015 A ( $\alpha=0.3$ m <sup>-1</sup> ) 0.00 %	0.012 A ( $\alpha=0.2$ m <sup>-1</sup> ) 0.00 %	0.009 A ( $\alpha=0.2$ m <sup>-1</sup> ) 6.00 %
Agua residual doméstica (ARD)	0.433 A ( $\alpha=8.7$ m <sup>-1</sup> ) 0.27 %	0.268 A ( $\alpha=5.4$ m <sup>-1</sup> ) 0.33 %	0.191 A ( $\alpha=3.8$ m <sup>-1</sup> ) 0.63 %
Agua residual no doméstica (ARnD 1)	0.516 A ( $\alpha=10.3$ m <sup>-1</sup> ) 0.09 %	0.405 A ( $\alpha=8.1$ m <sup>-1</sup> ) 0.28 %	0.630 A ( $\alpha=12.6$ m <sup>-1</sup> ) 0.00 %
Agua residual no doméstica (ARnD 2)	0.822 A ( $\alpha=16.4$ m <sup>-1</sup> ) 0.67 %	0.579 A ( $\alpha=11.6$ m <sup>-1</sup> ) 0.66 %	0.104 A ( $\alpha=2.1$ m <sup>-1</sup> ) 1.80 %

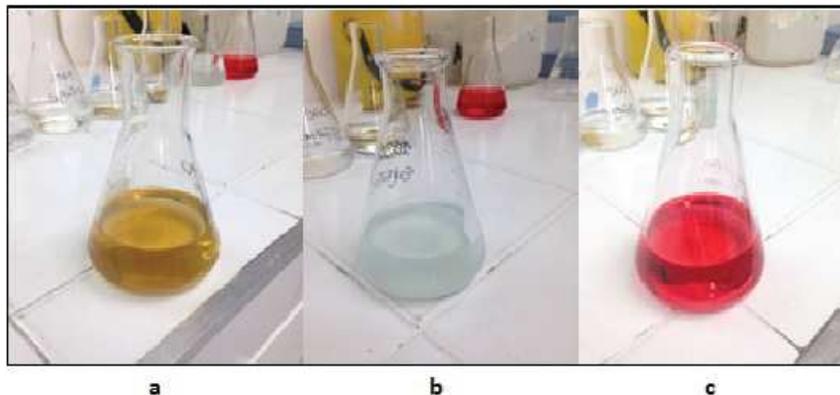


Figura 4: Matrices utilizadas para las mediciones experimentales. Agua residual domestica (ARD) (a), agua residual no domestica azul-verdoso (ARNd 1) (b), agua residual no domestica roja (ARNd 2) (c). Fuente: Elaboración propia.

### 3.2.4. Estimación incertidumbre

La incertidumbre de la medición es únicamente dada por el equipo de medición, se calculó a partir de los datos presentados en el informe de calibración en la longitud de onda más cercana a la de análisis, reportando la incertidumbre más alta entre las tres longitudes de onda 436, 525 y 620 nm. Como resultado del informe de calibración 2016-11-27 se calcula la incertidumbre relativa expandida  $U$  usando una distribución rectangular tipo B (errores sistemáticos) y un  $k=2$  para la incertidumbre combinada, resultando máxima a 525nm con un valor de 0.7 %.

## 4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta validación confirman que el método B de la norma ISO 7887:2012 es apto para la determinación de color real y puede ser de uso rutinario ya que cumplió con los parámetros mínimos de validación propuestos en la metodología y se puede garantizar la confiabilidad en los resultados.

El método de color real a 3 longitudes de onda es una ayuda útil y rápida para obtener un indicio de que tipo de contaminación por color está afectando un cuerpo de agua, ya que usa la relación de los colores primarios con las respectivas longitudes de onda propuestas (436 nm= amarillo; 525 nm= rojo; 620 nm= azul), esto es de gran utilidad cuando no se cuenta con un equipo que pueda hacer un barrido en todo el espectro visible o simplemente no se tiene el tiempo suficiente para hacerlo y se requiere de un dato certero y a tiempo.

El resultado obtenido en el laboratorio evidencia la importancia de la metodología ya que se comprobó experimentalmente que los colores observados absorben en las longitudes de onda correspondientes como se presenta en la tabla 1 y esto puede ser determinante al momento de identificar una fuente de color que contamine un cuerpo de agua.

Las matrices usadas en el parte experimental mostraron relación con la Tabla 1 cuando se hicieron las mediciones de absorbancia en las 3 longitudes de onda propuestas por el método, la muestra de agua residual domestica (ARD) de coloración amarillo absorbió mas a 436 nm, el agua residual no domestica de color azul-verdoso (ARnD 1) tuvo su mayor absorbancia a 620 nm y la muestra de agua residual no domestica de color rojo (ARnD 2) absorbió mas a 436 nm y también tuvo una absorbancia alta a 525 nm que es el rango del color rojo reflejado.

Las diferentes aguas residuales domesticas (ARD) que se manejan en el laboratorio presentan una coloración amarilla después de filtrada, lo que permite que tengan una mayor absorbancia a 436 nm y dicha absorbancia va disminuyendo a longitudes de onda mayor, esto puede ser de gran ayuda al momento de dar una interpretación sobre qué tipo de agua puede estar contaminando un cuerpo de agua.

El ácido húmico usado en esta validación es útil como material de referencia para aguas que presenten coloración amarilla, por ejemplo aguas residuales domesticas (ARD), es decir, para la longitud de onda de 436 nm; sin embrago se deben seguir haciendo trabajos de investigación para poder determinar otros materiales de referencia que puedan tener estabilidad y trazabilidad en las otras 2 longitudes de onda que propone el método (525 y 620 nm), esto con el fin de dar mayor robustez al control de calidad analítico del método.

Las unidades de  $m^{-1}$  del coeficiente de absorción espectral ( $\alpha$ ) se ajustan al Sistema Internacional de Unidades (SI) y son importantes al momento de revelar un resultado de color a 3 longitudes ya que este unifica en un solo valor la relación de la absorbancia y el tamaño de la celda utilizada, es importante al momento de comparar resultados con otros laboratorios o también para ejercicios interlaboratorios y para la trazabilidad de un material de referencia certificado (MRC) que se use para este método, para este caso en particular se usó el ácido húmico.

## Referencias

- AOAC. (2016). *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. Rockville, USA.
- APHA, AWWA, WEF. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.
- ASTM 1193. (2001). Standard specification for reagent water. *2001 Annual Book of Standard, 11*.
- EPA. (2001). *Parameters of water quality. Interpretation and Standards*. Irlanda: Environmental Protection Agency.
- Frimmel, F. (2005). *Aquatic humic substances*. In *Biopolymers Online*. Karlsruhe, Alemania: Wiley-VCH. DOI: 10.1002/3527600035.bpo11010

- González, C. & Hernández, L. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Barcelona: Ariel.
- Gopal, K. (2006). *100 statistical test (3a ed.)*. Chennai, India: SAGE Publications Ltd.
- Harris, D. (2006). *Análisis químico cuantitativo (3a ed.)*. Barcelona: Reverté S.A.
- ICARO. (2006). *Manual de la Iluminación*. Las Palmas de Gran Canaria: Editorial de Construcción Arquitectónica.
- Kang, S. & Kuo, S. (1999). Correlation among indicators in regulating colored industrial wastewaters. *Chemosphere*, 39(12), 1983-1996.
- Kao, C.; Chou, M.; Fang, W.; Liu, W. & Huang, B. (2001). Regulation colored textile wastewater by 3/31 wavelength admittance methods in Taiwan. *Chemosphere*, 44(5), 1055-1063.
- Kuehni, R. G. (2012). *Color: An Introduction to practice and principles (3th ed)*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- MINAMBIENTE. (2015). Resolución N° 0631 17 Marzo 2015. Recuperado de [http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/d1-res\\_631\\_marz\\_2015.pdf](http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/d1-res_631_marz_2015.pdf)
- Peña, E.; Havel, J. & Patocka, J. (2005). Humic substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*, 3(1), 13-24.
- Sliney, D. H. (2016). What is light? The visible spectrum and beyond. *Eye*, 30(2), 222-229.
- Ueno, K. & Misawa, H. (2013). Surface plasmon-enhanced photochemical reactions. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 15, 31-52.
- Umek, M. (2016). Development and validation of analytical method B according to standard sist en ISO 7887:2012 for water color determination. Maribor. Recuperado de <https://dk.um.si/IzpisGradiva.php?id=60203&lang=slv&prip=dkum:8712059:r3>