

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO
(DQO) POR ESPECTROSCOPIA UV-Vis EN EL LABORATORIO AMBIENTAL
DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA – CRC**

ANLLY KATHERINE MUÑOZ VELASCO



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2022**

**ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO
(DQO) POR ESPECTROSCOPIA UV-Vis EN EL LABORATORIO AMBIENTAL
DE LA CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA – CRC**

ANLLY KATHERINE MUÑOZ VELASCO

**Trabajo de grado en modalidad de pasantía presentado como requisito parcial para
optar al título de Química**

**Director:
RICARDO BENÍTEZ BENÍTEZ, PhD.
Departamento de Química
Grupo de Investigación Química de Productos Naturales (QPN)**

**Asesor:
Diego Zuluaga Vera, Químico
Director del Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2022**

Nota de Aceptación

Ricardo Benítez Benítez. Ph.D.
Director de trabajo de grado

Jurado

Jurado

Popayán, Marzo del 2023

CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
TABLA DE ABREVIACIONES	iv
1. RESUMEN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. OBJETIVOS	3
3.1 OBJETIVO GENERAL	3
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
4 FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	4
4.1 CALIDAD DEL AGUA	4
4.2 CONTAMINACIÓN DE LAS AGUAS	4
4.3 AGUAS RESIDUALES	5
4.4 NORMATIVIDAD PARA AGUAS RESIDUALES	6
4.5 CONTAMINACIÓN ORGÁNICA DE LAS AGUAS RESIDUALES	8
4.6 DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO	10
4.6.1 Método colorimétrico con reflujo cerrado	10
4.7 ESTANDARIZACIÓN	11
4.7.1 Rango lineal de trabajo	11
4.7.2 Límite de detección	12
4.7.3 Límite de cuantificación	12
4.7.4 Control de calidad	12
4.7.5 Exactitud	13
4.7.5.1 Precisión	13
4.7.5.1.1 Precisión por repetibilidad	14
4.7.5.1.2 Precisión intermedia	14
4.7.5.1.3 Precisión por reproducibilidad	14
4.7.5.2 Veracidad	14
4.7.5.2.1 Sesgo	14
4.7.6 Incertidumbre	14
4.7.6.1 Incertidumbre estándar tipo A	15
4.7.6.2 Incertidumbre estándar tipo B	15
4.7.6.3 Incertidumbre estándar combinada	15
4.7.6.4 Incertidumbre expandida	15
4.8 PROCESO DE VALIDACIÓN	15
4.8.1 Prueba de aptitud	15
4.9 MUESTREO DE AGUA	15
4.9.1 Muestreo de aguas residuales	16
5 METODOLOGÍA	17

5.1	MATERIALES, EQUIPOS y REACTIVOS	17
5.1.1	Materiales	17
5.1.2	Equipos	17
5.1.3	Reactivos	18
5.2	PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO CON REFLUJO CERRADO POR ESPECTROSCOPIA UV-Vis	18
5.2.1	Lavado de material de vidrio	18
5.2.2	Verificación de la calibración de equipos	18
5.2.3	Desarrollo de la metodología para la determinación de DQO en aguas residuales domésticas, teniendo en cuenta la metodología 5220 D referida en <i>THE STANDARD METHODS</i>	18
5.3	ESTANDARIZACIÓN	20
5.3.1	Rango lineal de trabajo	20
5.3.2	Límite de detección	20
5.3.3	Límite de cuantificación	21
5.3.4	Control de calidad	21
5.3.5	Exactitud	23
5.3.5.1	Precisión	23
5.3.5.1.1	Precisión por repetitividad	23
5.3.5.1.2	Precisión intermedia	23
5.3.5.2	Veracidad	23
5.3.5.2.1	Sesgo	23
5.3.6	Incertidumbre	24
5.3.6.1	Incertidumbre estándar tipo A	24
5.3.6.2	Incertidumbre estándar tipo B	24
5.3.6.3	Incertidumbre estándar combinada	25
5.3.6.4	Incertidumbre expandida	25
5.4	PROCESO DE VALIDACIÓN	25
5.4.1	Prueba de aptitud	25
5.5	MUESTREO DE AGUAS	26
5.5.1	Muestreo de aguas residuales domésticas	26
6	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	27
6.1	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO 5220D-SM PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS	27
6.1.1	Rango lineal de trabajo	27
6.1.2	Límite de detección	29
6.1.3	Límite de cuantificación	33
6.1.4	Control de calidad	34
6.1.5	Exactitud	37

6.1.5.1	Precisión	37
6.1.5.1.1	Precisión por repetibilidad	38
6.1.5.1.2	Precisión intermedia	44
6.1.5.2	Veracidad	49
6.1.5.2.1	Sesgo	49
6.1.6	Incertidumbre	50
6.1.6.1	Incertidumbre estándar tipo A	50
6.1.6.2	Incertidumbre estándar tipo B	51
6.1.6.3	Incertidumbre estándar combinada	54
6.1.6.4	Incertidumbre expandida	54
6.2	PROCESO DE VALIDACIÓN	54
6.2.1	Prueba de aptitud	54
6.3	IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO <i>5220D-SM</i> VALIDADO PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS	55
7	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	59
8	BIBLIOGRAFÍA	60
9	ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Pág.
1	Principales contaminantes de las aguas residuales	6
2	Parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales domésticas (ARD)	7
3	Relación DQO/DBO ₅	9
4	Materiales empleados durante el desarrollo de la estandarización	17
5	Descripción de los equipos empleados durante el desarrollo de la estandarización	17
6	Descripción de los reactivos empleados durante el desarrollo de la estandarización	18
7	Volúmenes empleados para la preparación de los estándares	19
8	Descripción de los lugares de muestreo realizados en el Departamento del Cauca	26
9	Absorbancias obtenidas para la curva de calibración por patrón externo para determinación del rango lineal de trabajo	27
10	Porcentajes de error (%D) para cada concentración de la curva de calibración	28
11	Datos obtenidos de los blancos y estándares con DQO de 20 mg O ₂ /L en 1 día	30
12	Datos obtenidos de los blancos y estándar de 30 mg O ₂ /L de DQO de en 1 día	30
13	Datos obtenidos de los blancos y estándar de 40 mg O ₂ /L de DQO en 1 día	31
14	Datos obtenidos de los blancos y estándares de 40 mg O ₂ /L de DQO en los días 1,2 y 3	32
15	DQO hallada de tres soluciones de 15 mg O ₂ /L para confirmar el LDM	33
16	Valores obtenidos de la verificación del límite de cuantificación con estándar de 40 mg O ₂ /L de DQO	34
17	Valores obtenidos de la verificación del límite de cuantificación con solución de 50 mg O ₂ /L	34
18	Valores obtenidos de la verificación del límite de cuantificación con estándar de 40 mg O ₂ /L de DQO	35
19	Datos obtenidos de las curvas de calibración y el %D de cada punto, para el rango lineal de trabajo	35
20	Datos obtenidos para realizar la carta de control de calidad	36
21	%Recuperación de Blanco fortificado, Material de referencia certificado, Matriz fortificada y Duplicado de matriz fortificada.	37
22	Valores obtenidos de diferencia relativa porcentual (%DRP)	37
23	Concentraciones obtenidas del grupo básico de muestras en un día	38
24	Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestras de control (Precisión por repetibilidad)	38
25	Prueba paramétrica ANOVA para muestras de control (Precisión por repetibilidad)	41

26	Prueba de homogeneidad de varianzas para BF y MRC (Precisión por repetibilidad)	41
27	Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 2)	42
28	Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 3)	42
29	Prueba t para muestras independientes (grupos 2 y 3)	42
30	Concentraciones obtenidas de blanco fortificado de muestras en un día	43
31	Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestra de control BF (Precisión por repetibilidad)	43
32	Prueba de homogeneidad de varianzas para BF (Precisión por repetibilidad)	44
33	Prueba paramétrica ANOVA para muestra de control BF (Precisión por repetibilidad)	44
34	Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestras de control (Precisión intermedia)	44
35	Prueba paramétrica ANOVA factor día para muestras de control (Precisión intermedia)	48
36	Prueba de homogeneidad de varianzas para MF/DMF (Precisión intermedia)	48
37	Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 2)	49
38	Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 3)	49
39	Prueba t para muestras independientes (grupos 2 y 3)	49
40	Definición de los parámetros del método	50
41	Pesos obtenidos en el pesaje del estándar de ftalato ácido de potasio en la balanza analítica	51
42	Reporte de evaluación del método estandarizado 5220 D-SM por el Laboratorio certificado <i>nsi lab solutions</i>	55
43	Reporte de evaluación del método estandarizado 5220 D-SM por el Laboratorio certificado <i>Merck</i>	55
44	Valores obtenidos de la estandarización de la metodología 5220 D – SM en el Laboratorio ambiental de la CRC.	55
45	Concentraciones obtenidas de DQO y parámetros asociados	56
46	Relación DQO/DBO ₅	56
47	Concentraciones obtenidas de DQO por los métodos 5220 D y test en cubetas-Merck	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pág.
1	Distribución de Plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) en algunos departamentos de Colombia	8
2	Curva de calibración por patrón externo para determinación del rango lineal de trabajo	28
3	Curva de calibración por patrón externo para la determinación del límite de detección	29
4	Curva de calibración por patrón externo para la confirmación del límite de cuantificación	33
5	Gráfico Q-Q de Blanco fortificado de precisión por repetibilidad	39
6	Gráfico de cajas de Blanco fortificado de precisión por repetibilidad	39
7	Gráfico Q-Q de Material de referencia certificado de precisión por repetibilidad	40
8	Gráfico de cajas de normalidad de Material de referencia certificado de precisión por repetibilidad	40
9	Gráfico Q-Q de Blanco fortificado de precisión intermedia	45
10	Gráfico de caja de Blanco fortificado de precisión intermedia	45
11	Gráfico Q-Q de Material de referencia certificado de precisión intermedia	46
12	Gráfico de caja de Material de referencia certificado de precisión intermedia	46
13	Gráfico Q-Q de Muestra fortificada de precisión intermedia	47
14	Gráfico de caja de Muestra fortificada de precisión intermedia	47
15	Diagrama de causa-efecto para la cuantificación de DQO por método colorimétrico con reflujo cerrado	50

TABLA DE ABREVIACIONES

Abreviación	Descripción
CRC	Corporación Autónoma Regional del Cauca
DQO	Demanda química de oxígeno
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
PHK	Ftalato ácido de potasio
UV-Vis	Ultra violeta-visible
<i>SM</i>	<i>Standard Methods</i>
ARD	Agua residual domestica
ARnD	Agua residual no doméstica
AS	Agua superficial
SST	Solidos suspendidos totales
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
LDM	Límite de detección del método
LCM	Límite de cuantificación del método
BR	Blanco de reactivos
BF	Blanco fortificado
M	Matriz
MF	Matriz fortificada
DMF	Duplicado matriz fortificada
MRC	Material de referencia certificado
DER	Desviación estándar relativa
DRP	Diferencia relativa porcentual

1. RESUMEN

El Laboratorio Ambiental de la CRC contribuye al desarrollo sostenible del medio ambiente a través de la investigación y generación de información de alta calidad y confiabilidad de variables ambientales físicas, químicas y bióticas, mediante la utilización de procedimientos efectuados de acuerdo a normas nacionales e internacionales. Entre las determinaciones que se realizan en el laboratorio ambiental para el monitoreo de las aguas en el Departamento del Cauca, se encuentra la determinación de la demanda química de oxígeno; teniendo en cuenta que el laboratorio brinda información de alta calidad a los clientes y además, se rige bajo la NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC-ISO/IEC 17025 que constituye los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, surgió la necesidad de validar un método normalizado como lo *es el método colorimétrico con reflujó cerrado* priorizado para aguas residuales domésticas, establecido en el *Standard Methods-5220 D*, lo cual permitió cuantificar el impacto de las aguas residuales domésticas sobre el recurso hídrico en el departamento del Cauca.

Se realizó la estandarización, validación e implementación de la metodología analítica para la determinación de DQO en muestras de aguas residuales domésticas mediante espectroscopía UV-Vis en el Laboratorio ambiental de la CRC. En el desarrollo de la estandarización, validación e implementación de la metodología analítica se obtuvieron los siguientes parámetros analíticos del método: Rango lineal de trabajo mediante curva de calibración por patrón externo: 100, 150, 200, 500, 800 y 1000 mg O₂/L de DQO, límite de detección: 15 mg O₂/L de DQO, límite de cuantificación: 50 mg O₂/L de DQO, la exactitud se determinó teniendo en cuenta dos componentes: Precisión y veracidad, la precisión se determinó en términos de %DER, los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad (%DER<10%), la veracidad se expresó en términos de sesgo calculando %E, los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad (%E<10%), la incertidumbre expandida del método 17,212%.

Teniendo en cuenta los datos obtenidos de la estandarización, se realizó el proceso de validación efectuando una prueba de aptitud, obteniendo como resultado de evaluación aceptado, considerando la aceptación de la validación, se procedió a implementar la metodología en el laboratorio ambiental de la CRC a muestras de aguas residuales domésticas del Departamento del Cauca para el seguimiento y control del recurso hídrico, teniendo en cuenta la norma 631 del 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible donde se establecen los *Parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y otras disposiciones*.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca – CRC, contribuye al desarrollo sostenible del medio ambiente a través de la investigación y generación de información de alta calidad y confiabilidad de variables ambientales físicas, químicas y bióticas, mediante la utilización de procedimientos efectuados de acuerdo a normas nacionales e internacionales. Entre las determinaciones que se realizan en el laboratorio ambiental para el monitoreo de la calidad del agua, se encuentra la determinación de DQO, la cual relaciona la cantidad de oxidante con la cantidad de materia orgánica; actualmente este parámetro se realiza empleando un *test en cubeta para DQO de Merck*, el cual no se encuentra normalizado; teniendo en cuenta que el laboratorio brinda información de alta calidad a los clientes y además, se rige bajo la *NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC-ISO/IEC 17025* que constituye los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración, surge la necesidad de validar un método normalizado como lo es el *método colorimétrico con refluo cerrado*, establecido en el *Standard Methods-5220 D (SM-5220D)*, siguiendo un protocolo interno del laboratorio basado en el *Standard Methods*, lo anterior permitirá cuantificar el impacto de las aguas residuales domésticas sobre el recurso hídrico en el departamento del Cauca.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Estandarizar una metodología para la cuantificación de DQO en aguas residuales domésticas, basado en la metodología expuesta en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 5220 D*, utilizando como técnica analítica la espectroscopía UV-Vis en el Laboratorio Ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca, teniendo en cuenta la capacidad instrumental del laboratorio.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1** Desarrollar la metodología expuesta en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 5220 D*, determinando parámetros analíticos como rango lineal de trabajo, límite de detección y cuantificación, exactitud, precisión e incertidumbre, teniendo en cuenta criterios de aceptabilidad según protocolo interno (*GU-PDPA-LA097*) del laboratorio ambiental de la CRC para la confirmación de métodos.
- 3.2.2** Validar la metodología desarrollada (*5220 D SM*) en el laboratorio ambiental de la CRC con ensayo de aptitud.
- 3.2.3** Implementar el método validado en el laboratorio ambiental de la CRC en muestras de aguas residuales domésticas del Departamento del Cauca.

4 FUNDAMENTO TEÓRICO Y ESTADOS DEL ARTE

El agua es un compuesto básico e insustituible con características únicas, de gran significación para la vida; es uno de los compuestos más abundantes y esenciales en la naturaleza; además es determinante en los procesos físicos, químicos y biológicos que gobiernan el medio natural. Por lo tanto, es el elemento estructurante de la dinámica natural y social del territorio, sin el cual no es posible la vida ni la actividad del hombre.¹

4.1 CALIDAD DEL AGUA

La calidad del agua se define como aquellas condiciones que deben darse en el agua para que ésta mantenga un ecosistema equilibrado y cumpla unos determinados objetivos de calidad y está definida por las características físicas, químicas, biológicas y ecológicas. El objetivo de *Calidad* según la Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico, según el Ministerio de Ambiente, consiste en mejorar la calidad y minimizar la contaminación de los cuerpos de agua a través del ordenamiento y reglamentación de usos del recurso y el monitoreo, seguimiento y evaluación de la calidad del mismo.²

Colombia se caracteriza por tener un potencial hídrico superior al de otros países de América del Sur y, aun así, presenta problemas de disponibilidad de agua de buena calidad en diferentes regiones del país, especialmente en las densamente pobladas. Esto se debe a que las actividades productivas, especialmente la minería y la industria, provocan que las aguas residuales generen efectos negativos en la calidad de los cuerpos de agua superficiales, dado que sus residuos son ambientalmente peligrosos y pueden persistir en el tiempo después del cese de estas actividades.³

4.2 CONTAMINACIÓN DE LAS AGUAS

Los ríos y mares colombianos reciben y transportan cargas contaminantes de agua utilizadas en los diferentes procesos socioeconómicos y vertidas mayoritariamente sin tratamiento previo; además, son los receptores de altos volúmenes de sedimentos originados por procesos de erosión, bien sea de origen natural o por acción del hombre. Estas acciones se incrementan diariamente, debido al crecimiento de la población y de las actividades económicas, siendo necesario un monitoreo y control constante que permita tomar las acciones necesarias para abordar esta problemática con el fin de disminuir su impacto en los procesos naturales y sociales, especialmente en la salud humana.⁴

El control y seguimiento de los vertimientos (actividades industriales, comerciales o de servicios) se realiza a partir de la medición de la concentración de las sustancias descargadas sobre el alcantarillado o a los cuerpos de aguas superficiales las cuales afectan la calidad de la misma. Estas aguas superficiales pueden ser corrientes que se mueven en una misma dirección y circulan continuamente, como los ríos, quebradas y arroyos; o las que se encuentran estancadas como los lagos, lagunas y pantanos.^{5,6}

Los vertimientos pueden ser puntuales o no puntuales, siendo los vertimientos puntuales aquellos que se realizan a partir de un medio de conducción (tubería, zanja, entre otros) y se puede precisar el punto exacto de descarga, mientras que los vertimientos no puntuales no se puede precisar el punto exacto de descarga, como los provenientes de escorrentía (derrame y

escurrimiento de agua en distintas direcciones), aplicación de agroquímicos u otros similares.⁵

La norma de vertimientos en Colombia, está regida por la Resolución 0631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, reglamenta el artículo 28 del Decreto 3930 de 2010 y actualiza el Decreto 1594 de 1984 (vigente desde hace 30 años) respondiendo a la nueva realidad urbana, industrial y ambiental del país. Esta permite el control de las sustancias contaminantes que llegan a los cuerpos de agua vertidas por 73 actividades productivas presentes en ocho sectores económicos del país. Esta Resolución es de obligatorio cumplimiento para todas aquellas personas que desarrollen actividades industriales, comerciales o de servicios y que en el desarrollo de las mismas generen aguas residuales, que serán vertidas en un cuerpo de agua superficial o al alcantarillado público.⁶

4.3 AGUAS RESIDUALES

Las aguas residuales son aguas con impurezas procedentes de vertimientos de diferentes orígenes. Se clasifican en ARD, las cuales proceden de los hogares, así como las de las instalaciones en las cuales se desarrollan actividades industriales, comerciales o de servicio y que correspondan a descargas de los retretes y servicios sanitarios, descargas de los sistemas de aseo personal (duchas y lavamanos), de las áreas de cocinas y cocinetas, de las pocetas de lavado de elementos de aseo y lavado de paredes y pisos y del lavado de ropa (No se incluyen las de los servicios de lavandería industrial); y ARnD, las cuales son procedentes de las actividades industriales, comerciales o de servicio distintas a las que constituyen aguas residuales domésticas (ARD).⁷

Los efluentes domésticos suelen tener características uniformes, a pesar de ser de naturaleza heterogénea (es decir, desechos de lavados, inodoros y baños), mientras que los efluentes industriales muestran una diversidad más amplia debido a variaciones tanto entre industrias como dentro de los procesos de las mismas (alimentaria, química, metalúrgica, etc.)

En la Tabla 1 se encuentran los principales contaminantes y sus fuentes, junto con los efectos más representativos de las aguas residuales.

Tabla 1. Principales contaminantes de las aguas residuales⁸

CONTAMINANTE	Algunos parámetros representativos	FUENTE		Posible efecto de la contaminación
		ARD	ARnD	
Sólidos suspendidos	Sólidos suspendidos totales	+++	↔	Depósitos de lodos Adsorción de contaminantes
Materia Orgánica Biodegradable	Demanda bioquímica de oxígeno	+++	↔	Consumo de oxígeno Muerte de especies acuáticas Condiciones sépticas
Nutrientes	Nitrógeno Fósforo	+++	↔	Crecimiento excesivo de algas Contaminación de las aguas subterráneas
Patógenos	Coliformes	+++	↔	Enfermedades de transmisión por agua
Materia orgánica no biodegradable	Pesticidas Algunos detergentes Otros	+	↔	Toxicidad Espuma (detergentes) Reducción de la transferencia de oxígeno Malos olores
Metales	(As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn, etc)	+	↔	Toxicidad Inhibición del tratamiento biológico de las aguas residuales Contaminación de agua subterránea
Sólidos inorgánicos disueltos	Sólidos disueltos totales Conductividad	++	↔	Salinidad excesiva-daño a las plantaciones (irrigación) Toxicidad a plantas (algunos iones)

+:baja contribución ++:contribución media +++:alta contribución ↔: contribución variable

4.4 NORMATIVIDAD PARA AGUAS RESIDUALES

Por lo anterior, es necesario que un tratamiento de aguas residuales controle la contaminación del agua producida por los diferentes vertimientos y se establezcan niveles permitidos. Colombia se rige bajo la resolución 631 de 2015 del MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE, en esta resolución se encuentran establecidos los parámetros y los valores máximos permitidos en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público. En el Capítulo V, Artículo 8° se establecen los *parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales ARD de las actividades industriales, comerciales o de servicios; y de ARD y ARnD de los prestadores del servicio público de alcantarillado a cuerpos de aguas superficiales.*⁷ En la Tabla 2 se registran algunos de los parámetros establecidos en el Artículo anteriormente mencionado, resaltando los parámetros DQO y DBO₅, los cuales determinan la cantidad de materia orgánica en forma indirecta.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y sus valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales domésticas (ARD).⁷

PARÁMETRO	UNIDADES	ARD de las soluciones individuales de saneamiento de vivienda	ARD y ARnD) de los prestadores del servicio público de alcantarillado
pH	Unidades de pH	6,00 a 9,00	6,00 a 9,00
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg O ₂ /L	200,00	180,00
Demanda biológica de oxígeno (DBO ₅)	mg O ₂ /L		90,00
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	100,00	90,00
Grasas y Aceites	mg/L	20,00	20,00

Teniendo en cuenta los límites establecidos en la Resolución 631, se deben alivianar las cargas de las aguas residuales para que puedan llegar a los afluentes hídricos con valores permisibles, por ende, Colombia cuenta con Plantas de tratamiento de aguas residuales y domésticas las cuales son unos sistemas de tratamiento y saneamiento del agua.

Según la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, (CAR), una PTAR es el conjunto de obras, instalaciones y procesos para tratar las aguas residuales, con material disuelto y en suspensión usadas por una comunidad o industria.⁹

En Colombia, el 48,2 % de los municipios cuentan con un sistema de tratamiento de aguas residuales, en la Figura 1 se observan cómo están distribuidas las Plantas de tratamiento por Departamentos en Colombia. En zonas como Amazonas o en lugares como Vichada y Guainía, que disponen de dos o menos PTARs, ocasionan gran contaminación a las aguas superficiales donde son vertidas las aguas residuales sin algún tratamiento previo.¹⁰

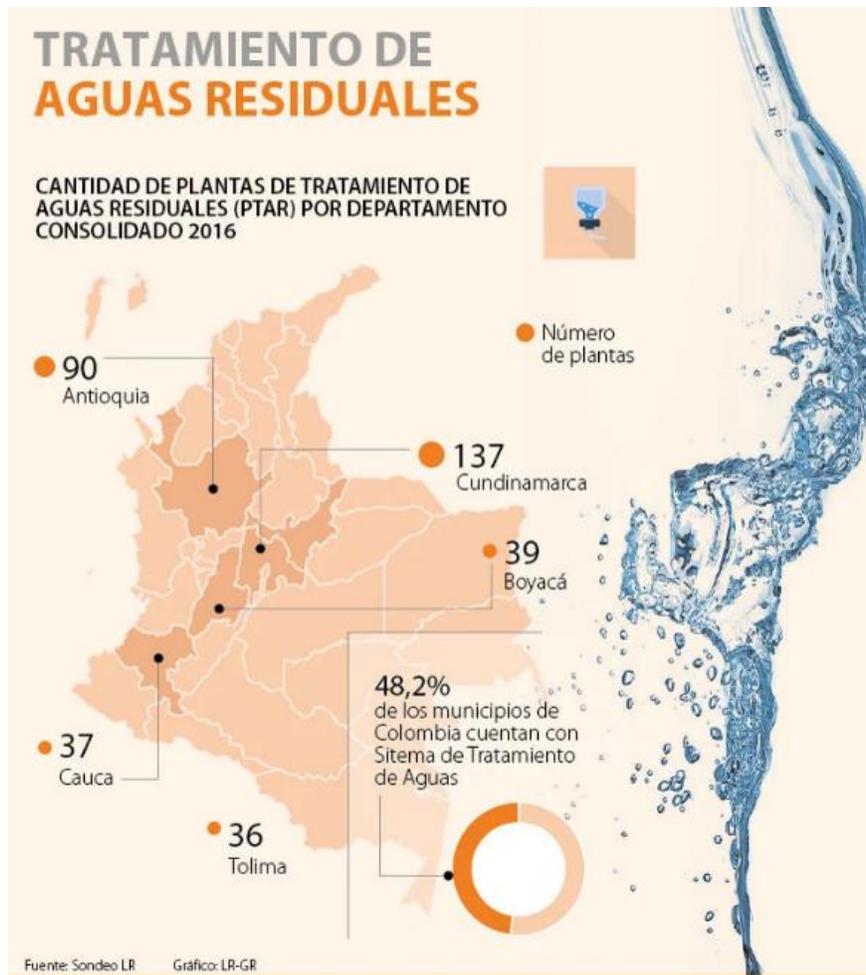


Figura 1. Distribución de Plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) en algunos departamentos de Colombia.¹⁰

4.5 CONTAMINACIÓN ORGÁNICA DE LAS AGUAS RESIDUALES

El contenido de materia orgánica presente en las aguas residuales, es una característica de sustancial importancia, siendo la causa de uno de los principales problemas de contaminación del agua, por ende, es importante el análisis de esta propiedad.

Las sustancias orgánicas presentes en las aguas residuales consisten principalmente en: Compuestos proteicos, carbohidratos, aceites y grasas, urea, surfactantes, fenoles, pesticidas, entre otros.⁸

Existe una gran dificultad para determinar en el laboratorio los diversos componentes de la materia orgánica en las aguas residuales, dadas las múltiples formas y compuestos en que puede estar presente. Como resultado, se pueden adoptar métodos directos o indirectos para la cuantificación de materia orgánica.⁸

- **Métodos indirectos⁸:** Medición del consumo de oxígeno:

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): Las pruebas de demanda bioquímica de oxígeno se utilizan para determinar los requisitos relativos de oxígeno de las aguas residuales, los efluentes y las aguas contaminadas; su aplicación más amplia es en la medición de las cargas de desechos a las plantas de tratamiento y en la evaluación de la eficiencia de eliminación de DBO de las plantas. Las pruebas de DBO miden el oxígeno molecular utilizado durante un período de incubación específico.¹³

Demanda Química de Oxígeno (DQO): La demanda química de oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con la muestra en condiciones controladas.

- **Métodos directos⁸:** Medición de carbono orgánico:

Carbono orgánico total (COT): El carbono orgánico total, es una expresión más conveniente y directa del contenido orgánico total que la DBO o DQO, pero no proporciona el mismo tipo de información. El COT es independiente del estado de oxidación de la materia orgánica y no mide otros elementos ligados orgánicamente (p. ej., nitrógeno e hidrógeno) o inorgánicos que puedan contribuir a la demanda de oxígeno medida por DBO y DQO.¹³

Conocer el tipo de contaminación del agua residual a tratar, es fundamental para evaluar la idoneidad a la hora de seleccionar el tratamiento de depuración. En resumen, los contaminantes orgánicos biodegradables son de fácil remoción siempre y cuando no se encuentren en concentraciones excesivas, mientras que los contaminantes orgánicos no biodegradables (hidrocarburos, pesticidas, productos aromáticos, etcétera) son un problema difícil de afrontar para plantas de tratamiento convencionales.⁸

La relación DQO/DBO₅ es un buen indicador de la biodegradabilidad del agua residual a tratar. De forma resumida, la relación entre éstos parámetros se esquematiza en la Tabla 3.

Tabla 3. Relación DQO/DBO₅.⁸

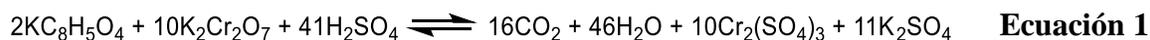
DQO/DBO ₅	Descripción
Baja (2,5 o 3,0)	La fracción biodegradable es alta Buena indicación para el tratamiento biológico
Intermedia (2,5-4,0)	La fracción inerte (no biodegradable) no es alta Estudios de tratabilidad para verificar la viabilidad del tratamiento biológico
Alta (3,5 o 4,0)	La fracción inerte (no biodegradable) es alta Posible indicación de tratamiento físico-químico

Además de las metodologías mencionadas, se han desarrollado metodologías respetuosas con el medio ambiente como la demanda fotoelectroquímica de oxígeno y detección por oxidación electroquímica empleando electrodos electroquímicamente activos para lograr una oxidación rápida de los compuestos orgánicos¹¹, disminuyendo así la cantidad de energía empleada y reactivos tóxicos para la determinación de materia orgánica.

4.6 DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

La prueba para la determinación de DQO mide el consumo de oxígeno que se produce como consecuencia de la oxidación química de la materia orgánica, es ampliamente utilizado para el monitoreo de aguas residuales. El valor obtenido es, por tanto, una indicación indirecta del nivel de materia orgánica presente.

En el método estándar de determinación de DQO, se agrega un oxidante, un catalizador y ácido sulfúrico a una muestra acuosa que luego se calienta durante 2 h. El ftalato ácido de potasio se usa a menudo para representar el material orgánico. La conversión de ftalato ácido de potasio por dicromato de potasio en medio ácido¹¹, se representa en la Ecuación 1¹¹



Las principales ventajas de la DQO son⁸:

- La prueba dura solo dos horas.
- Debido a la rápida respuesta, la prueba se puede utilizar para el control operativo.

Las principales limitaciones de la DQO son⁸:

- En la prueba DQO, la materia inorgánica también es oxidada. Por lo tanto, la prueba puede sobrestimar el oxígeno a consumir en el tratamiento biológico de las aguas residuales.
- La prueba no proporciona información sobre la tasa de consumo de la materia orgánica a lo largo del tiempo⁸.

La principal diferencia con la prueba de DBO se encuentra en que esta última se relaciona con la oxidación bioquímica de la materia orgánica, realizada íntegramente por microorganismos, mientras que la DQO corresponde a la oxidación química de la materia orgánica, obtenida mediante un oxidante fuerte (dicromato de potasio) en medio ácido.^{8, 11, 12}

Entre los métodos estandarizados según *The Standard Methods* para la determinación de la DQO se encuentran el método con reflujo abierto, método con reflujo cerrado por volumetría, método con reflujo cerrado por colorimetría.¹³

El método de reflujo abierto es adecuado para una amplia variedad de aguas en los que se emplea un tamaño de muestra grande. Los métodos de reflujo cerrado son más económicos en el uso de reactivos y generan cantidades más pequeñas de desechos peligrosos, pero requieren la homogeneización de las muestras que contienen sólidos en suspensión para obtener resultados reproducibles.¹³

4.6.1 Método colorimétrico con reflujo cerrado

La mayoría de los tipos de materia orgánica se oxidan en ebullición con ácido sulfúrico. Una muestra se somete a reflujo en solución ácida durante dos horas en termoreactor con solución

digestora de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y ácido sulfúrico (H_2SO_4); al digerirse la muestra, el ion dicromato oxida la materia orgánica en la muestra, esto da como resultado el cambio de cromo del estado hexavalente (VI) al estado trivalente (III). Ambas especies de cromo están coloreadas y absorben en la región visible del espectro. El ion dicromato (Cr_2O_7)²⁻ absorbe fuertemente en la región de 415 a 425 nm, donde la absorción del ion crómico (Cr^{3+}) es mucho menor. El ion crómico absorbe fuertemente en la región de 600 nm, donde el dicromato tiene una absorción casi nula. La materia oxidable se calcula en términos de oxígeno equivalente.^{11, 13}

Para valores de DQO entre 100 y 900 mg O₂/L, se determina el aumento de Cr(III) en la región de 600 nm. Se pueden obtener valores más altos mediante la dilución de la muestra. Los valores de DQO de 90 mg/L o menos se pueden determinar siguiendo la disminución de (Cr_2O_7)²⁻ a 420 nm.¹³

4.7 ESTANDARIZACIÓN

La estandarización de métodos analíticos es la confirmación mediante exámenes y provisión de evidencias objetivas que demuestran que un método analítico cumple los requisitos particulares para un uso específico en el laboratorio^{14, 15}, además es de gran utilidad para demostrar que los procedimientos realizados son adecuados para el fin propuesto como se indica en el apartado 5.4.2 de la norma ISO/IEC 17025:

“El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza... Cuando el cliente no especifique el método a utilizar, el laboratorio debe seleccionar los métodos apropiados...”¹⁴

El método estandarizado debe ser sometido a un seguimiento sistemático por medio de “cartas o gráficas de control de calidad”.¹⁵

Entre los parámetros analíticos a determinar en una estandarización se tienen: linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión, exactitud, incertidumbre, entre otras.

4.7.1 Rango lineal de trabajo

Antes de usar un nuevo instrumento o método instrumental, se debe determinar su rango (límites superior e inferior) operativo (calibración). Se usan concentraciones de estándares para cada analito que proporcionen aumento de la respuesta del instrumento (lineal, ponderada o de segundo orden).¹³

El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación. El extremo superior del intervalo de trabajo está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica.¹⁶

Según la metodología establecida en el *Standard Methods 5220 D*, sugiere realizar la cuantificación de DQO en rango alto para concentraciones de 100 a 900 mg O₂/L¹³ de DQO.

4.7.2 Límite de detección

Se define como la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado.^{16, 17}

Según *THE STANDARD METHODS*¹³, el límite de detección se calcula empleando soluciones blanco (diferentes al blanco de corrección) y soluciones con concentraciones de 3 a 5 veces más bajas de la concentración mínima del rango lineal de trabajo, iniciando con la concentración más baja hasta cumplir con parámetros de aceptabilidad, al no cumplirlos se debe incrementar la concentración y posteriormente realizar lecturas durante tres días.

4.7.3 Límite de cuantificación

Este parámetro establece el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica. Como criterio mínimo, la región de la cuantificación debe estar claramente por encima del límite de detección.

Comúnmente se emplean tres características de desempeño relacionadas, precisión, veracidad e incertidumbre para describir la calidad de los resultados obtenidos con un método, sin embargo se emplean frecuentemente conceptos, tales como tipos de error (errores aleatorios, sistemáticos y groseros), exactitud (veracidad), precisión e incertidumbre.^{16,17}

4.7.4 Control de Calidad

El programa de control de calidad se realiza para demostrar la competencia del laboratorio y asegurar la calidad de los datos.

El programa de control de calidad consta de al menos los siguientes elementos, según corresponda a los métodos específicos: calibración, verificación continua de la calibración, rango operativo y límite de detección, demostración continua de la capacidad, blanco de reactivo, blanco fortificado de laboratorio, matriz fortificada de laboratorio, muestra duplicado/duplicado matriz fortificada de laboratorio, cálculos de control de calidad, gráficos de control, acción correctiva, criterios de aceptación de control de calidad.¹³

- **Calibración:** La calibración inicial se realiza usando al menos tres concentraciones de estándares y un blanco (para calibraciones lineales) o la cantidad de concentraciones según el método.
- **Límite de detección:** Definición en el numeral 4.7.2
- **Límite de cuantificación:** Definición en el numeral 4.7.3
- **Blanco de reactivos:** Consta de todos los reactivos que están en contacto con la muestra durante el proceso de análisis, se utiliza para determinar si los reactivos y los pasos analíticos contribuyen a la incertidumbre de medición y en qué medida.

- **Blanco fortificado:** Se compone del blanco de reactivos y una concentración conocida del analito (s) de interés.
- **Matriz:** Se refiere a todos los componentes de una muestra en particular, además del analito o compuesto de interés.
- **Matriz fortificada:** Consta de una porción adicional de muestra a la que se agrega una cantidad conocida del analito de interés. Se emplea para evaluar la recuperación de analito en una matriz de muestra.
- **Duplicado de matriz fortificada:** Es una segunda porción de la muestra descrita como Matriz fortificada. Las muestras duplicadas se analizan para evaluar la precisión.
- **Material de referencia certificado:** Consta de un material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas, acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidades asociadas, empleando procedimientos válidos.
- **Control de calidad:** Los gráficos de control presentan un registro gráfico de la calidad al mostrar los resultados del control de calidad a lo largo del tiempo para demostrar el control estadístico de un proceso analítico y detectar cambios aparentes en el proceso analítico que pueden erosionar dicho control. Estos gráficos son herramientas de control de calidad esenciales para las pruebas que utilizan medidas de control de calidad de exactitud y precisión.¹³

4.7.5 Exactitud

Este parámetro expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia¹⁶. El concepto exactitud de medida no es una magnitud y no se expresa numéricamente. Se dice que una medición es más exacta cuanto más pequeño es el error de medida.¹⁸ Por lo tanto, normalmente la exactitud se estudia como dos componentes: veracidad y precisión.

La repetición es esencial para obtener estimaciones fiables de características de desempeño del método, tales como la precisión y el sesgo.

4.7.5.1 Precisión

Proximidad entre los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, bajo condiciones especificadas que pueden ser condiciones de repetibilidad, condiciones de precisión intermedia o condiciones de reproducibilidad.¹⁸

Por lo general, se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, como la desviación típica, la varianza o el coeficiente de variación bajo las condiciones especificadas.¹⁸

4.7.5.1.1 Precisión por Repetibilidad

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de repetibilidad, que incluyen el mismo procedimiento de medida, los mismos analistas, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto en un periodo corto de tiempo, este parámetro da la medida de la variabilidad en los resultados. Supone dar la más pequeña variación en los resultados.^{16, 18}

4.7.5.1.2 Precisión Intermedia

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de precisión intermedia que incluye el mismo procedimiento de medición, el mismo lugar y mediciones repetidas del mismo objeto durante un periodo amplio de tiempo, pero que puede incluir otras condiciones que involucren variaciones. El objetivo es obtener una estimación de la precisión que refleje todas las fuentes de variación que se producirán bajo las condiciones ya mencionadas.^{16,18}

4.7.5.1.3 Precisión por reproducibilidad

Precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad que incluyen diferentes laboratorios, analistas, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos. Supone dar la mayor variación en los resultados, es una medida de la variabilidad en los resultados entre laboratorios utilizando el mismo método.^{16, 18}

4.7.5.2 Veracidad

Es una expresión de la proximidad de la medida de un número infinito de resultados (producidos con el método) a un valor de referencia. Puesto que no es posible realizar un número infinito de mediciones, no se puede medir la veracidad. Sin embargo, podemos realizar una evaluación práctica de la veracidad. Por lo general, esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de sesgo.¹⁶

4.7.5.2.1 Sesgo

Una determinación práctica del sesgo se basa en la comparación de la media de los resultados del método con un valor de referencia adecuado. El sesgo se puede expresar en términos absolutos, términos relativos en porcentaje o como recuperación relativa de adiciones.¹⁶

4.7.6 Incertidumbre

Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando. La incertidumbre de un resultado puede surgir de algunas posibles fuentes, siendo algunos ejemplos la definición incompleta del mesurando, el muestreo, efectos de matriz e interferencias, condiciones ambientales, incertidumbres de equipos másicos o volumétricos, valores de referencia, aproximaciones y asunciones incorporadas en el método de medida y procedimiento, y variaciones aleatorias.¹⁹

4.7.6.1 Incertidumbre estándar tipo A

Método de evaluación de una componente de la incertidumbre de medida mediante un análisis estadístico de los valores medidos en unas condiciones definidas.¹⁹

4.7.6.2 Incertidumbre estándar tipo B

Método de evaluación de una componente de la incertidumbre de medida por medios distintos al análisis estadístico de los valores medidos.¹⁹

4.7.6.3 Incertidumbre estándar combinada

Se refiere a la incertidumbre estándar obtenida a partir de las incertidumbres estándar individuales asociadas a las magnitudes de entrada de un modelo de medición.¹⁸

4.7.6.4 Incertidumbre expandida

Es el producto de una incertidumbre estándar combinada y un factor mayor que uno. El factor depende del tipo de distribución de probabilidad de la magnitud de salida en un modelo de medición y de la probabilidad de cobertura elegida.¹⁸

4.8 PROCESO DE VALIDACIÓN

Es el proceso de verificación de que los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto.¹⁸

El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos desarrollados por el laboratorio y los métodos normalizados utilizados fuera de su alcance previsto o modificado de otra forma. La validación debe ser tan amplia como sea necesaria para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dados.²⁰

4.8.1 Prueba de aptitud

Ensayo donde se evalúa el desempeño de los participantes con respecto a criterios previamente establecidos mediante comparaciones interlaboratorios, es decir, respecto a organización, realización y evaluación de mediciones o ensayos sobre el mismo ítem o ítems similares por dos o más laboratorios de acuerdo con condiciones predeterminadas.²⁰

Los ensayos de rendimiento o las pruebas de comparación interlaboratorios son una herramienta fundamental no sólo para los laboratorios ISO/IEC 17025, sino también para garantizar la calidad y la mejora continua, ya que permiten a los laboratorios validar su rendimiento analítico de pruebas, mediciones o calibraciones específicas.²¹

4.9 MUESTREO DE AGUA

Los métodos de muestreo consisten en la extracción de una porción considerada como representativa de una masa de agua con el propósito de examinar diversas características definidas.²²

Las diversas muestras que se pueden obtener son las siguientes:

Simples: Muestras representativas tomadas de una fuente o masa de agua de composición constante, tanto en el tiempo como en el espacio.²²

Compuestas: Son las mezclas de muestras simples recogidas en el mismo punto en distintos momentos, cuyo volumen en la composición es proporcional al caudal.²²

Integradas: Son mezclas de muestras simples que se recogen en distintos puntos al mismo tiempo.²²

4.9.1 Muestreo de aguas residuales

El monitoreo de aguas residuales se debe realizar a través de muestras compuestas para observar concentraciones promedio con el fin de calcular las respectivas cargas o la eficiencia de una planta de tratamiento.²³

5 METODOLOGÍA

A continuación se describen los materiales, equipos y reactivos empleados para la estandarización del método colorimétrico con reflujo cerrado en muestras de aguas residuales domésticas basada en *THE STANDARD METHODS*¹³ y la *Guía para confirmación de metodologías analíticas GU-PDPA-LA097* del Laboratorio ambiental de la CRC.

5.1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

5.1.1 Materiales

Los materiales empleados se describen en la tabla 4.

Tabla 4. Materiales empleados durante el desarrollo de la estandarización

Material	Cantidad
Balón aforado 1000 ± 0,4	3
Beaker 600 mL	1
Beaker 25 mL	20
Balón aforado 25 ± 0,04 mL	30
Probeta 250 mL	2
Frasco lavador	1
Gotero	1
Espátula	1
Celdas 16 mm	100
Rejilla	2
Recipiente de vidrio con tapa 1000 mL	2
Pipeta Transferpette Brand 25 – 250 µL	1
Pipeta Transferpette Brand 0,5 – 5 mL	1
Pipeta HandyStep	1

5.1.2 Equipos

Los equipos empleados se describen en la tabla 5

Tabla 5. Descripción de los equipos empleados durante el desarrollo de la estandarización

Equipo	Descripción	Cantidad
Balanza analítica	Precisa 92SM-202A	1
Horno	BINDER REDLINE	1
Termorreactor DQO	ECO 25 VELP SCIENTIFICA	1
Espectrofotómetro UV-Vis	Vis HALO - PRECISA RB-10 con software Detective 3.4 Plus – RB 10	1
Cabina extractora de gases y humos	C 150 x	1
Destilador de agua	Schott	1

5.1.3 Reactivos

Los reactivos empleados se describen en la tabla 6.

Tabla 6. Descripción de los reactivos empleados durante el desarrollo de la estandarización

Reactivos	Código
Agua destilada (H ₂ O)	
Ftalato ácido de potasio Material de Referencia Estándar (KC ₈ H ₅ O ₄ , 100%) Merck	1.02400.0080. Lote. 202400E
Ftalafo ácido de potasio Material de Referencia Estándar (KC ₈ H ₅ O ₄ , 100%) Merck	1.02400.0080 Lote.162400A
Sulfato de plata (Ag ₂ SO ₄ , 98,5%) CARLO ERBA	424201
Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄ , 96,3%) Merck	1.00732.2500
Dicromato de Potasio (K ₂ Cr ₂ O ₇ , 99,9%) J.T.Baker	3090-01
Sulfato de Mercurio (HgSO ₄ , 99,2%) J.T.Baker	2640-04

5.2 PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO CON REFLUJO CERRADO POR ESPECTROSCOPIA UV-Vis

5.2.1 Lavado de material de vidrio

El material de vidrio se enjuagó con agua de grifo, se agregó solución al 10% de detergente líquido neutro, se empleó escobilla para limpiar paredes internas teniendo precaución de no rallar las paredes, se enjuagó con agua de grifo y posteriormente con agua destilada, se dejó secar el material a temperatura ambiente boca abajo. Por otro lado se lavaron las celdas de 16 mm de digestión y análisis (tubos y tapas) con ácido sulfúrico (20%).

5.2.2 Verificación de la calibración de equipos

- **Verificación de la calibración de balanza analítica:** Se encendió la balanza teniendo en cuenta que todas las ventanas de la misma estuvieran cerradas, se presionó el botón T hasta que apareció en pantalla CAL, se abrió una ventana y se ubicó con ayuda de una pinza la pesa estándar de 100 g en el centro del platillo de la balanza, se cerró y esperó hasta que el peso se estabilizó, se retiró la pesa estándar y se repitió procedimiento con la pesa de 20g, la verificación se realizó teniendo en cuenta la guía IN-PDPA-LA030 del laboratorio ambiental.

5.2.3 Desarrollo de la metodología para la determinación de DQO en aguas residuales domésticas, teniendo en cuenta la metodología 5220 D referida en *THE STANDARD METHODS*

- **Preparación de reactivos y estándares**

Solución digestora de rango alto (600 nm): En balón aforado de 1000 mL se agregaron 500 mL de agua destilada, 10,216 g de dicromato de potasio previamente pesados, 167 mL de

ácido sulfúrico, 33,3 g de sulfato de mercurio, se agitó hasta completa disolución a temperatura ambiente y se enrazó con agua destilada a 1000 mL.

Reactivo ácido sulfúrico: En beaker de 600 mL se agregó 5,5 g de sulfato de plata previamente pesados, además se agregaron 546 mL de ácido sulfúrico con probeta, se agitó hasta completa disolución, finalmente se envasó en frasco de vidrio con tapa. (Para disolución completa se necesitó un día)

Estándar de ftalato ácido de potasio (425 mg PHK/L): En balón aforado de 1000 mL se agregaron 0,425 g de PHK previamente pesado, se disolvió y aforó con agua destilada. Esta solución tiene una DQO teórica de 500 mg O₂/L¹³. Se empleó como estándar de chequeo.

Estándar de ftalato ácido de potasio (850 mg PHK/L): En balón aforado de 1000 mL se agregaron 0,850 g de ftalato ácido de potasio previamente pesado, se disolvió y aforó con agua destilada. Esta solución tiene una DQO esperada de 1000 mg O₂/L.

A partir de la solución estándar de 850 mg PHK/L y teniendo en cuenta la DQO esperada de 1000 mg O₂/L para el estándar, se prepararon soluciones de 25 mL las cuales se registraron en la Tabla 7.

Tabla 7. Volúmenes empleados para la preparación de los estándares

Alícuota empleada (mL)	DQO esperada (mg O₂/L)
2,500	100
3,750	150
5,000	200
12,500	500
20,000	800

- **Dosificación de muestras, estándares y reactivos:** La cantidad de muestra y de reactivos empleados según el tamaño de celda (16 mm) se describen a continuación:
 - Muestra/estándar/blanco: 2,50 mL
 - Solución digestora de rango alto: 1,50 mL
 - Reactivo de ácido sulfúrico: 3,50 mL
- **Digestión de las muestras y estándares:** Las celdas de 16 mm con los reactivos y muestras (muestras y estándares), se llevaron a digestión en termorreactor durante 2 h a 150 °C. Finalizado el tiempo de reacción se retiraron las celdas y se colocaron en rejilla para enfriar a temperatura ambiente, se destaparon los tubos para liberar la presión.
- **Lectura de las muestras y estándares:** Pasados 50 minutos de retiradas las celdas del termorreactor, se realizó la lectura de las muestras y estándares en el espectrofotómetro UV-Vis Halo –Precisa a 600 nm empleando el software Detective 3.4 Plus – RB 10 previamente ajustado para celda de 16 mm, obteniendo las respectivas absorbancias.
- **Determinación de la concentración de DQO:** A partir de los valores obtenidos de absorbancias de los estándares, se construyó la curva de calibración por patrón externo,

graficando en el eje x las concentraciones empleadas y en el eje y las absorbancias obtenidas; a partir de la curva se obtuvo la ecuación de la misma (Ecuación 2), la cual se empleó para determinar las concentraciones de las muestras

$$y = mx + b \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde y es la absorbancia obtenida, m la pendiente de la recta y b la intersección con el eje y .

5.3 ESTANDARIZACIÓN

Entre los parámetros analíticos que se determinaron en la estandarización de la metodología se tienen: Rango lineal de trabajo, límites de detección y cuantificación, precisión (precisión por repetibilidad y precisión intermedia), veracidad (sesgo), exactitud, incertidumbre (incertidumbre tipo A, incertidumbre tipo B, incertidumbre combinada, incertidumbre expandida).

5.3.1 Rango lineal de trabajo

Se evaluaron diferentes niveles de concentración, para ello se preparó una solución de 850 mg PHK/L con DQO teórica de 1000 mg O₂/L a partir de esta solución se prepararon las soluciones con DQO esperadas de 100, 150, 200, 500, 800, 1000 mg O₂/L para la curva de calibración.

Los resultados obtenidos se evaluaron mediante el coeficiente de determinación, teniendo en cuenta que la respuesta debe ser $\geq 0,995$, además se verificaron los % error (%D) de cada punto de la curva, los valores aceptados deben ser menores al 10%, para ello se aplicó la ecuación 3, la aceptabilidad se basa, según la guía interna del laboratorio ambiental de la CRC basada en *THE STANDARD METHODS*.¹³

Teniendo en cuenta los valores obtenidos se establecieron los límites superior e inferior y los puntos de la curva de calibración.

$$\%D = \frac{|valor\ verdadero - valor\ encontrado|}{valor\ verdadero} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

5.3.2 Límite de detección (LDM)

Se prepararon y analizaron siete repeticiones de soluciones estándares de PHK con concentraciones de DQO esperada de 20, 30, 40 mg O₂/L y además se realizaron siete “soluciones blanco” diferentes al blanco de corrección de lectura, durante tres días¹³ (4.7.2). Se halló el límite de detección de los estándares (LDM_s) calculando la desviación estándar (s_s) de las siete repeticiones de los estándares empleando la ecuación 4.

$$LDM_s = s_s * 3,14 \quad \text{Ecuación 4}$$

Seguido se halló el límite de detección del blanco (LDM_b), teniendo en cuenta la ecuación 5.

$$LDM_b = x + (3,14 * s_b) \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde x es la media de los resultados del blanco (los valores negativos se establecieron en cero) y s_b es la desviación estándar de las siete repeticiones del blanco.

El LDM corresponde al resultado más alto entre LMD_b y LMD_s . El resultado obtenido debe ser comprobado experimentalmente.

- **Para ser aceptado el valor obtenido de LDM** debe cumplir los siguientes criterios, el porcentaje de recuperación del estándar debe estar entre 50 a 150 % y con una desviación estándar relativa menor al 20%, de lo contrario se debe repetir la adición con una concentración más alta.¹³

Para hallar el %Recuperación y %DER se aplicaron las ecuaciones 6 y 7 respectivamente

$$\%Recuperación = \frac{\text{valor encontrado}}{\text{valor verdadero}} * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

$$\%DER = \frac{s}{x} * 100 \quad \text{Ecuación 7}$$

5.3.3 Límite de cuantificación (LCM)

El límite de cuantificación se calculó con la siguiente ecuación

$$LCM = 10 * s_b \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde s_b es la desviación estándar del blanco hallado para la determinación de LDM. Se debe verificar el valor obtenido para LCM con un triplicado en un día, al nivel de concentración estimado.

- **Para ser aceptado el valor obtenido de LCM** debe cumplir el siguiente criterio, el %DER debe ser menor al 20%. Si no cumple lo anterior, se debe repetir la adición con una concentración más alta.¹³

5.3.4 Control de Calidad

Se evaluó un grupo básico de muestras durante tres días a la misma hora, corriendo todas las muestras en un mismo día, donde se determinó exactitud, veracidad, sesgo, precisión, incertidumbre, los datos obtenidos se evaluaron mediante el programa estadístico *IBM SPSS STATICS 21*.

El grupo básico consta de

- **Rango lineal de trabajo:** Se realizó siguiendo el numeral 5.3.1
- **Límite de cuantificación del método:** Se realizó siguiendo el numeral 5.3.3
- **Blanco de reactivos:** Se empleó agua destilada en lugar de estándar.
- **Blanco Fortificado:** Se empleó agua destilada y se añadió una concentración de estándar de ftalato ácido de potasio (se consideró el punto medio de la curva de calibración) y se preparó en balón aforado de 25 mL. Teniendo en cuenta los valores obtenidos, se halló el %Recuperación del estándar, para ello se empleó la ecuación 6.
- **Matriz:** Se emplearon muestras de aguas residuales domésticas del Departamento del Cauca, las cuales fueron tomadas teniendo en cuenta el *Instructivo para toma de muestras de agua y sedimento IN-PDPA-LA023* de la CRC por personal técnico autorizado.
- **Matriz fortificada:** Consta de matriz con una cantidad conocida de estándar de ftalato ácido de potasio (se consideró el punto medio de la curva de calibración) y se preparó en balón aforado de 25 mL. Teniendo en cuenta los valores obtenidos se halló el %Recuperación del estándar para ello se empleó la ecuación 9.

$$\%Recuperación = \frac{[MF] * (vol\ stock + vol\ M) - ([M] * vol\ M)}{[sln\ stock] * (vol\ stock)} * 100 \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde $[MF]$ es la concentración hallada de matriz fortificada, $vol\ stock$ y $vol\ M$ fueron los volúmenes empleados de solución estándar y volumen de muestra respectivamente, $[M]$ es la concentración hallada de matriz empleada, $[sln\ stock]$ es la concentración empleada con que se fortificó la matriz.

- **Duplicado matriz fortificada:** Consta de un duplicado de matriz fortificada. Se evaluaron los resultados como DRP siguiendo la Ecuación 10.

$$\%DRP = \left(\frac{|MF - DMF|}{\left(\frac{MF + DMF}{2}\right)} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde MF es la concentración hallada de matriz fortificada y DMF es la concentración hallada del duplicado de matriz fortificada.

- **Los valores aceptados** deben tener un %DRP menor a 10%
- **Material de referencia certificado:** Se preparó una solución de 425 mg PHK/L con DQO teórica de 500 mg O₂/L a partir de ftalato ácido de potasio con incertidumbre $\pm 0,08$ como estándar de chequeo.

Carta de control: La carta de control se construyó teniendo en cuenta los % de Recuperación de 20 datos de estándar de chequeo, la cual se realizó para establecer los límites de control superior e inferior, para ello se emplearon las ecuaciones 11 y 12 respectivamente.

$$\text{Límite de control superior: } x + 3s$$

Ecuación 11

$$\text{Límite de control inferior: } x - 3s$$

Ecuación 12

Teniendo en cuenta los límites de control se aceptaron o rechazaron los valores obtenidos para las muestras de control de calidad, según el % Recuperación obtenido.

5.3.5 Exactitud

La exactitud se determinó teniendo en cuenta dos componentes: veracidad y precisión

5.3.5.1 Precisión

Teniendo en cuenta los valores obtenidos de muestras de control de calidad (BF, MF, DMF, MRC) durante tres días por duplicado, se determinó la precisión en términos de %DER aplicando la ecuación 7 y en términos de %DRP (para DMF) con la ecuación 10.

- **Para ser aceptados los valores obtenidos**, deben cumplir con un valor %DER y %DRP menor al 10%, según la Guía de aceptabilidad interna del laboratorio ambiental de la CRC, basada en el *Standard Methods*.¹³

5.3.5.1.1 Precisión por repetibilidad

Se realizó el mismo procedimiento de medida, el mismo analista, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo laboratorio a las muestras de control de calidad (BF y MRC), tres veces un mismo día. Se emplearon pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, pruebas de homogeneidad de varianzas Levene (BF) y pruebas paramétricas ANOVA.

5.3.5.1.2 Precisión intermedia

Se realizó el mismo procedimiento de medida, el mismo analista, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo laboratorio a las muestras de control de calidad (BF, MF, DMF y MRC), durante tres días. Se emplearon pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, pruebas de homogeneidad de varianzas Levene (MF/DMF) y pruebas paramétricas ANOVA.

5.3.5.2 Veracidad

La evaluación de la veracidad se determinó cuantitativamente en términos de sesgo.

5.3.5.2.1 Sesgo

Se basó en la comparación de la media de los resultados (x) con un valor de referencia (x_{ref}).

Se analizaron los valores obtenidos a las muestras de control de calidad (BF, MF, DMF y MRC) siguiendo la ecuación 13.

$$\%E = \frac{x - x_{ref}}{x_{ref}} * 100 \quad \text{Ecuación 13}$$

Los valores aceptados debían tener un porcentaje de error menor al 10%, según la Guía de aceptabilidad interna del laboratorio ambiental de la CRC, basada en el *Standard Methods*.

5.3.6 Incertidumbre

Se determinó la dispersión de los valores del mesurando asociados al resultado en la medida, además de las posibles fuentes de incertidumbre. Los cálculos realizados se basaron en la *Guía 4. Cuantificación de la incertidumbre en medidas analíticas*¹⁹ y *Guía para la expresión de la incertidumbre en la medición*²⁴.

5.3.6.1 Incertidumbre estándar tipo A

La incertidumbre estándar tipo A se evaluó teniendo en cuenta la desviación estándar (s) de los valores obtenidos de las concentraciones halladas del límite de cuantificación ya que presenta mayor desviación, considerando el número de medidas.

Para determinar la incertidumbre estándar tipo A, se empleó la ecuación 14.

$$u_A = \frac{\%DER}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde u_A es la incertidumbre estándar tipo A, $\%DER$ corresponde a la desviación estándar relativa y n el número de medidas.

5.3.6.2 Incertidumbre estándar tipo B

La incertidumbre estándar tipo B se evaluó teniendo en cuenta el tipo de distribución al cual corresponde, las incertidumbres presentes en los certificados de calibración, pureza de reactivos, es decir datos sacados de la literatura.

La evaluación de la incertidumbre a partir de esta metodología se puede presentar en varios casos, debido a que hay varias fuentes de incertidumbres tipo B.

$$u_B = \frac{U}{k} \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde u_B es la incertidumbre estándar tipo B, U corresponde a la incertidumbre expandida dada en los certificados de fabricación y k el factor de cobertura (el cual está relacionado con el nivel de confianza requerido)

La ecuación 16 corresponde a la incertidumbre presente en la balanza analítica, donde U es la incertidumbre de la balanza y MW_i es el peso en gramos obtenido en la medición.

$$U = 8,5E - 05g + (9,2E - 07g * MW_i) \quad \text{Ecuación 16}$$

5.3.6.3 Incertidumbre estándar combinada

La incertidumbre estándar combinada se obtuvo teniendo en cuenta las incertidumbres estándar A y B, aplicando la ecuación 17.

$$u_c = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde u_c es la incertidumbre estándar combinada, u_A^2 corresponde a la incertidumbre estándar tipo A elevada al cuadrado y u_B^2 corresponde a la incertidumbre estándar tipo B elevada al cuadrado.

5.3.6.4 Incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura (k), el cual está relacionado con el nivel de confianza, en este caso se empleó el 95,45% con un factor de cobertura igual a 2.

$$U = u_c * k \quad \text{Ecuación 18}$$

Donde U es la incertidumbre expandida es la incertidumbre estándar combinada, u_A^2 corresponde a la incertidumbre estándar tipo A elevada al cuadrado y u_B^2 corresponde a la incertidumbre estándar tipo B elevada al cuadrado.

5.4 PROCESO DE VALIDACIÓN

El proceso de validación de la metodología se realizó con dos pruebas de aptitud de desempeño.

5.4.1 Prueba de aptitud

Se adquirieron dos ampollas de los laboratorios *nsi lab solutions* y *Merck*, las cuales contenían analito de interés, se refrigeraron hasta el análisis. Se destapó cada ampolla al estar a temperatura ambiente. En un balón aforado de 1000 mL se agregaron 500 mL de agua destilada y 10 mL de solución con analito contenido en la ampolla y se afora con agua destilada, para cada ampolla. Estas soluciones representan las muestras de análisis, las cuales se analizaron en el método y se reportaron los valores obtenidos en mg O₂/L a los laboratorios certificados.

5.5 MUESTREO DE AGUAS

El muestreo se realizó en el Departamento del Cauca (Tabla 8) tomando como muestras aguas residuales domésticas, siguiendo el *Instructivo para toma de muestras de agua y sedimento* de la CRC, basado en el *Standardr Methods for the Examination of Water and Wastewater*¹³.

5.5.1 Muestreo de aguas residuales domésticas

Se tomaron muestras simples (para efectos de análisis del presente trabajo) de 2 L de aguas residuales domésticas y superficiales por técnicos autorizados, en sitios específicos del Departamento del Cauca, en la tabla 8 se detallan los lugar de muestreo.

Tabla 8. Descripción de los lugares de muestreo realizados en el Departamento del Cauca, municipio de Piendamó

Muestra	Descripción	Coordenadas planas	Coordenadas geográficas	Método
1	Antes del Vertimiento	782078,81N	Lat2°37 '30,790"N	5220 D
	PTARD (AS)	1087456,28E	L76°17 '27,887"W	- SM
2	Después de Vertimiento	782053,68N	Lat2°37 '29,974"N	5220 D
	PTARD (AS)	1087357,26E	L76°17 '31,093"W	- SM
3	Salida PTARD (ARD)	NA	NA	5220 D - SM
4	Salida Bypass (ARD)	NA	NA	5220 D - SM

AS: Agua Superficial, ARD: Agua Residual Doméstica
N: Norte, E: Este; Lat: Latitud; L: Longitud; W: Oeste
NA: No Aplica

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la estandarización y validación de la metodología 5220 D SM, desarrollada en el laboratorio ambiental de la CRC, además se anexan como evidencias las primeras páginas de los informes entregados al Laboratorio ambiental de la CRC como lo son el Protocolo de la determinación de DQO en aguas residuales domésticas, instructivo de manejo del espectrofotómetro UV-Vis PRECISA HALO RB-10 para la determinación de DQO en aguas residuales domésticas siguiendo la metodología expuesta en 5220 D SM¹³(ANEXOS C, D Y E).

6.1 ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO 5220D-SM PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

La estandarización de la metodología para la determinación de DQO en muestras de aguas residuales domésticas por espectroscopía UV-Vis en rango alto (600 nm) se realizó basándose en los criterios establecidos en el método 5220 D *The Standard Methods*.

6.1.1 Rango lineal de trabajo

Se determinó la linealidad de la curva a partir de las soluciones preparadas de DQO (5.3.1). Los valores obtenidos se registran en la Tabla 9; así como en la figura 2 se encuentra la curva de calibración con la ecuación de la curva y el coeficiente de determinación obtenido (R^2)

Tabla 9. Absorbancias obtenidas para la curva de calibración por patrón externo para determinación del rango lineal de trabajo por UV-Vis a 600 nm

DQO esperada (mg O ₂ /L)	Absorbancia
100	0,039
100	0,038
150	0,060
150	0,062
200	0,080
200	0,081
500	0,200
500	0,201
800	0,322
800	0,321
1000	0,406
1000	0,402

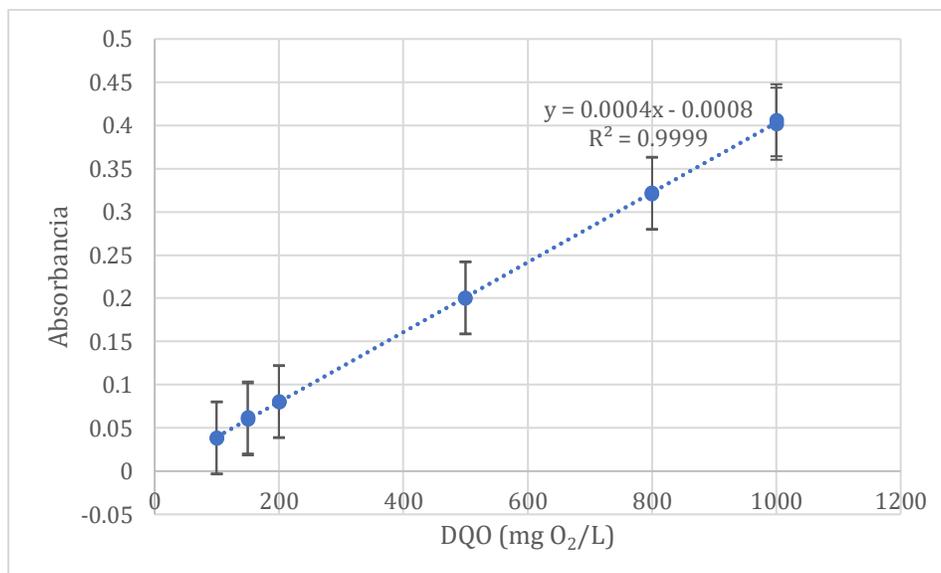


Figura 2. Curva de calibración por patrón externo de DQO para determinación del rango lineal de trabajo por espectroscopía UV-Vis a 600 nm

Teniendo en cuenta el coeficiente de determinación de la figura 2, se estableció el rango lineal de trabajo, el cual fue 100 a 1000 mg O₂/L de DQO, ya que el coeficiente de determinación obtenido cumple con $R^2 \geq 0,995$ ¹³.

Además se determinaron los porcentajes de error de las concentraciones halladas (valor encontrado), partiendo de las concentraciones iniciales (valor verdadero) preparadas es decir 100, 150, 200, 500, 800 y 1000 mg O₂/L de DQO esperado, aplicando la ecuación 3, los valores obtenidos se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Porcentajes de error (%D) para cada concentración de la curva de calibración

DQO esperada (mg O ₂ /L)	DQO hallada (mg O ₂ /L)	%D
100	101,500	1,500
100	99,000	1,000
150	154,000	2,667
150	159,000	6,000
200	204,000	2,000
200	206,500	3,250
500	504,000	0,800
500	506,500	1,300
800	809,000	1,125
800	806,500	0,813
1000	1019,000	1,900
1000	1009,000	0,900

Los resultados obtenidos de %D de cada punto de la curva de calibración son menores al error aceptado el cual es 10% de la concentración real, por ende son aceptados (5.3.1)¹³.

6.1.2 Límite de detección

Se analizaron las soluciones blanco y estándares de DQO (5.3.2). Los valores obtenidos se registraron en las tablas 11, 12 y 13 para cada concentración.

Además, se realizó una curva de calibración para el análisis de los estándares y los blancos para los días 1,2 y 3 (figura 3). A partir de la ecuación de la recta se hallaron las concentraciones.

El %Recuperación y el %DER se determinaron aplicando las ecuaciones 6 y 7 respectivamente.

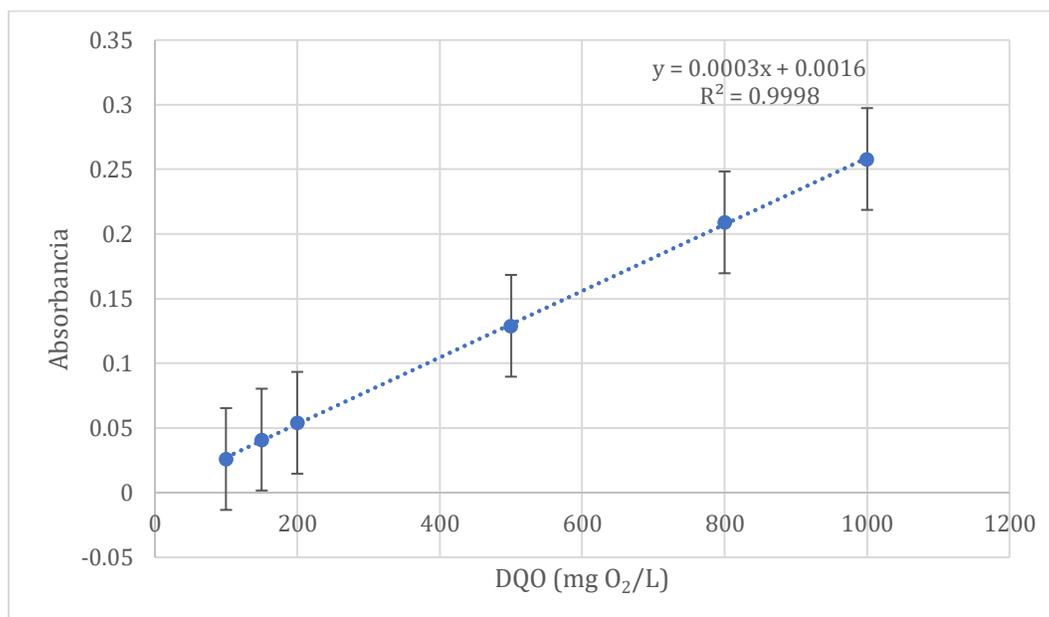


Figura 3. Curva de calibración de DQO por patrón externo para la determinación del límite de detección por espectroscopia UV-Vis a 600 nm

Se inició analizando las siete soluciones de DQO (20 mg O₂/L) y las siete soluciones de blanco.

Tabla 11. Datos obtenidos de los blancos y estándares con DQO de 20 mg O₂/L en 1 día

Solución DQO (20 mg O ₂ /L)		Soluciones Blanco	
Absorbancia	Concentración hallada (mg O ₂ /L)	Absorbancia	Concentración hallada (mg O ₂ /L)
0,003	4,667	0,000	0,000
0,005	11,333	0,002	1,333
0,005	11,333	0,002	1,333
0,004	8,000	0,003	4,667
0,005	11,333	0,004	8,000
0,004	8,000	0,001	0,000
0,004	8,000	0,003	4,667
x	8,952		1,810
s	2,520		4,484
%DER	28,146		-
%Recuperación	44,762		-

Teniendo en cuenta los valores registrados en la tabla 11, los valores de %DER y el %Recuperación obtenidos para la solución de DQO esperada 20 mg O₂/L, están por fuera de los límites de aceptación (sección 5.3.2) por ende se incrementó la concentración de la solución.

Se incrementó la solución de DQO a 30 mg O₂/L.

Tabla 12. Datos obtenidos de los blancos y estándar de 30 mg O₂/L de DQO de en 1 día

Solución DQO (30 mg O ₂ /L)		Soluciones Blanco	
Absorbancia	Concentración hallada (mg O ₂ /L)	Absorbancia	Concentración hallada (mg O ₂ /L)
0,015	44,667	0,000	0,000
0,017	51,333	0,003	4,667
0,018	54,667	0,003	4,667
0,017	51,333	0,005	11,333
0,017	51,333	0,001	0,000
0,015	44,667	0,003	4,667
0,017	51,333	0,003	4,667
x	49,905		3,238
s	3,780		5,394
%DER	7,574		
%Recuperación	166,349		

Teniendo en cuenta los valores registrados en la tabla 12, el %Recuperación del estándar de 30 mg O₂/L, estuvo por fuera del rango de aceptación (50 a 150 %, sección 5.3.2), por ende se debió incrementar la concentración del estándar para verificar si a una concentración mayor estaría dentro de los límites aceptados.

Se incrementó la solución de DQO a 40 mg O₂/L.

Tabla 13. Datos obtenidos de los blancos y estándar de 40 mg O₂/L de DQO en 1 día

Solución DQO (40 mg O₂/L)		Soluciones Blanco	
Absorbancia	Concentración hallada (mg O₂/L)	Absorbancia	Concentración hallada (mg O₂/L)
0,011	31,333	0,002	1,333
0,009	24,667	0,000	0,000
0,011	31,333	0,000	0,000
0,011	31,333	0,002	1,333
0,010	28,000	0,005	11,333
0,011	31,333	0,003	4,667
0,011	31,333	0,000	0,000
x	29,905		2,667
s	2,622		4,163
%DER	8,769		
%Recuperación	74,761		

Teniendo en cuenta los valores registrados en la tabla 13, los parámetros %DER y %Recuperación para el estándar de 40 mg O₂/L, cumplieron con los criterios de aceptabilidad internos (menor a 20% y encontrarse en el rango 50 a 150%, respectivamente), por ende se llevó a cabo durante dos días más el procedimiento realizado para determinar el límite de detección.

Tabla 14. Datos obtenidos de los blancos y estándares de 40 mg O₂/L de DQO en los días 1,2 y 3

Día	Absorbancia 40 mg O ₂ /L (mg O ₂ /L)	Concentración Hallada (40 mg O ₂ /L)	Absorbancia Blancos (mg O ₂ /L)	Concentración Hallada de blancos (mg O ₂ /L)
1	0,011	31,333	0,002	1,333
	0,009	24,667	0,000	0,000
	0,011	31,333	0,000	0,000
	0,011	31,333	0,002	1,333
	0,010	28,000	0,005	11,333
	0,011	31,333	0,003	4,667
	0,011	31,333	0,000	0,000
	0,011	31,333	0,000	0,000
2	0,010	28,000	0,003	4,667
	0,010	28,000	0,003	4,667
	0,011	31,333	0,005	11,333
	0,010	28,000	0,001	0,000
	0,011	31,333	0,003	4,667
	0,010	28,000	0,003	4,667
	0,011	31,333	0,001	0,000
	0,012	34,667	0,003	4,667
3	0,011	31,333	0,005	11,333
	0,010	28,000	0,002	1,333
	0,009	24,667	0,000	0,000
	0,010	28,000	0,002	1,333
	0,010	28,000	0,000	0,000
	0,010	28,000	0,000	0,000
x		29,587		3,206
s		2,499		3,919
%DER		8,445		
%Recuperación		73,968		

Teniendo en cuenta los valores de %DER y %Recuperación registrados en la tabla 14 para el estándar de 40 mg O₂/L, se concluye que cumplieron con los criterios de aceptabilidad según *THE STANDARD METHODS*³ (menor a 20% y encontrarse en el rango 50 a 150%, respectivamente), posteriormente se calculó a partir de este valor el límite de detección.

Se halló el límite de detección de la solución fortificada (LDM_s), teniendo en cuenta la Ecuación 4

$$LDM_s = s_{estandar} * 3,14$$

$$LDM_s = 2,499 * 3,14 = 7,847$$

Luego se calculó el límite de detección con respecto al blanco (LDM_b) empleando la Ecuación 5

$$LDM_b = \bar{X} + (3,14 * s_b)$$

$$LDM_b = 3,206 + (3,14 * 3,919) = 15,512$$

El Límite de Detección del Método (LDM) es igual al resultado más grande entre LDM_s y LDM_b es decir 15,512 mg O₂/L.

Se verificó el LDM empleando tres estándares de 15 mg O₂/L por duplicado, los cuales permitieron corroborar experimentalmente el valor calculado del límite de detección (LDM), ya que esta concentración se logra detectar con el método. Los valores se registraron en la Tabla 15.

Tabla 15. DQO hallada de tres soluciones de 15 mg O₂/L para confirmar el LDM

Estándares de 15 mg O ₂ /L	
Estándar	DQO (mg O ₂ /L)
1	18,500 ± 1,250
2	17,250 ± 2,500
3	23,500 ± 1,250

6.1.3 Límite de cuantificación

Teniendo en cuenta la desviación estándar de los blancos registrados en la tabla 14 y la ecuación 8, se halló el límite de cuantificación

$$LCM = 10 * s_b$$

$$LCM = 10 * 3,919 = 39,190$$

Se verificó el valor calculado para LCM con un triplicado en un día, obteniendo los valores registrados en la tabla 16.

La verificación por triplicado se llevó a cabo con la ecuación de la recta presente en la figura 4.

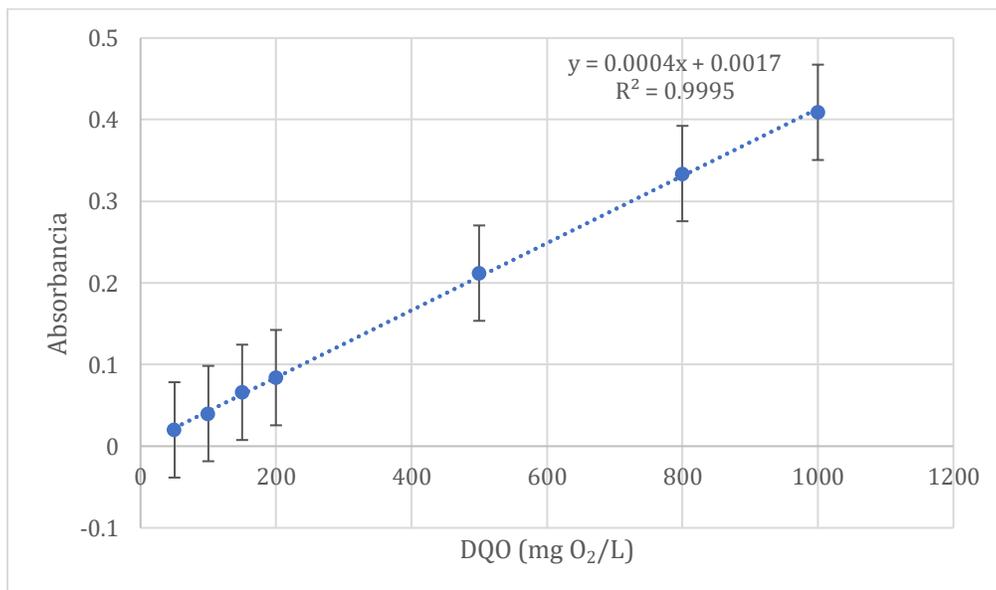


Figura 4. Curva de calibración de DQO por patrón externo para la confirmación del LCM por espectroscopia UV-Vis a 600 nm

Tabla 16. Valores obtenidos de la verificación del límite de cuantificación con estándar de 40 mg O₂/L de DQO

Absorbancia	DQO hallada (mg O ₂ /L)
0,027	63,250
0,014	30,750
0,022	50,750
x	48,250
s	16,394
%DER	33,976

El %DER del estándar de 40 mg O₂/L no cumplió con el criterio de aceptabilidad, ya que el valor obtenido se encuentra por encima del 20%, por ende se realizó a una concentración mayor¹³ la cual fue 50 mg O₂/L (sección 5.3.3).

Tabla 17. Valores obtenidos de la verificación del límite de cuantificación con solución de 50 mg O₂/L

Ítem	Absorbancia	DQO Hallada (mg O ₂ /L)
	0,021	48,250
	0,020	45,750
	0,019	43,250
x		45,750
s		2,500
%DER		5,464

El Límite de cuantificación del método fue 50 mg O₂/L, ya que como se observa en la tabla 17 el valor obtenido del %DER es menor al 20% el cual cumple con el criterio de aceptabilidad (sección 5.3.3)

6.1.4 Control de Calidad

Durante 3 días se evaluó un grupo básico de muestras que corresponden a Rango lineal de trabajo, Límite de cuantificación (LCM), Blanco fortificado (BF), Matriz (M), Matriz fortificada (MF), Duplicado de matriz fortificada (DMF), Material de referencia certificado (MRC). Los valores obtenidos se registraron en la tabla 18.

Tabla 18. Concentraciones obtenidas del grupo básico de muestras durante tres días

Ítem	LCM (mg O ₂ /L)	BF _{500 mg/L} (mg O ₂ /L)	M (mg O ₂ /L)	MF _{1000mg/L y} DMF _{1000mg/L} (mg O ₂ /L)	MRC _{500mg/L} (mg O ₂ /L)
1	52,250	514,750	207,250	619,750	517,250
	47,250	524,750	212,250	609,750	522,250
2	38,500	523,500	238,500	627,250	506,000
	33,500	511,000	241,000	617,250	508,500
3	53,000	528,000	250,500	636,000	525,500
	53,000	513,000	245,500	633,500	515,500
x	46,250	519,167	232,500	608,500	515,833
s	8,376	7,102	18,160	596,000	7,579
%DER	18,109	1,368	7,811	650,500	1,469
%E		3,833		655,500	3,167

Durante los tres días de análisis se realizó una curva de calibración por día, agregando además el LCM, los valores obtenidos se registraron en la tabla 19.

Tabla 19. Datos obtenidos de las curvas de calibración y el %D de cada punto, para el rango lineal de trabajo

Día	1		2		3	
Curva (mgO ₂ /L)	DQO hallada (mgO ₂ /L)	%D	DQO hallada (mgO ₂ /L)	%D	DQO hallada (mgO ₂ /L)	%D
50	52,250	4,500	38,500	23,000	48,000	4,000
	47,250	5,500	33,500	33,000	43,000	14,000
100	99,750	0,250	106,000	6,000	100,500	0,500
	102,250	2,250	101,000	1,000	103,000	3,000
150	157,250	4,833	153,500	2,333	163,000	8,667
	149,750	0,167	153,500	2,333	153,000	2,000
200	209,750	4,875	221,000	10,500	215,500	7,750
	214,750	7,375	211,000	5,500	210,500	5,250
500	532,250	6,450	503,500	0,700	515,500	3,100
	524,750	4,950	518,500	3,700	513,000	2,600
800	834,750	4,344	818,500	2,313	823,000	2,875
	819,750	2,469	816,000	2,000	825,500	3,188
1000	1039,750	3,975	1008,500	0,850	1028,000	2,800
	1037,250	3,725	1013,500	1,350	1035,500	3,550
R ²	0,9997		0,9994		0,9998	
Ecuación	y=0,0004x-0,0019		y=0,0004x+0,0046		y=0,0004x-0,0022	

Los resultados obtenidos se evaluaron mediante el coeficiente de determinación y el %D (<0,995% y <10%, respectivamente). Teniendo en cuenta los criterios de aceptabilidad según la guía interna del laboratorio los valores fueron aceptados.

Se realizó la carta de control de calidad teniendo en cuenta los valores ya obtenidos y nuevas medidas de %Recuperación y concentración hallada de estándar de DQO de 500 mg O₂/L el cual es el estándar de chequeo. Se determinaron los límites superior e inferior, para ello se

aplicaron las ecuaciones 11 y 12 respectivamente, los datos obtenidos se registraron en la tabla 20.

Tabla 20. Datos obtenidos para realizar la carta de control de calidad

	DQO hallada (mg O₂/L)	%Recuperación
	483,500	96,700
	491,000	98,200
	532,250	106,450
	524,750	104,950
	517,750	103,550
	517,750	103,550
	503,500	100,700
	518,500	103,700
	501,500	100,300
	506,500	101,300
	515,500	103,100
	513,000	102,600
	499,000	99,800
	504,000	100,800
	504,000	100,800
	524,000	104,800
	521,500	104,300
	504,000	100,800
	516,500	103,300
	509,000	101,800
x	510,375	102,075
s	11,991	2,398
Límite Superior	546,348	109,270
Límite Inferior	474,402	94,880
%DER	2,349	2,349

Teniendo en cuenta los límites de control de calidad superior e inferior hallados y registrados en la tabla 20, se aceptan o rechazan valores. Los valores aceptados se encuentran dentro de los límites superiores en inferior.

A partir de los datos registrados en la tabla 17, se hallaron los %Recuperación para BF, MF, DMF y MRC, empleando la ecuación 6 para BF, MRC y ecuación 9 para MF y DMF, los datos obtenidos se registraron en la tabla 21.

Para la determinación del %Recuperación de MF y DMF se realiza el cálculo para el primer valor de la Tabla 18 y del mismo modo se realiza para los demás datos, teniendo en cuenta que la concentración empleada de stock fue de 1000 mg O₂/L de DQO y alícuota de 12,5 mL la cual se llevó a balón aforado de 25 mL y se aforó con matriz de agua residual doméstica).

$$\begin{aligned} \%Recuperación (MF) &= \frac{[619,750mg/L] * (25 mL) - ([207,250mg/L] * 12,5mL)}{[1000mg/L] * (12,5mL)} * 100 \\ &= 103,225\% \end{aligned}$$

Tabla 21. %Recuperación de Blanco fortificado, Material de referencia certificado, Matriz fortificada y Duplicado de matriz fortificada.

Día	BF ₅₀₀ mg/L (mg O ₂ /L)	MF ₁₀₀₀ mg/L y DMF ₁₀₀₀ mg/L (mg O ₂ /L)	MRC ₅₀₀ mg/L (mg O ₂ /L)
1	102,950	103,225	103,450
		101,225	
	104,950	104,225	104,450
2	104,700	102,225	101,200
		103,350	
		102,850	
3	102,200	97,600	101,700
		95,100	
	105,600	105,050	105,100
x		106,050	
		100,550	103,100
		101,550	
x	103,833	101,917	103,167
s	1,297	3,083	1,384
%DER	1,249	3,025	1,341

Teniendo en cuenta los límites de la carta de control (109,270 y 94,880 %), para estándar de 500 mg O₂/L de DQO registrados en la tabla 20 y los datos obtenidos de %Recuperación de BF, MRC los datos están dentro de los límites de control por ende son aceptados.

6.1.5 Exactitud

La exactitud se analizó teniendo en cuenta dos componentes: precisión y veracidad.

6.1.5.1 Precisión

Teniendo en cuenta los valores obtenidos de muestras de control de calidad (BF, MRC, MF, DMF) registradas en la tabla 18 se determinó la precisión en términos de %DER, donde se observó en la tabla en mención, que los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad (<10%)

Además se realizó el análisis para duplicado de muestra fortificada utilizando la ecuación 10, en términos de %DRP. Los valores obtenidos se registran en la tabla 22.

Tabla 22. Valores obtenidos de diferencia porcentual relativa (%DRP)

Ítem	M F _{500mg/L} (mg/L)	DMF _{500mg/L} (mg/L)	%DRP
1	619,750	627,250	1,203
	609,750	617,250	1,222
2	636,000	608,500	4,419
	633,500	596,000	6,100
3	650,500	625,500	3,918
	655,500	630,500	3,888
x	634,167	617,500	3,459

Los valores obtenidos de %DRP cumplen con el criterio de aceptabilidad (<10%)¹³.

6.1.5.1.1 Precisión por Repetibilidad

Se realizó el mismo procedimiento de medida, el mismo analista, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, a las muestras de control de calidad BF y MRC, tres veces un mismo día. Se emplearon pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y pruebas paramétricas ANOVA.

Tabla 23. Concentraciones obtenidas del grupo básico de muestras en un día

Día	BF _{500 mg/L} (mg/L)	MRC _{500mg/L} (mg/L)
1	518,500	516,000
	516,000	521,000
2	517,750	522,750
	512,750	522,750
3	504,000	521,500
	511,500	519,000

Se aplicó la prueba de Shapiro - Wilk a los datos obtenidos de BF y MRC registrados en la tabla 23, considerando que el número de datos es menor a 50, para determinar si provienen de una población con distribución normal, su interpretación se realiza con el valor de significación (Sig) si es $\geq 0,05$ se acepta la hipótesis nula, si es $< 0,05$ se rechaza la hipótesis nula.

Se planteó como hipótesis nula, H_0 : “el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal” y como hipótesis alternativa, H_a : “Los datos obtenidos no provienen de una población normal”.

Tabla 24. Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestras de control (Precisión por repetibilidad)

Ítem	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
BF	0,830	6	0,353
MRC	0,826	6	0,237

Los valores de Sig. obtenidos en la tabla 24 para BF y MRC son mayores que el valor de Sig. 0,05 por ende se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal* para BF.

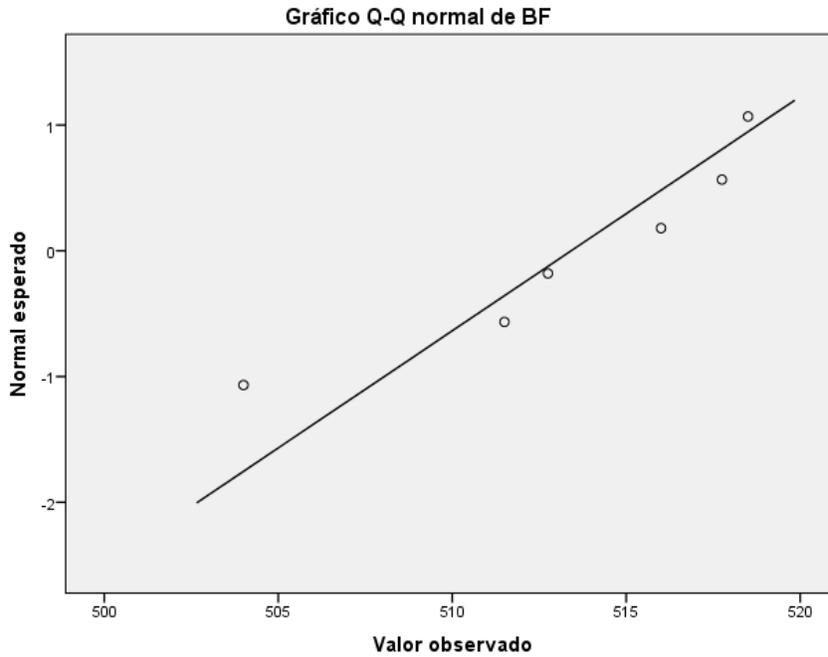


Figura 5. Gráfico Q-Q de Blanco fortificado de precisión por repetibilidad

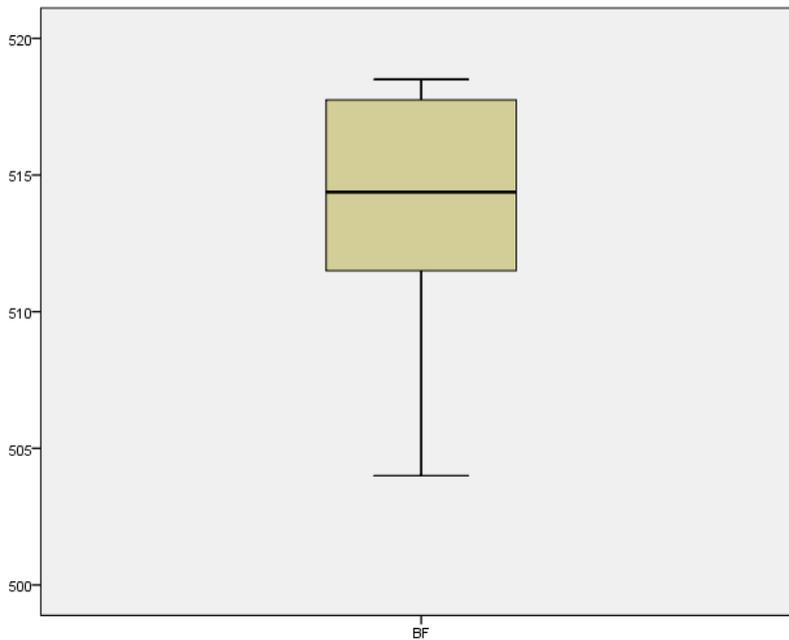


Figura 6. Gráfico de cajas de Blanco fortificado de precisión por repetibilidad

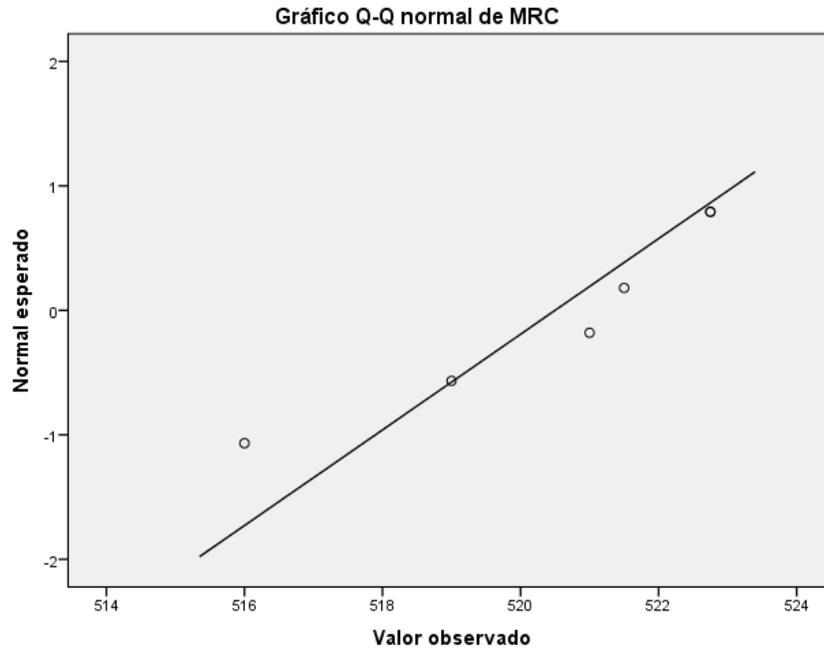


Figura 7. Gráfico Q-Q de Material de referencia certificado de precisión por repetibilidad

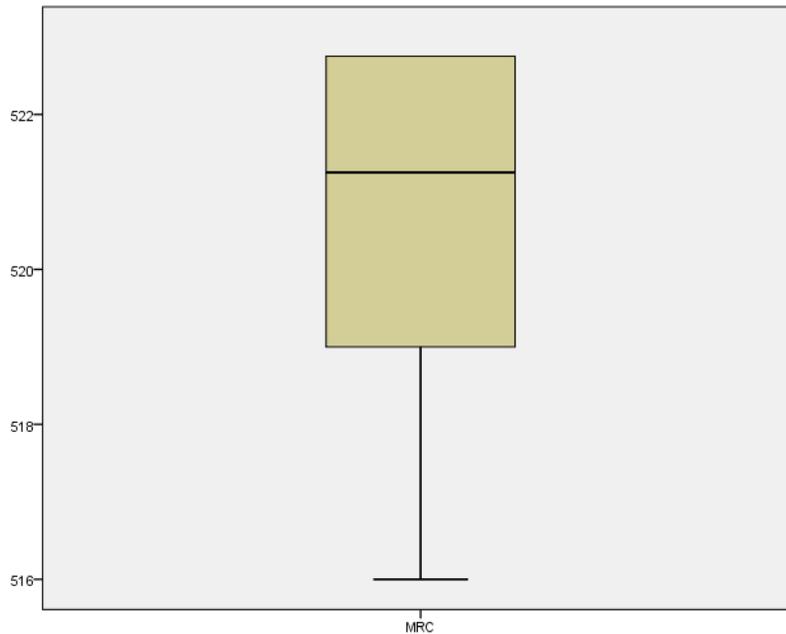


Figura 8. Gráfico de cajas de normalidad de Material de referencia certificado de precisión por repetibilidad

En las Figuras 5 y 7, los gráficos Q-Q de normalidad para blanco fortificado y material de referencia certificado, respectivamente, los valores presentaron distribución normal, ya que están sobre y muy próximos a las rectas de normalidad esperadas.

Además se analizaron las Figuras 6 y 8, gráficos de cajas para BF y MRC, respectivamente, en el gráfico 6 los datos presentan simetría ya que la mediana se encuentra en el centro de la caja, en el gráfico 8 los datos están sesgados puesto que la mediana está más cerca de la parte superior, ambos gráficos no tienen presencia de valores atípicos.

Posteriormente se aplicaron pruebas paramétricas ANOVA para BF y MRC, con el fin de establecer si existen diferencias significativas entre las medias, teniendo en cuenta el factor repetición. Se plantearon como hipótesis nulas, H_0 : “no existen diferencias significativas entre las medias” y como hipótesis alternativa, H_a : “existen diferencias significativas entre las medias”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 25. Prueba paramétrica ANOVA para muestras de control (Precisión por repetibilidad)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
BF	Inter-grupos	100,333	2	50,167	3,440	0,167
	Intra-grupos	43,750	3	14,583		
	Total	144,083	5			
MRC	Inter-grupos	18,250	2	9,125	1,752	0,313
	Intra-grupos	15,625	3	5,208		
	Total	33,875	5			

Los valores de Sig. obtenidos en la tabla 25 son mayores que el valor de Sig. 0,05 por ende se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *no existen diferencias significativas entre las medias* para BF y MRC.

Se realizó una prueba de homogeneidad de varianzas para verificar si hay homocedasticidad en los valores obtenidos, para ello se realizó la prueba de Levene para BF y MRC. Se planteó como hipótesis nula, H_0 : “las varianzas entre los datos son iguales” y como hipótesis alternativa, H_a : “existen diferencias entre las varianzas de los datos o en al menos en un grupo de datos”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 26. Prueba de homogeneidad de varianzas para BF y MRC (Precisión por repetibilidad)

Ítem	gl1	gl2	Sig.
BF	2	3	0,000
MRC	2	3	0,000

Los valores de Sig. obtenidos en la tabla 26 son menores que el valor de Sig. 0,05 por ende se rechaza la Hipótesis Nula, es decir, *existen diferencias significativas entre las varianzas de los datos o en al menos un grupo de datos* para BF y MRC.

Teniendo en cuenta que no hay homocedasticidad en los datos de BF y MRC se realiza una prueba t para muestras independientes para comparar que grupo de datos difieren entre sí

(Tablas 27, 28 y 29). Se plantearon como hipótesis nulas, H_0 : “no hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 2”, “no hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 3”, “no hay diferencias entre las medias de los grupos 2 y 3” y como hipótesis alternativas, H_a : “hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 2”, “hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 3”, “hay diferencias entre las medias de los grupos 2 y 3”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$. Si el valor de Sig. obtenido es menor a 0,05 se rechaza la H_0 . Los datos obtenidos se registran en las tablas 27, 28 y 29.

Tabla 27. Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 2)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
BF	Se han asumido varianzas iguales	0,716	2	0,549
	No se han asumido varianzas iguales	0,716	1,471	0,571
MRC	Se han asumido varianzas iguales	-1,700	2	0,231
	No se han asumido varianzas iguales	-1,700	1,000	0,339

Tabla 28. Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 3)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
BF	Se han asumido varianzas iguales	2,403	2	0,138
	No se han asumido varianzas iguales	2,403	1,220	0,213
MRC	Se han asumido varianzas iguales	-0,626	2	0,595
	No se han asumido varianzas iguales	-0,626	1,471	0,614

Tabla 29. Prueba t para muestras independientes (grupos 2 y 3)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
BF	Se han asumido varianzas iguales	1,664	2	0,238
	No se han asumido varianzas iguales	1,664	1,742	0,256
MRC	Se han asumido varianzas iguales	2,000	2	0,184
	No se han asumido varianzas iguales	2,000	1,000	0,295

Los valores de Sig. obtenidos en las tablas 27, 28 y 29 son mayores que el valor de Sig. 0,05 por ende se aceptan las Hipótesis Nulas, es decir, *no existen diferencias entre los grupos 1 y 2, 1 y 3, 2 y 3 para BF y MRC.*

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se decide realizar un nuevo ensayo para BF (Tabla 230), ya que debido a la mínima cantidad de datos no se puede apreciar la distribución en las varianzas.

Tabla 30. Concentraciones obtenidas de blanco fortificado de muestras en un día

Repeticiones	BF 500 mg O ₂ /L (mg O ₂ /L)
1	496,00
	496,00
	514,75
	524,75
2	525,25
	522,75
	523,50
	511,00
3	501,50
	499,00
	528,00
	513,00

Se aplicó la prueba de Shapiro - Wilk a los datos obtenidos de BF registrados en la tabla 30, considerando que el número de datos es menor a 50, para determinar si provienen de una población con distribución normal, su interpretación se realiza con el valor de significación (Sig) si es $\geq 0,05$ se acepta la hipótesis nula, si es $< 0,05$ se rechaza la hipótesis nula.

Se planteó como hipótesis nula, **H₀**: “*el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal*” y como hipótesis alternativa, **H_a**: “*Los datos obtenidos no provienen de una población normal*”.

Tabla 31. Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestra de control BF (Precisión por repetibilidad)

Ítem	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
BF	0,881	12	0,091

El valor de Sig. obtenido en la tabla 31 es mayor que el valor de Sig. 0,05 por ende se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal* para BF.

Se determinó si hay homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene para los valores obtenidos de BF (Tabla 30), con el fin de establecer si hay homogeneidad de varianzas u homocedasticidad. Se planteó como hipótesis nulas, **H₀**: “*las varianzas entre repeticiones en un día son iguales*” y como hipótesis alternativa, **H_a**: “*existen diferencias entre las varianzas entre repeticiones en un día*”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 32. Prueba de homogeneidad de varianzas para BF (Precisión por repetibilidad)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,437	2	9	0,143

El valor de Sig. obtenido en la tabla 30 es mayor que el valor de Sig. 0,05 por ende se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *las varianzas entre repeticiones en un día son iguales para BF*.

Posteriormente se aplicaron pruebas paramétricas ANOVA para los valores obtenidos de BF (Tabla 30), con el fin de establecer si existen diferencias significativas entre las medias de las varianzas. Se plantearon como hipótesis nulas, H_0 : “no existen diferencias significativas entre las medias” y como hipótesis alternativa, H_a : “existen diferencias significativas entre las medias”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 33. Prueba paramétrica ANOVA para muestra de control BF (Precisión por repetibilidad)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
BF	Inter-grupos	365,167	2	182,583	1,297	0,320
	Intra-grupos	1266,563	9	140,729		
	Total	1631,729	11			

Los valores de Sig. obtenidos en la tabla 33 son mayores que el valor de Sig. 0,05 por ende se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *no existen diferencias significativas entre las medias para BF*.

6.1.5.1.2 Precisión Intermedia

Teniendo en cuenta las concentraciones obtenidas para MF, DMF, BR, MRC registradas en la tabla 18, se emplearon pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y paramétricas ANOVA.

Se aplicó la prueba de Shapiro - Wilk a los datos obtenidos, considerando que el número de datos es menor a 50, para determinar si provienen de una población con distribución normal, su interpretación se realiza con el valor de significación (Sig) si es $\geq 0,05$ se acepta la hipótesis nula, si es $< 0,05$ se rechaza la hipótesis nula.

Se planteó como hipótesis nula, H_0 : “el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal” y como hipótesis alternativa, H_a : “Los datos obtenidos no provienen de una población normal”.

Tabla 34. Prueba de normalidad Shapiro-Wilks para muestras de control (Precisión intermedia)

Ítem	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
BF	0,892	6	0,330
MRC	0,954	6	0,772
MF/DMF	0,981	12	0,987

Los valores de Sig. obtenidos en la tabla 34 son mayores a 0,05, por ende, se acepta la Hipótesis Nula, es decir, *el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal* para BF, MRC y MF.

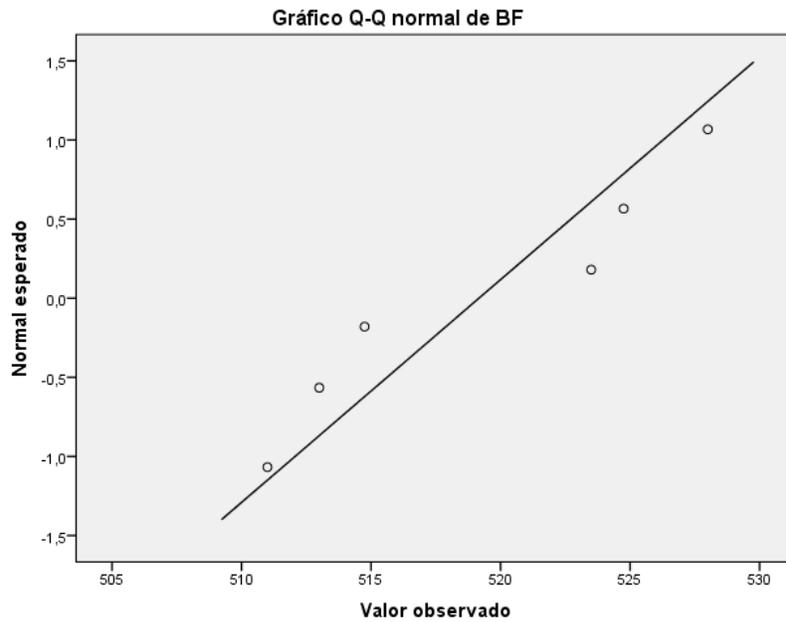


Figura 9. Gráfico Q-Q de Blanco fortificado de precisión intermedia

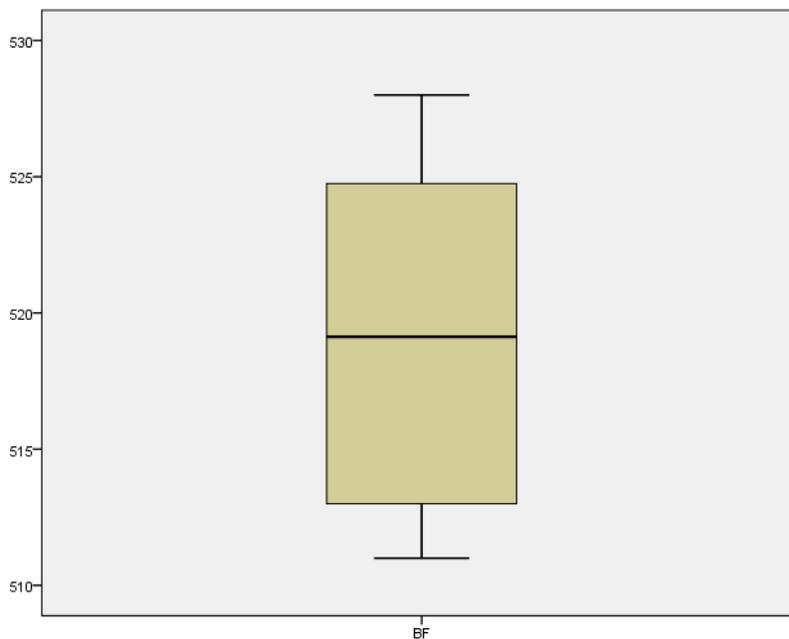


Figura 10. Gráfico de caja de Blanco fortificado de precisión intermedia

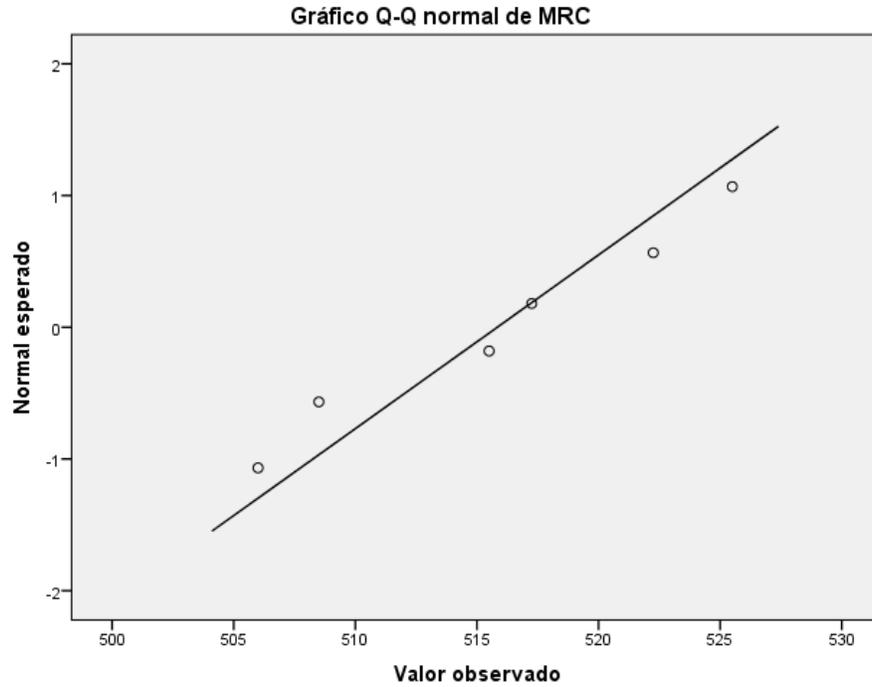


Figura 11. Gráfico Q-Q de Material de referencia certificado de precisión intermedia

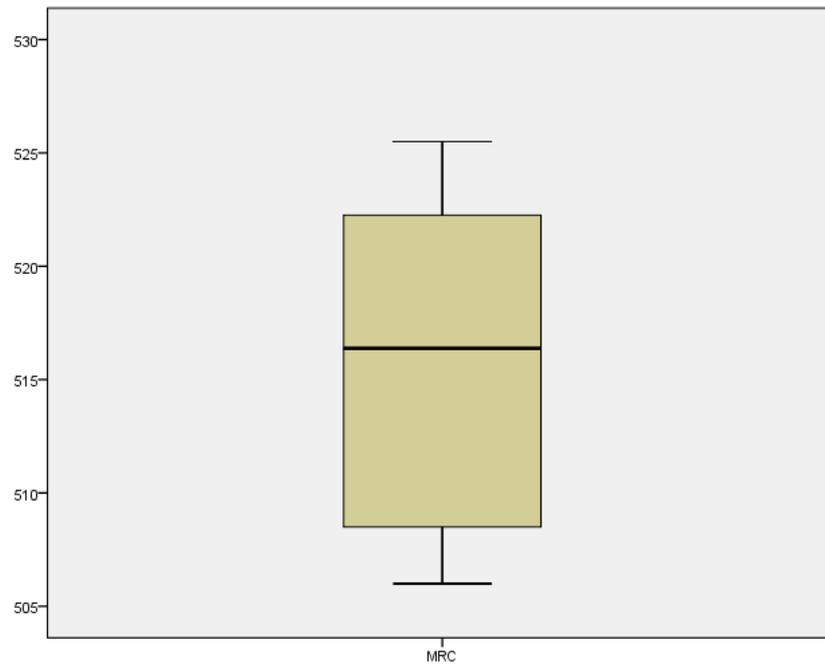


Figura 12. Gráfico de caja de Material de referencia certificado de precisión intermedia

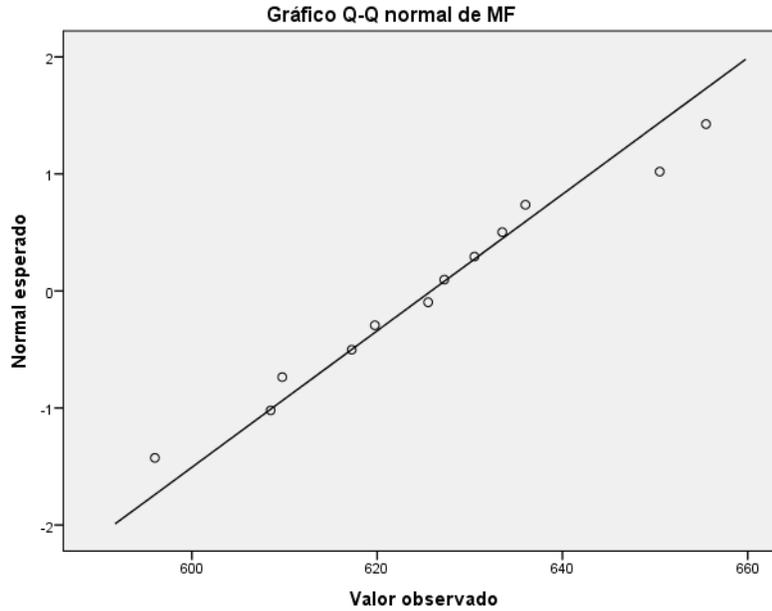


Figura 13. Gráfico Q-Q de Muestra fortificada de precisión intermedia

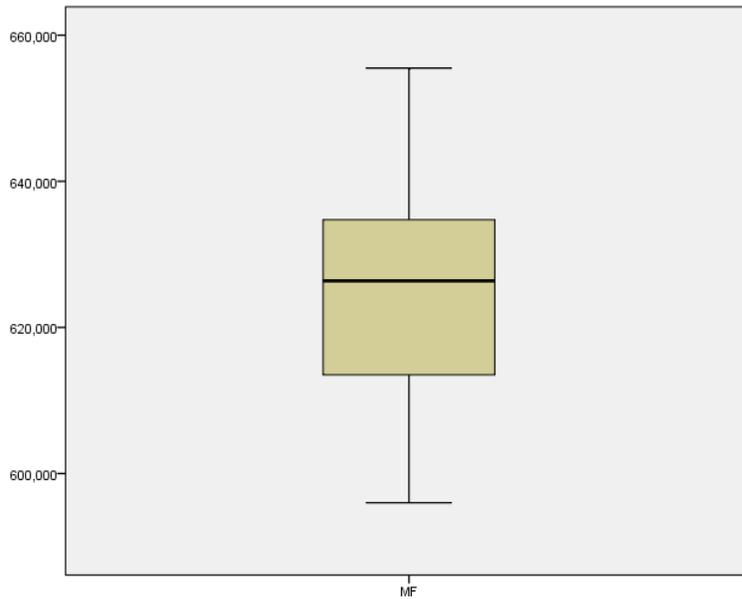


Figura 14. Gráfico de caja de Muestra fortificada de precisión intermedia

En las Figuras 9,11 y 13, los gráficos Q-Q de normalidad para blanco fortificado, material de referencia certificado y matriz fortificada, respectivamente, los valores presentaron distribución normal, ya que están sobre y muy próximos a las rectas de normalidad esperadas. Además se analizaron las Figuras 10, 12 y 14, los gráficos de cajas para blanco fortificado, material de referencia certificado y matriz fortificada respectivamente, los valores presentaron distribución normal (la mediana se encuentra en la mitad de la caja o muy próxima a ella), sin presencia de valores atípicos ya que estos se observarían fuera de los límites máximos y mínimos.

Se aplican pruebas paramétricas ANOVA para los valores obtenidos de Blanco Fortificado, Matriz Fortificada y Material de Referencia Certificado (Tabla 18), con el fin de establecer si existen diferencias significativas entre las medias, teniendo en cuenta el factor día. Se plantearon como hipótesis nulas, H_0 : “no existen diferencias significativas entre las medias” y como hipótesis alternativa, H_a : “existen diferencias significativas entre las medias”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 35. Prueba paramétrica ANOVA factor día para muestras de control (Precisión intermedia)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
BF	Inter-grupos	11,583	2	5,792	0,072	0,932
	Intra-grupos	240,625	3	80,208		
	Total	252,208	5			
MF/DMF	Inter-grupos	1290,667	2	645,333	2,988	0,101
	Intra-grupos	1943,750	9	215,972		
	Total	3234,417	11			
MRC	Inter-grupos	221,583	2	110,792	5,065	0,109
	Intra-grupos	65,625	3	21,875		
	Total	287,208	5			

Los valores de Sig. registrados en la tabla 35 son mayores que 0,05 por ende se acepta la H_0 , es decir, no existen diferencias significativas entre las medias teniendo en cuenta el factor día.

Además se realizó la prueba de Levene para observar si hay homogeneidad en las varianzas, para este análisis se empleó los datos obtenidos de MF y DMF. Se planteó como hipótesis nulas, H_0 : “las varianzas entre días son iguales” y como hipótesis alternativa, H_a : “existen diferencias entre las varianzas entre días”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$

Tabla 36. Prueba de homogeneidad de varianzas para MF/DMF (Precisión intermedia)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
7,269	2	9	0,013

El valor de Sig. obtenido en la tabla 36 es menor que el valor de Sig. 0,05 por ende se rechaza la Hipótesis Nula, es decir, “existen diferencias entre las varianzas entre días” para MF/DMF.

Teniendo en cuenta que no hay homocedasticidad en los datos de MF/DMF se realiza una prueba t para muestras independientes para comparar que grupo de datos difieren entre sí. Se plantearon como hipótesis nulas, H_0 : “no hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 2”, “no hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 3”, “no hay diferencias entre las medias de los grupos 2 y 3” y como hipótesis alternativas, H_a : “hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 2”, “hay diferencias entre las medias de los grupos 1 y 3”, “hay diferencias entre las medias de los grupos 2 y 3”, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$. Si el valor de Sig. obtenido es menor a 0,05 se rechaza la H_0 .

Tabla 37. Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 2)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
MF/DMF	Se han asumido varianzas iguales	0,000	6	1,000
	No se han asumido varianzas iguales	0,000	3,809	1,000

Tabla 38. Prueba t para muestras independientes (grupos 1 y 3)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
MF/DMF	Se han asumido varianzas iguales	-2,684	6	0,036
	No se han asumido varianzas iguales	-2,684	4,364	0,050

Tabla 39. Prueba t para muestras independientes (grupos 2 y 3)

		Prueba t para la igualdad de medias		
		t	gl	Sig. (bilateral)
MF/DMF	Se han asumido varianzas iguales	-1,803	6	0,122
	No se han asumido varianzas iguales	-1,803	5,585	0,125

Los valores de Sig. obtenidos en las tablas 37 y 39 son mayores que el valor de Sig. 0,05 por ende se aceptan las Hipótesis Nulas, es decir, *no existen diferencias entre los grupos 1 y 2, 2 y 3 para BF*. Por otro lado, el valor de Sig. obtenido en la tabla 38 es menor que 0,05 por ende se rechaza la Hipótesis Nula, es decir, *existen diferencias entre los valores obtenidos de los grupos 1 y 2 respecto a las medias*. Esta diferencia podría deberse a las interferencias presentadas en la matriz.

6.1.5.2 Veracidad

La evaluación de la veracidad se expresó en términos de sesgo.

6.1.5.2.1 Sesgo

Se analizaron los valores obtenidos de las muestras de control de calidad (BF, MRC) registrados en la tabla 18 y se determinaron los %E con la ecuación 13. Los resultados obtenidos se registraron en la tabla 17, como se observó los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad.

6.1.6 Incertidumbre

La estimación de la incertidumbre de la concentración de DQO en agua, se realizó definiendo los parámetros registrados en la tabla 40.

Tabla 40. Definición de los parámetros del método

Parámetro	Descripción
Ensayo	Determinación de la DQO
Técnica	Espectrofotometría UV-Vis
Sustancia, material, elemento o producto a ensayar	Agua residual doméstica
Intervalo de medición	100 a 1000 mg/L
Documento Normativo	SM 5220 D

Se definió además las posibles fuentes de incertidumbre presentadas en el método, se representó en diagrama causa-efecto como se observa en la figura 15.

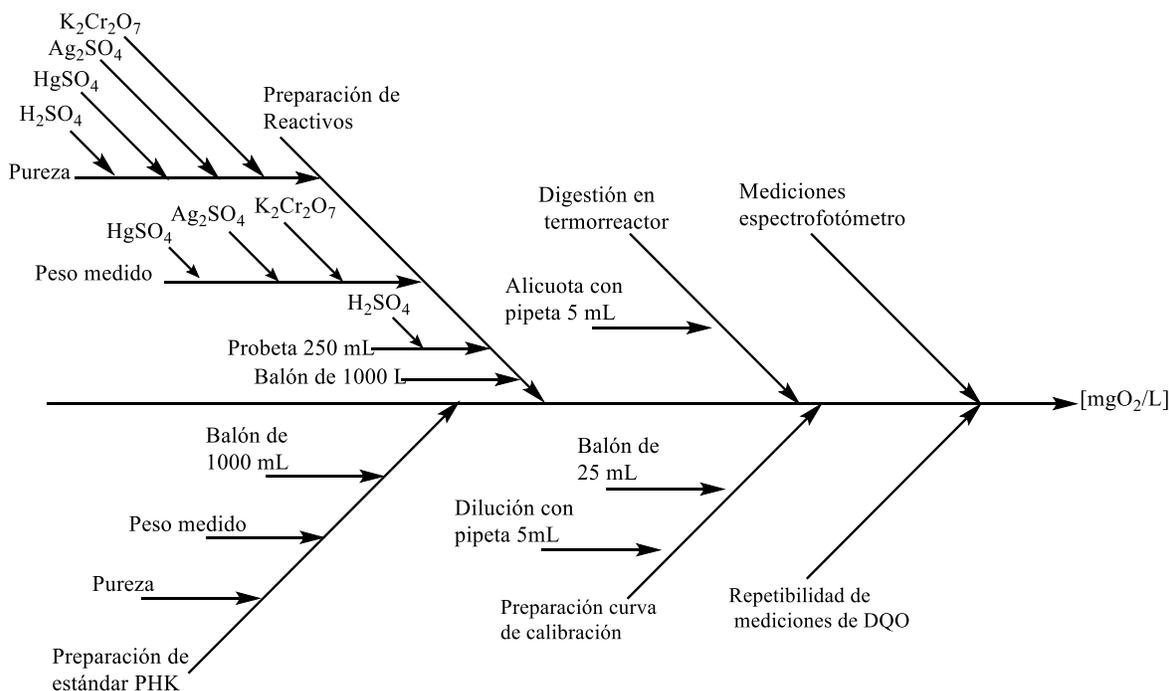


Figura 15. Diagrama de causa-efecto para la cuantificación de DQO por método colorimétrico con reflujo cerrado

6.1.6.1 Incertidumbre estándar Tipo A

- Incertidumbre asociada a la repetibilidad de mediciones de DQO teniendo en cuenta el $LCM_{50 \text{ mg/L}}$ (u_{rm})

$$u_A = \frac{\%DER}{\sqrt{n}}$$

$$u_{rm} = \frac{5,464 \%}{\sqrt{3}} = 3,155\%$$

- **Incertidumbre asociada a la repetibilidad de mediciones de pesaje teniendo en cuenta el estándar de PHK (u_{rp})**

Los datos de pesaje del estándar de PHK para la preparación de la solución durante los tres días, se registraron en la tabla 41.

Tabla 41. Pesos obtenidos en el pesaje del estándar de ftalato ácido de potasio en la balanza analítica

Día	Peso PHK (g)
1	0,8501
2	0,8528
3	0,8500
x	0,8510
s	0,0016
%DER	0,188

$$u_{rp} = \frac{0,188\%}{\sqrt{3}} = 0,109 \%$$

- **Incertidumbre estándar tipo A**

$$u_A = \sqrt{3,155^2 + 0,109^2} = 3,157 \%$$

6.1.6.2 Incertidumbre estándar tipo B

- **Incertidumbre asociada a la pureza del PHK (u_{ppHK})**

Teniendo en cuenta la ecuación 15, se realizó el cálculo para determinar la incertidumbre del estándar de PHK

$$u_{ppHK} = \frac{0,08\%}{2} = 0,040\%$$

- **Incertidumbre asociada al pesaje en balanza de estándar de PHK (u_{pPHK})**

Teniendo en cuenta la ecuación 15 y 16, se realizó el cálculo para determinar la incertidumbre del estándar de PHK debido al pesaje en balanza

$$U_{PHK} = 8,5E - 05g + (9,2E - 07g * 0,8500) = 8,578E - 05g$$

$$u_{PPHK} = \frac{8,578E - 05g}{1,98} * 100 = 4,332E - 03 \%$$

- **Incertidumbre asociada al balón aforado de 1000 mL en la preparación de la solución del estándar de PHK ($u_{b1000PHK}$)**

En los instrumentos volumétricos es más probable que el valor verdadero esté más cerca del valor nominal que de los extremos, para calcular la incertidumbre típica se asume que las lecturas siguen una distribución triangular isósceles.

$$u_{b1000PHK} = \frac{0,044 \text{ mL}}{\sqrt{24}} * 100 = 0,898\%$$

- **Incertidumbre asociada a la dilución de la preparación de la curva con solución estándar de PHK con el punto más bajo, tomada con transferpipeta de 5 mL (u_{t5PHK})**

$$u_{t5PHK} = \frac{8,8E - 03 \text{ mL}}{1,99} * 100 = 0,442\%$$

- **Incertidumbre asociada al balón aforado de 25 mL en la preparación de la solución del estándar de PHK (u_{b25PHK})**

En los instrumentos volumétricos es más probable que el valor verdadero esté más cerca del valor nominal que de los extremos, para calcular la incertidumbre típica se asume que las lecturas siguen una distribución triangular isósceles.

$$u_{b25PHK} = \frac{0,077 \text{ mL}}{\sqrt{24}} * 100 = 1,572\%$$

- **Incertidumbre asociada a la pureza del H_2SO_4 ($u_{PH_2SO_4}$)**

La distribución asociada a la pureza del ácido sulfúrico presenta una distribución rectangular

$$u_{PH_2SO_4} = \frac{3,70\%}{\sqrt{12}} = 1,068\%$$

- **Incertidumbre asociada a la pureza del $HgSO_4$ (u_{PHgSO_4})**

La distribución asociada a la pureza del sulfato de mercurio presenta una distribución rectangular.

$$u_{PHgSO_4} = \frac{2,00\%}{\sqrt{12}} = 0,577\%$$

- **Incertidumbre asociada a la pureza del Ag_2SO_4 ($u_{pAg_2SO_4}$)**

La distribución asociada a la pureza del sulfato de plata presenta una distribución rectangular.

$$u_{pAg_2SO_4} = \frac{1,5\%}{\sqrt{12}} = 0,433\%$$

- **Incertidumbre asociada a la pureza del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ($u_{pK_2Cr_2O_7}$)**

$$u_{pK_2Cr_2O_7} = \frac{0,13\%}{2} = 0,065\%$$

- **Incertidumbre asociada al pesaje en balanza del sulfato de mercurio (u_{pHgSO_4})**

$$U_{PHK} = 8,5E - 05g + (9,2E - 07g * 33,3354) = 1,157E - 04g$$

$$u_{PPHK} = \frac{1,157E - 04g}{1,98} * 100 = 5,841E - 03 \%$$

- **Incertidumbre asociada al pesaje en balanza del sulfato de plata (u_{pAgSO_4})**

$$U_{PHK} = 8,5E - 05g + (9,2E - 07g * 5,5289) = 9,009E - 05$$

$$u_{pAgSO_4} = \frac{9,009E - 05g}{1,98} * 100 = 4,550E - 03\%$$

- **Incertidumbre asociada al pesaje en balanza del dicromato de potasio ($u_{pK_2Cr_2O_7}$)**

$$U_{PHK} = 8,5E - 05g + (9,2E - 07g * 10,2163) = 9,440 E - 05$$

$$u_{pAgSO_4} = \frac{9,440E - 05g}{1,98} * 100 = 4,768E - 03\%$$

- **Incertidumbre asociada a la medición con probeta de 250 mL del ácido sulfúrico (u_{p250})**

La distribución asociada a la probeta de 250 mL presenta una distribución rectangular.

$$u_{p250} = \frac{0,0625 \text{ mL}}{\sqrt{12}} * 100 = 1,800\%$$

- **Incertidumbre asociada al balón de 1000 mL en la preparación de la solución digestora de rango alto ($u_{b1000sd}$)**

La distribución asociada al balón aforado de 1000 mL presenta una distribución isocelas.

$$u_{b1000sd} = \frac{0,044 \text{ mL}}{\sqrt{24}} * 100 = 0,898\%$$

- **Incertidumbre asociada al termorreactor en la digestión (u_t)**

$$u_t = \frac{1,1E + 00}{1,97} = 0,558 \%$$

- **Incertidumbre asociada a la alícuota tomada de los reactivos y muestras con transferpipeta de 5 mL para digestión (u_{t5reac})**

$$u_{t5reac} = \frac{8,8E - 03mL}{1,99} * 100 = 0,442\%$$

- **Incertidumbre asociada al espectrofotómetro UV-Vis (u_{UV-Vis})**

La distribución asociada al espectrofotómetro presenta una distribución triangular isósceles.

$$u_{UV-Vis} = \frac{0,523\%}{\sqrt{24}} = 0,107\%$$

- **Incertidumbre estándar tipo B**

$$u_B = \sqrt{0,040^2 + 4,332E - 03^2 + 0,898^2 + 0,442^2 + 1,572^2 + 1,068^2 + \sqrt{0,577^2 + 0,433^2 + 0,065^2 + 5,841E - 03^2 + 4,550E - 03^2 + \sqrt{4,768E - 03^2 + 1,800^2 + 0,898^2 + 0,558^2 + 0,442^2 + 0,107^2}} = 4,404\%$$

6.1.6.3 Incertidumbre estándar combinada

La incertidumbre estándar combinada se realizó teniendo en cuenta la ecuación 17

$$u_c = \sqrt{3,157^2 + 4,404^2} = 5,419 \%$$

El valor estimado de la incertidumbre estándar combinada para el método colorimétrico con reflujo cerrado para la cuantificación de DQO: 5,419 %

6.1.6.4 Incertidumbre expandida

$$U = 5,419 * 2 = 10,837\%$$

6.2 PROCESO DE VALIDACIÓN

El proceso de validación se realizó con una prueba de aptitud, la cual se describe a continuación (6.2.1)

6.2.1 Prueba de aptitud

Los resultados de las evaluaciones de desempeño del laboratorio para el método 5220 D-SM obtenidos por parte del Laboratorio *nsi lab solutions* y *Merck* se registraron en las tablas 42

y 43 respectivamente, de acuerdo a los reportes obtenidos por los laboratorios certificados, donde evaluaron el parámetro z-score, el cual es un criterio de calificación de prueba de aptitud reconocido internacionalmente donde cualquier puntaje $z < 3$ se considera una evaluación aceptable según el Laboratorio certificado *nsi lab solutions* y *Merck*, obteniendo así valores de z-score de 0,461 y -0,3 respectivamente; por ende las evaluaciones fueron aceptadas y el método validado.

Tabla 42. Reporte de evaluación del método estandarizado 5220 D-SM por el Laboratorio certificado *nsi lab solutions* (ANEXO A)

Analito	Descripción del método	Valor Reportado	Media del estudio	Valor Asignado	Unidades	Desviación estándar	Z-score	Evaluación
DQO	SM 5220 D 23st Ed 2017	72,9	70,0	69,6	mg/L	6,29	0,461	Aceptado

Tabla 43. Reporte de evaluación del método estandarizado 5220 D-SM por el Laboratorio certificado *Merck* (ANEXO B)

Analito	Descripción del método	Valor Reportado	Media del estudio	Valor Asignado	Unidades	Desviación estándar	Z-score	Evaluación
DQO	SM 5220 D 23st Ed 2017	128	130	130	mg/L	8,18	-0,3	Aceptado

6.3 IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO VALIDADO EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

En la Tabla 44 se registran los valores obtenidos en la estandarización de la metodología desarrollada.

Tabla 44. Valores obtenidos de la estandarización de la metodología 5220 D – SM en el Laboratorio ambiental de la CRC

Parámetros	Valor determinado
LDM	15 mg O ₂ /L
LCM	50 mg O ₂ /L
Rango lineal de trabajo	100 – 1000 mg O ₂ /L
Incertidumbre	17,212 %
Exactitud	%E < 10%
Precisión	%DER < 10%
Validación	z-score < 3

Se determinó la concentración de DQO considerando las muestras reportadas en la tabla 8 y los datos obtenidos se registraron en la tabla 45. Se tomaron muestras antes, después y el vertimiento de una salida de un sistema de tratamiento de aguas residuales (Planta de Tratamiento de Aguas Residuales-PTAR) del municipio de Piendamó, además se tomó una muestra de derivación de la Planta (ByPass) la cual no entra en el sistema de tratamiento. A las muestras mencionadas se determinaron los parámetros DQO, DBO₅, SST.

Tabla 45. Concentraciones obtenidas de DQO y parámetros asociados

Muestra	DQO (mg/LO ₂)	DBO ₅	SST
1	<100,000	<10,00	8,66
2	<100,000	0,25	4,00
3	83,200	28,40	50,00
4	370,000	104,10	276,00

Teniendo en cuenta los valores obtenidos de los parámetros DQO y DBO₅ de la muestra 4 la cual no ha pasado por un sistema de tratamiento, se determinó la biodegradabilidad de este tipo de agua residual doméstica, para ellos se empleó la relación DQO/DBO₅ dando como resultados 3,55; la evaluación de este resultado se basó en los datos registrados en la tabla 46.

Tabla 46. Relación DQO/DBO₅⁸

DQO/DBO ₅	Descripción
Baja (2,5 o 3,0)	La fracción biodegradable es alta Buena indicación para el tratamiento biológico
Intermedia (2,5-4,0)	La fracción inerte (no biodegradable) no es alta Estudios de tratabilidad para verificar la viabilidad del tratamiento biológico
Alta (3,5 o 4,0)	La fracción inerte (no biodegradable) es alta Posible indicación de tratamiento físico-químico

El valor obtenido de la relación DQO/DBO₅ se encontró en un rango alto, es decir la fracción no biodegradable es alta y por ende se puede sugerir realizar un tratamiento físico-químico; en la tabla 45 la muestra 3 si pasó por un sistema de tratamiento para aguas residuales y la relación de DQO/DBO₅ fue de 2,93; es decir que disminuyó la fracción inerte, lo cual pudo deberse a la disminución de sólidos suspendidos ya que en las etapas iniciales del proceso del sistema de tratamiento se pudieron sedimentar y/o degradar.

De acuerdo a la resolución 631 de 2015 “Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones”, Artículo 8 (Tabla 2), el valor obtenido para la variable DQO de la muestra 3 cumple con la norma dado que es menor a 180 mg O₂/L, mientras que el valor obtenido de la muestra 4 no cumple con el valor permisible ya que se obtuvo un dato de 370 mg/L.

Para las muestras 1 y 2 que corresponden a la fuente receptora antes y después del vertimiento, la DQO presentó un valor inferior al límite de cuantificación (<50 mg/LO₂) por lo cual se puede concluir que el método no es adecuado para aguas superficiales.

Teniendo en cuenta que el laboratorio cuenta con un método no normalizado para la determinación de DQO, se realizó una comparación a través de un método estadístico (prueba t) para determinar si existen diferencias significativas frente al método validado para ello se obtuvieron los valores reportados en la tabla 47.

Donde se calculó el estadístico t siguiendo la Ecuación 19:

$$t = \frac{(x_1 - x_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad \text{Ecuación 19}$$

Donde x_1 corresponde a la media del método 5220 D y x_2 a la media del método *test en cubetas*, s_1 la desviación estándar del método 5220 D y s_2 la desviación del método *test en cubetas*, n_1 el número de mediciones realizadas con el método 5220 D y n_2 el número de mediciones realizadas con el método *test en cubetas*.

Para determinar los grados de libertad se empleó la Ecuación 20:

$$\text{Grados de libertad} = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1-1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2(n_2-1)}\right)} \quad \text{Ecuación 20}$$

Donde, s_1 corresponde a la desviación estándar del método 5220 D y s_2 la desviación del método *test en cubetas*, n_1 el número de mediciones realizadas con el método 5220 D y n_2 el número de mediciones realizadas con el método *test en cubetas*.

Tabla 47. Concentraciones obtenidas de DQO por los métodos 5220 D y test en cubetas-Merck

Ítem	Concentración hallada DQO (mg O ₂ /L)		
	Método 5220 D - SM	Test en cubetas - Merck	
100 mg O ₂ /L	102,250	110,0	
	122,750	91,9	
	117,750	103,3	
	106,000	104,1	
	101,000	104,4	
	109,000	91,0	
x	109,792	100,1	
s	8,723	8,3	
t		1,97	
Grados de libertad		10	
t ₁₀		2,23	
500 mg O ₂ /L	523,250	504,0	
	516,000	537,0	
	521,000	495,0	
	511,500	525,0	
	517,750	524,0	
	522,750	489,0	
	x	518,708	512,3
	s	4,526	19,1
t		0,799	
Grados de libertad		10	
t ₁₀		2,23	

Se aplicó prueba t para comparación de dos medias experimentales. Se planteó como hipótesis nula que los dos métodos proporcionan resultados comparables, es decir $H_0 \mu_1 = \mu_2$ y como tesis alternativa H_a los dos métodos proporcionan diferentes resultados. Se calculó el estadístico $t_{10} = 2,23$ ($P = 0,05$) a un nivel de confianza del 95% de manera que el valor observado t es menor que el valor crítico t_{10} por tanto se acepta la H_0 , los dos métodos proporcionan resultados comparables.

Los métodos colorimétricos con reflujo cerrado han resultado muy prácticos en la determinación de DQO en aguas residuales debido a su confiabilidad en los resultados, poca complejidad y poco tiempo de análisis. Sin embargo esta metodología emplea oxidantes fuertes como el dicromato de potasio o el permanganato para degradar la materia orgánica, además de reactivos tóxicos como mercurio; por ello se han desarrollado metodologías respetuosas con el medio ambiente como la demanda fotoelectroquímica de oxígeno y detección por oxidación electroquímica empleando electrodos electroquímicamente activos para lograr una oxidación rápida de los compuestos orgánicos¹¹, entre los electrodos que se han desarrollado y reportado en la literatura se encuentra el sensor de nano-PbO₂ el cual ha mostrado una velocidad de respuesta rápida y una instrumentación simple para la determinación de DQO con bajo costo, alta sensibilidad de detección y amplio rango de trabajo (500-9000 mg/L)²⁶, un electrodo compuesto de Ni/ZnO/Cu exhibió un rango de detección lineal de DQO de 2,36 a 577,8 mg/L, así como un excelente coeficiente de terminación con el método clásico de dicromato de potasio ($R^2 = 0,9993$)²⁷ con alta sensibilidad, entre otros.

7 CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Se realizó la estandarización, validación e implementación de la metodología analítica para la determinación de DQO en muestras de aguas residuales domésticas mediante espectroscopía UV-Vis en el Laboratorio ambiental de la CRC, siguiendo la metodología 5220 D-SM. En el desarrollo de la estandarización, validación e implementación de la metodología analítica se obtuvieron los siguientes parámetros analíticos del método: Rango lineal de trabajo mediante curva de calibración por patrón externo: 100, 150, 200, 500, 800 y 1000 mg O₂/L de DQO, límite de detección: 15 mg O₂/L de DQO, límite de cuantificación: 50 mg O₂/L, la precisión se determinó en términos de %DER, los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad (%DER<10%), la veracidad se expresó en términos de sesgo calculando %E, los valores obtenidos cumplen con el criterio de aceptabilidad (%E<10%), la incertidumbre expandida del método 10,837%. La validación de la metodología se realizó con dos pruebas de desempeño, obteniendo como resultados de dichas evaluaciones *aceptadas*. Considerando la aceptación de la validación, se implementó la metodología en el laboratorio ambiental de la CRC a muestras de aguas residuales domésticas del Departamento del Cauca para el seguimiento y control del recurso hídrico, teniendo en cuenta la norma 631 del 2015 del Ministerio de Ambiente y desarrollo sostenible. En virtud de lo anterior se vio reflejada la importancia de contar con métodos validados para así realizar seguimiento y control del recurso hídrico, que permitan generar información técnica confiable.

Es importante que el Laboratorio Ambiental de la CRC cuente con los materiales y equipos necesarios para estandarizar y validar el método 5220 D SM en rango bajo de concentración de DQO (420 nm) el cual permitiría evaluar la calidad de las aguas superficiales. Además de implementar metodologías más amigables con el medio ambiente como la detección por oxidación electroquímica empleando sensores electroquímicamente activos para lograr una oxidación rápida y amplio rango de trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. SIAC. (s.f). *Agua*. IDEAM. Recuperado de: <http://www.ideam.gov.co/web/siac/aguaques> (Consultado: 17 agosto 2022)
2. Gestión Integral del Recurso Hídrico. (s.f). *Calidad*. MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Recuperado de: <https://www.minambiente.gov.co/gestion-integral-del-recurso-hidrico/calidad/>. (Consultado: 17 agosto 2022).
3. Gallo Corredor, J. A., Humberto Pérez, E., Figueroa, R., & Figueroa Casas, A. (2021). *Water quality of streams associated with artisanal gold mining; Suárez, Department of Cauca, Colombia. Heliyon*, 7(6). 2.
4. SIAC. (s.f). *Calidad del agua*. IDEAM. Recuperado de: <http://www.ideam.gov.co/web/siac/calidadagua> (Consultado: 17 agosto 2022)
5. Secretaría de Ambiente de Bogotá. (2020). *Conoce qué es un vertimiento y cómo se clasifica*. Recuperado de: https://ambientebogota.gov.co/archivo-de-noticias?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_col_id=column2&p_p_col_count=2&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=1400638&_101_type=content&_101_urlTitle=conoce-que-es-un-vertimiento-y-como-se-clasifica (Consultado: 17 agosto 2022)
6. Gestión Integral del Recurso Hídrico. (s.f). *Vertimientos y Reúso de Aguas Residuales*. MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Recuperado de: <https://www.minambiente.gov.co/gestion-integral-del-recurso-hidrico/vertimientos-y-reuso-de-aguas-residuales/> (Consultado: 17 agosto 2022).
7. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). *Parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y otras disposiciones*. (Resolución 631 de 2015).2.
8. Sperling, M. (2007). *Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal*. Biological Wastewater Treatment Series. Brazil. Aptara INC. 7-36
9. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca. *PTAR EL SALITRE*. Recuperado de: <https://www.rtvnoticias.com/que-es-ptar> (Consultado: 18 agosto 2022)
10. Venegas, A. (2018). *Solamente 48,2% de los municipios cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales*. LA REPÚBLICA. Rescatado de: <https://www.larepublica.co/infraestructura/solamente-48-2-de-los-municipios-cuentan-con-plantas-de-tratamiento-de-aguas-residuales-2611155> Consultado: 18 agosto 2022)
11. Geerdink, R. B., Sebastiaan van den Hurk, R., & Epema, O. J. (2017). Chemical oxygen demand: Historical perspectives and future challenges. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 961, pp. 1–11). Elsevier B.V.
12. Bendicho, C., & Lavilla, I. (2019). Water Analysis | Sewage. In *Encyclopedia of Analytical Science* (pp. 371–381). Elsevier.
13. Baird, R., Eaton, A., Rice, E., & Bridgewater, L. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington DC: American Public Health Association
14. ISO/IEC 17025:2005. (2005). *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*. ISO, Geneva.
15. Coy, G. A., Bojaca, R. & Solano, M. (2006). *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales*. IDEAM. (1-12). Colombia.

16. Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guia Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016).
17. Macdougall, D., La1, J., Crosby, D. G., Estes, F. L., Freeman, D. H., Gibbs, W. E., Gordon, G. E., Keith Manager, L. H., Phillips, W. F., Pojasek, R. B., Sievers, R. E., Wimert, D. C., Crummett, W. B., Laitinen, H. A., Amore, F. J., Reddy, M. M., Libby, R., & Taylor, J. K. (1980). Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry. ANALYTICAL CHEMISTRY. (Vol. 52). 2242-2249
18. JCGM. (2012). *Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados*. Vocabulario Internacional de Metrología. (3ª edición). España.
19. Williams, A., Ellison. S (2012). *Guía 4 Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas*. Eurachem/CITAC. (1ra Edición). España.
20. NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC-ISO/IEC 17025. (2017). *REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y CALIBRACIÓN*. Icontec Internacional. (Segunda Actualización)
21. Merck. (s.f). Patrones para ensayos de rendimiento. Rescatado de: <https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/products/analytical-chemistry/reference-materials/proficiency-testing-standards>. (Consultado: 21 Agosto 2022)
22. IDEAM. (2013). *TOMA DE MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES-BIFENILOS POLICLORADOS (PCB)*. Colombia. 1-19
23. IDEAM. (2007). *INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES*. Colombia. 1-17.
24. JCGM. (2008). *Evaluation of measurement data-Guide to the expression of uncertainty in measurement*. BIPM. (1st edition).
25. Miller, J., & Miller J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Pearson Prentice Hall. (Cuarta edición). Pág 45 - 47.
26. Wang, X., Wu, D., Yuan, D., & Wu, X. (2022). A nano-lead dioxide-composite electrochemical sensor for the determination of chemical oxygen demand. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(3).
27. Fang, Z., Chen, D., Yan, F., Lv, J., Wang, Y., & Guan, X. (2021). A Novel Ni/ZnO/Cu Composite Electrode with High Sensitivity for Detection of Chemical Oxygen Demand. *Surfaces and Interfaces*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2021.101091>

ANEXOS

Se anexan los certificados de los resultados de las pruebas de aptitud para la validación de la metodología 5220 D- SM obtenidos por los laboratorios *nsi lab solutions* y *Merck CRC* (Anexos A y B). Además, anexan como evidencias las primeras páginas de los informes entregados al Laboratorio ambiental de la CRC, los códigos de cada informe están a la espera de acuerdo al Sistema de Calidad (Anexos C, D y E).

ANEXO A. CERTIFICADO DE PRUEBA DE APTITUD OBTENIDO POR EL LABORATORIO *nsi lab solutions*

PEI-026 Demand - Corporación Autónoma del Cauca-CRC - NSI Lab Solutions/WP-283

TNI	Analyte	TNI	TNI	Method	Reported Value	Study Mean	Assigned Value	Units	Standard Deviation	Acceptance Limits	Z-Score	Evaluation	Analysis Date	Analyst's Name
1530	Biochemical oxygen demand	20027401	n/a	SM 5210 B, SM4500 OG				mg/L		22.2 to 64.1				
1565	Chemical Oxygen Demand (COD)	20142205	n/a	23th ED 2017 SM 5520 D 23st ED 2017	72.9	70.0	69.6	mg/L	6.29	50.1 to 86.3	0.461	ACCEPT.		Anily Muñoz

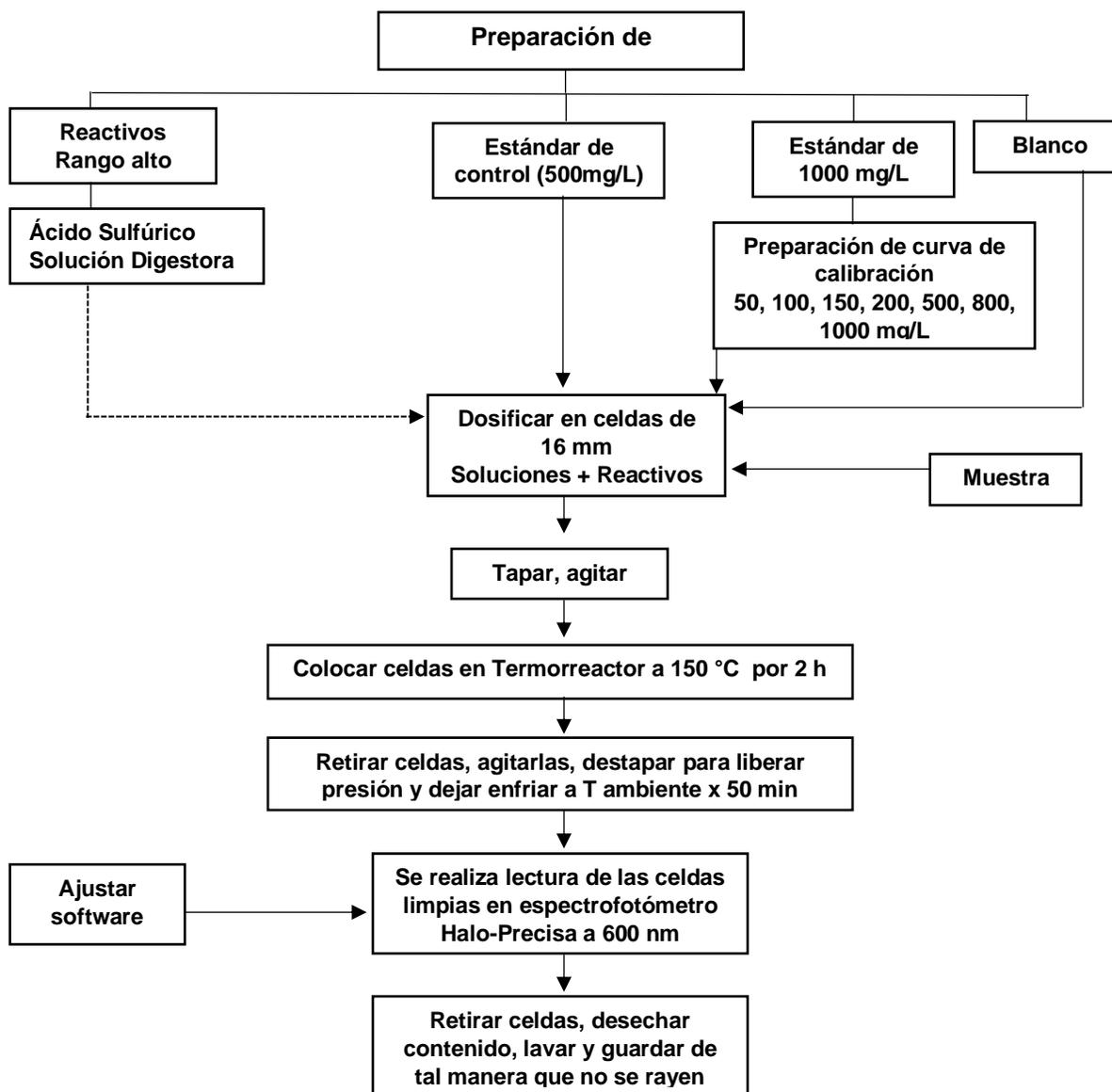
ANEXO B. CERTIFICADO DE PRUEBA DE APTITUD OBTENIDO POR EL LABORATORIO *Merck*

SM5220D				
Demands				
Chemical oxygen demand (COD) ² 1565	128 mg/L	130 mg/L	106 - 155 mg/L	-0.3 Acceptable
Evaluation Criteria - 5* Parameters*: deviations:3				
Group Analysis Summary	Acceptable: 1/1		Score: 100% - Acceptable	

ANEXO C. PROTOCOLO DE LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

	CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL CAUCA LABORATORIO AMBIENTAL	Código: Fecha: 14/02/2022 Versión: 6 Página 63 de 75
	PROTOCOLO ANÁLISIS DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO EN AGUAS (DQO)	

DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO DIAGRAMA DE FLUJO



ANEXO D. INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL ESPECTROFOTÓMETRO UV-Vis PRECISA-HALO RB-10 PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

	<p>CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL CAUCA LABORATORIO AMBIENTAL</p> <p>INSTRUCTIVO DE MANEJO DEL ESPECTROFOTÓMETRO UV-Vis Precisa HALO RB-10 PARA LA DETERMINACIÓN DE DQO</p>	<p>Código: Fecha: 14/12/2022 Versión: 1 Página 64 de 75</p>
---	---	---

1. OBJETIVO

Disponer de un procedimiento para la operación adecuada del espectrofotómetro UV-Vis Precisa-HALO RB 10 para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)

2. ALCANCE

Aplica al espectrofotómetro UV-VIS Precisa HALO RB-10.

3. DEFINICIONES

3.1 Espectrofotómetro: Instrumento empleado para medir la cantidad de luz absorbida por una sustancia en solución y compara intensidades espectrales con respecto a una longitud de onda.

4. REPOSABILIDAD

Analista: Operación del espectrofotómetro UV-Vis

5. CONTENIDO

5.1 Conectar computador, espectrofotómetro UV-Vis a la corriente eléctrica y encenderlos.

5.2 Conectar memoria USB al computador, la cual funciona como adaptador para abrir el software “**UV Detective Special**” del espectrofotómetro al computador.

5.3 Abrir el software **UV Detective Special**  en el computador. El software identificará automáticamente los “**Instrumentos conectados**” **COM 3**, “**Número de serie**” **1192503**, “**Versión ROM**” **21**, “**Sin Accesorios**” y se debe seleccionar el “**Modelo del Instrumento**” **RB-10** y **marcar** la casilla “**Inicialización**”, posteriormente hacer clic en **Conectar**.

ANEXO E. INFORME DE CONFIRMACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE DQO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS SIGUIENDO LA METODOLOGÍA EXPUESTA EN 5220 D-SM

	<p>CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL CAUCA LABORATORIO AMBIENTAL</p> <p>INFORME DE CONFIRMACIÓN DE DQO EN AGUAS</p>	<p>Código: Fecha: 14/12/2022 Versión: 1 Página 65 de 75</p>
---	--	---

1. OBJETIVOS

Determinar los parámetros analíticos de calidad como límite de detección, límite mínimo de reporte, precisión, exactitud e incertidumbre para establecerlos como criterios de confianza del método analítico y analizar los valores obtenidos para la confirmación.

2. ALCANCE

Aplica al método para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas *SM 5220 D, Ed.23*, teniendo en cuenta la guía interna del Laboratorio ambiental de la CRC GU-PDPA-LA097 para la confirmación de metodologías.

El método considera un rango de trabajo amplio; ya que, los reactivos utilizados para la determinación de la DQO, manejan un margen de dosificación que depende del grado de contaminación del agua a analizar; en este caso se realizará la confirmación para rango alto de trabajo 100-1000 mg O₂/L a una longitud de onda de 600 nm.

3. CALCULOS Y RESULTADOS

Se determinaron parámetros analíticos como rango lineal de trabajo, límite de detección y cuantificación, precisión, exactitud e incertidumbre siguiendo la guía interna GU-PDPA-LA097 para la confirmación de metodologías.

3.1 Rango lineal de trabajo

Se evaluaron diferentes niveles de concentración, para ello se preparó una solución de 850 mg PHK/L con DQO teórica de 1000 mg O₂/L a partir de esta solución se prepararon las soluciones con DQO esperadas de 100, 150, 200, 500, 800, 1000 mg O₂/L para la curva de calibración. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante el coeficiente de determinación, teniendo en cuenta que la respuesta debe ser $\geq 0,995$, además se verificaron los % error (%D) de cada punto de la curva, los valores aceptados deben ser menores al 10%.

En la tabla 1 se registraron los valores obtenidos de absorbancia para cada punto de concentración, así como en la figura 1 se encuentra la curva de calibración con la ecuación de la curva y el coeficiente de determinación obtenidos.