

APORTES ANALÍTICOS AL ESTUDIO DE AGUAS RESIDUALES Y POTABLES

Aplicaciones en el Valle del Cauca

Compilador

Jorge Enrique Castillo Ayala

APORTES ANALÍTICOS AL ESTUDIO DE AGUAS RESIDUALES Y POTABLES

Aplicaciones en el Valle del Cauca

Compilador

Jorge Enrique Castillo Ayala



Castillo Ayala, Jorge Enrique

Aportes analíticos al estudio de aguas residuales y potables / Jorge

Enrique Castillo Ayala.-- Editor, Edward Javier Ordóñez. -- Cali :

Universidad Santiago de Cali, 2020.

194 páginas : ilustraciones, fotografías ; cm.

1. Métodos analíticos – Parámetros 2. Biodegradabilidad -- Aguas residuales

3. Contenido de metales en el agua 4. Espectroscopia -- Métodos de análisis

5. Calidad del agua I. Ordóñez, Edward Javier, editor II. Tít.

628.162 cd 22 ed.

A1648614

CEP-Banco de la República-Biblioteca Luis Ángel



APORTES ANALÍTICOS AL ESTUDIO DE AGUAS RESIDUALES Y POTABLES

© Universidad Santiago de Cali.

© **Autores:** Jorge Enrique Castillo Ayala, Alejandra Pineda Quintero, Sandra Patricia Castro Narváez, Carol Stephania Martán Rodríguez, Diana Nazaritt Escobar, Natalia Andrea Valencia Velandia, Jhon Jairo Rios Acevedo, Carolina Castillo Suárez, Jhonny Randall Manzano Lozano, Guillermo Garzón García, Diana Marcela Burbano Banguero, Jorge

Humberto Carabali Yepes, Lizbeth Lorena López Parra, Rafael Jiménez Ortiz

1a. Edición 100 ejemplares

Cali, Colombia - 2020

ISBN: 978-958-5583-20-7

ISBN (Libro digital): 978-958-5583-21-4

Fondo Editorial

University Press Team

Carlos Andrés Pérez Galindo

Rector

Rosa del Pilar Cogua Romero

Directora General de Investigaciones

Edward Javier Ordóñez

Editor en Jefe

Comité Editorial

Editorial Board

Rosa del Pilar Cogua Romero

Doris Lilia Andrade Agudelo

Edward Javier Ordóñez

Luisa María Nieto Ramírez

Sergio Molina Hincapie

Alejandro Botero Carvajal

Sergio Antonio Mora Moreno

Francisco David Moya Cháves

Proceso de arbitraje doble ciego:

“Double blind” peer-review

Recepción/Submission:

Febrero (February) de 2019

Evaluación de contenidos/Peer-review

outcome:

Abril (April) de 2019

Correcciones de autor/Improved version submission:

Mayo (May) de 2019

Aprobación/Acceptance:

Agosto (August) de 2019

Diseño y diagramación:

Jeimy Daniela Patiño Mejía

Universidad Santiago de Cali

Tel. 373 45 49 - Ext. 9131

Cel. 313 721 81 87

Impresión:

Samava Ediciones E.U.

Tel. (2) 8235737

Distribución y Comercialización:

Universidad Santiago de Cali

Publicaciones

Calle 5 No. 62 - 00

Tel: 518 3000, Ext. 323 - 324 - 414



CONTENIDO

Introducción	7
---------------------	---

Capítulo I

Conceptos básicos de validación de métodos analíticos	9
--------------------------------------------------------------	---

1.1. Validación	12
1.2. Tipos de validación	13
1.3. ¿Por qué validar?	14
1.4. Parámetros de validación de métodos analíticos	15
1.5. Referencias	23

Capítulo II

Contenido de materia orgánica y biodegradabilidad en aguas residuales: aportes desde la validación de los métodos analíticos demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno	27
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

2.1. Introducción	31
2.2. Metodología	35
2.3. Discusión de resultados	38
2.4. Conclusión	57
2.5. Referencias	59

Capítulo III

Cuantificación de metales pesados (plomo y cadmio) en agua, por Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito	63
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

3.1. Introducción	67
3.2. Metodología	71
3.3. Discusión de resultados	74
3.4. Conclusión	85
3.5. Bibliografía	87

Capítulo IV

Validación del método de análisis (4500 NO₃⁻B) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta _____ 89

4.1. Introducción _____ 93

4.2. Metodología _____ 94

4.3. Resultados y discusión _____ 98

4.4. Conclusiones _____ 120

4.5. Referencias _____ 123

Capítulo V

Análisis fisicoquímicos en la implementación del proceso de potabilización y control de calidad de agua de pozo _____ 125

5.1. Introducción _____ 129

5.2. Generalidades del tratamiento de aguas _____ 135

5.3. Resultados y discusión _____ 140

5.4. Conclusiones _____ 145

5.5. Referencias _____ 147

Capítulo VI

Seguimiento fisicoquímico de la calidad de agua de una laguna facultativa de un ingenio azucarero respecto al suministro de nutrientes al sistema microbiano _____ 151

6.1. Introducción _____ 155

6.2. Funcionamiento de las lagunas anaerobias _____ 156

6.3. Metodología del muestreo _____ 158

6.4. Resultados y análisis _____ 160

6.5. Conclusiones _____ 175

6.6. Referencias _____ 177

APENDÍCE _____ 181

ACERCA DE LOS AUTORES _____ 185

PARES EVALUADORES _____ 191

INTRODUCCIÓN

Reconocer que el agua es la principal sustancia para el sostenimiento de la vida y que su deterioro es fuente de gran cantidad de enfermedades humanas, no es reciente; desde la antigüedad, una de las preocupaciones mayores del ser humano ha sido la creación de suministros de agua adecuados, higiénicos y seguros.

La concientización de la importancia del agua en la supervivencia del ser humano ha generado gran atención al cumplimiento de estándares de calidad que garanticen su consumo. Ante ello, se han creado métodos de potabilización que permiten tratar el agua proveniente de las fuentes superficiales o subterráneas, así como, la implementación de métodos analíticos apropiados con los cuales se puedan evaluar los parámetros fisicoquímicos como color, turbiedad, sabor, olor, nitratos, iones metálicos peligrosos, dureza, sólidos totales y de una amplia variedad de químicos orgánicos tales como pesticidas, solventes clorados, además de los parámetros microbiológicos que indican si el agua es apta para el consumo humano.

El aumento de la población y las actividades asociadas a su actuación sobre los recursos producen contaminación en las fuentes hídricas; así, con los asentamientos poblacionales en las áreas urbanas y por consideraciones de salud pública se construyeron sistemas de drenaje o alcantarillado para llevar los residuos a sitios alejados de la población siendo el depósito final casi siempre las corrientes de agua más cercanas “quebradas o ríos”. Aunque los receptores de aguas poseen capacidad de asimilación de los residuos, el depósito indiscriminado de éstos sobrepasa los posibles ciclos de biotransformación, y de manera adversa crea condiciones nocivas para la salud de la población. En el sentido de mitigar el impacto de las aguas residuales se ha progresado tanto en técnicas de tratamiento como en técnicas de análisis.

Las aguas potables y residuales del departamento del Valle del Cauca y del norte del departamento del Cauca han sido objeto de estudio en “Aportes analíticos al estudio de aguas residuales y potables”, producto de alcances investigativos realizados por integrantes del Grupo de Investigación en Electroquímica y Medio Ambiente

(GIEMA) de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.

En el Capítulo I se presentan las definiciones más importantes en los procesos de validación de métodos analíticos; en el Capítulo II el lector podrá acceder a la validación de la demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno para la determinación del contenido de materia orgánica y biodegradabilidad en aguas residuales de un ingenio azucarero del centro del Valle del Cauca. El Capítulo III contribuye a la evaluación de metales pesados (plomo y cadmio) en agua cruda y potable por espectroscopia de absorción atómica con horno de grafito del acueducto del municipio de Cerrito. El Capítulo IV muestra la validación del método de análisis ($4500 \text{ NO}_3^- \text{ B}$) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable del corregimiento Paso, de la bolsa del municipio de Jamundí, mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta y finalmente los capítulos V y VI hacen énfasis en la importancia de la medición de los parámetros fisicoquímicos en el proceso de potabilización y control de calidad de agua de pozo del Paraíso (Santander de Quilichao) utilizada en una planta de tratamiento de agua y en el seguimiento del crecimiento microbiano en una laguna facultativa de un ingenio azucarero del Valle del Cauca.

Capítulo I

Conceptos básicos de validación de métodos analíticos

Sandra Patricia Castro Narváez
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-2023-8935

Jorge Castillo Ayala
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-4320-0761

Alejandra Pineda Quintero
Universidad Santiago de Cali
0000-0003-2725-1697

Capítulo I:

Conceptos básicos de validación de métodos analíticos

Sandra Patricia Castro Narváez
Jorge Castillo Ayala
Alejandra Pineda Quintero

Resumen: *Se presenta un acercamiento de los métodos de validación, los parámetros que se estiman en la misma y las posibles aplicaciones que representan para un laboratorio.*

Palabras clave: Precisión, exactitud, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación.

Abstract: *an overview of the validation methods, the parameters estimated in it and the possible applications they represent for a laboratory are presented.*

Keywords: Precision, accuracy, linearity, limited detection, limited quantification.

1.1. Validación

La introducción de estándares de calidad, ha permitido que exista un mayor compromiso por parte de las empresas públicas y privadas hacia un manejo adecuado tanto de la documentación como de la selección y validación de métodos de análisis. Estos últimos, pueden ser logrados a partir de métodos estándar emitidos por instituciones acreditadoras o con lineamientos nacionales y/o internacionales que conllevan a la normalización, o pueden ser resultado de métodos modificados o métodos propios del laboratorio.

La validación es respuesta a un proceso experimental en el cual se establece un protocolo normalizado o no, en el cual un laboratorio evalúa la conveniencia de la respuesta analítica para el cumplimiento o no de los requerimientos metodológicos para la realización de una medición confiable y sensible de un analito [1].

Las validaciones son consideradas como métodos de decisión que mediante estudios estadísticos permiten establecer la aceptación o el rechazo de datos. Por lo general, las validaciones dan aportes desde la recopilación de la mayor cantidad de información histórica realizada en un laboratorio (validación retrospectiva) en condiciones idénticas o en la propuesta de un método para las necesidades que proyecta futuras mediciones (validación prospectiva). En el caso que se siga un protocolo establecido por una entidad de control se le denomina validación de verificación, suele estar acompañado de ensayos que corroboran con patrones previamente determinados e incluso permite establecer los alcances del método con respecto a otros laboratorios (pruebas interlaboratorio) [2].

En el proceso de validación se determinan parámetros de desempeño de los equipos dentro de un rango de especificaciones acorde a las necesidades y a las pruebas de ensayo; se debe establecer que los mismos funcionan correctamente y que sus respuestas están asociadas a errores aleatorios y no sistémicos, para ello es garantía tener equipos calibrados y finalmente contar con personal competente y calificado en la ejecución de las pruebas [3].

El diseño experimental que sustenta la confianza del método a validar debe tener en cuenta: el tipo de muestra que se analiza,

posibilidades de interferentes en la misma para una analito en particular, los parámetros a tratar en caso de ser un nuevo método, la cantidad de análisis que deben ser representativos y acordes a la exigencia y dificultad que demande el análisis, la cantidad de analistas que corroborarían la repetibilidad entre ellos, los insumos de materiales que suelen estar asociados a las exigencias de la prueba, la documentación para la trazabilidad de los ensayos y finalmente la generación de un informe de validación que debe ser revisado y aprobado por una persona diferente a la encargada del procedimiento de validación [4].

Entre las aplicaciones que se tienen de la validación se pueden citar el control de los datos que sirven para el diseño y control de calidad en el seguimiento de variables en diferentes procesos, por ejemplo cumplimiento de normas ISO/IEC 17025, ISO 15189, ISO 14000, etc. De igual manera, contribuye en el conocimiento más explícito de las características y capacidades que se tienen del método para la toma de correctivos que estén asociadas con sus limitaciones o sus potencialidades. Finalmente, un método validado estima con confianza la incertidumbre de la medición y lo contrarresta con estimadores estadísticos para establecer su significancia [5].

1.2. Tipos de validación

1.2.1. Validación prospectiva

Se realiza cuando la verificación del cumplimiento de las condiciones establecidas para un proceso o método analítico, se lleva a cabo antes de la comercialización del producto. Este tipo de validación se aplica cuando se elabora un nuevo método analítico. Es típico en los laboratorios de investigación y desarrollo, y se realiza de acuerdo con un producto [6].

1.2.2. Validación retrospectiva

Se realiza cuando la idoneidad del proceso o método analítico, se basa en la garantía constatada a través de los datos analíticos del producto ya comercializado. Se aplica a métodos no validados previamente y de los que tiene una amplia historia de resultados. Este tipo de validación se aplica para métodos como por ejemplo: cromatografía líquida, métodos espectrofotométricos y de volumetría [7].

1.1.3. Revalidación

La introducción de un cambio que pueda alterar la idoneidad del método analítico establecido por la validación, podrá exigir una nueva, es decir, una revalidación total o parcial de dicho método analítico [8]. Los criterios a estudiar se deciden en función del tiempo de cambio efectuado.

Entre los motivos que exigen una nueva validación están:

- Cambios importantes en la matriz del producto
- Cambios importantes en el método analítico
- Cambios en las especificaciones.

1.3. ¿Por qué validar?

El impacto de las validaciones es innumerable, dada la certeza de las mediciones o metodologías o procesos que propone. Cada día se realizan millones de pruebas en diferentes laboratorios de todo el mundo que portan el distintivo de haber sido validadas, y son de fácil entendimiento dada la cercanía asociada a los datos que producen. La validación está asociada con incontables aplicaciones tales como la valoración de formulaciones farmacéuticos [9], apoyo a la salud [10, 11], controles ambientales [12,14], alimentos [15], composición de materiales [16], análisis forense[17] entre otros, que requieren estar avalados por metodologías analíticas con compromiso importante de los resultados para la toma de decisiones.

La validación de un método analítico, garantiza la calidad del producto objeto de estudio, y es necesario porque:

- Proporciona un alto grado de confianza, seguridad en el método analítico y en la calidad de los resultados.
- Permite un conocimiento profundo del método, así como de sus características de funcionamiento. Este conocimiento proporciona seguridad en el método analítico que ha sido validado, el cual se traduce en la disminución del número de fallas, repeticiones, y por consiguiente ahorro de costos asociados, para dar cumplimiento con los plazos previsto de análisis.

- Las validaciones permiten establecer rendimiento de los métodos, estiman incertidumbres que fomenta la mejora continua de los procesos en una empresa.

Dependiendo de los propósitos asociados con la validación, se pueden encontrar muchas propuestas que apoyan la normalización de los análisis realizados. Ejemplo de ello: en algunas industrias se requiere determinar un ingrediente valioso, o indispensable en un producto que permita establecer si cumple especificaciones propias o de organismos reguladores [18]. En otras iniciativas, se establece si hay alguna sustancia que su presencia desestime la calidad de un producto o fuentes naturales, tales como la contaminación debida por un agente químico [19].

Los procesos de validación se adquieren gran relevancia y aplicación cuando la prueba hace parte del estudio de muchas muestras, para nuevas metodologías analíticas producto de investigaciones que serán implementadas en un sistema innovador, para la revisión permanente de los controles de calidad en los procesos de fabricación de muchos artículos, en diferentes referencias pero con similitud de calidades referidas, realizar mediciones de interlaboratorio de tal manera que los métodos sean reproducibles cuando son analizados por diferentes analistas, equipos, días, condiciones ambientales, etc. [20].

1.4. Parámetros de validación de métodos analíticos

La principal herramienta de los métodos de validación son las teorías estadísticas. En el caso de análisis de muestras químicas la quimiometría, entendida como la disciplina de la química que utiliza las matemáticas, la estadística y métodos lógicos para seleccionar, proponer y/o evaluar procedimientos y experimentos que tienen inmersos estudios con compuestos químicos [21-23].

En la validación es preciso seleccionar el método analítico que permita establecer una respuesta entre las concentraciones del analito con respecto a una señal (ejemplo señal óptica, acústica, electroquímica, física, etc.). De igual manera, es ineludible valorar la pertinencia de la señal con respecto a parámetros que influyen en su determinación como temperatura, conductividad, pH, tiempo, etc. [24]. Las características de desempeño del método analítico se expresan en función de los siguientes parámetros:

1.4.1. Sensibilidad y selectividad

La sensibilidad de un método está asociada a la relación que puede medir el método entre la variable dependiente con respecto a la independiente; en términos de la curva de calibración se describe como la pendiente. Pendientes altas implican una mejor respuesta analítica para una cantidad de sustancia.

La selectividad está asociada con la capacidad que tiene el método para cuantificar o cualificar un analito en presencia de interferentes que trae la muestra (de matriz) o de insumos suministrados al método de análisis. Las pruebas de selectividad generalmente están asociadas en la comparación de las pendientes obtenidas de las curvas de calibración normal con las curvas de adición estándar, en esta última se adiciona en cada estándar una cantidad exacta de la muestra para que los aportes dados por la matriz sean corregidos.

En otras ocasiones se adicionan diferentes analitos con características similares con objeto de análisis y con el fin de establecer la capacidad que tiene el método y el equipo para resolver la señal de manera independiente. Para ello se realiza un protocolo básico de análisis de blanco, muestra y muestra dopada con estándar del analito y con estándares de posibles interferentes. Si se encuentran diferencias significativas deberán ser identificadas y en lo posible eliminadas.

1.4.2. Linealidad

Es la capacidad de un ensayo para proporcionar resultados que se correlacionan directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) ajustadas a la concentración de analito en la muestra dentro de un rango establecido. Se determina a partir de la construcción de curvas de calibración, sean de índole normal o por adición estándar. Los parámetros de calidad que evalúan la linealidad son: desviación estándar de la regresión, coeficiente de correlación, coeficiente de determinación [25].

La prueba t de Student de dos colas evalúa la correlación entre la variable dependiente y la independiente asumiendo un valor máximo de uno (1), que equivaldría al 100% de la correlación. El valor de t calculado se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$t_{Calc} = \frac{|r| \cdot \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Donde:

r es el coeficiente de correlación

n es el número de datos utilizados en la curva de calibrado.

La prueba t se compara con valores establecidos (t_{crit}) para diferentes grados de confianza, en metodologías normalizadas se espera que el grado de significancia no sea inferior al 95%. Se parte de dos hipótesis: H_0 o hipótesis nula en la cual se estima que no existe correlación entre las dos variables (dependiente e independiente) y una hipótesis alterna H_1 , en la cual si existen correlación. Si, el valor del t_{calc} es mayor que el valor del t_{crit} por lo tanto se acepta la H_1 . [26]

1.4.3. Precisión

La precisión corresponde al grado de concordancia entre una serie de mediciones analíticas obtenidas en igualdad de condiciones a partir de una misma muestra representativa o de referencia. La precisión mide el error aleatorio o indeterminado de un análisis. Los parámetros de calidad de la precisión son la desviación estándar absoluta, la desviación estándar relativa, la desviación estándar relativa de la media, el coeficiente de variación y la varianza. Dentro de los criterios de precisión se resaltan aquellas obtenidas por la repetibilidad, asociada con la variación de las medidas realizadas en un mismo día y la reproducibilidad de aquellas que se realizan en días diferentes [27]. La expresión matemática que representa la variabilidad depende de la suma de las dos varianzas:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$$

$$S_L^2 = \frac{s_R^2 - s_b^2}{-\bar{n}}$$

Dónde:

S_L^2 : Estimado de la varianza entre laboratorios, o también, se puede expresar como la varianza sistemática.

S^2_w : Varianza intralaboratorio, (varianza “dentro de” analistas).

S^2_r : Media aritmética de S^2_w y es el estimado de la varianza de repetibilidad, (varianza “entre” analistas) estima si existen errores típicos o por aleatoriedad.

S^2_R : Estimado de la varianza por reproducibilidad, que es la suma de las varianzas dentro S^2_w y entre S^2_L analistas.

La deducción matemática que se presenta a continuación establece la contribución de los errores posibles.

$$\begin{aligned}
 S_R^2 &= S_r^2 + S_L^2 \\
 S_b^2 &= S_r^2 + \bar{n}S_L^2 \\
 S_r^2 &= S_b^2 - \bar{n}S_L^2 \\
 S_R^2 &= (S_b^2 - \bar{n}S_L^2) + S_L^2 \\
 \text{Ahora;} \\
 (S_R^2 - S_b^2) &= -\bar{n} \cdot (S_L^2) \\
 S_L^2 &= \frac{(S_R^2 - S_b^2)}{-\bar{n}}
 \end{aligned}$$

Donde \bar{n} , es el promedio de n mediciones realizadas entre grupos y S^2_b es la varianza de la pendiente.

1.4.4. *Exactitud*

La exactitud expresa la proximidad o el grado de identidad entre el valor analítico obtenido por una metodología con respecto a la medida, que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimentalmente encontrado. *La exactitud* garantiza la ausencia de errores sistemáticos. La exactitud se expresa como porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito, añadida sobre la muestra o como la diferencia entre la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza [28]. Experimentalmente se obtiene

agregando una cantidad conocida de un estándar de referencia a una muestra conocida y comparar los resultados con respecto al valor recuperado con las mediciones analíticas.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\bar{x}}{\mu} \times 100$$

$$\text{Diferencia o sesgo} = \bar{x} - \mu$$

Rango e intervalo de concentración útil

El intervalo de concentración útil de un método analítico es el que se comprende entre la concentración más pequeña con la que pueden realizarse medidas cuantitativas (límite de cuantificación) hasta la concentración a la que la curva de calibrado se desvía de la linealidad (límite de respuesta lineal), como lo muestra la siguiente Figura:

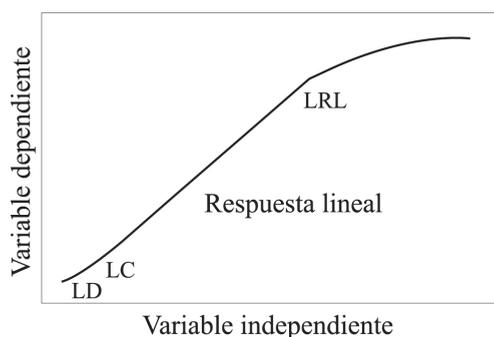


Figura 1.1. Esquema del intervalo lineal

LC: Límite cuantificación

LD. Límite Detección

LRL. Límite Respuesta lineal

Fuente: Elaboración propia

1.4.5. Límite de detección

Existen varias formas de establecer el límite de detección, algunas asociadas con la desviación del blanco y otras relacionadas con las curvas de calibración. Pero en general, este parámetro está asociado con la cantidad mínima que da señal sobre la existencia del analito en la muestra, este valor no necesariamente debe ser cuantificable [22].

La siguiente ecuación establece que el límite de detección corresponde a tres veces la desviación estándar del blanco, S_b , con respecto a la señal del mismo (b).

$$LD: k \frac{S_b}{b} \quad k = 3$$

Determinada a partir de la curva de calibración se tiene:

$$LD = \frac{p + 3q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

Donde p es la señal de la variable dependiente para el blanco y n el número de repeticiones de la medición.

1.4.6. Límite de cuantificación

Es la mínima cantidad de analito en la muestra que se puede cuantificar bajo las condiciones experimentales, se obtiene de los resultados de la curva de calibración. A nivel estadístico se considera que está asociada con diez veces la relación de la desviación estándar de la señal del blanco [4]. De manera análoga al límite de detección se tiene:

$$LC: k \frac{S_b}{b} \quad k = 10$$

Entonces, desde la curva de calibración:

$$LC = \frac{p + 10q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

1.4.7. Cartas de Control

Se puede definir una carta de control como un método gráfico para evaluar si un proceso está o no en un estado de control estadístico, es decir, cuando solo actúan causas comunes o aleatorias, inherentes a cualquier proceso que pueden reflejar la existencia o no de tendencias dependientes del tiempo [21, 23, 29].

Como lo muestra la Figura 1.2, la carta de control consiste en una línea central (en este caso el promedio de los datos obtenidos) y cuatro pares de líneas límites espaciadas por encima y por debajo de la línea central. Un par se denomina límite de aviso superior (L.A.S) y límite de aviso inferior (L.A.I); y el otro par, límite de control superior (L.C.S) y límite de control inferior (L.C.I); se determina de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} \text{L.A.S: } & X + 2s; 95\% & \text{L.A.I: } & X - 2s; 95\% \\ \text{L.C.S: } & X + 3s; 95\% & \text{L.C.I: } & X - 3s; 95\% \end{aligned}$$

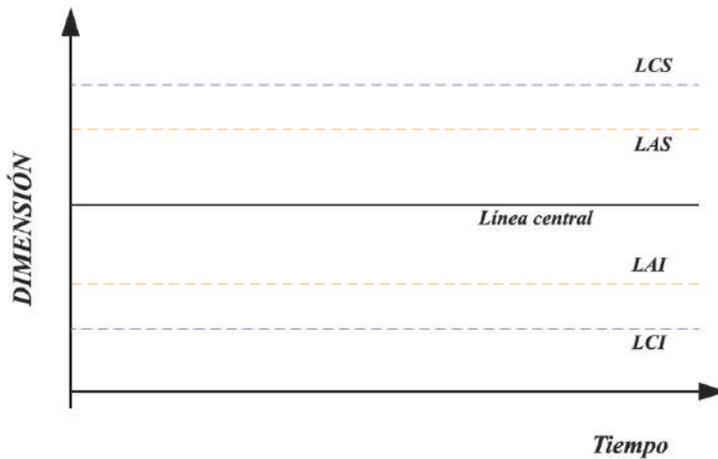


Figura 1.2. Carta de Control Típica
Fuente: Elaboración propia

1.5. Referencias

[1]. Di-Zio, M. et al. *Methodology for data validation* 1.0. Essnet Validat Foundation. 2016.

https://ec.europa.eu/eurostat/cros/system/files/methodology_for_data_validation_v1.0_rev-2016-06_final.pdf

[2]. Taverniers, I., De Loose, M., Van-Bockstaele, E. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, 23, 8.

[3]. Chan, Ch., Lam, H., Lee, Y., Zhang, X-M. ED. Analytical method validation and instrument performance verification. Wiley & Sons, Inc. New Jersey. 2004. pp 1-84.

[4]. Ravisankar, P., Navya, Ch-N., Pravallika, D., Navya-Sri, D. 2015. A Review on Step-by-Step Analytical Method Validation. *Journal of Pharmacy*. 5, 10, 7-19

[5]. Magnusson, B., Ornemark, U. ED. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2 ed. 2014. 69p.

[6]. Giraldo, G. 1999. Validación de métodos analíticos de laboratorio. *Revista Departamento de Ciencias*. Universidad nacional de Colombia, Sede Manizales.

<http://bdigital.unal.edu.co/51131/1/validaciondemetodosanaliticosde laboratorio.pdf>

[7]. Ríos, J.J, Kayali, M., Polo, L-M., 2013. A New SPME Thermal Desorption Interface for HPLC. *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, 3, 219-226.

[8]. Vinagre, J. Calidad de métodos analíticos. Capítulo 13, En: *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Chile. 1997. pp. 137-146.

<http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/010/ah833s/AH833S07.pdf>

[9]. Garzón, G., Popayán, M. 2008. Estandarización de un método analítico por cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de carbamazepina en tabletas. *El Hombre y la Máquina*. 30. 130-137.

<file:///C:/Users/Santiagomontes/Downloads/Articulo11HM-30.pdf>

[10]. González, B., et al. 2009. Validación y verificación de métodos de laboratorio aplicados al Banco de Sangre. *Rev Mex Med Tran*, 2, 1, 20-29.

<https://www.medigraphic.com/pdfs/transfusional/mt-2009/mt091d.pdf>

[11]. Manual Acuático de la OIE. 2012. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas.

http://www.oie.int/esp/normes/fmanual/1.1.02_VALIDATION.pdf

[12]. Burgos, C., Estrada, P. 2016. Validación de un método analítico para la determinación de aluminio residual en agua potable mediante espectrofotometría visible. *Revista Nova*, 2, 56-65.

[13]. Vitale, F., Worsøe, L., Chonchúir, G. Handbook of fish age estimation protocols and validation methods. International Council for the Exploration of the Sea. Copenhagen. 2019. 181 p

[14]. Parshionikar, S., et al. Method Validation of U.S. Environmental Protection Agency (EPA) Microbiological Methods of Analysis. *EPA*, 2016, 78p

[15]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Taller subregional sobre aseguramiento de calidad y validación de metodología para análisis químicos. Bogotá. 2005. 85p.

http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/rla3013/pdf/metodo.pdf

[16]. Ferreira, J. Parts Life Cycle Activities on Automotive Industry. The 4th International Federation of Automatic Control Conference on Management and Control of Production and Logistics, Sibiu – Romania. 2007. 471-474.

- [17]. Oficina de las Naciones Unidas contra la droga y el Delito. 2010. Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. New York. 2010. pp 1-76.
https://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Manual_STNAR41_Ebook_S.pdf
- [18]. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary. 1994.
- [19]. Guía EURACHEM. Analíticos Adecuados a su Propósito Centro Nacional de Metrología. Métodos. 1998. 69p.
http://cmap.upb.edu.co/rid=1SR8GPHG4-27FVCZV-15M/_Eurachem-Guia-Validacion-CNM-MRD-030-2da-Ed.pdf
- [20]. Gunzler, H., Williams A. *Handbook of Analytical Techniques*. Wiley-VCH.. Weinheim, Alemania, 2001. pp 23-36
- [21]. Gunzler, H., Williams A. *Handbook of Analytical Techniques*. Wiley-VCH.. Weinheim, Alemania, 2001. pp 37-61.
- [22]. Miller, J., Miller, J. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4 ed. . Madrid: Pearson Education S.A. 2002. 296p.
- [23]. Dimitrov, D-M. *Statistical Methods for Validation of Assessment Scale Data in Counseling and Related Fields*. Alexandria: American Counseling Association. 2012. pp 69-142.
- [24]. Eurolab España. Morillas P.P., et al. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. 1 ed. 2016. 66p.
https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- [25]. 20. SERNAPESCA. Manual de Inocuidad y Certificación. Guía de Validación de Métodos Analíticos. 2018. 74p.
http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/f59_guia_de_validaciones_de_metodos_analiticos_08.02.18.pdf

[26]. Mcpolin, O. Validation of analytical methods for pharmaceutical analysis. Northern Ireland: Mourne Training Service. 2009. 141p.

[27]. Ministerio de Salud y Protección Social - Colombia. Lineamientos Técnicos para la Estandarización y Validación de Métodos de Ensayo. 2014. 54p.
<http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Publicaciones/2015/Lineamiento%20montaje%20estandarizacion%20y%20validacion.pdf>

[28]. Ministerio de Agricultura - Chile. Implementación del Sistema para la Validación de los Métodos de Análisis y Mediciones de Laboratorio en Suelos y Lodos. 2007. 22p.
https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/GUIA_VALIDACION_LABORATORIOS.pdf

[29]. Thompson, M., Ellison, S., Wood, R. IUPAC Technical Report. 2002. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. *Pure Appl. Chem.*, 74, 5, 835–855.

Capítulo II

Contenido de materia orgánica y biodegradabilidad en aguas residuales: aportes desde la validación de los métodos analíticos demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno

.....

Sandra Patricia Castro Narváez
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-2023-8935

Alejandra Pineda Quintero
Universidad Santiago de Cali
0000-0003-2725-1697

Carol Stephania Martán Rodríguez
Universidad Santiago de Cali
0000-0003-4254-0729

Diana Nazaritt Escobar
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-9105-5191

Natalia Andrea Valencia Velandia
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-5798-6171

Capítulo II

Contenido de materia orgánica y biodegradabilidad en aguas residuales: aportes desde la validación de los métodos analíticos demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno

Sandra Patricia Castro Narváez
Alejandra Pineda Quintero
Carol Stephania Martán Rodríguez
Diana Nazaritt Escobar
Natalia Andrea Valencia Velandia

Resumen. *Se realizó la validación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). En la primera se utilizó estándar de ftalato ácido de potasio y un método de detección espectrofotométrico y para la segunda, se implementó la lectura de muestras por electrodo de membrana, una solución estándar de glucosa-ácido glutámico e incubación por cinco días a $20\pm 1^\circ\text{C}$. Se determinaron parámetros como linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad, límite de detección y cuantificación. Se demostró mediante el diseño experimental y los procedimientos estadísticos que se pueden emplear los métodos con sensibilidad y confianza. Se alcanzaron límites de detección y cuantificación de 46.2 y 100 mg/L para DQO y 2.78 y 4.71 mg/L para DBO. En ambas pruebas se evidenció un coeficiente de variación para repetibilidad y reproducibilidad entre el 0.001 - 0.055% y 0.001 - 0.022%; en la exactitud se obtuvieron porcentajes de error y recuperación entre el 0.04 - 3.39% y 95.0 y 103% respectivamente.*

Palabras clave: Agua residual, biodegradabilidad, calidad de agua, método de validación.

Abstract. *The validation of the Chemical Oxygen Demand (COD) and Biochemical Oxygen Demand (BOD) was carried out. In the first, a potassium acid phthalate standard and a spectrophotometric detection method were used, and for the second, the reading of samples was implemented by membrane electrode, a standard glutamic acid-glucose solution and incubation for 5 days at $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Parameters were determined as linearity, precision, accuracy, sensitivity, limit of detection and quantification. It was demonstrated through experimental design and statistical procedures that methods can be used with sensitivity and confidence. Detection and quantification limits of 46.2 and 100 mg/L for COD and 2.78 and 4.71 mg / L for BOD were reached. In both tests a coefficient of variation for repeatability and reproducibility between 0.001 - 0.055% and 0.001 - 0.022% was evidenced; in accuracy, error and recovery percentages were obtained between 0.04 - 3.39% and 95.0 and 103% respectively.*

Keywords: wastewater, biodegradability, water quality, validation method.

2.1. Introducción

El crecimiento de la industria y la diversificación de los productos que se fabrican o se extraen, vienen acompañados de la producción de residuos; algunos de ellos de características líquidas son vertidos indiscriminadamente a las fuentes hídricas sin tratamiento previo [1]. De igual manera, existen otras fuentes de contaminación que son de características naturales como la lixiviación de suelos por efecto de lluvias, deterioro de rocas, excrementos de animales, entre otros. Que unidas a las asociadas por procesos antropomorfos, producen cambios significativos en los cuerpos de agua en parámetros que son criterios de calidad de ellas, como son el pH, sólidos disueltos, oxidabilidad, turbidez, color, etc. [2]. Este tipo de contaminación se ve incrementada por la existencia de asentamientos humanos sin desagües ni sistemas de disposición de excretas y con procesos deficientes de recogida y almacenaje de desechos.

En el seguimiento de los causas de los ríos, la contaminación natural y artificial se evidencia en las riveras, desbalanceando ecosistemas; en algunos casos pueden llevar a la extinción de especies que requieren condiciones óptimas para su desarrollo. Aunque el mar, disposición final de los cuerpos de aguas, cuenta con mecanismos biológicos y fisicoquímicos de autodepuración, de tal forma que admite en su seno un cierto aporte de residuos sin perjudicar su equilibrio, –dada la biodegradabilidad asociada con microorganismos que utilizan estas sustancias como alimento y fuente de energía para su metabolismo y reproducción [3]–, su capacidad es limitada y el vertimiento excesivo de contaminantes origina desbalances microbianos. Estudios demuestran que cantidades excesivas de aceites, grasas, alta carga orgánica, metales pesados e incremento o disminución drástica del pH afecta la descomposición microbiana [4], [5].

La medición de la biodegradabilidad, en los cuerpos de agua es de gran importancia, dado que mide la capacidad que tiene un sistema microbiano para consumir la carga orgánica [6]. Los análisis que asemejan las condiciones de biodegradabilidad natural son la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y se constituyen en dos de los análisis que con más frecuencia se solicitan al laboratorio para el monitoreo o detección de la contaminación orgánica de aguas industriales, residuales. También

permite establecer modelos de las velocidades de remoción en sistemas de descontaminación [7], [8], [9].

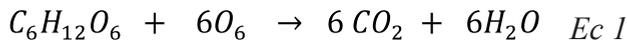
2.1.1. *Demanda química de oxígeno*

La DQO estima la cantidad de oxígeno necesario para oxidar completamente la materia orgánica en una muestra a dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O), bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura, pH y tiempo [10]. La acción oxidante del dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇), en medio fuertemente ácido (H₂SO₄), en presencia de Ag₂SO₄, como catalizador para la oxidación de compuestos alifáticos, y de sulfato mercúrico (HgSO₄) adicionado para eliminar la interferencia de los cloruros, permite realizar, mediante reflujo cerrado o abierto, oxidar las sustancias orgánicas e inorgánicas en una muestra. La cantidad estimada de oxidación del dicromato se relaciona con la DQO. Cuando las muestras de agua a analizar contienen altos contenidos de nitritos se sugiere la utilización de 10 mg de ácido sulfámico por cada mg de NO₂⁻ presente en el volumen de la muestra y el blanco. [11].

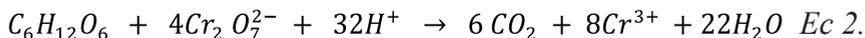
La utilización de carbohidratos o de proteína con estequiometrias conocidas con los equivalentes gramo de CO₂ ha permitido su aplicación como estándares de referencia. Se destaca que la DQO no incluye el oxígeno que convierte el nitrógeno reducido a nitrato, mientras que, el sulfuro reducido (R-SH → S²⁻) oxidado a sulfuro por los agentes químicos si se incluye en el valor de DQO [12].

Las oxidaciones realizadas a compuestos inorgánicos tales como sales de hierro y manganeso pueden ser corregidas con cálculos estequiométricos, en caso de conocer su concentración inicial. En métodos normalizados, se estima un margen de error en la recuperación del estándar en muestras naturales [13].

La utilización de estándar de glucosa viene dada por la siguiente reacción:



La degradación química de esta sustancia (acelerada con dicromato de potasio y medida bajo la forma de DQO) es:

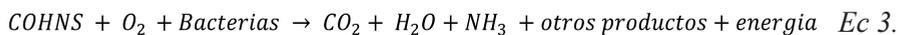


Al final de la prueba, cuando toda la materia orgánica químicamente se ha oxidado, se tienen como productos finales: el dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O) y cromo reducido (Cr^{3+}). La DQO así determinada se expresa como “el oxígeno equivalente al contenido en materia orgánica”, en miligramos por litro.

Una importante ventaja de este método es que cuantifica tanto la materia orgánica disuelta como la particulada [14], [15], convirtiéndose en un parámetro cuantitativo de calidad del agua, ya que el tratamiento de aguas residuales separa ambos tipos de materia orgánica.

2.1.2. Demanda Bioquímica de Oxígeno

La DBO, se define como la cantidad de oxígeno requerido por los microorganismos, en condiciones óptimas de crecimiento, para metabolizar los compuestos orgánicos susceptibles a ser degradados, según la siguiente ecuación [16], [17].



Con el fin de obtener resultados representativos, el oxígeno consumido en el proceso degradativo se hace en tres (DBO_3) o cinco días (DBO_5). Se conoce que en los dos primeros días los microorganismos metabolizan los compuestos orgánicos. Para poder establecer correspondencia y reproducibilidad en los datos entre el oxígeno consumido durante el proceso metabólico se debe garantizar al sistema de análisis, condiciones como son pH neutro, tipo y cantidad de inóculo, cantidad y calidad de los nutrientes para el crecimiento microbiano. Otro factor que afecta la DBO es la temperatura y la luz que deben estar acordes al crecimiento óptimo de los microorganismos [18], [19].

El valor de la DBO a cinco días representa en promedio un 65 a 70% del total de la materia orgánica oxidable. El agua potable tiene una DBO de 0.75 a 1.5 ppm de oxígeno y se considera que el agua está contaminada si la DBO es mayor de 5 ppm. Las aguas

negras municipales contienen entre 100 y 400 ppm pero los desechos industriales y los agrícolas contienen niveles de DBO del orden de miles de ppm [10].

Los resultados de las pruebas de DBO, establecen criterios de posible impacto de los residuos a los sistemas acuíferos receptores. Dicho en otras palabras, las pruebas de DBO permiten evaluar la tolerancia de los cuerpos de agua receptores para asimilar descargas de materia orgánica. Así mismo, son control en las diferentes técnicas de remediación que se han propuesto [20], [21] y son comparación primaria para las nuevas proyecciones en el ámbito de las mediciones de la biodegradabilidad de una muestra [22], [23].

Toda empresa que desee cumplir normatividades ambientales debe realizar un análisis de los vertimientos en términos de la biodegradabilidad y aunque estos métodos se encuentran reportados en el Standard Methods [24], se hace necesario realizar una validación de adecuación del mismo a las condiciones de trabajo de cada laboratorio con el fin de prever variantes que permitan la realización de este ensayo en situaciones emergentes o de contingencia, sin que por ello se afecte la calidad e inmediatez del servicio [25].

La industria azucarera utiliza grandes cantidades de agua, sobre todo en el lavado de la caña y la condensación y evaporación, también incluye el lavado del carbón activo, suministro de agua a las calderas, soluciones del proceso, lavado de los filtros, para el intercambio de iones en el enfriamiento sin contacto, agua para compensar las pérdidas de la caldera, agua para la ceniza volante y agua para el lavado de los pisos. También se resalta la contaminación dispersa asociada a la actividad agrícola (herbicidas, abonos y otros vertimientos) y la contaminación por fuentes domésticas [26]. Estas grandes cantidades de agua utilizada son muy pocas veces tratadas para su descontaminación siendo vertidas en los ríos o arroyos cercanos a la industria provocando un gran efecto de contaminación para las comunidades cercanas a esta.

La descarga de aguas residuales en la industria azucarera se puede efectuar de dos formas: una es a través de lagunas o, la otra, verter a los ríos aledaños al ingenio azucarero. El término laguna indica, en este caso, un sistema de retención de aguas de construcción humana, con cualquier propósito; el propósito suele estar indicado

por el término a continuación de laguna. Se encuentran lagunas para regadío, para alimentación de centrales hidroeléctricas, de tratamiento de aguas servidas y muchas otras. Las lagunas de tratamiento servidas, llamadas “de estabilización”, tienen como propósito conseguir que las aguas acumuladas en ellas lleguen a cumplir un conjunto de parámetros cuantitativos, fijados por ley, que permitan su descarga al ambiente receptor sin ocasionar problemas ambientales ulteriores. Los parámetros suelen relacionarse con el potencial de riesgo a la salud pública, la cantidad de orgánicos disueltos, los sólidos suspendidos, las materias grasas, el contenido de nitrógeno orgánico, el contenido de fosfatos, las ausencias de olor y de color.

Este capítulo presenta los criterios que se consideraron para la validación e implementación de la prueba de DQO y DBO₅ y su aplicación en cartas de control para el seguimiento de aguas residuales en una industria azucarera ubicada en el Valle del Cauca.

2.2. Metodología

2.2.1. Muestreo, recolección y preservación de muestras

Las muestras fueron colectadas del efluente final de la laguna de un ingenio azucarero ubicado en el centro del Valle del Cauca las cuales se conservaron en envases de plástico (para análisis en el mismo día). La toma de muestra se realizó en una jornada de seis horas, conformada por alícuotas proporcionales al caudal medido cada quince minutos. Para fines del proceso de validación las muestras fueron preservadas con ácido sulfúrico hasta pH<2, y homogenizadas de forma manual, transportadas y refrigeradas a una temperatura cercana a 4 °C. Antes del análisis se dejaron calentar a 20±1 °C.

2.2.2. Preparación de Soluciones

Solución de digestión de dicromato de potasio 0.208N: Se adicionó en aproximadamente 500 mL de agua destilada 10.216g de K₂Cr₂O₇ grado estándar primario (Sigma Aldrich), previamente secado a 150 °C por dos horas. Posteriormente se agregó 167mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 98 % (Merck) y 33.3g de HgSO₄ (Sigma Aldrich); después de enfriar a temperatura ambiente se aforó a 1000 mL con agua destilada.

Solución catalizadora: Se disolvió 10.1 g de Ag_2SO_4 (Chemical Fine), en un litro de al 98%, en agitación.

Solución estándar de hidrógeno biftalato de potasio (KHP) con DQO teórica de $500\text{mgO}_2/\text{L}$: Se disolvió 0.425 g KHP (Sigma Aldrich), previamente desecado en horno a $110^\circ\text{C} \pm 2$ horas en un litro de agua doblemente destilada.

2.2.3. Prueba de DQO

A cada tubo de digestión, previo lavado con H_2SO_4 al 20%, se le adicionó 1.5mL de la solución digestora ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.208N) y 3.5 mL de solución catalizadora, se midió un volumen máximo de 2.5mL de muestra. Se consideró el blanco a las mismas condiciones con 2.5 mL de agua doblemente destilada. Se dejó reaccionar por 2 horas a 150°C en el reactor (Hach, Serie: 4786; Modelo: 16500) estabilizado previamente a esa temperatura. Después de enfriar se homogenizó y se dejó sedimentar el material suspendido, se estableció la lectura de absorbancia a 600 nm en el espectrofotómetro (Genesys, Serie: 2L6H270003; Modelo: Genesys 335907P – 000), se verificó respuesta con respecto a un blanco de referencia digestado de baja DQO.

2.2.4. Prueba de DBO

Las muestras de agua residual o una dilución conveniente de las mismas, se incubaron por cinco días a 20°C en la oscuridad. La disminución de la concentración de oxígeno disuelto (OD), se midió por el método directo con medidor digital de oxígeno (HQ40d: Marca: HACH Modelo: HQ40d), durante el periodo de incubación.

El criterio de calidad del agua dilución con inóculo y sin él, fue de valores inferiores a 0.2 mg/L . La semilla de inóculo se obtuvo adicionando a 200mL de agua destilada una cápsula de Semilla Polyseed marca HACH, se agitó y se decantó por 1 h, el criterio de aceptación fue un consumo de OD entre 0.6 y 1.0 mg/L .

El agua de dilución se aireó hasta llegar a una temperatura final de $20\pm 3^\circ\text{C}$ después de adicionar por cada litro de solución, 1 mL de las siguientes soluciones: buffer fosfato pH 7.2 (8.5g de KH_2PO_4 , 21.75g de K_2HPO_4 , 33.4g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.7g NH_4Cl por

litro), sulfato de magnesio 0.091M, cloruro de calcio 0.3M, cloruro férrico $9.3 \times 10^{-4}M$

2.2.5. Diseño experimental

Para la evaluación de los atributos de la validación, se siguió el siguiente procedimiento con base a lo establecido en el protocolo de estandarización de métodos analíticos de la página web del IDEAM [10]. Se prepararon ocho muestras codificadas para ser analizadas aleatoriamente en cinco lotes durante dos días por dos analistas. Los análisis fueron realizados siempre a la misma hora y en forma paralela por ambos analistas. Para tal fin, se consideró un blanco consistente en agua destilada con todos los reactivos pertinentes y tratados por todo el procedimiento analítico y en las mismas condiciones que las demás muestras. Para la DQO se utilizaron estándares de ftalato de potasio a diferentes niveles: estándar de concentración alta de 900 mg/L, estándar de concentración media de 500 mg/L y estándar de concentración baja de 100 mg/L. Las muestras típicas del trabajo rutinario fueron de 130 mg/L (MN1) y de 250 mg/L (MN2). La cuales fueron dopadas para establecer la exactitud. En el caso de la DBO se analizó el agua de dilución (blanco) tomando doce fracciones de agua de dilución a manera de blancos, se realizó la lectura de oxígeno disuelto inicial y se llevó a la incubadora por cinco días a 20 ± 1 °C. Para esta prueba se utilizaron estándares de glucosa-ácido glutámico (Merck).

2.2.6. Determinación de linealidad

Para la DQO se prepararon soluciones en concentraciones bajas, medias y altas entre 100 y 1000 mg/L Se graficó la respuesta de la señal analítica transformada matemáticamente vs la concentración del patrón. En el caso de la DBO el análisis se realizó tres veces para cada estándar, se trabajó en un rango de concentración de 10-792 mg/L. Se midió con el oxímetro utilizando como blanco agua de dilución. En ambos casos se determinó la regresión de la recta lineal y se calcularon los parámetros estadísticos de coeficientes de determinación y de correlación (r y r^2). Para la prueba de linealidad se estableció el coeficiente de variación (CV); la desviación estándar relativa de la pendiente ($S_{m_{rel}}$) y la desviación estándar relativa del intercepto ($S_{b_{rel}}$).

2.2.7. Límite de detección y cuantificación del método

Se determinaron con curvas de calibración por triplicado a niveles de concentración cercanos a 100mg/L en la extrapolación de la señal del blanco en la intersección con el eje Y.

2.2.8. Precisión

Se valoró por repetibilidad y por reproducibilidad de los analistas y de las determinaciones con un mismo instrumento. Los datos fueron procesados estadísticamente con ANOVA. Para la DQO se consideró un set de diez muestras mientras que para la DBO₅ fue de seis.

2.2.9. Interferencias de matriz

Se construyeron curvas de calibración regular y de adición de estándar entre 100 y 900 mg/L por triplicado para cada nivel de concentración.

2.2.10. Exactitud

Para las muestras de DQO se evaluó el porcentaje de recuperación de dos muestras naturales dopadas con el 30% y el 80% respectivamente de la concentración promedio de DQO en las muestras naturales (MNA1 y MNA2). Los ensayos sobre las muestras de DBO₅ se realizaron en seis sets de lotes para análisis en los cuales, simultáneamente se corrieron dos blancos, dos muestras de alto rango (M2), dos muestras de bajo rango (M1), dos réplicas de cada muestra con adición (MA1, MA2) de patrón glucosa- ácido glutámico (M1+A1) 30%, (M1+A2) 50%, dos patrones de 10 mg/L estándar bajo, 300 mg/L estándar medio y 540 mg/L estándar alto

2.3. Discusión de resultados

El agua de dilución para la prueba de DBO₅ presentó para doce réplicas un promedio de 0.23 mg/L de oxígeno disuelto, con una desviación estándar de 0.07 y un coeficiente de variación de 0.28, criterios que garantizan que no influyen los resultados en muestras o estándares.

2.3.1. Linealidad del método

Los resultados de la curva de calibración para DQO generados por el análisis de seis patrones en el rango de (100 – 1000) mg/L se pueden observar en la Figura 2.1. La correlación de la señal (Abs) proporcionada por el instrumento se ajusta a un modelo lineal, donde el coeficiente de correlación está cercano a la unidad

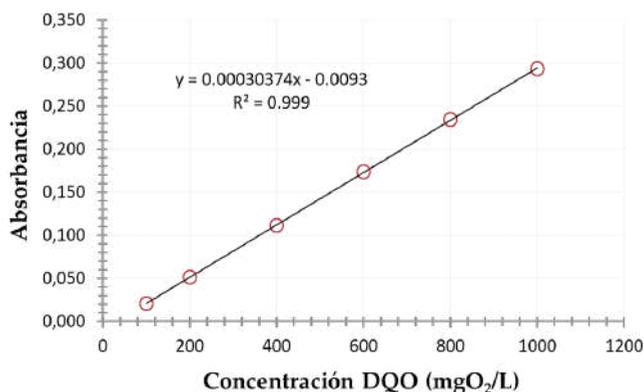


Figura 2.1. Curva de Calibración de Absorbancia vs. Concentración.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de correlación de la prueba de DBO₅ correspondiente al análisis por triplicado de cada estándar en un rango de concentración de 10-792 mg/L se puede observar en la Figura 2.2.

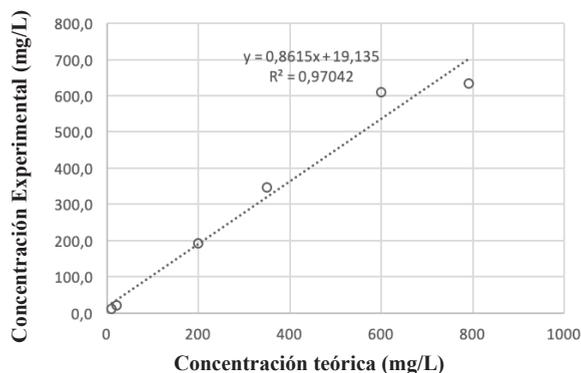


Figura 2.2. Curva de calibración para la determinación de la DBO₅ entre 10-792mg/L.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.1. Residuos para calcular prueba Q

Promedio concentración experimental. (mg/L)	Concentración teórica (mg/L)	Y [^]	Residuos
10.2	10	6.560	13.0
20.1	19.8	16.501	13.0
191.4	200	199.296	62.9
347.3	350	351.456	17.5
610.0	600	605.056	24.1
633.9	792	799.820	27540.6

H₀: El dato 27540.6 no es diferente a los demás

H₁: El dato 27540.6 es diferente a los demás.

Fuente: Elaboración propia

Muestras de concentraciones entre 10 y 792 mg/L. exhiben un coeficiente de correlación y de regresión lineal de 0.9704 y 0.985 respectivamente indicando una alta correspondencia entre la concentración teórica y la concentración hallada experimentalmente para las determinaciones realizadas, con un 95 % de confiabilidad. La respuesta para la concentración de 792 mg/L se consideró como sospechoso; la Tabla 2.1 presenta los resultados para la prueba de contraste de Dixon (Prueba Q)² con los residuos (r).

Se rechaza la H₀ puesto que el Q calculado (0.998) es mayor que el Q crítico (0.625), y por lo tanto se acepta la Hi el dato 27540.6 es diferente a los demás, entonces se elimina este dato de la curva de calibración y se tiene que la curva de calibración es lineal entre 10 y 600 mg/L lineal y está dada por la siguiente figura:

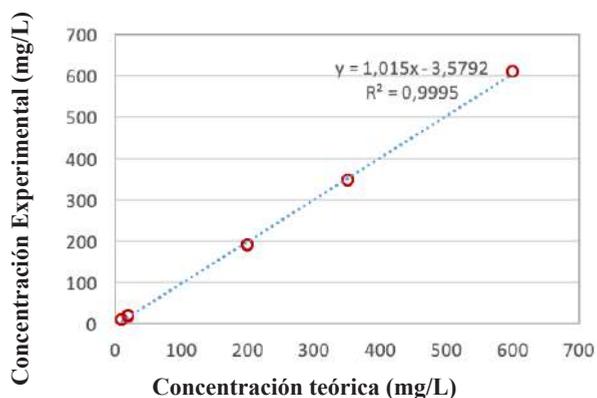


Figura 2.3. Curva de calibración para la determinación de la DBO₅ entre 10-600mg/L.

Fuente: Elaboración propia

Los valores hallados de la pendiente, el intercepto con sus respectivas desviaciones estándar, el coeficiente de determinación, el coeficiente de correlación y la desviación estándar de la regresión para ambas pruebas, describen que existe una adecuada relación causa-efecto según los resultados experimentales. La dispersión de los residuos contra los valores predichos, de manera uniforme, así mismo la distribución de los puntos es aleatoria y no muestran ninguna tendencia, lo que significa que los puntos son homocedásticos (homogeneidad de la varianza), es decir que los errores en la señal analítica son constantes al aumentar la concentración.

El análisis de los coeficientes de correlación y de determinación como medidas descriptivas de los modelos lineales se puede observar en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Estadísticas de la regresión lineal

Parámetro	DBO ₅	DQO
Coefficiente de correlación múltiple	0.99974107	0.9997449
Coefficiente de determinación R ²	0.99948221	0.9994898
R ² ajustado	0.99944238	0.9994666
Error típico	5.40627103	0.0022823
Observaciones	15	24

Fuente: Elaboración propia

El coeficiente de correlación *momento-producto* de Pearson coligado a la linealidad existente entre la absorbancia a 600 nm (Y) y la concentración de DQO (X) (0.999744872) y entre la concentración teórica y experimental para la DBO (0.99974107) estuvieron muy cercanos a uno (1) indicando el alto grado de asociación lineal entre las variables y la correlación positiva fuerte coincidiendo con el tipo de pendiente (positiva). Métodos normalizados para análisis de aguas y aguas residuales reportan que para este método como criterio de aceptación para los procedimientos de calibración requieren un coeficiente de correlación $r = 0.995$.

Los valores del *coeficiente de determinación*, R² para DQO es de 0.999489808 y para DBO es 0.99948221 lo cual garantiza que la concentración atribuye el 99.89% a su asociación lineal con la absorbancia a 600nm y la concentración teórica respectivamente. De igual manera, los *coeficientes de determinación ajustado*, R², a pesar de ser menores que el coeficiente de determinación modelo lineal ajustado son correctos por su cercanía a la unidad.

La variabilidad de la regresión lineal ajustada para la DQO fue de 0.002282278mg/L O₂, mientras que la DBO presentó un valor de 5.40627103 mg/L. Lo que muestra la baja dispersión de los valores experimentales con respecto a los valores ajustados que describe la curva de calibración, indicando que la diferencia entre los valores experimentales y los valores predichos es muy baja en la DQO y algo más alta en la DBO, en este último caso hay que entender que debido a las características de la prueba se puede presentar mayor

variabilidad, sin embargo el dato obtenido representa un buen desempeño del sistema lineal.

El análisis de varianza que evalúa la significancia del ajuste separando la relación lineal (regresión) y la variabilidad experimental (error) en la incidencia sobre la variable dependiente Y, se puede observar en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Análisis de Varianza

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0.22449403	0.22449403		
Residuos	22	0.00011459	5.2088×10^{-6}	43099.03	1.0256×10^{-37}
Total	23	0.22460863			
Regresión	1	733439.335	733439.335		
Residuos	13	379.9609642	29.22776648	25093.92	9.5213×10^{-23}
Total	14	733819.296			

Fuente: Elaboración propia

La variabilidad total de la variable dependiente Y, absorbancia de DQO, es de 0.22460863, atribuible en 0.22449403 (99.95%) a la asociación lineal entre X y Y con una variación aleatoria o error en 0.00011459 del 0.0510%. Por otro lado, en la DBO se obtuvo una variabilidad total de 733439.335 atribuible en un 100% a la asociación lineal, mientras que la variación aleatoria correspondió al 0.0517%. Como puede observarse la mayor parte de la variabilidad de Y en ambas pruebas se explica por la regresión más que por el efecto aleatorio, por lo tanto el supuesto de regresión lineal es razonable.

La prueba de hipótesis para probar la certeza de las causas de variabilidad con un nivel de significancia del 5%, para la DQO, presenta un valor estadístico de F de 43099.03 y de 25093.92 en la DBO, las cuales son atribuidas con mayor probabilidad a la asociación lineal entre las variables y una muy baja al azar con un respecto a los valores críticos de F los cuales son menores al nivel de significación de α para dos colas (0.025).

La idoneidad del modelo establecido por pruebas de hipótesis sobre la pendiente con un nivel de significación del 5% y planteando la hipótesis nula: no existe asociación lineal entre las variables X y Y se encontraron con la ecuación 4; un t calculado de 62.61 para la DQO y de 87.87 para DBO con respecto a un t crítico de 2.78, dando razón de la asociación.

$$t_{cal} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Ec 4.}$$

Tabla 2.4 Estimadores de regresión y sus respectivos límites de confianza al 95%

Prueba	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
DQO	Intercepción -0.0093072	0.00088795	-10.481666	5.0943x10 ⁻¹⁰	-0.011149	-0.007466
	Variable X 1 0.0003037	1.4631 x10 ⁻⁶	207.603065	1.0256 x10 ⁻³⁷	0.000301	0.000307
DBO	Intercepción 3.6467814	2.024651819	1.801189406	0.09490303	-0.727213	8.020776
	Variable X 1 0.9847397	0.006216374	158.4106166	9.5213 x10 ⁻²³	0.971310	0.998169

Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, la validez del intercepto (Tabla 2.4), generó un t estadístico -10.481666 en la DQO y de 1.80 en la DBO, que son inferiores al t crítico a dos colas 2.05 por lo que se acepta la hipótesis nula que demuestra la inclusión del cero en el intervalo de confianza para el intercepto (-0.011149, 0.000301) y (-0.727313, 0.971310) respectivamente.

Las figura 6 y 7 muestran la distribución de los residuos, en ellos se estima que para la prueba de DQO hay una distribución mayoritaria hacia valores positivos del valor esperado, pero es de carácter aleatorio donde los errores indeterminados son predominantes.

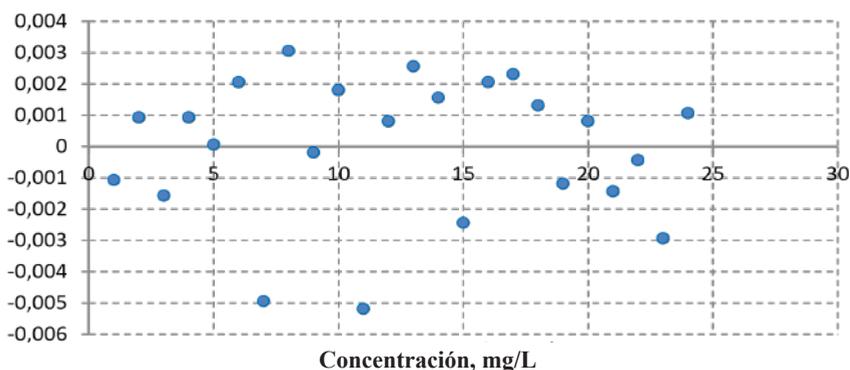


Figura 2.4. Representación de los residuos en la linealidad en la prueba de DQO
Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, la distribución de residuos para la prueba de DBO está condicionada a cada estándar encontrándose errores netamente positivos o netamente negativos, lo cual indica que están asociados con el carácter particular de la prueba y que es consistente en la replicas realizadas.

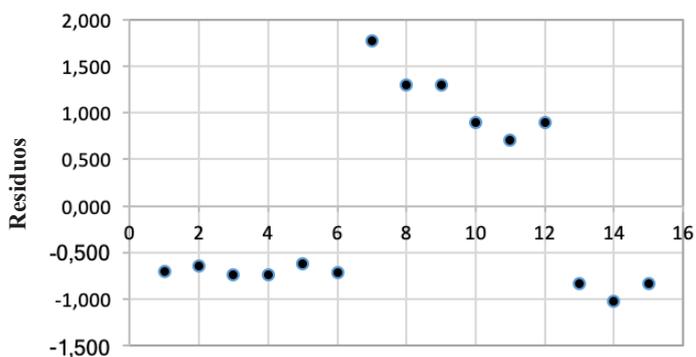


Figura 2.5. Representación de los residuos en la linealidad en la prueba de DBO₅
Fuente: Elaboración propia

Al evaluar los resultados anteriores, se concluye que el *método* es *lineal* tanto para la DQO como para la de la DBO con un intervalo de aceptación de la curva confiable de 100-1000 mg/L y de 10-600 mg/L respectivamente.

2.3.2. *Límite de detección y cuantificación del método*

La extrapolación de la curva de calibración de la DQO construida con patrones de 100, 105 y 110 ppm en triplicado, registrando su absorbancia media y su desviación estándar, a concentración cero establecen que el límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) fueron de 46.21 y 105.7 ppm respectivamente. La confirmación del límite de cuantificación del método fue confirmada con un patrón de 100mg/L con un nivel de confianza del 99% y un coeficiente de variación del 1.9%.

En el caso de la DBO los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) corroborados experimentalmente desde el patrón de referencia de 2 mg/L, generó para diez replicas una media de 1.9 mg/L, con una desviación estándar de 0.291 y un porcentaje de error de 4.8%, los cuales ajustados a las ecuaciones 5 y 6 se obtiene valores de 2.78 y 4.71 mg/L respectivamente.

$$LD = \bar{X} + 3s \text{ Ec 5.}$$

$$LC = \bar{X} + 10s \text{ Ec 6.}$$

2.3.3. *Interferencias de matriz*

La Figura 2.6 muestra los resultados asociados de la evaluación de las interferencias de matriz basadas en curvas de calibración regular y de adición de estándar entre rango de concentración de 100 a 800 mgO₂/L, realizando tres mediciones para cada nivel de concentración.

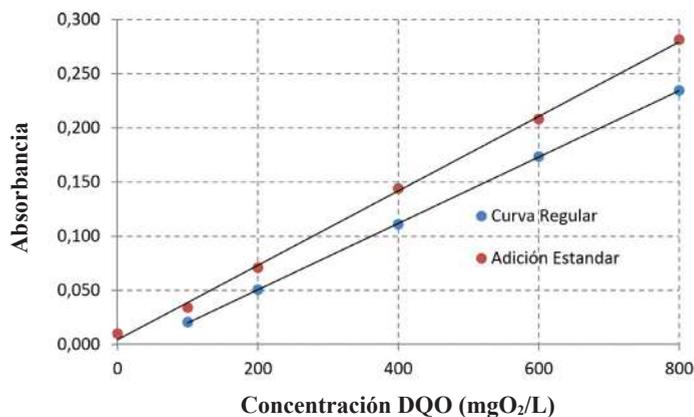


Figura 2.6. Curva regular y de adición de estándar para la evaluación de interferencias de matriz en el método de DQO.

Fuente: Elaboración propia

El estudio de significancia entre las dos curvas se presenta en la Tabla 2.5, donde se muestran los valores de las pendientes para las curvas de calibración regular y de adición de estándar y el contraste de significación entre las pendientes de las calibraciones regular y de adición de estándar prueba DQO que es observable en la Tabla 2.6.

Tabla 2.5 Estimadores de regresión curva regular y de adición de estándar prueba de DQO

Parámetro	Curva Regular	Adición de Estándar
b	-0.01063 ± 0.00054	0.00441 ± 0.0028
m	0.00031 ± 1.1 x10 ⁻⁶	0.00034 ± 6 x10 ⁻⁶
r	0.99998 ± 0.00063	0.99934 ± 0.0043

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.6 Contraste de significación entre las pendientes de las calibraciones regular y de adición de estándar prueba DQO.

Curva	Pendiente	Hipótesis	Estadístico t	Critico 99%	Comparación	Decisión
Regular	ma: 3.0625×10^{-4}	Ho: $ma = mae$ H1: $ma \neq mae$	0.27	2.20	test < t _{crit}	Se acepta Ho
Adición Estándar	mae: 3.675×10^{-4}					

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo al análisis estadístico las pendientes no son significativamente diferentes, por lo tanto las rectas son paralelas, indicando que no existen interferencias de matriz en el método, es decir, que las señales analíticas medidas por ambas curvas difieren en un valor constante y que cualquiera de ellas es útil para medir la concentración. La sensibilidad para la prueba de DBO corresponde a la pendiente de la curva de calibración entre la concentración teórica vs concentración experimental, por lo tanto el método es sensible a un cambio de concentración 1.015mg/L de DBO, determinado en condiciones del laboratorio.

2.3.4. Precisión

Los criterios de aceptación sobre la precisión del instrumento, establecidos experimentalmente por dos analistas se encuentran en la Anova de la Tabla 2.7; cumplen con los métodos EPA 415.1, 415.2 SW-846 (método 960) en la verificación de estándares en los procedimientos de calibración y control de calidad aguas residuales entre 5 y 10%

Las tablas 2.8 y 2.9 muestran los resultados de precisión del método para un analista en dos días, correspondientes a cinco mediciones para cada una de las muestras y estándares, el Aporte por Repetibilidad (Aporte por azar, S_r) consolidado por muestras con sus respectivas desviaciones estándar por repetibilidad (S_r) y sus coeficientes de variación.

Tabla 2.7 Datos para estimar la precisión del instrumento.

n	DQO (mg O ₂ /L)			DBO ₅ (mg O ₂ /L)		
	Alto	Medio	Bajo	Alto	Medio	Bajo
1	896.5	494.9	93.2	525.6	316.8	11.0
2	896.5	498.1	99.8	538.5	318.6	10.4
3	899.8	498.1	99.8	540.1	311.4	9.8
4	899.8	501.4	99.8	526.1	310.4	10.2
5	899.8	501.4	99.8	540.8	300.2	9.8
6	899.8	501.4	99.8	543.1	301.4	10.1
7	903.1	504.7	103.1	529.8	324.7	9.5
8	903.1	504.7	103.1	536.5	313.7	10.0
9	903.1	504.7	103.1	540.3	310.8	9.2
10	906.4	508.0	103.1	527.2	310.2	10.3
11	909.7	508.0	106.4	541.8	301.7	9.9
12	909.7	508.0	106.4	540.8	302.0	10.2
13	911.3	511.3	109.7	-	-	-
14	913.0	511.3	109.7	-	-	-
X	903.7	504.0	102.6	535.9	310.2	10.0
s	5.46	5.03	4.45	6.70	7.72	0.46
%CV	0.60	1.00	4.33	1.25	2.49	4.56
IC inf	900.5	501.1	100.0	532.4	306.2	9.8
IC sup	906.8	506.9	105.2	539.4	314.2	10.3

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.8 Análisis de precisión entre día para DQO.

	<i>Promedio</i>	<i>Sr</i>	<i>Cvr</i>	<i>Sb</i>	<i>Cvb</i>	<i>SR</i>	<i>CVR</i>	<i>Sistemática (SL²)</i>	<i>Fcal</i>	<i>Fcrit</i>
Rango bajo	101.426	1.803	0.018	1.084	0.011	1.679	0.017	-0.434	2.77	
Rango Medio	500.452	2.328	0.005	1.084	0.002	2.134	0.004	-0.867	4.61	
Rango Alto	901.453	1.803	0.002	1.084	0.001	1.679	0.002	-0.434	2.77	
M1	129.082	2.550	0.020	1.084	0.008	2.328	0.018	-1.084	5.53	5.12
M2	250.896	2.550	0.010	1.084	0.004	1.679	0.007	-0.434	5.53	
MA1	170.564	1.803	0.011	1.084	0.006	1.679	0.010	-0.434	2.77	
MA2	453.372	1.803	0.004	0.000	0.000	1.613	0.004	-0.650	0.00	
Mínimo	1.803	0.002	0.000	0.000	0.000	1.613	0.002	-1.084	0.00	5.12
Máximo	2.550	0.018	0.011	0.011	0.011	2.328	0.020	-0.434	0.33	

M1= Muestra 130 mg/L M2= Muestra 250mg/L

MA1= Muestra 1 + Adición del 30%

MA2= Muestra 2 + Adición del 80%

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.9 Análisis de precisión entre día para DBO₅.

	<i>Promedio</i>	<i>Sr</i>	<i>Cvr</i>	<i>Sb</i>	<i>Cvb</i>	<i>SR</i>	<i>CVR</i>	<i>Sistemática (SL²)</i>	<i>Fcal</i>	<i>Fcrit</i>
Rango bajo	10.0	0.210	0.022	1.092	0.120	0.565	0.055	0.275	5.20	
Rango Medio	309.6	1.270	0.004	2.494	0.020	3.005	0.009	7.417	1.96	
Rango Alto	536.4	0.760	0.001	2.217	0.009	2.300	0.005	4.712	2.92	
M1	123.9	1.765	0.015	1.504	0.018	1.875	0.017	0.400	1.17	6.61
M2	480.4	0.443	0.001	1.106	0.003	0.675	0.002	0.260	2.50	
MA1	155.4	0.443	0.003	2.022	0.026	1.870	0.012	3.301	4.56	
MA2	180.7	0.990	0.006	1.402	0.011	0.105	0.001	-0.969	1.42	
Mínimo	0.210	0.001	1.092	0.011	0.105	0.001	-0.969	1.17		6.61
Máximo	1.765	0.022	2.494	0.120	3.005	0.055	7.417	5.20		

M1= Muestra 120 mg/L M2= Muestra 480 mg/L

MA1= Muestra 1 + Adición del 30%

MA2= Muestra 1 + Adición del 50%

Fuente: Elaboración propia

El conjunto de datos de DQO, presenta valores de varianza de repetibilidad, S_r , comprendidos entre 1.80 mg/L (rango bajo) y 2.55 mg/L (muestra uno) con coeficientes de variación de 0.018 % y 0.020 % respectivamente. Para el caso de la DBO_5 este parámetro oscila entre 0.210 (rango bajo) y 1.765 mg/L (muestra uno). Según los porcentajes de coeficiente de variación se obtendrán por azar una variación en aproximadamente 1 de cada 50 datos para la DQO y 1 de cada 100 datos para la DBO_5 .

Los *aportes por reproducibilidad* en la DQO, S_R , para este conjunto de datos están comprendidos entre la muestra dos con adición (MA2) de 1.61 mg/L y muestra 1 (M1) de 2.33 mg/L con coeficientes de variación de 0.004 % y 0.018 % respectivamente. Para la DBO_5 , los valores de S_R están entre las obtenidas en MA2 con 0.105 mg/L y en la muestra rango medio de 3.005 mg/L.

En las pruebas de DQO se observa que la varianza de reproducibilidad, $S_R^2 = 5.43$, es menor que la varianza por repetibilidad, $S_r^2 = 6.50$, y mayor que la varianza entre días, $S_b^2 = 1.17$. En la prueba de DBO_5 los valores de S_R^2 , S_r^2 y S_b^2 son 9.03; 3.12; 38.70 respectivamente. Lo anterior indica, que la variación del método sólo está contribuida por el azar y que la contribución sistemática es despreciable. Además, no existen diferencias significativas entre analistas como lo confirma la prueba F (Tabla 2.10).

Tabla 2.10 Análisis de precisión entre analistas DQO

	<i>Promedio</i>	<i>Sr</i>	<i>CVr</i>	<i>Sb</i>	<i>CVb</i>	<i>SR</i>	<i>CVR</i>	<i>Sistemática (SL²)</i>	<i>Fcal</i>	<i>Fcrit</i>
Rango bajo	101.1	1.803	0.018	0.000	0.000	1.613	0.016	-0.650	0.00	
Rango Medio	499.8	1.803	0.004	1.084	0.002	1.679	0.003	-0.434	0.33	
Rango Alto	901.5	1.803	0.002	1.084	0.001	1.679	0.002	1.679	0.33	
M1	130.4	2.082	0.016	9.755	0.075	2.328	0.018	1.084	2.25	5.32
M2	251.9	2.082	0.008	4.336	0.017	2.082	0.008	0.000	1.00	
MA1	169.9	1.646	0.010	1.084	0.006	1.544	0.009	-0.325	0.40	
MA2	453.4	2.442	0.005	0.000	0.000	2.184	0.005	-1.192	0.00	
Mínimo	1.65	0.00	0.00	0.00	0.00	1.54	0.00	-1.19	0.00	
Máximo	2.44	0.02	9.76	0.07	2.33	0.02	1.68	2.25		5.32

M1= Muestra 130 mg/L M2= Muestra 250 mg/L

MA1= Muestra 1 + Adición del 30%

MA2= Muestra 2 + Adición del 80%

Fuente: Elaboración propia

2.3.5. Exactitud

Los valores calculados de error relativo porcentual para cada una de las muestras, (Tabla 2.11), las diferencias entre el valor teórico y la media están para el estándar bajo, medio y alto y no superan el 3.39%; y para las muestras adicionadas (MA1 y MA2) no alcanzan el 0.6%; tales cantidades son aceptables para la exactitud, pues no exceden el 10%, por lo que se puede decir que el error porcentual entre la media y el valor teórico se debe probablemente a errores aleatorios y no a errores sistemáticos.

Tabla 2.11. Valores de DQO y DBO₅ para estándares y muestras adicionadas: evaluación de la exactitud cuantificando el error relativo

Prueba	n	Estándar			Muestra + adición	
		Alto	Medio	Bajo	MA1	MA2
DQO	X	901.5	499.8	101.1	169.9	453.4
	S	1.74	1.74	1.70	1.60	2.30
	%E	0.20	-0.04	1.10	0.50	0.60
DBO ₅	X	535.8	310.2	10.0	155.6	181.2
	S	6.92	7.81	0.3	0.6	2.31
	%E	-0.77	3.39	0.30	-0.24	0.64

Estándar Alto: DQO: 900 mg/L DBO: 540 mg/L,
 Estándar Medio: DQO: 500 mg/L DBO: 300 mg/L
 Estándar Bajo: DQO: 100 mg/L DBO: 10 mg/L,
 MA1: DQO: 170 mg/L DBO: 150 mg/L
 MA2: DQO: 450 mg/L DBO: 180 mg/L

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.12. Contraste de significancia para error sistemático en estándares.

Prueba	Estándar (mg/L)	Hipótesis	t _{est}	t _{crit}	Comparación	Decisión
DQO	900		2.65	3.015	t _{crit} > t _{est}	H ₀ acepta
	500		-0.38			
	100	H ₀ : X = μ	2.04			
DBO ₅	540	H ₁ : X ≠ μ	-2.08			
	300		2.51		t _{crit} > t _{est}	H ₀ acepta
	10		0.30			

H₀: la media no difiere significativamente de su correspondiente valor real

H₁: la media difiere significativamente de su correspondiente valor real.

Fuente: Elaboración propia

El contraste de significación (Tabla 2.12) acepta la hipótesis nula a un nivel de significación del 99% para los estándares de 900, 500 y 100 mg/L en la DQO y de 540, 300 y 10 mg/L en la DBO₅, por lo cual existe una alta probabilidad de que la media experimental no difiera significativamente de la media real o, lo que es lo mismo, no existe evidencia suficiente para probar que tal diferencia se deba a errores sistemáticos; por otro lado debe tenerse en cuenta que lo anterior no significa que no existan errores sistemáticos, sino que no se ha podido demostrar estadísticamente que existan.

Tabla 2.13. Estudio de recuperación en estándares

Prueba	Parámetro	Estándares (mg O ₂ /L);					
		Alto	%R 900	Medio	%R 500	Bajo	%R 100
DQO	X	901.5	100	499.8	100	101.1	101
	s	1.74	0.2	1.74	0.35	1.7	1.7
	Min	899.8	100	498.1	99.6	99.8	99.8
	Max	903.1	100.3	501.4	100.3	103.1	103.1
DBO ₅	X	535.8	99.2	310.2	103.38	10.0	100.33
	s	6.92	1.29	7.81	2.59	0.3	3.01
	Min	525.6	97.7	300.2	106.9	9.2	95.0
	Max	543.1	100.4	324.7	100.3	11.0	102.5

Estándar alto: DQO= 900 mg/L DBO₅= 540 mg/L,
 Estándar medio: DQO= 500 mg/L DBO₅= 300 mg/L
 Estándar bajo: DQO= 100 mg/L DBO₅= 10 mg/L

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.14. Estudio de recuperación en muestras adicionadas

Muestras adicionadas (mg O ₂ /L);					
	Parámetro	MNA1	%R	MNA2	%R
DQO	X	169.9	100.5	453.4	100.6
	s	1.59	1.00	2.30	1.00
	Min	168.9	100	452.1	100.3
	Max	172.2	101.9	458.6	101.8
DBO ₅	X	155.63	99.12	181.16	101.76
	s	0.6	1.45	2.31	3.50
	Min	154.4	96.4	158.2	95.0
	Max	178.5	100.72	182.4	103.73

MNA1= 170 mg/L DBO₅= 160 mg/L

MNA2= 450 mg/L DBO₅= 180 mg/L

Fuente: Elaboración propia

Las tablas 2.13 y 2.14 muestran los porcentajes de recuperación calculados para estándares, y muestras naturales adicionadas (MNA1 y MNA2); se obtuvieron recuperaciones entre el 95.0 y el 103% para todas las muestras estudiadas. El criterio de aceptación según los Métodos Normalizados de Análisis Estándar para la recuperación está entre el 80 y el 120% por lo que se puede considerar que las recuperaciones obtenidas tanto individuales como promediadas son aceptables y cumplen con el criterio establecido.

2.3.6. Cartas de Control

Las cartas de control fueron útiles como herramienta para el seguimiento de la calidad de los resultados de ensayo generados por el laboratorio. En ellas se mantuvieron las siguientes consideraciones:

- Si la medida excedió el Límite de Control, se repitió el análisis del patrón inmediatamente. Si el valor obtenido en la repetición no superaba los límites de control, se continuó con la realización del análisis; de lo contrario se suspendió la realización del ensayo y aplicó la inconformidad.
- Si dos de tres puntos sucesivos excedieron el límite de alerta, se analizó otra muestra patrón. Si el valor obtenido en la tercera muestra patrón no superó los límites de alerta, se continuó con el análisis, de lo contrario se suspendió la realización del ensayo y se manifestó la inconformidad.

En la Tabla 2.15 se presentan los límites de control iniciales para los tres niveles de concentración estudiados para el patrón de DBO_5 de 10mg/L, 300mg/L y 540mg/L con el patrón de referencia. El control se realiza mensualmente con un patrón preparado en tres rangos bajo, medio y alto. La elección dependerá de las concentraciones determinadas para las muestras durante el mes. El patrón debe mantener el resultado dentro de los intervalos de aceptación establecidos en este documento.

Tabla 2.15. Límites iniciales para las cartas de control DBO_5

Parámetro	Rango alto	Rango medio	Rango bajo
Promedio patrón X_p	535.8	310.2	10.0
Desviación estándar (S)	6.9	7.8	0.3
LSA ($X_p + 2*S$)	549.7	325.8	10.6
LIA ($X_p - 2*S$)	522.0	294.5	9.4
LSC ($X_p + 3*S$)	556.6	333.6	10.9
LIC ($X_p - 3*S$)	515.1	286.7	9.1

LSA: Límite Superior de Alerta (LC al 95%),
LIA: Límite Inferior de Alerta (LC al 95%)
LSC: Límite Superior de Acción (LC al 99.7%),
LIC: Límite Inferior de Acción (LC al 99.7%)
Fuente: Elaboración propia

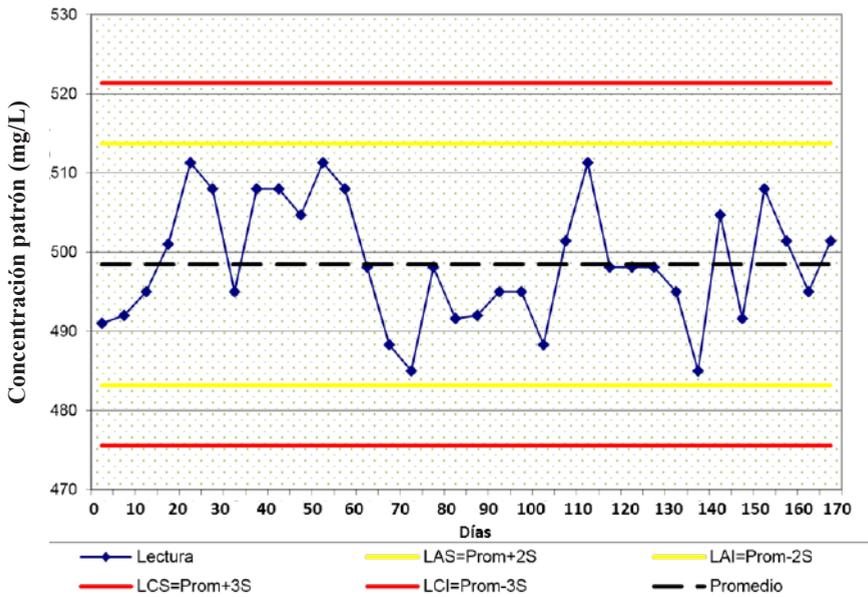


Figura 2.7. Carta de control para el patrón de 500 mg/L
 Línea central o promedio, X : 498.4 mg/L -
 Límites de alerta: $X + 2s$: 498.4 \pm 15.2 -
 Límites de control: $X + 3s$: 498.4 \pm 22.8

Fuente: Elaboración propia

La Figura 2.7 muestra a manera de ejemplo, los parámetros de la carta de control, el patrón de 500 mg/L de DQO producto de esta validación, que permitieron determinar los contenidos de DQO en los efluentes residuales de un ingenio azucarero durante seis meses de seguimiento.

2.3.7. Reducción de reactivos peligrosos y costos de Análisis

Los análisis de DQO son ensayos que por su frecuencia de ejecución generan un gran volumen de residuos. La validación de la técnica por reflujo cerrado hace una disminución apreciable de los reactivos y de los desechos producto del ensayo comparado con el método de titulométrico. La siguiente tabla muestra la disminución con respecto a las soluciones catalizadora y digestora:

Tabla 2.16. Comparación de reactivos por el Método de DQO abierto y cerrado.

Solución	Volumen (mL) DQO Abierto	Volumen (mL) DQO Cerrado	% Disminución
Catalizadora ($H_2SO_4 + AgSO_4$)	40	3.5	91.3%
Digestora ($K_2Cr_2O_7 + HgSO_4$)	10	1.5	85.0%

Fuente: Elaboración propia

La disminución anterior se ve reflejada también en reducción de costos operativos y en volumen de residuos equivale a un 88%.

2.4. Conclusión

Las cartas de control para DQO y DBO alcanzadas mediante validación del método, donde se tienen en cuenta las capacidades del instrumento, capacidad del laboratorio y las características específicas de la muestra (interferentes, concentración de materia orgánica, buenas prácticas en la toma de muestras), constituyen una herramienta valiosa para detectar desviaciones en los ensayos ocasionadas ya sea por fallas en los equipos, degradación de

reactivos u otras condiciones no apropiadas que afecten el resultado de los análisis y el seguimiento con calidad analítica de los mismos. También, son insumo para la toma de decisiones en el tratamiento de efluentes residuales industriales; este estudio podría ser extensivo a aguas de efluentes domésticas con cargas de DQO correlacionadas en el rango de linealidad 100-1000 mg/L y de 10-600 mg/L en DBO.

2.5. Referencias

- [1] Domenech, X., Peral, J. *Química Ambiental de Sistemas Terrestres*, Barcelona: Reverte, 2006, 256 p.
- [2] Manahan, S. *Introducción a la química ambiental*, Barcelona: Reverte, 2007, pp 605-655.
- [3] González, M., Orozco, C., Pérez, A., Alfayate, J., y Rodríguez, F. *Contaminación ambiental. Una visión desde la química*, 2ed. ed., Madrid: Paraninfo, 2011, pp 139-293.
- [4] Larbi, L., Fertikh, N., y Tourbal., A. 2014. Study of material used in nanotechnology for the recycling of industrial waste water,» *Physics Procedia*, 55, 317-323.
- [5] Schönborn, W. *Biotechnology: Microbial Degradation*, vol. 8, Germany: VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1986, p. 258.
- [6] Devi, V., Dahiya, R. 2008. COD and BOD removal from domestic wastewater generated in decentralised sectors,» *Bioresource Technology*, 99, 344–349
- [7] Bhatt, A., Altouqi, S., Karanjekar R., Hossaina, S. 2016. Preliminary regression models for estimating first-order rate constants for removal of BOD and COD from landfill leachate. *Environmental Technology & Innovation*, 5, 188–198.
- [8] Darajeh, N., Idris, A., Reza, H., Nourani, A., Truong, P., Sairi, N. 2016. Modeling BOD and COD removal from Palm Oil Mill Secondary Effluent in floating wetland by *Chrysopogon zizanioides* (L.) using response surface methodology. *Journal of Environmental Management*, 181, 343-352.
- [9] Marín, J., Castro, S. 2013. Viabilidad técnica de un biorreactor de membrana anaerobio para el tratamiento de vinaza.,» *Ingenium*, 7, 16, 67-72.
- [10] Coy, G., Bojaca, R., Duque, M., «IDEAM.» 2006. [En línea]. Available:

http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38152/Estandarizacion_metodos_analaticos.pdf/934bd941-dd47-4501-8507-d2721ef4f316.

[11] Delgado, J., Dick, G., Love, N. 2018. Sulfide inhibition of nitrite oxidation in activated sludge depends on microbial community composition. *Water Research*, 138, 241-249.

[12] Gómez-Juarez, C., et al, 1999. Protein recovery from slaughterhouse wastes,» *Bioresource Technology*, 70, 129-133.

[13] Rodríguez, C., Coy, G., Duque, M., IDEAM, Demanda química de oxígeno por reflujó cerrado y volumetría. 2007. [En línea]. Available:

<http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38152/Demanda+Qu%C3%ADmica+de+Ox%C3%ADgeno..pdf/20030922-4f81-4e8f-841c-c124b9ab5adb>.

[14] Cisterna, P., Peña, D. O. Determinación de la relación DQO/DBO5 en aguas residuales de comunas con población menor a 25.000 habitantes en la VIII región., Chile, 2000.

[15] Balanta, O., Pantoja A., Castillo, J. 2013. Validación del método Walkley y Black para valoración de suelos contaminados con carbono orgánico. *Ingenium*, 7, 16, 73-77.

[16] Chapman, D. *Water Quality Assessments*. London: Chapman and Hall Ltd, 1992, pp. 80–81.

[17] Abyaneh, Z. 2014. Evaluation of multivariate linear regression and artificial neural networks in prediction of water quality parameters. *J. Environ. Health Sci. Eng.* 40, 12, 1–8.

[18] Lopes, J., Dias, J., Cardoso, A., Silva, C. 2005. The water quality of the Ria de Aveiro lagoon, Portugal: from the observations to the implementation of a numerical model. *Mar. Environ. Res.* 60, 594–628.

[19] Bourgeois, W., Burgess, J., Stuetz, R., 2001. On-line monitoring of wastewater quality: a review. *J. Chem. Technol. Biot.* 76, 337–348.

- [20] Abyar, H., Younesi, H., Bahramifar, N., Zinatizadehb, A., Ami-
ni, M. 2017. Kinetic evaluation and process analysis of COD and
nitrogen removal in UAASB bioreactor. *Journal of the Taiwan Insti-
tute of Chemical Engineers*. 78, 272–281.
- [21] Rana, S., Suresh, S. 2017. Comparison of different Coagulants
for Reduction of COD from Textile industry wastewater. *Materials
Today: Proceedings*, 4, 567–574.
- [22] Liu, C., Dong, S. 2013. Field application of a biofilm reactor
based BOD prototype in Taihu Lake, China. *Talanta*, 109, 147–151.
- [23] Torrents, J., Mas, X., Munoz, J. 2012. Design of amicrofluidic
respirometer for semi-continuous amperometric short timebioche-
mical oxygen demand (BODst) analysis. *Biochem. Eng.* 66, 27–37.
- [24] Greenberg, A., Clesceri, L., Eaton, A., Greenbe, A.E. Standard
Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18 ed., Was-
hington DC,: American Public Health Association, 1992.
- [25] Cossu, R. Fantinato, G. Pivato A. Sandon, A. 2017. Further
steps in the standardization of BOD5/COD ratio as a biological sta-
bility index for MSW. *Waste Management*. 68, 16–23.
- [26] Pérez, A. Peña, M. Alvarez, P. 2011. Agro-industria cañera y uso
del agua: análisis crítico en el contexto de la política de agrocombus-
tibles en Colombia, *Ambiente & Sociedad*, XIV, 2, 153 -178.

Capítulo III
Cuantificación de metales pesados
(plomo y cadmio) en agua, por Espectroscopía
de Absorción Atómica con Horno de Grafito

.....

Jorge Enrique Castillo Ayala
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-4320-0761

Capítulo III

Cuantificación de metales pesados (plomo y cadmio) en agua, por Espectroscopía de Absorción Atómica con Horno de Grafito

Jorge Enrique Castillo Ayala

Resumen. *Se presenta la validación de plomo y cadmio por espectroscopia de absorción atómica y atomización por horno de grafito como medio para la determinación de estos metales en el agua potable y cruda de un acueducto. Los parámetros evaluados fueron rango lineal (Plomo: 1.0 y 10.0 $\mu\text{g/L}$ y en el cadmio es de 0.1 a 2.0 $\mu\text{g/L}$), los límites de detección y cuantificación son de 0.3064 y 0.4759 $\mu\text{g/L}$ para el plomo y para el cadmio 0.0509 y 0.0814 $\mu\text{g/L}$ respectivamente, valores obtenidos con las curvas de calibración del método de los blancos. Se calculó la precisión del sistema mediante la repetitividad y la reproducibilidad, los cuales generaron RSD menores del 10%. La exactitud se calculó mediante el porcentaje de recuperación con muestras dopadas para el plomo de 2.5 y 8.0 $\mu\text{g/L}$ y para el cadmio con muestras dopadas de 0.4, 1.0 y 1.5 $\mu\text{g/L}$. Las aguas de acueducto no presentaron concentraciones de plomo y cadmio por fuera de la normatividad.*

Palabras clave: Validación, espectrofotometría, metales, agua potable

Summary: *The validation of lead and cadmium is presented by atomic absorption spectroscopy and atomization by graphite furnace as a means for the determination of these metals in drinking water and the crude of an aqueduct. The parameters evaluated were linear range (Lead: 1.0 and 10.0 $\mu\text{g/L}$ and in cadmium is 0.1 to 2.0 $\mu\text{g/L}$), detection and quantification limits are of 0.3064 and 0.4759 $\mu\text{g/L}$*

for lead and for cadmium 0.0509 and 0.0814 $\mu\text{g/L}$ respectively, the values corresponding to the calibration curves of the blanks method. The accuracy of the system was calculated by repeatability and reproducibility, which generated RSD less than 10%. The accuracy was calculated by the percentage of recovery with samples doped for lead of 2.5 and 8.0 $\mu\text{g/L}$ and for cadmium with doped samples of 0.4, 1.0 and 1.5 $\mu\text{g/L}$. The aqueduct waters are not published lead and cadmium outside the regulations.

Keywords: Validation, spectrophotometry, metals, drinking water

3.1. Introducción

Existen normas creadas a nivel nacional e internacional [1],[2] para garantizar la calidad del agua potable que va a ser distribuida a la población, sin que cause deterioro de la salud de los consumidores debido a la presencia de metales, pesticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos, entre otros [3],[7]. Para el cumplimiento de las normas es pertinente contar con métodos analíticos validados, especialmente aquellas empresas de servicio con avales de empresas acreditadoras; con esta trabajo se presentan los parámetros analíticos de evaluación permanente del contenido de los metales cadmio y plomo en el agua de entrada y salida del acueducto del municipio de Cerrito Valle del Cauca; esto garantiza que no se va a entregar a la población un producto con niveles superiores a lo permitido en estos metales y que el agua que es consumida por la población de este municipio cumple con los parámetros establecidos por la norma para el contenido de cadmio y plomo[1].

En el análisis de metales es reconocido el uso de la Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA), donde el átomo absorbe energía con la longitud de onda apropiada, pasa de la configuración más estable, de menor contenido energético, “estado fundamental” a un orbital menos estable o “estado excitado”; como este estado es inestable, el átomo inmediata y espontáneamente retornará a su configuración fundamental. El electrón por lo tanto regresará a su órbita inicial estable y emitirá energía radiante equivalente a la cantidad de energía inicialmente absorbida en el proceso de excitación. La longitud de onda de la energía radiante que se emite está directamente relacionada a la transición electrónica que se ha producido, puesto que un elemento dado tiene una estructura electrónica única que lo caracteriza; la longitud de onda de la luz emitida es una propiedad específica y característica de cada elemento. Como la configuración orbital de un átomo grande puede ser compleja, existen muchas transiciones electrónicas posibles y cada una de ellas resultará en la emisión de luz de una determinada longitud de onda. El proceso de excitación y decaimiento al estado fundamental es común a los tres campos de la espectroscopia atómica. Por esta razón, ya sea la energía absorbida en el proceso de excitación y la emitida en el proceso de decaimiento, puede ser medida y usada para propósitos analíticos [4].

La característica de interés en las medidas por absorción atómica es el monto de luz a las longitudes de onda resonante, que es absorbida cuando la luz pasa a través de una nube atómica. Conforme el número de átomos se incrementa en el paso de la luz, la cantidad de esta será absorbida y se incrementará en una forma predecible. Se puede efectuar una determinación cuantitativa del analito presente, midiendo la cantidad de luz absorbida. La nube de átomos requerida para las mediciones en absorción atómica es producida por la adición de suficiente energía térmica a la muestra para disociar los compuestos químicos en átomos libres. La aspiración de una solución de la muestra, dentro de una llama alineada con el rayo de luz sirve para este propósito. Bajo condiciones apropiadas de llama, muchos de los átomos permanecerán en la forma de su estado fundamental y serán capaces de absorber la luz de longitud de onda apropiada proveniente de una fuente de luz. La facilidad y velocidad a la cual se pueden hacer determinaciones exactas y precisas utilizando esta técnica, han hecho que la absorción atómica sea uno de los métodos más populares para la determinación de metales [5].

Una manera de mejorar los límites de detección de metales es la utilización del horno de grafito en la técnica de absorción atómica. La absorción de la señal en la espectroscopía de absorción atómica por llama es constante, esto significa que en tanto la muestra está siendo aspirada a la cámara del quemador, se mantiene constante la población de átomos y absorciones. En la absorción por horno de grafito se introduce una alícuota de la muestra que es totalmente consumida durante la atomización en pocos segundos. La señal de la absorción resultante es por consiguiente de naturaleza transitoria reflejando la rápida variación de la concentración de los átomos en el horno. La forma de señal tipo transitoria no es la única diferencia entre el horno y la llama. La extensión de la absorción de luz en la absorción atómica convencional está directamente relacionada a la concentración del analito en la solución que está siendo aspirada. A consecuencia de que la alícuota de muestra se consume totalmente en el horno de grafito a una velocidad que depende del volumen inicial de la muestra introducida, la cantidad de la luz absorbida depende solo de la cantidad total del analito contenido en la alícuota y no en la concentración. Generalmente, la altura del pico de absorción suministrara una indicación directa de la cantidad de analito presente en el horno. Un gráfico de la altura del pico versus peso del analito

producirá una relación que corresponde a una línea recta, la cual se desviará del comportamiento lineal a pesos altos en forma similar a la relación entre la absorbancia y la concentración en la absorción atómica por llama [6].

El tubo de grafito, que está alineado en el paso óptico del espectrofotómetro, es un cilindro de grafito abierto en sus dos extremos, con un pequeño orificio en el centro, a través del cual se introduce la muestra. El tubo es sostenido por dos anillos grandes de grafito, los cuales proporcionan el contacto eléctrico. El tubo de grafito actúa como una resistencia en un circuito eléctrico. Cuando se aplica un voltaje al tubo, la corriente que fluye causará un incremento de la temperatura en él. Controlando la cantidad de corriente que fluye, se puede regular la temperatura del tubo al nivel que se desee, hasta un máximo de 3000 °C. El sistema de grafito se mantiene refrigerado por medio de una cubierta enfriada por agua que circula a través del sistema y mantiene a nivel seguro la temperatura externa del horno, después de la atomización, el tubo de grafito se enfría rápidamente a la temperatura ambiente, estando listo para recibir la siguiente muestra [8].

El plomo y el cadmio con límites máximos permitidos en el agua potable de 0.1 y 0.003 ppm respectivamente [2], [7], son metales catalogados nocivos para la salud humana, razón por la cual no deben encontrarse presentes en ninguna red de distribución de agua potable. De ahí nace la importancia de cuantificar estos metales en agua cruda y potable, entre la utilización de métodos validados que garanticen unos resultados confiables. A continuación se presenta algunas aplicaciones e impactos en la salud de estos dos metales.

El plomo se usa principalmente en la producción de baterías que llevan ácido, soldadura y aleaciones. Se utilizó extensivamente como antidetonante en la gasolina, agentes lubricantes y pinturas; debido al uso decreciente, las concentraciones en el aire y alimentos y agua para beber están declinando. El plomo está raramente presente en el agua de los grifos como resultado de su disolución en las fuentes naturales; más bien, su presencia está principalmente ligada a las tuberías del agua que contengan plomo, soldaduras, montajes o las conexiones de servicio a casas. La cantidad de plomo disuelto en los sistemas depende de varios factores, incluso el pH, temperatura,

dureza del agua y tiempo de estancado del agua, agua suave, siendo el agua ácida el mayor solvente del plomo [1], [8], [12].

En los efectos en la salud, el plomo se bioacumula en el esqueleto, puede transferirse vía placenta, ocurre en los humanos tan temprano como se da la doceava semana de gestación y continúa desarrollándose. Los niños pequeños absorben de cuatro a cinco veces más plomo que los adultos y el tiempo biológico de vida puede ser considerablemente más largo en niños que en adultos. Con la inhibición de la actividad de la d-aminolaevulinic dihidratado (porphobilinogen synthase; es una de las mayores encimas envueltas en la biosíntesis de haem) en los niños se ha observado niveles de plomo en sangre tan bajos como 0,5mg/L aunque los efectos adversos no están asociados con inhibición a este nivel. El plomo también interfiere con el metabolismo del calcio interfiriendo con el metabolismo de la vitamina D. Estos efectos han sido observados en niños con un rango de nivel de plomo en sangre desde 12 hasta 12,0mg/L sin evidencia de un umbral. El plomo es tóxico tanto para el sistema nervioso central como periférico, induciendo a subencefalopatías neurológicas y efectos en el comportamiento. Hay evidencia electrofisiológica de efectos en los sistemas nerviosos de niños con niveles de plomo en sangre muy por debajo de los 3.0mg/L [1, 8, 7].

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC, siglas en inglés) ha clasificado el plomo en el Grupo 2B (posible carcinogénico humano). Sin embargo, hay evidencia en estudios en humanos que los efectos neurotóxicos adversos como el cáncer pueden ocurrir en muy bajas concentraciones de plomo y que una guía de valores derivados de esta base podría ser también preventiva para efectos carcinogénicos [1, 7].

El cadmio es usado en la industria del acero y del plástico y sus compuestos se usan al igual que el plomo en baterías. La principal fuente de cadmio en el ambiente en las aguas de desecho y la contaminación difusa es causada por la contaminación de fertilizantes y la contaminación local del aire. La contaminación del agua potable puede ser causada también por las impurezas en el cinc de las tuberías galvanizadas y de otras uniones metálicas. El alimento es la fuente principal de la exposición diaria al cadmio, su ingesta diaria puede

llegar entre 10 a 35 μg . El fumar es una fuente adicional significativa de la exposición al cadmio [1], [8],[9].

El cadmio se bioacumula primordialmente en los riñones y tiene una vida biológica media de 10 a 35 años en los humanos. Hay evidencia de que el cadmio es cancerígeno por la vía de inhalación; la IARC ha clasificado al cadmio en el Grupo 2 A. Sin embargo, no hay evidencia de que sea carcinogénico por vía oral ni tampoco hay evidencia de genotoxicidad del cadmio [9], [10], [11].

La concentración crítica de cadmio en la corteza renal que podría producir un 10% de prevalencia de proteinuria de bajo peso molecular en la población general es de 200 mg/kg y podría ser alcanzada después de una ingesta diaria de aproximadamente 175 μg por persona durante 50 años [1], [8],[7].

En 1963 los “Estándares internacionales para el agua de consumo” recomendaron una concentración máxima permitida de 0.01 mg/L. Este valor se mantuvo en los estándares internacionales de 1971 como un límite de concentración máxima, basado en la concentración que se podía medir convenientemente. En la primera edición de las “Guías para la calidad del agua de consumo” publicadas en 1984, se recomendó un valor guía de 0.005 mg/L. Este valor fue bajado a 0.003 mg/L en las Guías de 1993 [1], [8], [12].

En este trabajo, se describe el protocolo para la validación e implementación de la determinación sensible de plomo y cadmio por espectroscopia de absorción atómica, se establece el rango lineal, la curva de calibración, precisión del sistema, precisión intermedia, recuperación del método aspectos de gran importancia al validar un método analítico.

3.2. Metodología

3.2.1. Condiciones analíticas

Se aplicó las condiciones aconsejadas por el manual del equipo para determinar la temperatura de carbonizado y atomizado, los datos se reportan en la Tabla 3.1. Se escogieron las condiciones donde la absorbancia fue máxima.

Tabla 3.1. Programas de carbonizado y atomizado optimizados.

Metal	Programas		Valores óptimos
	Carbonizado	Atomizado	
Plomo	T ₀ =400 °C	T ₀ =900 °C	Carbonizado 450 °C Atomizado 1400 °C
	Incrementos de 50 °C	Incrementos de 100 °C	
	T _f = 800 °C	T _f = 1400 °C	
Cadmio	T ₀ =500 °C	T ₀ =700 °C	Carbonizado 550°C Atomizado 1000°C
	Incrementos de 50 °C	Incrementos de 100 °C	
	T _f = 800 °C	T _f = 1300 °C	

La Tabla 3.2 muestra los programas de temperatura utilizados en el horno de grafito para el análisis en agua cruda y agua potable de plomo y cadmio.

Tabla 3.2. Condiciones analíticas Instrumentales para Plomo y cadmio

Longitud de onda	Corrección de fondo	Modo de medida	Rendija	Corriente de lámpara	Número de muestras
Plomo: 217.0 nm Cadmio: 228.8 nm	D2	Absorbancia	0.5	75%	4
Fase	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Rampa (°C/s)	Gas tipo	Flujo de gas
1 (Secado)	100	30	10	2	0.2 l/min
2(Carbonizado)	Ver tabla 3.1	20	150	2	0.2 l/min
3 (Atomizado)	Ver tabla 3.1	3	0	2	Apagado
4 (Limpieza)	2900	3	0	2	0.2 l/min

Fuente: Elaboración propia

3.2.2. Preparación de los estándares

Con diluciones consecutivas de 1 en 10 ml de estándar de plomo y cadmio de 1000mg/L (Panreac), se preparó una solución con concentración de 10mg/L, que se utilizó para la línea de calibración del sistema.

Muestreo y preservación de muestras

Las muestras fueron tomadas en la entrada a la planta de tratamiento de agua potable del acueducto de Cerrito-Valle del Cauca, posteriormente se preservaron con ácido nítrico, adicionando 1mL

por cada litro de muestra según recomendación de Duffau, 2010 [13]. Las muestras de agua cruda y potable se filtraron y se acidularon con ácido nítrico al 0.1%, para ser analizadas en el equipo tal como reporta la literatura [14].

3.2.3. Diseño experimental

Los resultados de la absorbancia vs concentración se obtuvieron directamente del software del equipo despejando la absorbancia de la muestra de la ecuación de mínimos cuadrados:

$$Y=mx + b$$

Dónde:

- y= absorbancia de la muestra
- m= pendiente de la línea de calibración
- x= concentración en $\mu\text{g/L}$ del analito (Pb o Cd)
- b= intercepto
- r^2 = mínimo aceptable de 0.995

3.2.4. Línea de calibración del rango lineal

Se realizó preparando diez concentraciones distintas, con cuatro replicas, tomando como referencia la información de equipo.

- Rango lineal para plomo: 0.1 $\mu\text{g/L}$ hasta 1 $\mu\text{g/L}$
- Rango lineal para cadmio: 0.2 $\mu\text{g/L}$ hasta 20 $\mu\text{g/L}$

Líneas de calibración

A partir del patrón de 10 mgPb/L, se preparó y programó el software para realizar una línea de calibración de 1, 3, 5, 7, y 10 mgPb/L. En el caso del cadmio se partió de un patrón de 2 mgCd/L y se diseñó línea de calibración de 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, y 2.0 mg/L. Los patrones se midieron por triplicado.

3.2.5. Precisión del sistema

La repetibilidad instrumental se determinó midiendo la desviación estándar y el coeficiente de variación de la absorbancia de las réplicas del patrón de 7mg Pb/L y 1mg Cd/L¹⁴. La repetibilidad del método se analizó con una muestra dopada con 5mg Pb/L y 1mgCd/L haciendo diez réplicas. La precisión intermedia se estableció con las mismas condiciones para la muestra y el método en días diferentes, con analistas diferentes.

3.2.6. Recuperación del método

En la recuperación del método se prepararon tres muestras dopadas de patrones, en el caso de plomo fueron de 2, 5 y 8 mgPb/L y para el cadmio de 0.4, 1.0 y 1.5mg Cd/L, las cuales se leyeron por triplicado.

3.3. Discusión de resultados

3.3.1. Rango de linealidad

Determinación de rango de linealidad para plomo

La linealidad del método no fue evidenciable en el rango que se proyectó en el diseño experimental, los coeficientes de correlación (R^2) para las figuras 3.1 y 3.2 correspondiente a la respuesta de absorbancia vs la concentración de plomo y cadmio respectivamente se encuentran por debajo de 0.97. Se resalta que la correlación de respuesta para plomo fue mayor que la del cadmio, lo que indica que para las longitudes de onda de observación la pendiente para plomo será mayor.

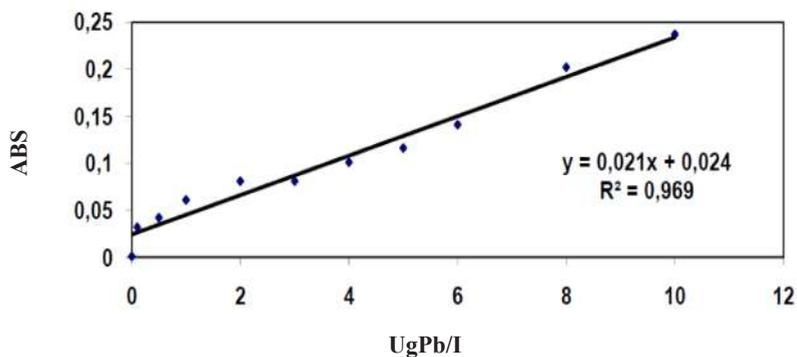


Figura 3.1. Determinación de la linealidad para plomo
Fuente: Elaboración propia

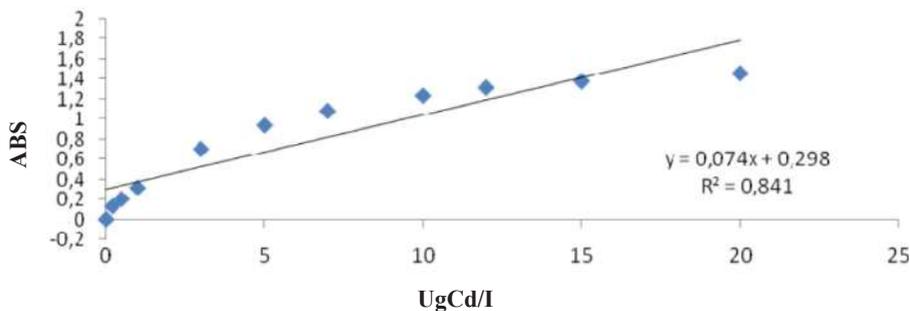


Figura 3.2. Determinación de la linealidad del Cadmio
Fuente: Elaboración propia

En la respuesta de la absorbancia vs concentración de cadmio se puede observar un rango lineal a concentraciones inferiores de $2\mu\text{g/L}$ y posterior atenuación de la señal, debida a saturación a concentraciones mayores de $5\mu\text{g/L}$.

Las respuestas de correlación entre la absorbancia y la concentración tanto para plomo como cadmio, sugieren que los rangos lineales para plomo se encuentren en la curva normal de linealidad entre 1.000 a 10.000 mg/L y entre 0.100 a 2.000 mg/L para cadmio y son evidenciados en las figuras 3.3 y 3.4.

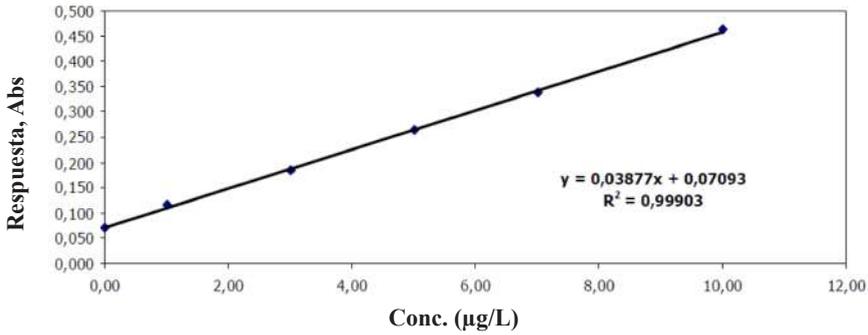


Figura 3.3. Linealidad para plomo
Fuente: Elaboración propia

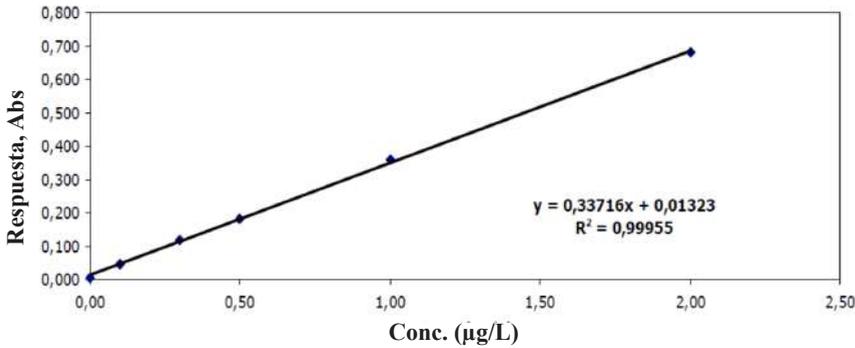


Figura 3.4. Linealidad del sistema del Cadmio
Fuente: Elaboración propia

3.3.2. Tratamiento estadístico para la linealidad del sistema en el método

El test de hipótesis para la pendiente, para la linealidad del sistema en el método es observable en la Tabla 3.3. Los criterios estadísticos establecen que la pendiente es diferente de cero, dado que el valor de $t_{\text{crítico}}$ encontrado en la literatura (2.1200) para dos colas y número de muestras igual a 18 es menor que el t_{exp} calculado (92.0365 para plomo y 118.9478 para cadmio). Es decir, la probabilidad que la pendiente sea diferente a cero es muy elevada, superior al 95%.

Tabla 3.3. Test de hipótesis para la pendiente

Parámetro estadístico	Plomo	Cadmio
b	0.0388	0.3372
S _b	0.000421	0.002835
t _{exp.}	92.0365	118.9478
t _{crítico} (p=0.05, n=18, n-2 gl)	2.1200	
Conclusión	t _{exp.} > t _{crítico} La pendiente es significativamente diferente de cero.	

Fuente: Elaboración propia

3.3.3. Límite de confianza para la pendiente “b”

Los límites de confianza para la pendiente de las curva de linealización de plomo y cadmio se encuentran consignados en la Tabla 3.4. Siendo t el valor de distribución de student para n-2 grados de libertad, a una probabilidad de 0.05, se calcula que el intervalo de confianza para la pendiente de plomo oscila entre 0.0386 y 0.0390 y para cromo 0.0336 y 0.3386.

Tabla 3.4. Límite de confianza para la pendiente “b”

Parámetro estadístico	Plomo		Cadmio	
b	0.0388		0.3372	
S _b	0.000421		0.002835	
t _{teórico} (p=0.05, n=18, n-2gl)	2.1200			
Límites de confianza para la pendiente	0.0386	0.0390	0.0336	0.3386

Fuente: Elaboración propia

3.3.4. Test de hipótesis para el intercepto

De manera análoga a los resultados obtenidos en la pendiente, la evaluación del estadístico t, indican que la probabilidad de que el intercepto “a” sea igual a cero es significativamente improbable tanto para las curvas de plomo y cadmio. Los valores del estudio estadístico se encuentran reportados en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5. Test de hipótesis para el intercepto

Parámetro estadístico	Plomo	Cadmio
a	0.07093	0.01323
S_a	0.00135	0.00155
$t_{exp.}$	52.66137	8.56268
$t_{teórico} (p=0.05, n=18, n-2gl)$	2.1200	
Conclusión	$t_{exp} > t_{crit.}$ Por lo tanto, el intercepto no pasa por cero	

Fuente: Elaboración propia

3.3.5. Límite de confianza para el intercepto “a”

El estudio estadístico para determinar los límites de confianza para el intercepto a sin incluir el cero están consignados en la Tabla 3.6. Los intervalos de confianza para plomo esta entre 0.07026 y 0.07160 mg/L y para cadmio se encuentran entre 0.01246 y 0.01400 mg/L.

Tabla 3.6. Límite de confianza para el intercepto “a”

Parámetro estadístico	Plomo		Cadmio	
a	0.07093		0.01323	
S_a	0.00135		0.00155	
$t_{crítico} (p=0.05, n=18, n-2gl)$	2.1200			
Límites de confianza para el intercepto	0.07026	0.07160	0.01246	0.01400

Fuente: Elaboración propia

3.3.6. Test de hipótesis para “r”

Este indicador estadístico permite establecer la correlación entre las variables de la concentración de los iones metálicos como variable independiente X vs la señal del equipo Y (abs) como variable dependiente. El estadístico asume la hipótesis nula de no correlación entre X y Y . En la Tabla 3.7 se presenta el cálculo de verificación de la prueba t para correlación, dado que los valores de t_{exp} con respecto a r para la linealidad de los dos metales es mayor que $t_{crítico}$ se rechaza la hipótesis, y se acepta correlación lineal significativa con probabilidad de $P=0.05$ tanto para plomo como para cadmio.

Tabla 3.7. Test de hipótesis para “r”

Parámetro estadístico	Plomo	Cadmio
r	0.9995	0.9998
r^2	0.9990	0.9995
$t_{exp.}$	128.4695	188.0521
$t_{teórico} (p=0.05, n=18, n-2gl)$	2.1200	
Conclusión	$t_{exp} > t_{crit.}$ Hay correlación entre la concentración y la respuesta.	

Fuente: Elaboración propia

A manera de resumen, los resultados del tratamiento estadístico para el intercepto, la pendiente, y la correlación existente entre la concentración y la respuesta (que evalúa la linealidad), en el sistema espectrofotométrico en estudio, el análisis por absorción atómica de plomo y cadmio por horno de grafito, presenta un comportamiento lineal con un coeficiente de correlación de 0,9995 para plomo en el intervalo de concentraciones de 1.000 a 10.000 mg/L y de 0,9998 para cadmio en el intervalo de concentraciones de 0.100 a 2.000 mg/L.

3.3.7. Límite de detección

El límite de detección y cuantificación se hallaron por el método de los blancos, consistente en realizar la lectura de diez blancos, calcular la desviación estándar y multiplicarla por tres (en el caso de límite de detección) o multiplicarla por diez (en el límite de cuantificación), y despejar de la ecuación de la recta.

Tabla 3.8. Determinación de desviación estándar de blancos

Blanco	Número	Concentración (µg/L)	Absorbancia plomo	Absorbancia cadmio
Blanco 1	1	0.000	0.079	0.027
	2	0.000	0.088	0.026
	3	0.000	0.078	0.025
	4	0.000	0.080	0.026
Blanco 2	1	0.000	0.088	0.029
	2	0.000	0.083	0.027
	3	0.000	0.094	0.026
	4	0.000	0.087	0.028
Blanco 3	1	0.000	0.066	0.024
	2	0.000	0.079	0.024
	3	0.000	0.070	0.026
	4	0.000	0.063	0.026
Promedio:			0.080	0.026
Desviación estándar:			9.394×10^{-4}	1.467×10^{-3}

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.9. Límite de detección y cuantificación

Parámetro estadístico	Plomo	Cadmio
Pendiente	0.0388	0.3372
Intercepto	0.07093	0.01323
Límite de detección obtenido (µg/L)	0.3064	0.0509
Límite de cuantificación (µg/L)	0.4759	0.0814
Límite máximo permitido en aguas* (µg/L)	100.0	3.0
Ecuación de la línea de calibración	$Y = 0.0388X + 0.07093$	$Y = 0.3372X + 0.01323$

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 3.8 establece que las lecturas del blanco para plomo tienen un valor de 0.080 µg/L con una desviación estándar de 9.394×10^{-4} ; muestra que el cadmio presenta una concentración promedio de blanco de 0.026 µg/L con una desviación de 1.467×10^{-3} . Estos valores son insumo para la determinación de los límites de cuantificación y detección reportados en la Tabla 3.9. Los resultados establecen que el límite de detección y cuantificación para plomo son de 0.3064 y 0.4759 µg/L respectivamente; y que el cadmio por este método presenta límites de detección y cuantificaciones menores que el plomo, correspondientes a 0.0509 y 0.0814 µg/L. Ambos límites de cuantificación superan ampliamente los valores establecidos por la normatividad.

3.3.8. Precisión

La repetibilidad instrumental establecida mediante el grado de precisión obtenido en el sistema evaluado para cadmio y para plomo visible en la Tabla 3.10, con valores de %RSD menores al 2%, demuestra un alto grado de confiabilidad y equilibrio en el correcto funcionamiento instrumental del sistema de espectrofotometría de absorción atómica empleado horno de grafito para el análisis de estos metales.

Tabla 3.10. Repetibilidad instrumental

Lectura	Precisión	
	Absorbancia plomo	Absorbancia cadmio
1	0.358	0.338
2	0.353	0.334
3	0.345	0.331
4	0.349	0.340
Promedio	0.3513	0.3358
Desviación estándar	0.0056	0.0040
%RSD	1,5830	1,2006

Fuente: Elaboración propia

La repetibilidad del método evaluada para diez muestras de concentración nula de plomo dopadas con concentraciones teóricas de plomo de 5.0000 µg/L (Tabla 3.11) muestra que las respuestas tienen un comportamiento aleatorio al valor esperado y presentan un promedio de 5.299 µg/L con una desviación estándar de 0.514 y un %RSD de 9.699, lo que sugiere que los métodos de extracción no son repetibles al 95% de confianza, pero que la distribución es dada al azar. Por otro lado, el cadmio presentó mejor desempeño en este análisis, datos para diez muestras de concentración inicial de 0.020 µg/L y dopadas concentración teórica de 1.0199 µg/L, muestran un promedio de 1.0787 µg/L con %RSD de 0.567.

Tabla 3.11. Repetibilidad del método

Muestra	% Recuperación Plomo	Plomo* (µg/L)	% Recuperación Cadmio	Cadmio* (µg/L)
100-1	113.414	5.671	118.104	1.205
100-2	92.868	4.643	105.896	1.080
100-3	95.616	4.781	99.258	1.012
100-4	97.484	4.874	109.857	1.120
100-5	102.130	5.107	101.453	1.035
100-6	101.712	5.086	106.279	1.084
100-7	111.112	5.556	101.288	1.033
100-8	108.588	5.429	102.759	1.048
100-9	103.370	5.169	99.150	1.011
100-10	112.996	5.650	101.356	1.034
Promedio	103,929	5,197	104,540	1,066
Desviación estándar	7,356	0,368	5,845	0,060
%RSD	7,077	7,079	5,591	5,601

* Concentración experimental
 Concentración teórica plomo 5.0000 µg/L,
 Concentración muestra para plomo 0.0000 µg/L
 Concentración teórica Cadmio 1.0199 µg/L,
 Concentración muestra para cadmio 0.0199 µg/L

Fuente: Elaboración propia

Recuperación del método para plomo y cadmio

Según resultados de las tablas 3.11, 3.12 y 3.13 para el análisis de recuperación de plomo y cadmio, y datos estadísticos obtenidos, se demuestra que el método para la valoración de plomo y cadmio presenta un porcentaje de recuperación cercano al 100%, es decir, es un método exacto y la variabilidad que puede presentarse en los resultados analíticos obtenidos no se ve influenciada por la concentración, dentro del intervalo analizado.

Tabla 3.12. Recuperación del método para plomo

Muestra	Concentración experimental (µg/L)	Concentración adicionada (µg/L)	Porcentaje recuperación	Promedio	S	%RSD
1	1.919	2.000	95.925	103.088	9.253	8.976
	1.996	2.000	88.0805			
	2.271	2.000	113.535			
2	5.185	5.000	103.698	111.747	9.700	8.680
	6.126	5.000	122.516			
	5.451	5.000	109.026			
3	8.023	8.000	100.290	98.028	6.801	6.937
	8.273	8.000	103.410			
	7.231	8.000	90.385			

Concentración de plomo en muestra 0.0000 µg/L

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.13. Recuperación del método para cadmio

Muestra	Concentración experimental (µg/L)	Concentración adicionada (µg/L)	Porcentaje recuperación	Promedio	S	%RSD
1	0.421	0.420	100.151	100.508	0.619	0.616
	0.425	0.420	100.151			
	0.421	0.420	101.223			
2	1.032	1.020	101.170	100.997	0.434	0.429
	1.033	1.020	101.317			
	1.025	1.020	100.503			
3	1.508	1.520	99.199	99.169	0.102	0.103
	1.506	1.520	99.055			
	1.509	1.520	99.252			

Concentración de cadmio en muestra 0.0200 µg/L

Fuente: Elaboración propia

De las tablas 3.12 y 3.13 se resalta que el plomo y el cadmio mejoran las desviaciones estándar en la recuperación a medida que se incrementa la concentración en la muestra, lo que indica que el método de extracción puede mejorarse en un futuro estudio.

Las muestras de agua analizadas por el método validado presentaron resultados satisfactorios al no detectar la presencia de plomo y cadmio. Dado que los valores de límites de detección y cuantificación están por debajo de los valores esperados por la normatividad se puede decir con certeza que las muestras cumplen los lineamientos de calidad exigidos.

Se han realizado varios estudios de contenido de metales pesados en especial en el río Cauca en donde se han encontrado metales como Hg, Pb, Cd, Cr, en cantidades considerables, reportados en concentraciones totales [15]; la gobernación del Valle ha realizado estudios en los acueductos de los municipios, empero, estos están más dirigidos a evaluación de contenidos microbianos que a la evaluación del contenido de metales pesados [16].

3.4. Conclusión

El método de validación para la determinación sensible de plomo y cadmio para aguas potables por espectroscopía de absorción atómica y atomizador de horno de grafito, permitió obtener rangos lineales para plomo entre 1 y 10 $\mu\text{g/L}$ y para cadmio entre 0.1 y 2.0 $\mu\text{g/L}$. Límites de detección encontrados mediante el método de los blancos para los metales antes mencionados, dan respuesta a los controles normativos (plomo: LD=0.3064 $\mu\text{g/L}$, LC= 0.4759 $\mu\text{g/L}$; cadmio: LD= 0.0509 $\mu\text{g/L}$ y LC= 0.0814 $\mu\text{g/L}$). Los ensayos de precisión (precisión intermedia repetibilidad, reproducibilidad) están por debajo de los valores máximos permitidos por los protocolos de validación de técnicas analíticas. El método de validación hizo aportes en las mediciones de muestras analizadas de agua cruda y tratada de una planta de acueducto, las cuales, no presentaron positivos para estos metales.

3.5. Bibliografía

- [1]. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (13 de Junio de 2014).
http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/resoluciones/2014/res_879_jun_2014.pdf
- [2]. Md. Simul, B., et al. 2017. Heavy metal contamination in surface water and sediment of the Meghna River, Bangladesh. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 8, 273–279.
- [3]. Dipak, P. 2017. Research on heavy metal pollution of river Ganga: A review. *Annals of Agrarian Science*. 15, 278–5 286.
- [4]. Qifan, Z., et al., 2018. Distribution, source and pollution level of heavy metals in river sediments from South China. *Catena*. 170, 386–396.
- [5]. Lian. C., et al., 2018. Heavy metals in food crops, soil, and water in the Lihe River Watershed of the Taihu Region and their potential health risks when ingested. *Science of the Total Environment*. 615, 141–149.
- [6]. Fang X., et al., 2018. Distribution and source analysis of heavy metal pollutants in sediments of a rapid developing urban river system. *Chemosphere* 207, 218–228.
- [7]. Stanley, E. *Introducción a la química ambiental*. Barcelona: Editorial Reverté S.A. 2007.
- [8]. Zhujie, C., et al., 2019. Quantitative evaluation of heavy metals pollution hazards and estimation of heavy metals environmental costs in leachate during food waste composting. *Waste Management*. 84, 119–128.
- [9]. Leom, A., et al., 2017. The influence of heavy metals on toxicogenetic damage in a brazilian tropical river. *Chemosphere*. 185, 852–8

- [10]. Hassan, M. 2017. Preliminary evaluation of heavy metal contamination in the Zarrin-Gol River sediments. Iran. *Marine Pollution Bulletin*. 117, 547–553.
- [11]. Reyes, Y., 2016. Contaminación por metales pesados Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería, Investigación y Desarrollo*. 16, 66–77.
- [12]. Jiménez, E. 2011. La conciencia ciudadana en el manejo de las cuencas hidrográficas en Cali-Colombia. *Ingeniería de Recursos Naturales*. 5. 28 – 234.
- [13]. Duffau, B. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos. Instituto de Salud Pública. Chile. 2010.
- [14]. Amin N.U., et al. 2013. Accumulation of heavy metals in edible parts of vegetables irrigated with waste water and their daily intake to adults and children, District Mardan, Pakistan. *Food Chem*. 136, 1515–1523.
- [15]. Sánchez R. “Determinación de la contaminación por metales pesados (plomo, cromo, cadmio y mercurio) en aguas del río Cauca, en la zona urbana de la ciudad de Cali y evaluación de la mutagenicidad utilizando el test de Ames”. Tesis de Maestría. Universidad del Valle. 2014.
- [16] Acosta, A. Silva, J. “Análisis del índice de riesgo de la calidad de agua para consumo humano-IRCA y su relación con las variables meteorológicas (Precipitación y Temperatura) y la ubicación geográfica para el departamento del Valle del Cauca en el periodo 2012-2013”. Tesis de grado Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Universidad de la Salle. Bogotá. 2016.

Capítulo IV

Validación del método de análisis (4500 NO₃-B) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta

.....

Jhon Jairo Rios Acevedo
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-9972-4591

Carolina Castillo Suárez
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-9459-3032

Jhonny Randall Manzano Lozano
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-8172-2467

Capítulo IV

Validación del método de análisis (4500 NO₃-B) “screening”, para la determinación de nitratos en agua potable mediante la técnica de espectroscopia ultravioleta

Jhon Jairo Rios Acevedo
Carolina Castillo Suárez
Jhonny Randall Manzano Lozano

Resumen. *Se validó el método de espectroscopia UV para la determinación de nitratos en muestras de agua potable para consumo humano. Se realizó la evaluación del rango lineal encontrándose que la expectativa de determinar este analito se encuentra entre 0.5 y 10.0 mg/L con un coeficiente de correlación (r) de 0.9997 a una longitud de onda de 220nm. La cantidad mínima detectable y cuantificable en las condiciones analíticas desarrolladas bajo este método son de 1.26 y 1.33 mgNO₃/L respectivamente. En la precisión se encontró un coeficiente de variación para la repetibilidad en muestras adicionadas a niveles bajos y altos entre 0.17%-0.21 % y 0.14%-0.25% respectivamente y para la reproducibilidad se encontró un coeficiente de variación en muestras adicionadas a niveles bajos y altos entre 0.20%-0.26 % y 0.26%-0.30% correspondientemente. Los porcentajes de recuperación del analito estuvieron entre el 101.0% y 105.2%.*

Palabras clave: espectroscopia UV-Vis, trazabilidad, validación.

Abstract. *The method UV spectroscopy was validated for the determination of nitrate in drinking water samples for human consumption. Evaluation was made linear range was found that the expectation determine analyte is between 0.5 and 10.0 mg/L with a correlation coefficient (r) of 0.9997 at a wavelength 220 nm. The*

minimum detectable and quantifiable analytical conditions developed under this method are 1.26 and 1.33 mgNO₃⁻/L respectively. The accuracy was found a coefficient of variation for repeatability in spiked samples at low and high levels between 0.17%-0.21 % and 0.14%-0.25 % respectively and for reproducibility coefficient was found variation in spiked samples at low and high levels between 0.20%-0.26 % and 0.26%-0.30 % respectively. The analyte recoveries were between 101.0 % and 105.2 %.

Keywords: UV-Vis spectroscopy, traceability, validation.

4.1. Introducción

La calidad de vida de todos los seres del planeta está íntimamente ligada a la calidad y cantidad disponible de agua. En Colombia, no obstante a su altísimo potencial hídrico, aún hoy, es escaso para muchas poblaciones, otras no disponen de ella en la cantidad y calidad adecuadas, debido a un manejo inadecuado del recurso, unido a un insuficiente control de su contaminación.

Si bien, la solución a esta problemática exige políticas de manejo y conservación de los recursos en general y particularmente del agua, junto con políticas económicas, sociales y educativas bien diseñadas, se demanda inevitablemente de investigación científica que aporte explicaciones a los problemas ambientales, plantee alternativas de solución a los mismos y metodologías de seguimiento y control. En este sentido, el desarrollo de técnicas de análisis fisicoquímico de aguas constituye una herramienta de alta relevancia.

Una de las causas de degradación de los cuerpos de agua es el vertimiento de aguas residuales sin un adecuado tratamiento previo; con estos se aportan entre otros contaminantes, altas cargas de compuestos de nitrógeno en sus diversas formas: nitritos, nitratos, nitrógeno orgánico, nitrógeno gaseoso disuelto y nitrógeno amoniacal, principalmente de las aguas residuales domésticas, de uso agrícola y de algunos sectores industriales como el de procesamiento de carnes y de leche [1].

La determinación de los nitratos en aguas potables para consumo humano es significativo, concentraciones de nitrógeno que sobrepasan los 10 ppm pueden causar una enfermedad infantil conocida como metahemoglobinemia o “síndrome del bebé azul”. En infantes o en fetos, una mayor proporción de hemoglobina se convierte más fácilmente en metahemoglobina, generando trastornos en el transporte de oxígeno en sangre [2, 3].

Por otra parte, los nitratos así como los fosfatos, constituyen parte de los nutrientes esenciales para muchos organismos autótrofos o fotosintéticos; concentraciones altas pueden causar eutrofización o crecimiento desmedido de algunas especies vegetales, tales como el buchón de agua, que cubren con un manto vegetal la superficie

del agua, impidiendo de esta forma la oxigenación natural de ríos y lagos [4, 5].

Los nitratos y el amonio, constituyen indicadores apropiados de aguas residuales domésticas. Los primeros, son típicos de las aguas residuales domésticas frescas y son móviles y estables en condiciones aeróbicas, mientras que el segundo, aunque es también típico de aguas residuales frescas, se evapora con facilidad y/o se absorbe fácilmente en el subsuelo [6], [7].

Implementar sistemas de aseguramiento de calidad, con métodos analíticos validados para especies nitrogenadas, permite avalar el cumplimiento a las especificaciones y atributos de calidad del agua [8]. En este estudio se validó e implementó un sistema de aseguramiento de calidad para nitratos en muestras de aguas potables por el método de análisis ($4500 \text{ NO}_3\text{-B}$) *screening* por espectrofotometría ultravioleta, permitiendo avalar el cumplimiento a las especificaciones y atributos de calidad del agua del corregimiento Paso de la Bolsa, perteneciente al municipio de Jamundí, Valle del Cauca.

4.2. Metodología

El proceso se llevó a cabo contemplando la norma oficial recomendada de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales [8]. La muestra se pasó a través de un papel filtro (Whatman No. 1) de 150 mm para eliminar las posibles interferencias de las partículas en suspensión, luego se acidificó con ácido clorhídrico 1.0 N, como inhibidor de interferencias de hidróxido o carbonato hasta $1000 \text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$, seguido de agitación vigorosa.

4.2.1. Equipos

Las mediciones de masa se realizaron en balanza analítica Metter Toledo (serie: 1120413608; modelo: AB 204s), las absorbancias experimentales se obtuvieron en espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific (serie: 2L6P354001; modelo: G10s UV-VIS; precisión fotométrica ± 0.005 unidades de absorbancia), todas las soluciones se prepararon con agua tipo I, obtenidas de un sistema de purificación de agua (Milli-Q. serie: B8JM23840-E; modelo: Academic / Osmosis Inversa. Serie: F8NN17319-F; modelo: Elix 5)

4.2.2 Reactivos

En la siguiente tabla se relaciona los reactivos utilizados y su trazabilidad.

Tabla 4.1. Trazabilidad de los reactivos empleados.

Reactivo	Concentración y/o Pureza	Código	Marca/Lote	Trazabilidad
Estándar de nitrato	1000 mg/L NO ₃ ⁻	1.19811.0500	MERCK HC086318	SRM desde NIST NaNO ₃ en H ₂ O 1000 mg/L NO ₃ ⁻ <u>CertiPUR</u>
<u>Ftalato</u> ácido de potasio	99.55 %	471865	Carlo Erba 7L263058E	No aplica

Fuente: Elaboración propia

4.2.3. Preparación de los reactivos

- Ácido clorhídrico 1.0 N: usando agua tipo I se disolvió 88.49 mL de ácido clorhídrico al 37% a 1L.
- Solución intermedia de 100 mg NO₃⁻/L y solución intermedia de 10 mg NO₃⁻/L: Se obtuvieron por dilución del estándar de NO₃⁻ de 1000 mg NO₃⁻/L.
- Ftalato ácido de potasio 500 mg/L: Se pesó 0.0251g de Ftalato ácido de potasio al 99.55% y se enrazó a 50 mL con agua tipo I.

4.2.4. Muestras

Las aguas potables analizadas fueron obtenidas en el corregimiento Paso de la Bolsa, perteneciente al municipio de Jamundí, Valle del Cauca. El proceso se llevó a cabo contemplando la norma oficial recomendada de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. El tratamiento de la muestra consistió en filtrar la muestra a través de un papel filtro Whatman No. 1 de 150 mm para eliminar las posibles interferencias de las partículas en suspensión, luego se acidificó con ácido clorhídrico 1.0N, de esta manera se evita la existencia de interferencias de concentraciones de hidróxido

o carbonato hasta 1000mg CaCO₃ L⁻¹, después se agitó vigorosamente. Seguidamente las muestras fueron analizadas.

4.2.5 Diseño experimental.

La Tabla 4.2 muestra el diseño experimental realizado:

Tabla 4.2. Cantidad de soluciones en el diseño experimental.

Tamaño de muestras	Número de lotes	Soluciones por lote	Réplicas por lote	Preparación
21	3	7	3	Diaria

Fuente: Elaboración propia

Determinación del rango lineal

Para la determinación del rango lineal se estimaron cuatro niveles de calibración, rangos bajo, medio, alto y lineal; las concentraciones de nitratos (NO₃⁻) utilizados son observables en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Cantidad de soluciones en el diseño experimental.

Concentración (mg NO ₃ ⁻ /L)	Rango
0.5 - 2.0	Bajo
2.0 - 6.0	Medio
6.0 - 10.0	Alto
0.5 - 10.0	Lineal

Fuente: Elaboración propia

Límite de detección y cuantificación

El límite de detección y cuantificación del instrumento se calculó a partir de la pendiente de la curva de calibración de rango lineal y de la desviación estándar de las determinaciones de los blancos obtenidas a través del proceso experimental [9].

El cálculo del límite de detección consideró las siguientes ecuaciones:

$$LD = k \frac{S_B}{b}, \quad k = 3 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$LD = \frac{p+3q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 2}$$

El cálculo del límite de cuantificación se estableció aplicando las siguientes ecuaciones:

$$LC = k \frac{S_B}{b}, \quad k = 10 \quad \text{Ecuación 3}$$

$$LC = \frac{p+10q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Interferencias de matriz.

Se construyeron curvas de calibración regular y de adición de estándar, en rangos de concentraciones entre 0,5-10,0 y 0,0-10,0 mg NO₃⁻/L respectivamente, datos por triplicado para cada nivel. Además, se determinó la concentración de nitratos de una muestra de agua potable por ambas curvas, realizando tres determinaciones.

Precisión.

La precisión del instrumento y del analista se determinaron por repetibilidad y por reproducibilidad (analistas) de las determinaciones con un mismo instrumento por medio de un ANOVA con lo cual se estableció la componente sistemática de la varianza y la componente por reproducibilidad [10, 11].

La repetibilidad que describe la variabilidad de las mediciones dentro de rachas y la reproducibilidad que refiere la variabilidad de las mediciones entre rachas representada por la suma de las dos componentes:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 \quad \text{Ecuación 5}$$

Se utilizó para evidenciar la existencia de posibles errores y su respectiva contribución [10, 11].

$$S_L^2 = \frac{s_R^2 - s_b^2}{-n} \quad \text{Ecuación 6}$$

Exactitud

La exactitud se evaluó mediante la recuperación en una muestra natural dopada. Para ello se realizaron dos adiciones con el 30% y el 80% respectivamente de la concentración promedio de nitratos de la muestra natural. Los valores aceptados de recuperación, como criterio de validación, fueron entre 90% y 120%.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1 Linealidad.

La respuesta de la señal (Abs) proporcionada por el instrumento para las concentraciones de nitratos (NO_3^-) entre los rangos bajo, medio, alto y lineal establecidos en la Tabla 4.3 se ajustan al modelo lineal, confirmado con los coeficientes de correlación y de determinación como medidas descriptivas (Tabla 4.4).

Las figuras 4.1, 4.2, 4.3 exhiben gráficamente la respuesta de la asociación entre la concentración en $\text{mg NO}_3^-/\text{L}$ y la respuesta del instrumento en unidades de absorbancia, para los rangos bajo, medio y alto respectivamente.

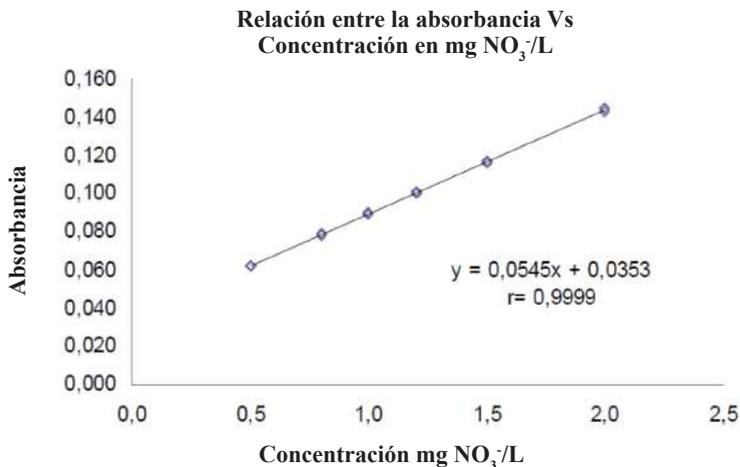


Figura 4.1. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango bajo.

Fuente: Elaboración propia

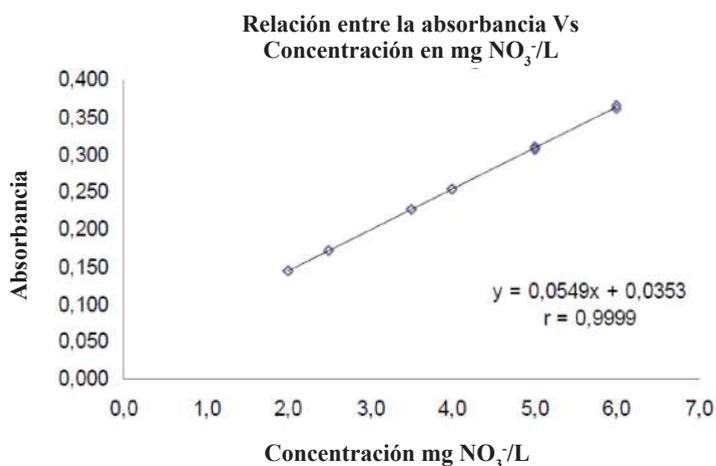


Figura 4.2. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango medio.
Fuente: Elaboración propia

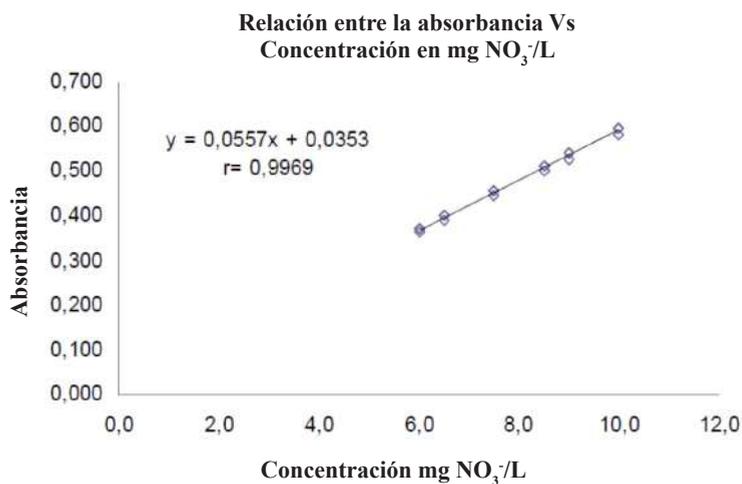


Figura 4.3. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango alto.
Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.4, corresponde a la representación gráfica del rango lineal de la asociación entre 0,5 y 10 mg NO₃/L con la respuesta del instrumento en unidades de absorbancia.

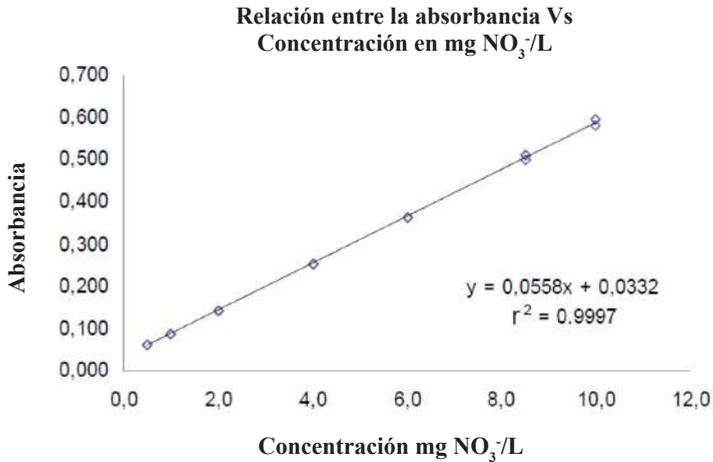


Figura 4.4. Curva de calibración de absorbancia contra la concentración para el estudio de la linealidad del método en el rango lineal.

Fuente: Elaboración propia

Los valores hallados de la pendiente, el intercepto con sus respectivas desviaciones estándar, el coeficiente de determinación, el coeficiente de correlación y la desviación estándar de la regresión, describen que existe una adecuada relación causa-efecto según los resultados experimentales.

Tabla 4.4. Parámetros de regresión lineal para las rectas de calibración

Parámetros	Estimado			
	RB	RM	RA	RL
Ecuación de la recta de calibración	Y=0,0545x+0,0353	Y=0,0549x+0,0353	Y=0,0557x+0,0353	Y=0,0546x+0,0353
Pendiente (b)	0,05447 ± 0,00017	0,05490 ± 0,00016	0,05566 ± 0,00109	0,05576 ± 0,00027
Intercepto (a)	0,03530 ± 0,00022	0,03530 ± 0,00065	0,03534 ± 0,000879	0,03316 ± 0,00157
Coefficiente de determinación (r ²)	0,9998	0,9998	0,9939	0,9995
Coefficiente de correlación	0,9999	0,9999	0,9969	0,9997
Desviación estándar de la regresión (S _x)	0,0003518	0,0009331	0,0064804	0,0043374

RB: Rango Bajo, RM Rango Medio, RA: Rango alto, RL: Rango Lineal

Fuente: Elaboración propia

Coefficiente de correlación momento-producto de Pearson

La medición del grado en que dos (o más) variables varían conjuntamente es materia del análisis de correlación, la medida relativa de la bondad del ajuste es el coeficiente de determinación, r^2 , en relación con la regresión entre Y y X [14].

En los análisis realizados, el coeficiente de correlación entre la asociación lineal existente entre la absorbancia a 220 nm (Y) y la concentración de nitratos X fueron altas, cercanas a uno (1). Los valores de los coeficientes de correlación para los rangos bajo, medio, alto y lineal fueron 0.9999; 0.9999; 0.9969 y 0.9997 respectivamente, correspondientes a correlaciones positivas que coinciden con el tipo de pendientes obtenidas que establecen incremento de la concentración de nitratos con el aumento la absorbancia detectada por el equipo. Los valores de correlación experimentales superan el coeficiente de correlación $r=0.9950$ establecido por los métodos normalizados para análisis de aguas y aguas residuales como criterio de aceptación para los procedimientos de calibración.

Coefficiente de determinación.

Los valores de los coeficientes de determinación, r^2 , para los rangos bajo, medio, alto y lineal fueron 0.9998, 0.9998, 0.9939 y 0.9995 muy cercanos a uno (1) indican la poca diferencia entre los puntos de calibración y el promedio de las observaciones lo que significa que los puntos de calibración se ajustan perfectamente a la recta de regresión. Además, se denota que la variable de concentración de nitratos atribuye el 99.98%, 99.98%, 99.39% y 99.95% respectivamente de su asociación lineal con la absorbancia a 220 nm.

Desviación estándar de la regresión (S_R).

La variabilidad de las regresiones lineales ajustadas para los rangos bajo, medio, alto y lineal y fueron de 0.0003518, 0.0009331, 0.0064804 y 0.0043374 mg NO_3^-/L respectivamente. Estos valores muestran poca dispersión de los valores experimentales con respecto a los datos ajustados que describen cada una de las rectas de regresión, indicando que la diferencia entre los valores experimentales y predichos es muy baja.

Análisis de varianza.

Las causas de variabilidad de la variable *Y* se deben a la relación lineal (regresión) y a la resultante de la variabilidad experimental (error). El análisis de varianza corresponde a la significancia del ajuste, separando estas dos causas, y su incidencia sobre la variable dependiente *Y* reportada en la Tabla 4.5. Las variabilidades totales de la variable dependiente *Y*, en el rango bajo, absorbancia de nitratos son de 0.01258044 atribuible en 0.01257846 (99.99%) a la asociación lineal entre *X* e *Y*, y a la variación aleatoria o error en 1.97987×10^{-6} (0.015%); no dista de los datos encontrados en el rango medio con 99.9% de asociación y 0.014% error; y el rango lineal con 99.97% y 0.046%. Sin embargo, en rango alto se encontró alta asociación lineal de 99.69% pero con un error mayor del 0.61%. En general, la mayor parte de la variabilidad de *Y* se explica por la regresión, más que por el efecto aleatorio, por lo tanto el supuesto de regresión lineal es razonable.

La comprobación de la certeza de las causas de variabilidades mediante prueba de hipótesis (Tabla 4.5) con un nivel de significancia del 5%, establecen valores *F* experimentales mayores que los valores críticos para todos los rangos bajo, medio, alto y lineal, atribuyendo que la fuente principal de la probabilidad son las asociaciones lineales entre las variables con muy baja contribución al azar, el cual es menor al nivel de significación de α para dos colas (0.025).

Tabla 4.5. Resultado del ANOVA para las curvas de calibración para los rangos bajo, medio, alto y lineal.

		Coefficientes	Error típico	t *	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
RB	a	0,0353	0,00022	163,528	$3,21 \times 10^{-27}$	0,03484	0,03576
	b	0,05447	0,00017	318,827	$7,39 \times 10^{-32}$	0,05410	0,05483
RM	a	0,0353	0,00065	54,1705	$1,47 \times 10^{-19}$	0,03392	0,03668
	b	0,0549	0,00016	343,081	$2,29 \times 10^{-32}$	0,05456	0,05524
RA	a	0,0353	0,00877	4,02311	0,00098	0,01670	0,05390
	b	0,05567	0,00109	51,0015	$3,84 \times 10^{-19}$	0,05335	0,05798
RL	a	0,03316	0,00157	21,0965	$1,20 \times 10^{-14}$	0,02987	0,03645
	b	0,05576	0,00027	203,133	$3,59 \times 10^{-33}$	0,05519	0,05634

RB: Rango Bajo, RM Rango Medio, RA: Rango alto, RL: Rango Lineal

Fuente: Elaboración propia

Pruebas de hipótesis

La Tabla 4.6 muestra la prueba de hipótesis con un nivel de significación del 5% y planteando la hipótesis nula: No existe asociación lineal entre las variables de absorbancia y concentraciones de nitrato; se consideró el estadístico t estimado para los grados de libertad y se concluyó que la hipótesis nula se rechaza, es decir, sí existe una asociación lineal entre la concentración de nitratos y la absorbancia a 220nm.

La validez de los interceptos con la hipótesis nula para cada uno de los rangos (bajo, medio, alto y lineal) en donde estadísticamente no existe correlación entre X e Y , a un nivel de confianza del 95% es observable en la Tabla 4.7; en cada uno de los datos el $t_{crítico}$ a dos colas es menor que el $t_{estadístico}$ rechaza la hipótesis nula y concluye que existe una correlación significativa entre los puntos evaluados.

Tabla 4.6. Valores estadísticos de t y error típico para las pendientes y el intercepto de la ecuaciones de regresión.

		Coefficientes	Error típico	t *	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
RB	a	0,0353	0,00022	163,528	3,21x10 ⁻²⁷	0,03484	0,03576
	b	0,05447	0,00017	318,827	7,39x10 ⁻³²	0,05410	0,05483
RM	a	0,0353	0,00065	54,1705	1,47x10 ⁻¹⁹	0,03392	0,03668
	b	0,0549	0,00016	343,081	2,29x10 ⁻³²	0,05456	0,05524
RA	a	0,0353	0,00877	4,02311	0,00098	0,01670	0,05390
	b	0,05567	0,00109	51,0015	3,84x10 ⁻¹⁹	0,05335	0,05798
RL	a	0,03316	0,00157	21,0965	1,20x10 ⁻¹⁴	0,02987	0,03645
	b	0,05576	0,00027	203,133	3,59x10 ⁻³³	0,05519	0,05634

* Tomada de Miller, J.c.; Miller, J.n; **2002**. Estadística y quimiometría para química analítica. p. 263.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4.7. Prueba de la hipótesis nula estimada para cada rango, de acuerdo a su respectivo grado de libertad, a un nivel de confianza t de $\alpha= 5\%$

Rangos	n	r	r ²	t _{calculado}	GL	t _{teórico (n-2) $\alpha= 5\%$}
RB	18	0,9999	0,9998	318,827479	16	2,12
RM	18	0,9999	0,9998	343,080659	16	2,12
RA	18	0,9969	0,9939	51,0015316	16	2,12
RL	21	0,9997	0,9995	203,132638	19	2,10

Fuente: Elaboración propia

Diagramas de dispersión.

Como se observa en las Figuras 4.5 a 4.8 existe una dispersión de los residuos contra los valores predichos, de manera uniforme, así mismo la distribución de los puntos es aleatoria y no muestra ninguna tendencia, lo que significa que los puntos son homocedásticos (homogeneidad de la varianza), es decir que los errores en la señal analítica son constantes al aumentar la concentración.

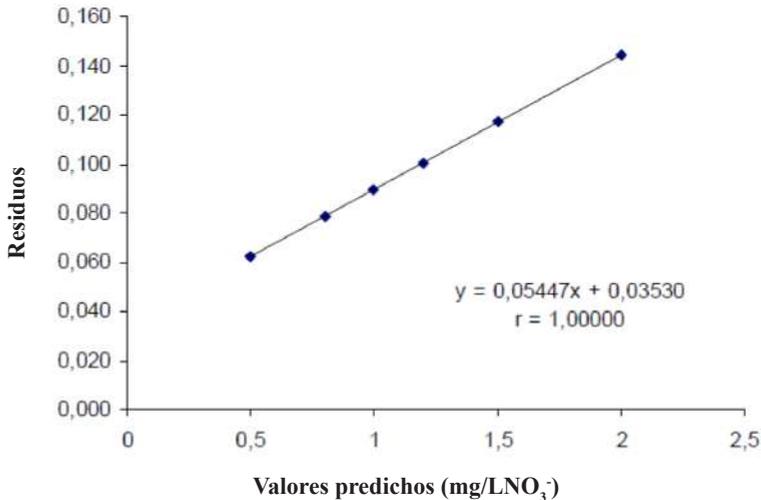


Figura 4.5. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango bajo.

Fuente: Elaboración propia

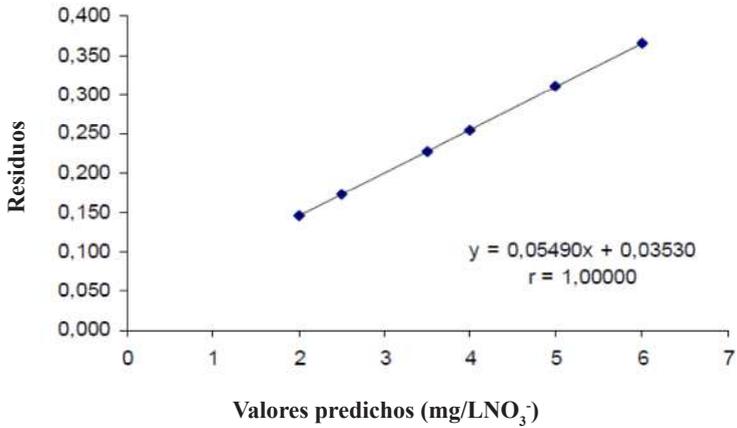


Figura 4.6. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango medio.
Fuente: Elaboración propia

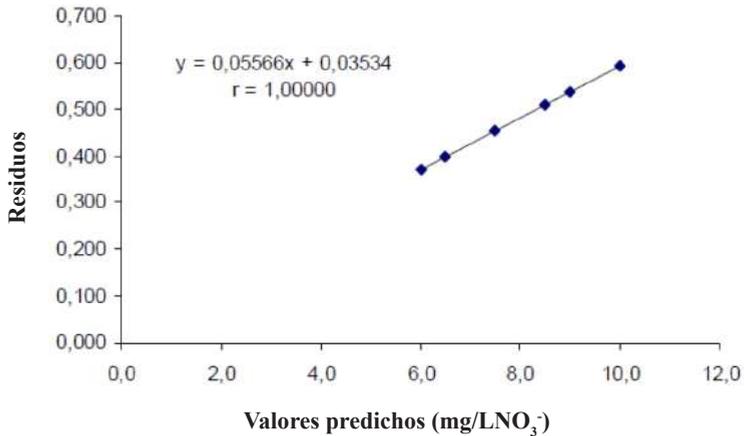


Figura 4.7. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango alto.
Fuente: Elaboración propia

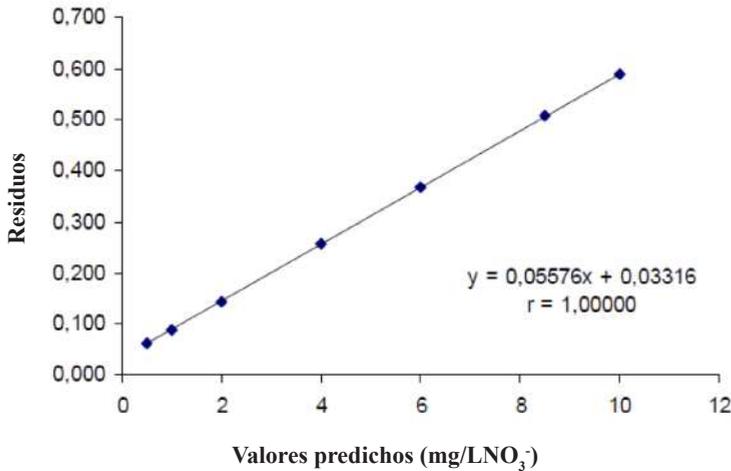


Figura 4.8. Dispersión de los residuales contra los valores predichos rango lineal.

Fuente: Elaboración propia

Análisis de residuales.

La Figura 4.9 muestra la existencia de la posibilidad de dos datos con características de *Out-Layer* de acuerdo con los valores anteriormente analizados y sus residuos estándares, Tabla 4.8.

El análisis de los valores anómalos mediante el estadístico Q de Dixon concluye que el ajuste lineal es congruente y confiable para la estimación de la concentración de nitratos en mg NO₃⁻/L a partir de la absorbancia leída por el espectrofotómetro Thermoelectron a 220 nm, luego de llevada la reacción con los reactivos en solución utilizados durante el ensayo, debido a que el estadístico calculado es menor que el crítico. El modelo que cumple con esta linealidad es $y = 0,058x + 0,0332$; donde X , es la concentración de nitratos en mg/L y Y es la absorbancia a 220 nm, Tabla 4.9.

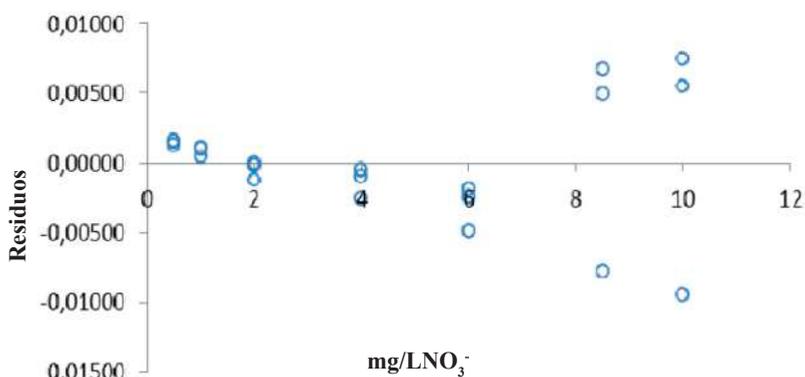


Figura 4.9. Representación de los residuos determinados en el intervalo lineal.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.8. Valores de residuos y residuos estándares

n	Pronóstico (Abs)	R	R _s
1	0,061042718	0,00156	0,368360769
2	0,061042718	0,00161	0,380187812
3	0,061042718	0,00131	0,309225557
4	0,088924607	0,00098	0,230720389
5	0,088924607	0,00108	0,254374474
6	0,088924607	0,00048	0,112449964
7	0,144688383	-0,00019	-0,044560371
8	0,144688383	0,00001	0,002747799
9	0,144688383	-0,00119	-0,281101222
10	0,256215937	-0,00252	-0,595121891
11	0,256215937	-0,00092	-0,21665653
12	0,256215937	-0,00052	-0,12204019
13	0,367743491	-0,00244	-0,57798537
14	0,367743491	-0,00184	-0,436060859
15	0,367743491	-0,00484	-1,145683412
16	0,507152933	0,00500	1,182010537
17	0,507152933	0,00670	1,584129983
18	0,507152933	-0,00775	-1,833885312
19	0,590798598	0,00550	1,301306311
20	0,590798598	0,00750	1,774388013
21	0,590798598	-0,00950	-2,246806453

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.9. Caracterización de los datos Out-Layer en la representación de los residuos.

X_i (mg/L)	Y_i (Abs)	Y_i Abs Corregida	$H_0 = Q_{\text{estadístico}} < Q_{\text{crítico}}$ $Q_{\text{crítico}} = 0,97$	
8.5	0.5122	0.51215		
8.5	0.5139	0.51385	0.88235294	Acepta
8.5	0.4994	0.4994		
10.0	0.5963	0.5963		
10.0	0.5983	0.5983	0.88235294	Acepta
10.0	0.5813	0.5813		

Fuente: Elaboración propia

4.3.2. Límite de detección y límite de cuantificación del instrumento.

El límite de detección y cuantificación del instrumento se calcula a partir de la pendiente de la curva de calibración de rango lineal reportada en la Tabla 4.4, y de la desviación estándar de las determinaciones de los blancos obtenidas a través del proceso experimental. El límite de detección reportado para el instrumento es de 0,201 mg NO₃⁻/L comparado con el límite de detección obtenido a partir de la ecuación 1 fue de 0,233 mg NO₃⁻/L. Además, el límite de cuantificación reportado para el equipo es de 0,65 mg NO₃⁻/L, comparado con el límite de cuantificación aplicando la ecuación 3 fue de 0,777 mg NO₃⁻/L; en ambos casos se puede considerar aceptable.

Límite de detección y límite de cuantificación del método.

La Tabla 4.10 muestra los datos utilizados para la determinación de los límites de detección y cuantificación por análisis de extrapolación a partir del rango inferior de la curva de calibración y por triplicado de cuatro muestras de concentraciones bajas: 0,2, 0,4, 0,6 y 1,0 ppm generan una curva lineal con $Abs = 0.05392[NO_3^-] + 0.03308$. La extrapolación a concentración cero correspondiente a la señal del ruido correspondiente: $A_{bco} = p = 0.6135$.

Por otro lado, la desviación estándar del blanco se calcula de la recta $SD = 0.0166 [NO_3^-] + 2.77 \times 10^{-4}$, el intercepto corresponderá a la desviación estándar del blanco, $SD_{bco} = q = 0.0166$.

Tabla 4.10. Determinación del LD y LC a partir del rango de concentraciones bajas.

$mgNO_3^-/L$	<i>Abs</i>		\overline{Abs}	<i>SD</i>
0,2	0,04436	0,04378	0,04318	0,00059003
0,4	0,05552	0,05484	0,05356	0,00099519
0,6	0,06668	0,06614	0,06434	0,00122523
0,8	0,07784	0,07552	0,07472	0,00162053

Fuente: Elaboración propia

Aplicando la ecuación 2 se obtiene que el límite de detección es:

$$LD = \frac{p+3q}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} = 1,257865914$$

El límite de cuantificación determinado mediante la ecuación 4 es:

$$LC = \frac{\overline{A}_{bco} + 10S_{bco}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} = 1,329879456$$

4.3.3. Análisis de interferencias de matriz.

Las curvas de calibración regular y de adición de estándar entre 0,5-10,0 y 0,0-10,0mg NO₃⁻/L respectivamente, con tres mediciones para cada nivel de concentración son observables en la Tabla 4.11.

La Tabla 4.12 muestra el análisis de diferencia significativa entre las dos curvas con respecto a los valores de las pendientes, los datos prueban con un el contraste estadístico *t* (ecuación 7) que las pendientes estadísticamente no son significativamente diferentes [12].

Tabla 4.11. Curvas de calibración normal y por adición estándar

Curva de calibración regular		Curva de calibración de adición estándar	
Estándar mg NO ₃ ⁻ /L	Abs	Estándar mg NO ₃ ⁻ /L	Abs
0.5	0.062533	0	0.059926
1	0.089767	0.5	0.081644
2	0.144233	1	0.102989
4	0.254900	2	0.157579
6	0.364700	4	0.273373
8.5	0.508467	6	0.381761
10.0	0.591967	8.5	0.534663
		10.0	0.616865

Parámetro	Regular	Adición de estándar
b	0,05576 ± 0,0002	0,05637 ± 0,0006
a	0,03316 ± 0,0012	0,05064 ± 0,0033
r	0,99997	0,99964
mg NO₃⁻/L	0,948 ± 0,040	0,898 ± 0,066

Fuente: Elaboración propia

$$t = \frac{(\bar{x}_a - \bar{x}_s)}{s \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_s}}} \quad s^2 = \frac{(n_a - 1)s_a^2 + (n_s - 1)s_s^2}{(n_a + n_s - 2)} \quad \text{Ec 7.}$$

Tabla 4.12. Contraste de significación entre las pendientes de las calibraciones regular y de adición de estándar.

Pendiente b_a, b_{ac}	Hipótesis	t _{estadístico}	t _{crítico}	Comparación	Decisión
0.56676	H ₀ : b _a = b _{ac}	0.1748	2.20	t _{estadístico} < t _{crítico}	Se acepta H ₀
0.05064	H ₁ : b _a ≠ b _{ac}				

Fuente: Elaboración propia

La Figura 4.10 muestra que las curvas son paralelas, lo que corresponde a que no existen interferencias de matriz en el método, es decir, que las señales analíticas medidas por ambas curvas difieren en un valor constante y que cualesquiera de ellas es útil para medir la concentración, como lo confirman las concentraciones determinadas

por ambas curvas. El método de adición de estándar es dispendioso y no proporciona la misma precisión que el método convencional, ya que las concentraciones se determinan por extrapolación y, por tal razón es más conveniente y práctico utilizar una curva de calibración regular; sin embargo en la comparación realizada las precisiones son muy similares como lo demuestra la desviación estándar de la concentración encontrada por ambas curvas.

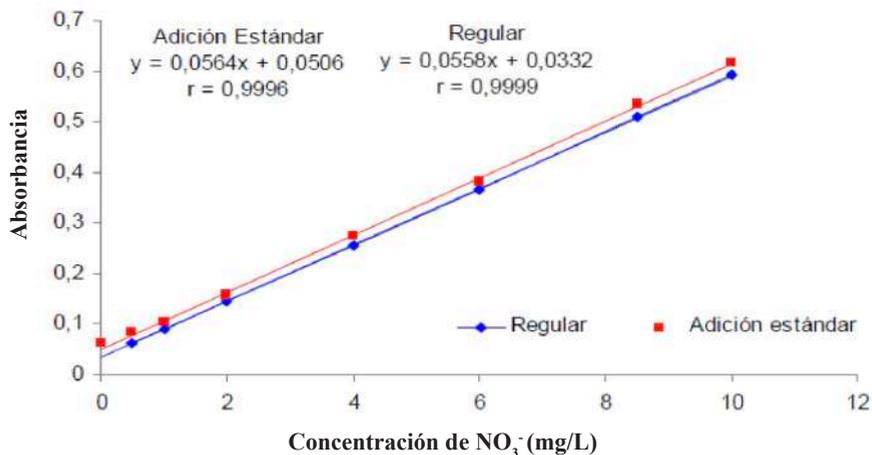


Figura 4.10. Representación de las curvas regular y de adición de estándar para la evaluación de interferencias de matriz en el método.

Fuente: Elaboración propia

4.3.4. Precisión.

La precisión del instrumento determinada desde la repetibilidad de las determinaciones de dos analistas con un mismo instrumento analizado por ANOVA y determinando la componente sistemática de la varianza, realizando doce mediciones por cada analista es observable en la Tabla 4.13. Las diferencias de la desviación estándar entre analistas son despreciables.

La repetibilidad del instrumento (Tabla 4.14) establece un valor de desviación estándar (S_r) de 0,0084 mg NO₃⁻/L y un coeficiente de variación (CV_r) de 0,86%, este resultado indica que la variación por azar es de uno (1) por cada 120 datos o también que aproximadamente en 1 mg NO₃⁻/L se tendrá una variación de 0,0084 mg NO₃⁻/L. El criterio de aceptación (CV) para la precisión establecido es menor

al 2%, es decir, que se acepta por una variación de 2 en 100 o de 0.02 mg NO₃⁻/L por cada 1 mg NO₃⁻/L.

Tabla 4.13. Colección de mediciones para estimar la precisión del instrumento.

Analista 1		Analista 2	
n	Y	n	Y
1	0,983	1	0,965
2	0,988	2	0,973
3	0,974	3	0,979
4	0,979	4	0,986
5	0,989	5	0,990
6	0,980	6	0,992
7	0,982	7	0,980
8	0,989	8	0,983
9	0,985	9	0,970
10	0,979	10	0,979
11	0,958	11	0,975
12	0,980	12	0,990
\bar{X}	0,981	\bar{X}	0,980
S	0,00844	S	0,00847
%CV	0,86047	%CV	0,86442

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.14. Determinación de la precisión del instrumento por repetibilidad.

Instrumento	S _r	CV _r
Thermoscientific UV-VIS	0,0084	0,862

Fuente: Elaboración propia

La precisión del método se encuentra en las tablas 4.15, 4.16 y 4.17 y se consolida en los resultados de precisión entre analistas por cada día, correspondiente a cinco replicas para cada una de las cinco muestras por cada uno de los tres analistas durante tres días.

Tabla 4.15. Repetibilidad, día 1.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_d</i>
PB	2,050	0,00553	0,270	0,00349	0,170	0,00519	0,253	-4,0x10 ⁻⁶	0,40	
PA	9,048	0,00514	0,057	0,00465	0,051	0,00505	0,056	-1,0x10 ⁻⁶	0,82	
M	1,430	0,00618	0,432	0,00089	0,063	0,00554	0,388	-7,0x10 ⁻⁶	0,02	3,88
MA ₁	1,881	0,00450	0,239	0,00052	0,027	0,00403	0,214	-4,0x10 ⁻⁶	0,01	
MA ₂	2,590	0,00725	0,280	0,00184	0,071	0,00654	0,253	-1,0x10 ⁻⁵	0,06	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.16. Repetibilidad, día 2.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_d</i>
PB	2,052	0,00484	0,236	0,00338	0,165	0,00459	0,223	-2,4x10 ⁻⁶	0,49	
PA	9,051	0,00618	0,068	0,00262	0,029	0,00565	0,062	-6,3x10 ⁻⁶	0,18	
M	1,435	0,00758	0,528	0,00000	0,000	0,00678	0,473	-1,1 x10 ⁻⁵	0,00	3,88
MA ₁	1,885	0,00394	0,209	0,00195	0,103	0,00363	0,193	-2,3 x10 ⁻⁶	0,24	
MA ₂	2,596	0,00674	0,260	0,00329	0,127	0,00621	0,239	-6,9 x10 ⁻⁶	0,24	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.17. Repetibilidad, día 3.

<i>Análisis</i>	<i>X</i>	<i>S_r</i>	<i>CV_r</i>	<i>S_b</i>	<i>CV_b</i>	<i>S_R</i>	<i>CV_R</i>	<i>SL²</i>	<i>F_e</i>	<i>F_d</i>
PB	2,057	0,00511	0,249	0,00155	0,075	0,00462	0,225	-4,7x10 ⁻⁶	0,09	
PA	9,056	0,00458	0,051	0,00645	0,071	0,00501	0,055	4,1x10 ⁻⁶	1,99	
M	1,440	0,00766	0,532	0,00207	0,143	0,00691	0,480	-1,1x10 ⁻⁵	0,07	3,88
MA ₁	1,886	0,00327	0,173	0,00330	0,175	0,00327	0,173	4,0x10 ⁻⁸	1,02	
MA ₂	2,599	0,00382	0,147	0,00207	0,079	0,00354	0,136	-2,1x10 ⁻⁶	0,29	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Aporte por azar (S_r).

Los aportes por azar (S_r) en todas las muestras y patrones analizados presentan coeficientes de variación que determinan que se obtendrá por azar una variación en aproximadamente uno de cada cinco datos. A manera de ejemplo, se explica de las tablas 4.15 a 4.17: en el campo de la fila 2 columna 3, se muestran las desviaciones estándar por repetibilidad y sus coeficientes de variación (columna 4) obtenidos por los tres analistas durante los tres días en el rango bajo, concentración media de 2,0 mg/L (PB), el S_r está comprendido entre 0,00484 mg/L y 0,00553mg/L con coeficientes de variación de 0,236 % y 0,270 % respectivamente.

Entre las muestras analizadas se resalta que la muestra de agua potable (M) es la que presenta mayor S_r (entre 0,00618 y 0,00766 mg/L) y CV_r (entre 0,432% y 0,532%); la muestra de agua potable dopada con patrón rango bajo (MA_r) presenta los valores más bajos de S_r (0,00327 y 0,00450) y CV_r (0,173% y 0,239%).

Aporte por analista (S_b).

El aporte de la desviación (S_b) y los coeficientes de variación (S_R) obtenidos por parte de los tres analistas durante los tres días, es observable en las columnas 5 y 6 de las tablas 4.15 a 4.17, respectivamente.

Los valores de S_b para el rango bajo están comprendidos entre 0,00155 mg/L y 0,00349 mg/L con coeficientes de variación de 0,075 % y 0,170 % respectivamente, lo que significa que el analista aporta una variación de 0,00349 mg/L en una concentración media de 2,00 mg/L, comparado con la contribución por azar (S_r) que es de 0,00553 mg/L, se observa que es mayor, esto puede explicarse en virtud de la ecuación 8, donde se aprecia que la variación entre analistas está asociada con la varianza por azar y la varianza sistemática en este caso $S_b^2 < S_r^2$, lo que quiere decir que la contribución sistemática S_L^2 es menor que cero como lo corrobora la prueba F , donde el $F_{estadístico}$ es 0,09 mucho menor que el $F_{crítico}$ 3,88.

$$S_b^2 = S_r^2 + \bar{n}S_L \quad \text{Ecuación 8}$$

Los valores de S_b para todos los otros patrones y muestras analizadas con la prueba F donde el $F_{estadístico}$ siempre fue menor de que el $F_{crítico}$ que indican que la contribución sistemática (S_L^2) es menor que cero.

Aporte por reproducibilidad (S_R).

El campo de las columnas 7 y 8, en cada una de las tablas citadas, muestra las desviaciones estándar por repetibilidad (S_R) y sus coeficientes de variación (CV_R) obtenidos por los tres analistas durante los tres días. Los valores de S_R para el rango bajo están comprendidos entre 0,00459 mg/L y 0,00519 mg/L, con coeficientes de variación de 0,223 % y 0,253 % respectivamente, lo que significa que él analista aporta una variación de 0,00519 mg/L en una concentración media de 2,00 mg/L.

Teniendo en cuenta que la varianza por reproducibilidad se encuentra asociada con la varianza por repetibilidad mediante la ecuación 5, reemplazando, tenemos que: $0,00519^2 = 0,00553^2 + S_L^2$. Ahora, se ordena la ecuación en términos de S_L^2 y la ecuación resultante es: $S_L^2 = 0,00519^2 - 0,00553^2 = -4,0 \times 10^{-6}$, correspondiente a la componente sistemática, que se determinó a través de la varianza entre analistas S_b^2 por medio de la ecuación 6, donde el valor de la varianza entre analistas es de $0,00349^2$. Comparando las tres varianzas, se observa que la reproducibilidad es menor que la varianza por repetibilidad y mayor que la varianza entre analistas, esto quiere decir que la variación del método sólo está contribuida por el azar y que la contribución sistemática es despreciable.

$$S_b^2 = S_r^2 + \bar{n}S_L^2 \Leftrightarrow S_L^2 = \frac{S_b^2 - S_r^2}{\bar{n}} \quad \text{Ecuación 9}$$

Tomando la ecuación 6, se demuestra lo anterior:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$$

$$-5,2440 \times 10^{-6} \cong -4,0 \times 10^{-6}$$

Entonces:

$$S_L^2 \cong -2,9512 \times 10^{-6}$$

Lo anterior permite inferir que:

$$S_R^2 \cong S_r^2 \cong S_b^2$$

$$0,00519^2 \cong 0,00553^2 \cong 0,00349^2$$

Esto quiere decir, que los valores no son estadísticamente diferentes, además, permite concluir que:

- » La variación del método sólo está contribuida por el azar
- » No existen diferencias significativas entre analistas como lo confirma la prueba F y la magnitud, despreciable, de la componente sistemática de la varianza, es de un orden de magnitud menor que S_R^2 ; S_r^2 ; S_b^2 .

Datos similares fueron obtenidos para las otras muestras y patrones objetos de análisis. Se resalta que el S_R (0,00327 y 0,00691 mg/L) y el CV_R (0,173% y 0.480%) más altos se obtuvieron para la muestra de agua potable (M) los cuales están en correspondencia con los resultados obtenidos en la S_r y CV_r .

4.3.5. Reproducibilidad.

Las tablas 4.18 a 4.20 consolidan los resultados de reproducibilidad entre días por cada analista. Se realizaron cinco replicas para cada una de las cinco muestras por cada día durante los tres días por cada analista. El campo de las columnas 3 y 4 en cada una de las tablas citadas muestra los aportes por azar (S_r) de las desviaciones estándar y el coeficiente de variación por repetibilidad (CV_r).

En las columnas 5 y 6 se encuentran las desviaciones y el coeficiente de variación con contribución por parte del analista, obtenidos por los tres analistas durante los tres días. En las columnas 7 y 8 reposan las desviaciones de repetibilidad (S_R) y el coeficiente de variación de respetabilidad (CV_R) correspondiente al analista. Los datos de coeficiente de variación por azar (CV_r) para todas las muestras no superan el 0.540 % por lo cual se obtendrá por azar una variación en la reproducibilidad aproximadamente de 1 de cada 5 datos.

Los valores de desviación estándar de la reproducibilidad debida al analista (S_b) superan a las obtenidas por azar (S_r), luego $S_b^2 > S_r^2$, lo que quiere decir que la contribución sistemática S_L^2 en todas las muestras y patrones objeto de análisis, es mayor que cero como lo corrobora la prueba F , donde el $F_{\text{estadístico}}$ más alto fue de 3.65 menor que el valor crítico $F_{\text{crítico}}$ de 3,88.

Tabla 4.18. Reproducibilidad, analista 1.

Análisis	X	S_r	CV_r	S_b	CV_b	S_R	CV_R	SL^2	F_e	F_c
PB	2,052	0,00530	0,259	0,00913	0,445	0,00626	0,305	$1,0 \times 10^{-5}$	2,96	
PA	9,054	0,00609	0,067	0,01082	0,120	0,00728	0,080	$2,0 \times 10^{-5}$	3,16	
M	1,435	0,00695	0,485	0,01029	0,717	0,00774	0,539	$1,0 \times 10^{-5}$	3,19	3,88
MA ₁	1,885	0,00422	0,224	0,00716	0,380	0,00495	0,263	$1,0 \times 10^{-5}$	2,88	
MA ₂	2,595	0,00604	0,233	0,00874	0,337	0,00667	0,257	$1,0 \times 10^{-5}$	2,10	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.19. Reproducibilidad, analista 2.

Análisis	X	S_r	CV_r	S_b	CV_b	S_R	CV_R	SL^2	F_e	F_c
PB	2,053	0,00382	0,186	0,00601	0,292	0,00435	0,212	$4,3 \times 10^{-6}$	2,47	
PA	9,050	0,00451	0,050	0,00805	0,089	0,00541	0,060	$8,9 \times 10^{-6}$	3,19	
M	1,435	0,00766	0,534	0,01299	0,906	0,00899	0,626	$2,2 \times 10^{-5}$	2,87	3,88
MA ₁	1,883	0,00366	0,194	0,00462	0,245	0,00387	0,205	$1,6 \times 10^{-6}$	1,60	
MA ₂	2,595	0,00643	0,248	0,01177	0,454	0,00779	0,300	$1,9 \times 10^{-5}$	3,35	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.

MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.

MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.20. Reproducibilidad, analista 3.

Análisis	X	S _r	CV _r	S _b	CV _b	S _R	CV _R	SL ²	F _c	F _c
PB	2,053	0,00612	0,298	0,00984	0,479	0,00702	0,342	1,2x10 ⁻⁵	2,59	
PA	9,051	0,00530	0,059	0,00987	0,109	0,00648	0,072	1,4x10 ⁻⁵	3,46	
M	1,435	0,00687	0,479	0,01075	0,749	0,00780	0,544	1,4x10 ⁻⁵	2,44	3,88
MA ₁	1,884	0,00390	0,207	0,00716	0,380	0,00474	0,251	7,2x10 ⁻⁶	3,36	
MA ₂	2,595	0,00590	0,228	0,01129	0,435	0,00731	0,281	1,8x10 ⁻⁵	3,65	

PB: Patrón rango bajo. PA: Patrón rango alto. M: Muestra de agua potable.
 MA₁: Muestra potable fortificada con patrón bajo.
 MA₂: Muestra potable fortificada con patrón alto
Fuente: Elaboración propia

Aporte por reproducibilidad (S_R).

Los aportes a la reproducibilidad debida a la repetibilidad, estimados en las desviaciones estándar por repetibilidad (S_R) y sus coeficientes de variación (CV_r) de las columna 8 y 9, alcanzados por los tres analistas durante los tres días de ensayo presentan correspondencia general a los obtenidos en los datos de precisión y permitieron determinar la desviación sistemática S_L, que es de carácter despreciable para todas las muestras y presenta valores que no superiores 2,2x10⁻⁵.

Los datos de S_r, S_b y S_R en los aportes de la reproducibilidad, establecen que los valores no son estadísticamente diferentes, además, que la variación del método sólo está establecida por el azar y que no existe diferencias significativas entre analistas como lo confirma la prueba F y la magnitud despreciable, de la componente sistemática de la varianza (S_L), que es de un orden de magnitud menor que S_R²; S_r²; S_b².

4.3.6. Exactitud

La recuperación en una muestra natural con adiciones baja y alta del 30% y el 80% respectivamente permitió establecer la exactitud con que son reportadas en la Tabla 4.21 donde se exhibe la concentración promedio inicial de la muestra (CM), el porcentaje adicionado (%A), la concentración adicionada correspondiente ([A]), los volúmenes de muestra adicionados (VM), los volúmenes de patrón adicionado (VP), la concentración de patrón que se adicionó (P) y la concentración promedio de la muestra adicionada (\overline{MP}) y el porcentaje de recuperación (%R). Los volúmenes de adición

fueron dispuestos para no exceder el 5% del volumen final de aforo (volumen de muestra más volumen de aforo).

Tabla 4.21. Cálculo de la recuperación entre días.

Muestra + Adicionado 1 (entre días)								
V	CM (mg/L)	%A	[A] (mg/L)	VM (mL)	VP (mL)	P (mg/L)	\overline{MA} (mg/L)	%R
A ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.883	104.1
A ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.884	104.3
Muestra + Adicionado 2 (entre días)								
A ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de recuperación entre días están dentro del 104,1% y 104,5% para la “muestra más adicionado uno (1)”, y de 101,0% para la “muestra más adicionado dos (2)”. Los porcentajes de recuperación entre analistas están entre 103,6% y 105,2% para la “muestra más adicionado uno (1)” y de 100,6% y 101,5% para la “muestra más adicionado dos (2)”. Para evaluar la aceptabilidad de la recuperación, se compara con los criterios de aceptación establecidos en los métodos normalizados de análisis que reportan un rango de recuperación entre 80-120%, por consiguiente se valora la eficacia del método desarrollado como positiva.

Tabla 4.22. Cálculo de la recuperación entre analistas.

<i>Muestra + Adicionado 1 (entre días)</i>								
<i>V</i>	<i>CM</i> (mg/L)	<i>%A</i>	<i>[A]</i> (mg/L)	<i>VM</i> (mL)	<i>VP</i> (mL)	<i>P</i> (mg/L)	<i>MA</i> (mg/L)	<i>%R</i>
A ₁ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₁ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₁ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.888	105.2
A ₂ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₂ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.884	104.3
A ₂ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.885	104.5
A ₃ D ₁	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.881	103.6
A ₃ D ₂	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.886	104.8
A ₃ D ₃	1.435	30	0.435	475	25	10.01	1.887	105.0
<i>Muestra + Adicionado 2 (entre días)</i>								
<i>V</i>	<i>CM</i> (mg/L)	<i>%A</i>	<i>[A]</i> (mg/L)	<i>VM</i> (mL)	<i>VP</i> (mL)	<i>P</i> (mg/L)	<i>MA</i> (mg/L)	<i>%R</i>
A ₁ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.591	100.7
A ₁ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.596	101.1
A ₁ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.599	101.4
A ₂ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.590	100.6
A ₂ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.595	101.0
A ₂ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.600	101.5
A ₃ D ₁	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.590	100.6
A ₃ D ₂	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.598	101.3
A ₃ D ₃	1.435	80	1.148	475	25	24.31	2.599	101.4

Fuente: Elaboración propia

4.4. Conclusiones

Los resultados en la validación del método de análisis de NO₃⁻ en muestras de aguas potables, obtenidos para cuantificar las características de desempeño del instrumento y del método empleado son consistentes con los valores de referencia establecidos como criterios de aceptación por las normas existentes para tal propósito; indicando con ello que el método produce resultados aceptables a los requerimientos del laboratorio.

Se encontró que la correlación en el rango lineal (0,5-10,0 mgNO₃⁻ / L) es significativa demostrando un alto grado de concordancia entre las mediciones propuestas, además es muy cercano a uno (1), que al compararlo con la correlación de referencia es superior, dando un alto grado de confiabilidad del método.

La validación del método de análisis de NO_3^- se realizó teniendo en cuenta las capacidades del instrumento, capacidad del laboratorio y las características específicas de la muestra (interferentes, concentración de materia orgánica, que depende de las tasas de fertilizantes usados en la agricultura, así como también de las purinas vertidas en las fuentes naturales, buenas prácticas en la toma de muestras, así como el seguimiento post conserva). Considerando que las condiciones antes mencionadas pueden variar en el futuro, debido a factores como los tratamientos a las aguas naturales que ingresan a la zona de tratamiento, –que luego son suministradas– a la comunidad, el crecimiento de las zonas agrícolas, etc., se recomienda evaluar tales características, revalidar o realizar una nueva validación y adecuar el equipo en caso de ser necesario, teniendo en cuenta los nuevos parámetros.

4.5. Referencias

- [1]. Collao, G-C. Contaminación de las aguas subterráneas por nitratos provenientes de la utilización de purines de cerdo en la agricultura. Tesis Ing. Civil. Santiago de Chile. Universidad de Chile. Facultad Ciencias Físicas y Matemáticas. Departamento de ingeniería civil. 2008. 163 p.
- [2]. Knobeloch, L., Salna, B., Hogan, A., Postle, J., y Anderson, H. 2000. Blue babies and nitrate-contaminated well water. *Environmental Health Perspectives*. 108, 7, 675–678.
- [3]. Van Meter, K-J., Basu, N-B., Veenstra, J-J., Burras. CL. 2016. The nitrogen legacy: emerging evidence of nitrogen accumulation in anthropogenic landscapes. *Environmental Research Letters*.11, 035014, 3.
- [4]. Awual, R. 2019. Efficient phosphate removal from water for controlling eutrophication using novel composite adsorbent *Journal of Cleaner Production*. 228, 1311-1319.
- [5]. Ménesguen, A., Desmit, X., Dulière, V., Lacroix, G., Thouvenin, B., Thieu, V., Dussauze, M. 2018. How to avoid eutrophication in coastal seas? A new approach to derive river-specific combined nitrate and phosphate maximum concentrations. *Science of the Total Environment*. 628–629, 400–414
- [6]. De Paz Becares, J-M y Ramos-Mompó, C. *Evaluación del riesgo de contaminación de las aguas subterráneas por nitrato con un acople sig; modelo de simulación de nitrógeno en suelos agrícolas*. Valencia, España: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 1998. Pp 11.
- [7]. Ansola, G. Utilización de humedales artificiales en la depuración de aguas residuales. En: El agua, un bien para todos. Conservación, recuperación y usos. 6as Jornadas Ambientales. Salamanca: 2003. Ed. P. Ramos, S.A., p. 145-170. Citado por Arroyo Hernández, Paula. La biorremediación como medida correctora en los impactos ambientales de agua contaminada con metales pesados. En: II Jornadas Técnicas de Ciencias Ambientales (10 – 19, noviembre: Madrid), 2004. p. 1 - 9.

[8]. APHA, AWWA, WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: 4500-NO₃⁻, Nitrogen (Nitrate)*. Washington. 1999. Pp. 198-213.

[9]. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. *Validación de Métodos Analíticos*. España, 1989, 315 p.

[10]. Skoog, D., Leary, J. *Análisis Instrumental*. 4 ed. Madrid: McGraw-Hill, 1994. p. 7, 10.

[11]. Miller, J. y Miller, J. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4 ed. Madrid: Pearson Educación, 2002. p. 125-127.

[12]. Norma Técnica Colombiana (NTC) 3529-1. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y resultados. Parte 1: método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado de medición. Icontec. 1999. p. 14,15.

[13]. Norma Técnica Colombiana (NTC) 3529-2. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y resultados. Parte 2: método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado de medición. Icontec. 1999. p. 3,4.

[14]. Harnett, D.; Murphy, J. *Introducción al Análisis Estadístico*. 2 ed. Massachussets: Addison-Wesley Iberoamérica, 1980. p. 478 – 531.

Capítulo V:

Análisis fisicoquímicos en la implementación del proceso de potabilización y control de calidad de agua de pozo

.....

Guillermo Garzón García
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-8684-3911

Diana Marcela Burbano Banguero
Universidad Santiago de Cali
0000-0003-3796-6936

Jorge Humberto Carabali Yepes
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-4224-8659

Capítulo V:

Análisis fisicoquímicos en la implementación del proceso de potabilización y control de calidad de agua de pozo

Guillermo Garzón García
Diana Marcela Burbano Banguero
Jorge Humberto Carabali Yepes

Resume: *Se presentan resultados fisicoquímicos como seguimiento de la implementación en la dosificación de reactivos químicos (sulfato de aluminio e hidroxiclورو de aluminio, “coagulantes”, hipoclorito de calcio, poliacrilamida aniónica “floculante” y cal apagada) en una planta de tratamiento de agua de pozo. Los valores óptimos de dosificación fueron obtenidos mediante pruebas de jarras en el proceso de clarificación. Se hizo seguimiento de la implementación de los controles de calidad de agua durante 24 meses, procedimientos como limpieza, saneamiento y mantenimiento de bombas, tanques y equipos fueron considerados. Alcances relacionados con el mejoramiento en un 88.46% de la calidad de agua de pozo fueron observados, con disminución de costos de operación en un 38.89% y en la disminución el impacto ambiental al bajar los desperdicios de agua de 13.000 m³ a 2.700 m³ por mes.*

Palabras claves: potabilización, sólidos disueltos, coagulantes, floculantes, pH

Abstract: *Physicochemical results are presented as follow-up of the implementation in the dosage of chemical reagents (aluminum sulfate and aluminum hydroxychloride, “coagulants”, calcium hypochlorite, “floculant” anionic polyacrylamide and slaked lime) in a well water treatment plant. The optimal dosage values were obtained by jar tests in the clarification process. The implementation of water quality controls was monitored for 24 months, procedures*

such as cleaning, sanitation and maintenance of pumps, tanks and equipment were considered. Scope related to the improvement in 88.46% of the quality of well water was observed, with decrease in operating costs by 38.89% and the decrease in environmental impact by lowering water waste from 13,000 m³ to 2700 m³ per month.

Key words: purification, dissolved solids, coagulants, flocculants, pH

5.1 Introducción

El agua es un bien ampliamente utilizado para distintos usos que dependen de sus características fisicoquímicas [1]. Distintas directivas tales como la Superintendencia de Servicios Públicos, la CRC, Salud Pública, entre otros, regulan a través de requisitos mínimos la calidad del agua según la aplicación a dársele [2].

Entre las fuentes hídricas se encuentra el agua de pozo, la cual contienen grandes cantidades de gases y minerales disueltos tales como calcio, hierro, magnesio, potasio, sodio, sulfatos; y microorganismos [3]. La utilización de agua de pozo hace necesaria una profunda caracterización; entre los parámetros fisicoquímicos se cuenta: hierro, dureza, alcalinidad, pH, turbidez, color, etc. y microbiológicos: hongos, levaduras y bacterias [4].

En municipios pequeños y/o centros empresariales es común la utilización de plantas de agua cuyo insumo principal son aguas extraídas, mediante sistemas de bombeo, de pozos profundos, que pasan a un tanque de sedimentación donde se clarifica adicionando reactivos químicos (coagulantes, cloro, floculante y cal apagada). Posteriormente, es sometida a un proceso de filtración y refinamiento para detener sustancias en suspensión para posteriormente ser enviada a la línea de distribución [5].

Datos históricos de una planta de tratamiento de agua suministrada por pozo subterráneo de muestras respaldo sin sedimentación de 5.82 % y un promedio de muestras respaldo con sedimentación de 94.18 %; fueron objeto de inquietud dada su influencia para la salud de las personas que utilizaban el recurso hídrico, siendo esta situación preocupante para la empresa prestadora del servicio de agua [6].

El Paraíso en la ciudad de Santander de Quilichao, Departamento del Cauca; cuenta con un sistema de bombeo con el cual se extrae el agua de un pozo subterráneo que se encuentra a un kilómetro y medio de la planta con una profundidad de 140 m y la conduce por una tubería de ocho pulgadas a un tanque de sedimentación; aquí se hace el proceso de clarificación, adicionando los reactivos químicos necesarios para este proceso (coagulantes, cloro, floculante y cal apagada). El agua pasa por un proceso de filtración y refinamiento

para detener sustancias en suspensión y posteriormente ser enviada a la línea de distribución [5].

El estudio planteado, busca el mejoramiento para la disminución de la cantidad de sedimentos en las muestras respaldo a un 30%; para ello se propone elaborar un diseño definitivo del pozo, análisis del posible rendimiento de las capas acuíferas perforadas, con base en los valores de los parámetros eléctricos medidos en el registro, la descripción litológica y la información hidráulica suministrada por el pozo y por los conceptos técnicos de la CRC. En el proceso de tratamiento del agua, aplicar sistemas validados de determinación fisicoquímicas en aguas para verificar la calidad de la implementación del proceso de potabilización y control de la calidad de una planta de tratamiento de agua de pozo profundo al realizar las pruebas de tratabilidad necesarias para establecer la dosis óptima de reactivos químicos que se emplearán para el tratamiento; acelerar el proceso de sedimentación en la clarificación del agua del pozo; rediseñar el proceso de tratamiento del agua cruda y mejorar los sistemas de filtración. El seguimiento de la calidad del agua se verificó bajo el cumplimiento de los requisitos establecidos por la Superintendencia de Servicios Públicos, la CRC, la CRA, Salud Pública Municipal y principalmente con la Resolución No.0549 de 2017 del Ministerio de Salud y Protección Social Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio [7].

5.2 Generalidades del tratamiento de aguas

5.2.1 Tratamiento químico

Las aguas provenientes de fuentes subterráneas profundas, galerías filtrantes o manantiales pueden ser entregadas directamente al consumo, siempre que sean químicamente apropiadas y se tengan en cuenta todas las previsiones necesarias en su captación para evitar su contaminación. Cuando el agua no es naturalmente potable habrá que hacer un tratamiento corrector o potabilizador; químico, físico y microbiológico [8]. El tratamiento químico corrector se refiere al ajuste del pH del agua, a la oxidación del hierro y a la eliminación de elementos nocivos, buscando la mejor calidad del agua. La eliminación de elementos nocivos puede referirse a bajar los contenidos excesivos de hierro, manganeso, fosfatos, nitritos, cloruros o sulfatos [9].

Coagulación y Floculación

Los procesos de coagulación y de floculación se emplean para extraer del agua los sólidos que en ella se encuentran suspendidos siempre que su rapidez natural de precipitación sea demasiado baja para proporcionar clarificación efectiva. El agua cruda contiene material suspendido, tanto sólidos que pueden sedimentarse, como partículas lo bastante grandes que se precipitan en reposo, o sólidos dispersados que no se asentarán con facilidad. Una parte considerable de estos sólidos que no se asientan pueden ser coloides. La coagulación desestabiliza estos coloides al neutralizar las fuerzas que los mantienen separados [10].

Las especies coloidales halladas en agua cruda, incluyen arcillas, sílice, hierro, y otros metales pesados, color y sólidos orgánicos como los residuos de organismos muertos. Puede ser que el flóculo formado por la aglomeración de varios coloides no sea lo bastante grande como para asentarse con la rapidez deseada. Un floculante reúne partículas floculadas en una red, formando puentes de una superficie a otra y enlazando las partículas individuales en aglomerados. El alumbre, las sales de hierro y polímeros de peso molecular alto son floculantes comunes. Históricamente, los coagulantes metálicos (el alumbre y las sales de hierro) han sido los más empleados en la clarificación del agua. Estos productos actúan como coagulantes y floculantes, a la vez los coagulantes metálicos son muy sensibles al pH y a la alcalinidad. Si el pH no está dentro del intervalo adecuado, la clarificación es pobre y pueden solubilizarse el hierro y el aluminio y generar problemas al usuario del agua [11].

Precipitación

El proceso de precipitación emplea el producto de solubilidad de un compuesto que contiene un ión o radical que es considerado perjudicial y que en consecuencia, debe ser eliminado antes de que el agua pueda ser usada. Uno de los principios fundamentales de la precipitación es que aumenta el tamaño del precipitado si la reacción química se lleva a cabo en presencia de partículas previamente precipitadas. El ablandamiento con cal, –el proceso de precipitación usado con mayor frecuencia–, es adecuado para ilustrar la importancia de las cuatro variables claves en la precipitación: (1) solubilidad, (2) carga de la partícula, (3) temperatura y (4) tiempo. El ablandamiento

con cal es la reducción de la dureza por la adición de cal hidratada al agua para precipitar CaCO_3 , $\text{Mg}(\text{OH})_2$, o ambos [12].

También pueden usarse otros compuestos hidróxidos (NaOH , KOH), pero de ordinario no compiten con el bajo costo de la cal. La mayor parte de las reacciones de ablandamiento se llevan a cabo a un pH alrededor de 10. Para este valor del pH, el CaCO_3 porta de ordinario una carga negativa y el $\text{Mg}(\text{OH})_2$ una carga positiva. Si no se neutralizan estas cargas, la dureza del coloide puede resistir a la floculación y pasarse al efluente. Será necesario el empleo de coagulantes catiónicos cuando el grueso del precipitado es CaCO_3 cargado negativamente, como es el caso del ablandamiento parcial con cal [13].

Eliminación de los Metales pesados

De ordinario los metales pesados son eliminados del agua por precipitación, aunque también se emplea intercambio iónico y adsorción. El hierro es un ejemplo típico de un metal pesado que debe eliminarse, puesto que es un constituyente común del agua de pozo y debe ser eliminado de los abastecimientos potables. Puesto que los hidróxidos de los metales pesados son de ordinario insolubles, es común usar cal para precipitarlos. Un factor de importancia en la precipitación de metales pesados es el estado de oxidación del metal en el agua. Por ejemplo, el hierro ferroso es mucho más soluble que el hierro férrico. Por esto, tratar el agua con un oxidante como cloro o permanganato de potasio para convertir hierro ferroso al férrico es una parte esencial en el proceso de eliminación del hierro [14].

5.2.2 Tratamiento Físico

La separación de sólidos/líquidos en el tratamiento de aguas incluye los procesos para remover los sólidos suspendidos en el agua mediante sedimentación y filtrado. Los sólidos suspendidos son los capturados mediante filtración. La sedimentación es la eliminación de sólidos suspendidos en el agua por asentamiento gravitacional. La flotación también es un proceso de separación mediante la gravedad. En la clarificación, el objetivo principal de la sedimentación es la obtención de agua sin partículas en el efluente más que una corriente subálvea de lodo denso. La filtración en medio granular es, por lo general, aplicable en la eliminación de sólidos suspendidos en el intervalo de 5 a 50 mg/L cuando se desea un efluente menor que 1 U.T.J. La eliminación de

sólidos por filtración incluye varios mecanismos, algunos de carácter físico y otros de carácter químico. Estos mecanismos incluyen la adsorción y el colado [11], [12].

5.2.3 Parámetros fisicoquímicos del agua

Para examinar el aspecto físico general de una muestra, conviene recurrir a términos que describan brevemente sus características más apreciables. Estos términos pueden referirse entre otras cosas, a la presencia de color, turbidez, olor, sabor, alcalinidad, dureza, sólidos en suspensión, sedimentos, materiales flotables o partículas similares detectables a simple vista [15].

El color del agua puede estar condicionado por la presencia de iones metálicos naturales (hierro y manganeso), de humus y turbas, de plancton, de restos vegetales y de residuos industriales. Tal coloración se elimina para adaptar un agua a usos generales e industriales. El método de comparación visual es aplicable a casi todas las muestras de agua potable. La polución por algunos residuos industriales suele producir colores poco habituales que no pueden equipararse. En este caso debe utilizarse un método instrumental [16].

La turbidez del agua es producida por materias en suspensión, como arcilla, cieno o materias orgánicas e inorgánicas finamente divididas, compuestos orgánicos solubles coloreados, plancton, y otros microorganismos. La turbidez es una expresión de la propiedad óptica que origina que la luz se disperse y absorba en vez de transmitirse en línea recta a través de la muestra [17].

El olor como el gusto depende del contacto de una sustancia estimulante con la adecuada célula receptora. Los estímulos son de naturaleza química, y por ello se suele decir que el olfato y el gusto son sentidos químicos. Muchas sustancias orgánicas y algunas inorgánicas influyen en el gusto y el olor. El dispositivo supremo para la realización de pruebas de olor es la nariz humana. Las pruebas de olor se llevan a cabo para proporcionar descripciones cualitativas y medidas cuantitativas aproximadas de la intensidad del olor [18].

El gusto define solamente las sensaciones gustativas que se designan como amargas, saladas, ácidas y dulces, resultantes de la estimulación

química de las terminaciones nerviosas sensitivas de las papilas de la lengua y del paladar blando. El sabor abarca un complejo de sensaciones olfativas, gustativas y táctiles, originadas por el estímulo de terminaciones nerviosas situadas en la lengua y en las cavidades nasal y bucal. En el caso del agua se hace análisis del sabor asociado con la composición y exceso de cloro residual [19]. La concentración de metales o dureza cálcica pueden generar sabores particulares de rechazo para el consumidor. Este parámetro organoléptico es evaluado normalmente por peritos en la planta de tratamiento.

La alcalinidad del agua es la capacidad para neutralizar ácidos y constituye la suma de todas las bases titulables. La alcalinidad de muchas aguas depende primordialmente del contenido en carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, por lo que suele tomarse como una indicación de la concentración de estos componentes [20]

La dureza del agua está condicionada por el contenido de sales de metales alcalinotérreos, calcio, magnesio, estroncio y bario, los dos últimos en trazas. La dureza oscila entre cero y cientos de miligramos por litro, dependiendo de la fuente y del tratamiento a que el agua haya sido sometida [21]

Sólidos son los materiales suspendidos o disueltos en aguas limpias o residuales. Los sólidos pueden afectar negativamente la calidad del agua o su suministro de varias maneras. Para las aguas potables es deseable un límite de 500 mg/L de sólidos disueltos [13].

Algunas aguas subterráneas pueden contener una cantidad de hierro bastante alta. En condiciones reductoras, el hierro existe en estado ferroso. En ausencia de iones que forman complejos, el hierro férrico no es significativamente soluble a menos que el pH sea muy bajo. Al exponerlo al aire o al añadir oxidantes, el hierro ferroso se oxida al estado férrico y puede hidrolizarse para formar óxido férrico hidratado insoluble [22].

La cloración del agua para suministro y residual, sirve principalmente para destruir o desactivar los microorganismos causantes de enfermedades; el cloro presente en el agua se aglutina con las bacterias, dejando solo una parte de la cantidad original (cloro libre) para continuar su acción desinfectante [23].

La medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases del tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido-base, suavizado, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, dependen del pH [24].

5.2. Metodología

5.2.1. Muestras

Las muestras de agua fueron tomadas de la planta de tratamiento de agua potable de El Paraíso, al norte del departamento del Cauca, que se abastece de un pozo subterráneo ubicado en la manzana H en la zona industrial El Paraíso. Esta fuente de abastecimiento de agua cruda está aproximadamente a 1500 metros de la planta de tratamiento de agua potable, con 140 metros de profundidad, el cual suministra un caudal aprobado de 70 LPS (950GPM).

5.2.2. Dosis de coagulante

La dosis óptima de los coagulantes, cloro, floculante y cal para la potabilización y mejor tiempo de sedimentación se hicieron en pruebas de jarras una vez por semana.



Figura 5.1. Equipo para prueba de Jarras

Fuente: Elaboración propia

En la prueba de jarras se simularon las operaciones de precloración, coagulación, floculación y sedimentación que se realizan en la planta de tratamiento de agua. La dosis óptima fue aquella que cumplió los parámetros de agua potable [7].

5.2.3. Prueba de demanda de cloro

Se tomaron 5 recipientes de vidrio y se adicionó a cada uno de ellos un volumen exacto de un litro de agua cruda. Posteriormente, se agregó a cada recipiente, un volumen de solución de cloro conocido, establecido previamente por el análisis de jarras, variando las proporciones de manera creciente de un recipiente al otro, en un 5%; se agitó y se midió la concentración de cloro residual en cada uno de los cinco ensayos realizados. Los resultados se compararon con el valor de concentración de cloro establecido inicialmente.

Ensayo No. 1

Previo lavado de los vasos de precipitados de un (1) litro y purgado con agua cruda fresca, se tomaron dos vasos y se adicionaron a cada uno exactamente un (1) litro de agua cruda (agua del pozo), ubicados debajo de cada paleta de agitación, se dio inicio a las pruebas, haciendo ensayos únicamente con dos jarras, una de las cuales correspondía a la jarra con la dosificación de reactivos empleada a en la planta y en la segunda jarra la dosis de cloro establecida por la prueba de demanda de cloro con las dosis de coagulante y floculante de la primera jarra.

La velocidad del agitador osciló entre 200 a 400 rpm. durante 5 segundos. Pasado este tiempo, se activó el cronómetro y se adicionaron de manera consecutiva a las dos jarras, el coagulante (el cual fue objeto de optimización), luego el cloro y finalmente el floculante. Se previno que el tiempo de dosificación fuera en condiciones simuladas en las dos pruebas. Después de un (1) minuto de agitación se adicionó la cal apagada y se llevó la velocidad de agitación a 40 rpm durante 10 min.

Los criterios registrados en la prueba fueron: tiempo que transcurrió antes de que se empezara a formar el floc, intensidad de la agitación sin fragmentarse, tiempo requerido para sedimentación completa, color y turbidez del sobrenadante, cloro residual, pH, sólidos totales disueltos y los parámetros correspondientes al hierro, la alcalinidad y la dureza.

5.2.4. Procedimientos de la Planta

Se llevó un control y seguimiento a todos los procedimientos que se realizaron en la planta y para ello se dispuso de registros para custodiar la información en formatos tanto escritos como computarizados.

Procedimiento de llenado y descarga del tanque de sedimentación

El llenado del tanque de sedimentación se realizó de manera simultánea con la adición de reactivos requeridos para el tratamiento del volumen de agua bombeado según la tabla de dosificación de químicos para la etapa de clarificación. El nivel de referencia para iniciar el llenado fue por debajo de 40 m³.

Se esperó el tiempo necesario para que el nivel del agua contenido en el tanque fuera el establecido para el llenado. Tan pronto el agua llegó al tanque de sedimentación, se accionaron las bombas dosificadoras de reactivos y se esperó hasta que el tanque se llenó completamente.

Tiempo de residencia

Se sacaron muestras del tanque sedimentador cada media hora después de haber terminado el llenado y allí se observó el proceso de sedimentación y se determinó el tiempo necesario para la sedimentación de lodos.

Drenado del tanque sedimentador

Antes de proceder a realizar el drenado del tanque de sedimentación, se verificó que el tiempo de residencia fuera el necesario para sedimentar los flocs formados durante el proceso de clarificación del agua. Se completó la hoja de Registro de Control de labores realizadas. Después de haber drenado el tanque sedimentador y haber evacuado los lodos sedimentados se hizo el proceso de filtración.

Retrolavado de filtros

Se aplicó éste procedimiento tanto para el filtro de arena, como para los filtros de arena y carbón. En el primero, se retrolavó cada vez que se sacaba un bache y el tiempo de retrolavado fue inferior a ocho

minutos. En el segundo, se efectuó el retrolavado de estos filtros una vez por día y el tiempo de retrolavado fue inferior a 10 minutos.

5.2.5. Análisis de parámetros fisicoquímicos

Se realizaron los análisis fisicoquímicos que aparecen en la Tabla 5.1, como criterios de calidad del agua. La determinación de cloro libre, cloro total, alcalinidad, dureza total, se realizaron acordes a lineamientos procedimentales establecidos por los kit. El color real y aparente y la turbidez se realizaron según programas preestablecidos por el colorímetro HACH DR-890.

Tabla 5.1. Reactivos y equipos requeridos para los parámetros fisicoquímicos a analizar

<i>Parámetro</i>	<i>Equipos y reactivos</i>
Color	Colorímetro HACH DR-890
Turbidez	Colorímetro HACH DR-890
Hierro	Colorímetro HACH DR-890, Kit sobre de reactivo (Ferover Iron phenantroline)
Sólidos suspendidos	Colorímetro HACH DR-890, licuadora, cronómetro
pH	Equipo de pruebas Indicador rojo fenol
Dureza total	Kit de dureza total: indicador de negro de ericromo en solución alcohólica (reactivo 1) y valorante EDTA (reactivo 2).
Alcalinidad	Kit alcalinidad, indicador mixto de verde de bromocresol y metil naranja (reactivo 1) y valorante solución ácida (reactivo 2).
Cloro	Kit de cloro, equipo de pruebas, indicador de Ortotoloidina

Fuente: Elaboración propia

• *Determinación de pH y cloro residual*

Se realizó al agua tratada cada 30 minutos cuando hubo perturbaciones sobre el sistema; cada hora cuando se estableció la regularidad en la planta y cada hora y media cuando presentó estabilidad.

• ***Determinación de cloro libre***

Esta prueba se realizó según el punto en donde se tomó la muestra; primero se purgo el tubo tres veces con el agua que se analizó; al tubo lleno hasta el enrace se adicionaron cinco gotas del reactivo del kit cloro libre. Se tapó el tubo de prueba y se invirtió varias veces para mezclar, se comparó el tubo de prueba con la gama de colores que reporta el Kit con respecto al resultado de concentración.

• ***Determinación de cloro total***

Se procedió de igual forma que la determinación de cloro libre. Se esperó alrededor de tres minutos y se estableció como medición de cloro total el valor que corresponde a la misma coloración tanto para la muestra como para la escala reportada por el kit.

• ***Determinación de alcalinidad***

A la celda de análisis se adicionó agua hasta el enrace (5 mL). Se adicionaron 2 gotas de reactivo N° 1 (Indicador), la solución tomó una coloración verdosa; se adicionó gota a gota el reactivo N° 2 (Solución valorante) y se agitó constantemente hasta viraje de color a color rojo permanente. El indicador mixto de verde de bromocresol y metil naranja reaccionó con los carbonatos y bicarbonatos formando una coloración verdosa. La valoración se realizó con una solución de ácido sulfúrico. Se determinó la alcalinidad basados en la siguiente fórmula:

*Alcalinidad Total (ppm CaCO₃) = número gotas de reactivo 2 * 11.92*

• ***Determinación de dureza total***

Se enjuagó la celda de análisis con el agua a analizar, se adicionó agua hasta el enrace (5 mL), se adicionaron dos gotas de reactivo N° 1 (Indicador), la solución tomó una coloración verdosa; se adicionó gota a gota el reactivo N° 2 (Solución valorante) y se agitó constantemente hasta viraje de color a color azul permanente. Se determinó la dureza total con base en la siguiente fórmula:

*Dureza Total (ppm CaCO₃) = número gotas de reactivo 2 * 7.92*

• ***Determinación de sólidos suspendidos***

Se llenó una celda de muestra con 25 mL de agua destilada, se tomaron 500 mL del agua de análisis y se licuó un tiempo exacto de dos minutos. Se usó el programa de sólidos suspendidos en el colorímetro y se registró el valor correspondiente en el formato de Registro.

5.3. Resultados y discusión

Las condiciones de operación iniciales para el proceso de clarificación, atendiendo a variaciones en las dosis de las diferentes sustancias químicas que se añadían a la muestra en la planta de tratamiento se observan en la siguiente tabla, estos valores fueron los que se utilizaron como referencia.

Tabla 5.2. Concentraciones de referencia Prueba de Jarras (condiciones que labora la planta)

Reactivo	Concentración (ppm)	Solución
Hipoclorito de calcio, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$	500	5 g / 10 L
Sulfato de aluminio, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	500	5g / 10 L
Floculante	50	0.5 g / 10 L

Fuente: Elaboración propia

Demanda de hipoclorito de calcio, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$

La concentración de cloro inicial que se aplicaba en el tanque de sedimentación en el proceso de clarificación del agua cruda, determinado con prueba de demanda de cloro era de 5g/10L de hipoclorito de calcio. El análisis de las pruebas de jarras, detallado en la Tabla 5.3 muestra los resultados para la demanda de hipoclorito de calcio, donde se establece la concentración de cloro y el cloro residual de cada prueba.

Tabla 5.3. Prueba de Jarras demanda de hipoclorito de calcio

Jarra	Concentración (ppm Cl ₂)	Cloro residual
1	8.95	1.0
2	10.44	1.3
3*	11.93	1.5
4	13.43	1.7

* Jarra Ideal

Fuente: Elaboración propia

Durante las pruebas se pudo determinar la necesidad de mantener una concentración mayor de hipoclorito de calcio en el proceso de clarificación, dado al comportamiento reductor que experimenta el cloro en presencia de iones ferrosos (Fe⁺²) de alta solubilidad que pueden ser oxidados a iones Fe⁺³ que presentan baja solubilidad a pH cercanos a las de agua de pozo objeto de estudio. Además, el cloro proporciona una acción desinfectante, por lo tanto, el residual de cloro después del proceso de clarificación debe ser de por lo menos 1.5 ppm; así, después de terminado el proceso de clarificación y filtración. Por esta razón, la jarra 3 fue la escogida como dosis óptima de hipoclorito de calcio para el proceso de clarificación.

La Tabla 5.4, muestra las características del agua de pozo objeto de tratamiento antes de realizar la prueba de jarras, posterior a la optimización de la demanda de cloro. Por lo general, el agua está constituida por un líquido de color intermedio, con turbidez y concentraciones de hierro que superan la norma.

Tabla 5.4. Características del agua de pozo antes de hacer pruebas de jarras

Parámetro	Jarra inicial*	Jarra ideal
pH	7.4	7.3
Hierro	1.80	1.97
Turbiedad	5	7
Color	20	15

*Jarra después de la optimización del cloro residual

Fuente: Elaboración propia

La siguiente tabla muestra la dosificación de reactivos a la prueba de jarra inicial e ideal, después de la optimización de la demanda de cloro que se mantuvo constante en 19.10 ppm. Se observa que en la prueba de jarras ideal se incrementó la dosificación del floculante, se disminuyó el sulfato de aluminio y se adicionó otro coagulante como es el hidroxiclورو de aluminio, se consideró la adición de cal.

Tabla 5.5. Dosificación de reactivos prueba de jarra inicial e ideal

Jarra	Dosificación de Reactivos									
	Cloro		Floculante		Coagulante A		Coagulante B		Cal	
	Vol. (mL)	Conc. (ppm)	Vol. (mL)	Conc. (ppm)	Vol. (mL)	Conc. (ppm)	Vol. (mL)	Conc. (ppm)	Conc. (ppm)	(g)
Inicial*	11.93	19.10	0.02	0.32	32.0	51.2				
Ideal	11.93	19.10	0.05	0.80	11.81	19.89	7.46	11.43	11.93	0.01

* Inicial según resultados de la jarra para demanda de cloro.

Coagulante A: Sulfato de aluminio

Coagulante B: Hidroxiclورو de aluminio

Fuente: Elaboración propia

Demanda de hidroxiclورو de aluminio, $Al(OH)_2Cl$

En la prueba de jarras realizada con las mismas dosificaciones iniciales de floculante y coagulante, que utilizaba la planta de tratamiento, y con variación de la demanda de cloro, se observó que la formación del floc requirió cuatro minutos, con tamaños muy pequeños, que incluso con tiempos de residencia superiores a 20 minutos no permitieron precipitarlos completamente, muchos de ellos quedaron en suspensión. Esta característica influyó en los parámetros fisicoquímicos que se encontraban por fuera de la normatividad (ver Tabla 5.6).

Con el fin de mejorar el desempeño del floculante en cuanto a la formación de flocs más grandes fácilmente asentables y que optimizara la sedimentación se hizo una combinación de coagulantes A y B (sulfato de aluminio e hidroxiclورو de aluminio), con el fin de reducir la concentración de metales pesados como el hierro. De igual forma, para que la neutralización química de las partículas y la posterior aglomeración del material coloidal y/o sólidos suspendidos, fuera más rápida. También se adicionó cal apagada la cual proporcionó mayor rapidez de precipitación, ya que ésta aumenta el tamaño de las partículas desestabilizadas y se precipitan más fácilmente. La dosificación de la jarras se encuentran en la Tabla 5.5.

Tabla 5.6. Requisitos específicos para agua tratada y resultado de pruebas de jarras

Característica	Rango de aceptabilidad	Jarra inicial*	Jarra ideal
Dureza Total (ppm. CaCO ₃)	300 Máx.	105	94
Alcalinidad Total (ppm)	200 Máx.	135	135
pH	6.5 - 9.0	7.3	7.4
Cloro libre (ppm).	0.3 – 2.0	1.6	1.2
Hierro total (ppm).	0.3 Máx.	0.39	0.11
Conductividad (mW/cm)	50 - 1000	800	132
Turbiedad (UNT)	2	3	0
Color verdadero (UPC)	15	14	0
Olor y sabor	Aceptable	Aceptable	Aceptable
Sólidos totales (mg/L)	< 500	512	84.5
Sustancias flotantes	Ausentes	Muchas	Ausentes

UPC: Unidades de Platino Cobalto. UNT: Unidades nefelométricas de turbidez.

* Jarra inicial después de optimizar la demanda de cloro.

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos, después de los cambios en dosificación del floculante y coagulantes A y B, muestran la mejoría en el desempeño del proceso de clarificación evidenciados en la formación de floc's de tamaño considerable en sólo 40 segundos y en la disminución del tiempo en que tardó el proceso de sedimentación que fue de cinco minutos. Respecto a los parámetros fisicoquímicos analizados, se puede observar que la turbidez y el color se encuentran en cero, lo cual quiere decir que en el proceso de clarificación se sedimentaron la mayor parte de las partículas suspendidas y/o flotantes. Por otra parte, la concentración de hierro disminuyó en un 94.40 % permitiendo cumplir la norma y aunque el pH aumentó un poco por la adición de la cal, no es una cantidad muy significativa porque se conserva en el rango permitido. Los resultados de cloro residual

indican que hay una concentración considerable que garantiza su posterior acción desinfectante del agua.

Muestras respaldo

Las muestras respaldo se recolectaron diariamente para observar el comportamiento del agua después del proceso de potabilización. La Figura 2 indica el comportamiento de las muestras respaldo comprendido en los 24 meses de ensayo.

Entre los meses 1 a 5 las muestras recolectadas mostraban que los procesos de clarificación y de filtración no eran los adecuados, debido a que las muestras con sedimentación eran mucho mayores que las muestras que no presentaban sedimentación.

Las muestras respaldo se observan en la Figura 5.2.

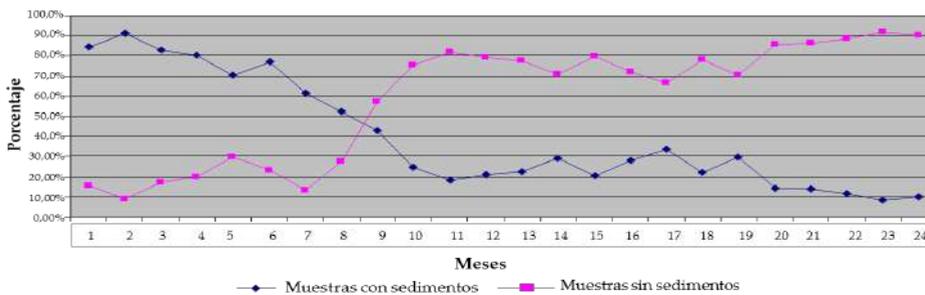


Figura 5.2. Muestras respaldo de 24 meses

Fuente: Elaboración propia

Después del mes nueve cuando se hace la implementación de la dosificación obtenida en el método de jarras se permitió intercambiar las tendencias donde las muestras sin sedimentación empiezan a marcar la diferencia.

Entre los meses 10 y 20 existen variaciones en los resultados, manteniéndose en promedio en el 80%, con los ajustes que se empezaron a hacer en los sistemas de filtración, en los meses 21 a 24 se observa un crecimiento el porcentaje de muestras sin sedimentos alcanzando total normalidad, los procedimientos están estandarizados y las dosificaciones son las óptimas para el proceso de clarificación del agua de pozo.

En general la Figura 2 muestra las tendencias en cuanto al comportamiento de las muestras respaldo, en donde los porcentajes iniciales de las muestras con sedimentación eran del 86.23 % y los porcentajes de las muestras sin sedimentación eran del 13.76 %, al final del proceso las muestras con sedimentación fueron de 9.95% y las sin sedimentación fueron del 90.04 % reduciendo al menos un 88.46 % de muestras sin sedimentación y cumpliendo plenamente los objetivos planteados.

Control de desperdicios

Los desperdicios de agua eran demasiado altos para los primeros seis meses de ensayo, debido a los procedimientos que se estaban llevando, principalmente por la mala clarificación del agua de pozo. A partir del décimo mes, fue un objetivo muy importante el poder disminuir los desperdicios a través de mejoras en los procedimientos y en las dosificaciones de reactivos. Después de los meses 17 a 24, donde se optimizaron las dosificaciones la tendencia de los desperdicios disminuyó en un 79.23%. En el segundo año, la planta de tratamiento acortó en 38.89 % los costos de los reactivos químicos respecto a los costos del primer año. Además, mejoró la aceptación por parte de los usuarios del producto hídrico suministrado.

5.4. Conclusiones

La sinergia entre las propiedades fisicoquímicas y las dosificaciones en la optimización procedimientos de la planta tales como el procedimiento de pruebas de jarras, de llenado y descarga del tanque sedimentador, preparación y dosificación de reactivos químicos, análisis fisicoquímicos de agua tratada entre otros, permitió ajustar en un 88.46% la calidad de agua de una planta de tratamiento de agua de pozo.

El mejoramiento de la dosificación de reactivos en los procedimientos de tratamiento del agua también realizó aportes significativo en la disminución de costos de operación en un 38.89% y en la disminución el impacto ambiental al bajar los desperdicios de agua de 13000 m³ a 2700 m³ por mes.

El poder entregar a usuarios humanos y al sector industrial valores fisicoquímicos que cumplen criterios normativos en calidad del agua muestran el aporte social de las investigaciones analíticas como una herramienta valiosa para el bienestar de las comunidades.

5.5. Referencias

- [1]. Aguilar, M.I Ortuño-Sandoval, J- F., Soler, A., Sáez, J. *Tratamiento físico químico de aguas residuales: coagulación y floculación*. España: EdiTum, 2012. Universidad de Murcia, 2002.
- [2]. Ministerio de Salud y Protección Social, Subdirección de Salud Ambiental. Informe Nacional de Calidad del Agua para Consumo Humano INCA 2016. Bogotá. 2018. 392p
- [3]. Collazos, M.P., Montaña, J. *Manual de agua subterránea*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Montevideo, Uruguay, 2012.
- [4]. Yue, P., Chen, X., Liu, H., Jia. H. 2015. Study of startup parameters triggering water cresting in wells in bottom-water reservoirs. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*, 51, 3.
- [5]. Mihelcic, J. R. *Fundamentos de Ingeniería Ambiental*. New York: Limusa Wiley. 2012.
- [6]. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca - CVC - Evaluación regional del agua, Valle del Cauca. Santiago de Cali. 2017.
- [7]. Ministerio de Salud y Protección Social, Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio Decreto Ley 4107 de 2011, Decreto 1077 de 2015, Resolución No.0549 de 2017
- [8]. Organización Panamericana de la Salud. Guías para la calidad del agua potable”, Vol 2, Washington, EUA. 2014
- [9]. Severiche, C.A.; Castillo, C.E.; Acevedo, R.L. *Manual de métodos analíticos para la determinación de parámetros físico químicos básicos en aguas*. Cartagena Editado por la Fundación Universitaria Andaluza Inca Garcilaso para eumed.net., 2013.
- [10]. Kemmer, F.N., McCallion, J, Manual del agua. Su naturaleza, tratamiento y aplicaciones. Tomo 1. New York, McGraw-Hill. 2015.
- [11]. Restrepo, H.A. *Evaluación del proceso de coagulación – floculación de una planta de tratamiento de agua potable*.

Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Minas. 2012.

[12]. Schutte, F. *Handbook for the operation of water treatment works*. The water Utilisation Division Department of Chemical Engineering South Africa: University of Pretoria. 2006. pp 70-172.

[13]. Gitisa, V., Hankins, N. 2018 Water treatment chemicals: Trends and challenges *Journal of Water Process Engineering* 25, 34–38.

[14]. Collins, A.G. *Geochemistry of Oilfield Waters*, New York: Elsevier. 1975, 496 pp.

[15]. Al-Ghouti, M-A., Al-Kaabi, M-A., Ashfaq, M. Da'na, D. 2019. Produced water characteristics, treatment and reuse: A review. *Journal of Water Process Engineering* 28, 222–239

[16]. Yusufu, D., Mills, A. 2018. Spectrophotometric and Digital Colour Colourimetric (DCC) analysis of colour-based indicators Sensors & Actuators: B. *Chemical* 273, 1187–1194

[17]. Miljojkovic, D., Trepsic, I., Milovancevic, M. 2019 Assessment of physical and chemical indicators on water turbidity. *Physica A* 527, 121-171

[18]. Apha, A. *Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Barcelona: Ediciones Díaz de Santos S.A. 2016.

[19]. Wang, A-Q., Lin, Y-L., Xu, B., Hu, Ch-Y., Gao, Z-Ch., Liu, Z., Cao, T-Ch., Gao, N-Y. 2018. Factors affecting the water odor caused by chloramines during drinking water disinfection *Science of the Total Environment* 639, 687–694

[20]. Ceiinc Ltda. Instrumentación de proceso para análisis de agua. Hach Company. (2011).

[21]. Rodier, J. *Análisis del Agua*. Barcelona: Ediciones Omega. 9 ed. 2015. 1584p.

[22]. Vélez, M., Ortiz, C., Vargas, M-C. *Las aguas subterráneas. Un enfoque práctico*. Colombia: Ingeominas, 2010. 58p

[23]. Du, Y., Lv, X-T., Wu, Q-Y., Zhang, D-Y., Zhou, Y-T., Peng, L., Hu, H-Y. 2017. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences* 58, 51 – 63

[24]. Shivcharan, V., Biraja, P., Mohanty, K.P., Singh, B.R., Behera, A-K. 2018. Dependence of precipitation of trace elements on pH in standard water Nuclear. *Inst, and Methods in Physics Research B*. 420, 18–22.

Capítulo VI
Seguimiento fisicoquímico de la calidad de
agua de una laguna facultativa de un ingenio
azucarero respecto al suministro de nutrientes
al sistema microbiano

.....

Lizbeth Lorena López Parra
Universidad Santiago de Cali
0000-0001-7183-2291

Rafael Jiménez Ortiz
Universidad Santiago de Cali
0000-0002-5044-481

Capítulo VI

Seguimiento fisicoquímico de la calidad de agua de una laguna facultativa de un ingenio azucarero respecto al suministro de nutrientes al sistema microbiano

Lizbeth Lorena López Parra
Rafael Jiménez Ortiz

Resumen. *Generalmente en el tratamiento de aguas residuales domésticas, agrícolas e industriales se utilizan sistemas de lagunas de tipo anaerobio, aerobio y facultativo con el propósito de remover contaminantes que al llegar a un cuerpo natural de agua pueden consumir el oxígeno existente y colapsar todas las formas de vida. Este capítulo se centra en el diagnóstico de una laguna de oxidación de tipo facultativo presente en un ingenio azucarero, analizándose en tres puntos críticos, la coloración, el azufre, el nitrógeno, el fósforo, el calcio, el magnesio y la relación entre los nutrientes con la demanda química de oxígeno, la demanda bioquímica de oxígeno y los sólidos totales disueltos. A partir de esto se encontró una relación no apropiada entre los procesos simbióticos entre algas y bacterias, lo cual contribuye a una pérdida de eficiencia en el proceso de remoción de la materia orgánica.*

Palabras clave: Laguna facultativa, aguas residuales, ingenio azucarero.

Abstract. *Generally, in the treatment of domestic, agricultural and industrial wastewater lagoon systems of anaerobic, aerobic and facultative type are used with the purpose of eliminating the polluting agent that can reach a natural body of water can consume the existing oxygen and collapse all the life forms. This chapter*

focuses on the diagnosis of an oxidation facultative lagoon present in a Sugar Mill, analyzing in three critical points, the coloration, the sulfur, the nitrogen, the phosphorus, the calcium, the magnesium and the relation between the nutrients with the chemical demand of oxygen, the biochemical demand of oxygen and the dissolved total solids. From this we found an inappropriate relationship between the symbiotic processes between algae and bacteria, which contributes to a loss of efficiency in the process of removal of organic matter.

Key Words: Facultative lagoon, wastewater, sugar mill

6.1. Introducción

Las lagunas de estabilización son el método más simple de tratamiento de aguas residuales que existe. Están constituidas por excavaciones poco profundas cercadas por taludes de tierra, generalmente de forma rectangular o cuadrada [1].

Las lagunas tienen como objetivos remover de las aguas residuales la materia orgánica que ocasionan la contaminación, eliminar microorganismos patógenos que representan un grave peligro para la salud o utilizar su efluente para reutilización, con otras finalidades, como agricultura [2].

La eficiencia de la depuración del agua residual en lagunas de estabilización depende ampliamente de las condiciones climáticas de la zona, temperatura, radiación solar, frecuencia y fuerza de los vientos locales, y factores que afectan directamente a la biología del sistema [3], [4].

Las lagunas de estabilización operan con concentraciones reducidas de biomasa que ejercen su acción a lo largo de periodos prolongados. La eliminación de la materia orgánica en las lagunas de estabilización es el resultado de una serie compleja de procesos físicos, químicos y biológicos, entre los cuales se pueden destacar dos grandes grupos [5], [6].

- Sedimentación de los sólidos en suspensión: representa una parte importante (40-60% como DBO_5) de la materia orgánica contenida en el agua residual, produciendo una eliminación del 75-80% de la DBO_5 del efluente [7].
- Transformaciones biológicas: determinan la oxidación de la materia orgánica contenida en el agua residual.

Las lagunas facultativas poseen una zona aerobia y una zona anaerobia, situadas respectivamente en superficie y fondo. Por tanto, en ellas se puede encontrar cualquier tipo de microorganismo, desde anaerobios estrictos en el fango del fondo hasta aerobios estrictos en la zona inmediatamente adyacente a la superficie. Sin embargo, los seres vivos más adaptados al medio serán los microorganismos

facultativos, que pueden sobrevivir en las condiciones cambiantes de oxígeno disuelto, típico de estas lagunas a lo largo del día y del año [8].

Además de las bacterias y protozoos, en las lagunas facultativas es esencial la presencia de algas, que son las principales suministradoras de oxígeno disuelto. A diferencia de lo que ocurre con las lagunas anaerobias, el objetivo perseguido en las lagunas facultativas es obtener un efluente de la mayor calidad posible, en el que se haya alcanzado una elevada estabilización de la materia orgánica, y una reducción en el contenido en nutrientes y bacterias coliformes [9].

En el tratamiento de las aguas residuales agroindustriales que se generan en los ingenios azucareros, se utilizan sistemas de lagunas anaerobias, cuya función principal es ser sedimentadoras de un gran volumen de lodos de los procesos de lavado de caña, efluentes del proceso de elaboración de azúcar y de biodegradación de la materia orgánica [10]. Finalmente, el efluente de estos sistemas se complementa con una laguna facultativa donde se espera que el oxígeno presente, aportado por organismos autotróficos, proporcione un medio aerobio que facilite la biodegradación de la materia orgánica por parte de las bacterias aeróbicas [11].

El capítulo de este libro, exhibe resultados investigativos asociados con la determinación de la composición fisicoquímica de las aguas de la laguna facultativa de un ingenio azucarero; se evaluó la variación de concentración de parámetros de suministro como carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, calcio y magnesio, los cuales intervienen en las poblaciones significativas de bacterias y algas en los efectos de simbiosis hacia el mejoramiento del sistema de tratamiento.

6.2. Funcionamiento de las lagunas anaerobias

Las lagunas anaerobias son por lo general el primer tipo de laguna (las más pequeñas de la serie) que se encuentra al inicio de los sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales. Ellas tienen de dos a cinco metros de profundidad y se caracterizan porque pueden recibir una carga orgánica alta (normalmente $> 100 \text{ g DBO/m}^3 \text{ día}$, equivalente a $> 3000 \text{ kg/ha día}$ para una profundidad de 3 m). Estas lagunas no contienen oxígeno disuelto ni tampoco algas, aunque de

vez en cuando una película delgada de *Chlamydomonas* puede estar presente en la superficie [12].

Las lagunas de estabilización anaeróbica contienen protozoarios y rotíferos cuya función es pulir el efluente final. En estas lagunas, las partículas sólidas cubren tres cuartas partes de la laguna y los sólidos suspendidos están sobre la superficie de la laguna dificultan la penetración de la radiación solar, por lo tanto, es insuficiente el oxígeno [13].

Elas trabajan como tanques sépticos abiertos, y su función principal es la eliminación de *demanda bioquímica de oxígeno* (DBO). Las lagunas anaerobias funcionan muy bien: una laguna anaerobia bien diseñada, debe lograr una remoción mínima de DBO del 60% a 20°C.

6.2.1 Funcionamiento de una laguna facultativa

Las lagunas facultativas por lo general es la más grande de la serie del sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales (Figura 6.1). Son de dos tipos: lagunas facultativas primarias que reciben agua residual cruda (después del tratamiento previo), y lagunas facultativas secundarias que reciben aguas residuales decantadas (generalmente efluentes de lagunas anaerobias). Están diseñadas para la eliminación de DBO sobre la base de una superficie con DBO relativamente baja, en el rango de 100 a 400 kg/ha día para permitir el desarrollo de una población saludable de algas, ya que el oxígeno necesario para que las bacterias remuevan la carga orgánica es suministrado por la actividad fotosintética de las algas.



Figura 6.1. Sistema de tratamiento de aguas residuales de un Ingenio Azucarero.

Fuente: Elaboración propia

Las lagunas facultativas pueden tornarse de color rojo o rosa, cuando están ligeramente sobrecargadas, debido a la presencia de bacterias fotosintéticas oxidantes del sulfuro [12].

La luz es fundamental para la actividad fotosintética de las algas y por tanto para la producción de oxígeno de éstas. Depende no solo de la radiación solar que alcanza la superficie del agua, sino de la profundidad a la que penetra, dado que el medio es muy turbio, la luz que penetra en la laguna se atenúa rápidamente y se anula a poca distancia de la superficie. Esta franja de luz horizontal que penetra en la laguna, constituye el sistema de aireación de la laguna y, por tanto, limita la actividad de las algas, ya que es en esta zona, donde ellas realizan la fotosíntesis, que es el proceso más importante de la laguna facultativa, y la transferencia de oxígeno atmosférico al agua por efecto del viento.

Las algas requieren de luz solar para poder realizar la fotosíntesis y por ello solo se encuentran en una capa superficial. La profundidad de esta zona fótica es del orden de 0.60 cm, está determinada por la concentración de las algas [14] y otros factores como los sólidos suspendidos, la carga orgánica y la propia transparencia del agua residual.

Dado que el interés es analizar los nutrientes que se encuentran disponibles para las algas y su impacto en la calidad fisicoquímica del agua, en este estudio se consideró la profundidad de la zona fótica de la laguna, para determinar a qué distancia desde la superficie se deberían tomar las muestras que fueran representativas para la investigación.

6.3. Metodología del muestreo

En total se establecieron 16 sitios de muestreo en la laguna facultativa en estudio. Para tal efecto, se tomaron ocho puntos al borde, entre los cuales se incluyeron los cuatro vértices, la entrada y el descargue; además se hicieron otras ocho mediciones en el centro de la laguna equidistantes entre sí. Las mediciones se realizaron en la mañana (5 cm), al medio día (7 cm) y en la tarde (5 cm) de un día soleado. Con la ayuda del disco Secchi (Figura 6.2), se evaluó la profundidad de la zona fótica en los puntos de muestreo de la laguna.



Figura 6.2. Disco Secchi.
Fuente: Elaboración propia

Se utilizó un bote que se desplazó a las diferentes distancias para el muestreo de los puntos que estaban alejados del borde de la laguna, se detuvo el funcionamiento del motor del bote antes de tomar la muestra para evitar turbulencias. Cuando la superficie estaba lo más tranquila posible, se procedía a introducir el disco en la laguna en posición a sotavento.

Se definieron tres puntos de muestreo:

- **Punto 1:** Entrada a lagunas de sedimentación (Este punto cambió de sitio por variación del proceso).
- **Punto 2:** Salida de lagunas de sedimentación o entrada a laguna facultativa.
- **Punto 3:** Salida de laguna facultativa.

Las muestras se conservaron acidificadas a pH 1.5 – 2.0 con H_2SO_4 concentrado y a 4°C.

6.4. Resultados y análisis

6.4.1 Zona Fótica

La determinación de la zona fótica de la laguna, que en principio se creía que serviría solamente para conocer la profundidad a la que se debían tomar las muestras, tomó una gran relevancia al saber la poca profundidad porque permitió inferir conclusiones contundentes respecto al bajo rendimiento en la remoción de la materia orgánica.

Según Bitton (1994), la zona fótica de una laguna facultativa debe ser del orden de 0.60 m, no obstante, al realizar el estudio de la laguna en cuestión con el disco de Secchi, se determinó que esta zona sólo alcanza unos 0.07 m en promedio al medio día en un tiempo soleado en donde los rayos inciden directamente, y 0.05 m en promedio en horas de la mañana y la tarde cuando la radiación solar es menor. En la Figura 6.3 se observa que existe una gran diferencia entre la profundidad de la zona fótica ideal, respecto a la profundidad de la zona fótica medida.

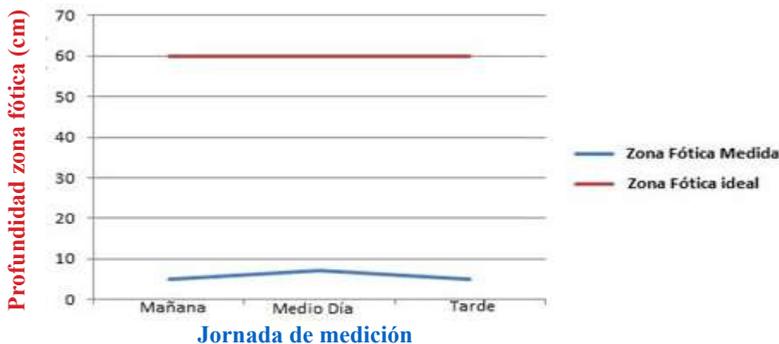


Figura 6.3. Zona fótica medida vs. Zona fótica ideal.

Fuente: Elaboración propia

6.4.2 Coloración rosa de la laguna

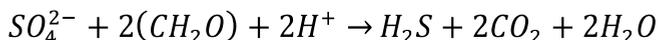
La laguna facultativa en estudio, presentó coloración rosa que se correlaciona con la poca penetración de la luz y nula presencia de algas. En literatura se ha establecido que las lagunas facultativas están sobrecargadas, en forma permanente o transitoria, aparecen de color púrpura (aunque el color exacto puede variar de rosa, pasando por el rojo y púrpura, al marrón claro). Esto es debido a los efectos

tóxicos de sulfuro principalmente sobre las algas y el consiguiente predominio de bacterias fotosintéticas anaeróbicas púrpura y verde. Estas bacterias utilizan la energía lumínica para fijar el dióxido de carbono con la oxidación concomitante de sulfuro de hidrógeno en azufre y sulfato [15].

Las bacterias rojas contienen pigmentos de clorofilas llamados bacterioclorofila y además una variedad de pigmentos carotenoidicos, estos pigmentos dan el color a estas bacterias, el azufre elemental oxidado (S^0) es almacenado como gránulo dentro de las células. Las bacterias fotosintéticas verdes y púrpura también pueden utilizar compuestos orgánicos simples, tales como acetato, cuando el crecimiento es “foto-heterótrofo” [15].

6.4.3 Azufre

Cuando los compuestos orgánicos en cuya molécula está presente el azufre son descompuestos por bacterias, el producto inicial sulfurado está generalmente de forma reducida, es decir en forma de H_2S . Esto es debido a la presencia de bacterias en el agua que son capaces de reducir iones sulfato a H_2S , la actividad metabólica de reducción de sulfatos se lleva a cabo de la siguiente forma:



Donde (CH_2O) forma el material orgánico intracelular; como los carbohidratos que utiliza la célula bacteria como fuente de carbono.

Las transformaciones del azufre en dichas lagunas ejercen influencia sobre los mecanismos de tratamiento. Cuando existen concentraciones elevadas de sulfatos en los líquidos crudos, las bacterias reductoras de sulfatos los transforman en sulfuros tomando la energía necesaria de la oxidación de pequeñas moléculas de materia orgánica y del hidrógeno [16].

La dinámica de las bacterias en este hábitat es bastante compleja y realizar un balance del azufre en las lagunas anóxicas resulta difícil, ya que existen varios géneros de estas bacterias dependiendo de la actividad que realicen. Sin embargo, de acuerdo a los resultados promedio obtenidos de S^{2-} , H_2S y SO_4^{2-} , mostrados en la Figura 6.4, en los diferentes puntos de muestreo, se puede decir que:

El comportamiento de las tres variables disminuye, aunque en el punto 3, los sulfatos y los sulfuros muestran un pequeño incremento respecto al punto 2.

En el punto 2 (entrada a la laguna facultativa) se observa una disminución de los SO_4^{2-} respecto a la entrada a todo el sistema (punto 1), esto es debido a que las bacterias sulfato reductoras (desulfobivrio) lo reducen a ácido sulfhídrico (H_2S).

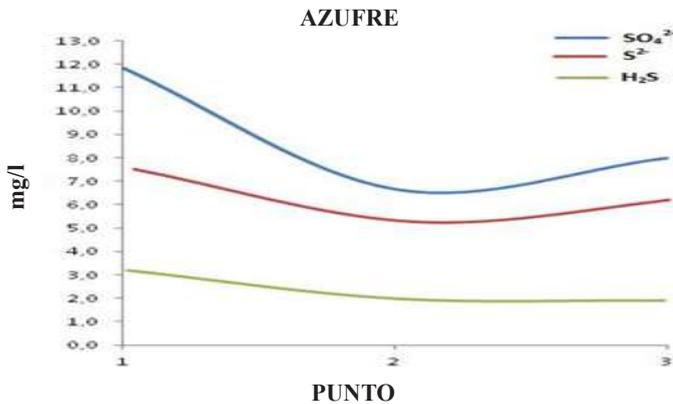


Figura 6.4. Comportamiento de S^{2-} , H_2S y SO_4^{2-} .

Fuente: Elaboración propia

Para que existan las bacterias fotosintéticas del azufre, el ácido sulfhídrico debe abundar; esto se evidencia en el hecho de que a pesar de que éste compuesto es utilizado en la actividad de éstas bacterias como donante de electrones, su presencia no se ve disminuida (entre los puntos 2 y 3 que corresponden a la laguna facultativa), ya que además de lo que entra con el afluente, se le suma todo el que es producido en los lodos del fondo de la laguna por los procesos propios de los sistemas anaerobios, bajo estas condiciones se vuelve inagotable, sin embargo, la acción de las bacterias oxidantes del sulfuro impiden que aumente.

Este H_2S es oxidado en azufre elemental (S^0), que es incorporado a la célula. El S^0 producido por este ciclo bacteriano de inmediato puede ser oxidado a la forma de ion SO_4^{2-} , después que el H_2S ha sido consumido. A este proceso obedece que hay un aumento de SO_4^{2-} en el punto 3

(salida de la laguna facultativa), sin embargo, este también puede ser reducido nuevamente a H_2S por la acción de las bacterias sulfato reductoras ocasionando un ciclo de oxidación-reducción (Figura 6.5)



Figura 6.5. Actividad de las bacterias en la laguna facultativa roja.

Fuente: Elaboración propia

6.4.4 Nitrógeno

Para valorar las diferentes formas de nitrógeno especialmente la de nitritos, fue importante la toma de muestras y especialmente su determinación en el laboratorio ya que se debieron analizar inmediatamente después del muestreo para evitar la conversión bacteriana del NO_2^- en NO_3^- o NH_3 . Además, el contacto del NO_2^- con el aire acelera la cinética de transformación a NO_3^- .

La ausencia de nitratos y nitritos indica la ausencia o mínimos procesos de mineralización a nitrato del sistema de estabilización. Para la oxidación del amoníaco se requiere oxígeno molecular, en una primera etapa las bacterias oxidadoras del amoníaco utilizan la enzima monooxigenasa. Posteriormente, las poblaciones de bacterias oxidadoras del nitrito a nitrato emplean la enzima nitrito oxidasa.

Las velocidades de nitrificación son controladas por el crecimiento de las bacterias químico autótrofo nitrificante, cinéticas, dependientes del pH, temperatura, concentración de amoníaco y oxígeno disuelto, acorde a la ecuación [17]:

$$r_n = \frac{\mu_n}{Y_n} \left(\frac{NH_4 - N}{K_1 + NH_4 - N} \right) \left(\frac{DO}{K_2 + DO} \right) C_T C_{pH}$$

En esta ecuación el término DO es oxígeno disuelto, y es una variable que es proporcional al crecimiento de las colonias nitrificantes.

La no detección de nitritos y nitratos se debe a la ausencia de oxígeno en el sistema, las condiciones anóxicas imperantes en la laguna de estabilización, se afirman cada vez más con los análisis que se van obteniendo: escasa zona fótica, presencia de bacterias fotosintéticas purpura del azufre, inhibición de la nitrificación.

El método utilizado para la determinación del nitrógeno amoniacal tiene un límite de detección alto de 5 mg/L, el procedimiento utilizado fue el descrito en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 17Ed., identificado como 4500 NH₃-B. en el cual el amoniaco es destilado y absorbido en una solución de ácido bórico para ser posteriormente titulado con una solución de ácido sulfúrico 0.02 N.

La desnitrificación es la reducción del nitrato a nitrógeno gaseoso, esta es una reacción anaeróbica o por lo menos anóxica, este también puede reducirse a otros compuestos gaseosos a base de nitrógeno [12].

El sistema en su generalidad es anaeróbico, en las lagunas de sedimentación; y anóxico en la laguna de estabilización, favoreciéndose la posibilidad de condiciones desnitrificantes.

El análisis de nitrógeno orgánico Kjeldahl, arrojó resultados por encima de 20 mg/L de N, esto quiere decir que existen pocas formas de nitrógeno inorgánico, pero si hay presencia de nitrógeno primordialmente de tipo orgánico (Figura 6.6).

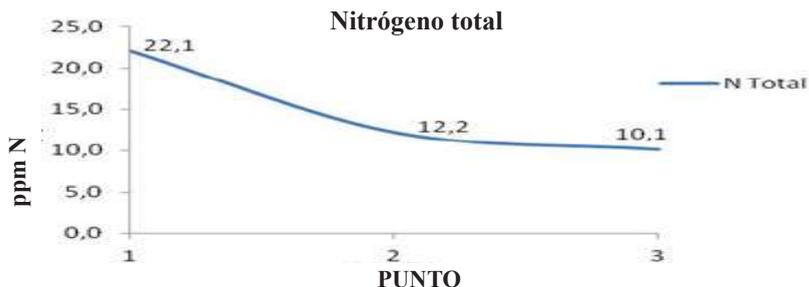


Figura 6.6. Determinación de nitrógeno orgánico Kjeldahl.

Fuente: Elaboración propia

La disminución del nitrógeno total entre los puntos 1 y 2, que corresponde a un 45% aproximadamente, se debe básicamente al proceso de sedimentación. Es de anotar que entre estos dos puntos hay tres lagunas anaerobias en donde la remoción de la materia orgánica se da principalmente por el proceso de decantación de los sólidos en suspensión, que suelen representar una parte importante (40-60% como DBO5) de la materia orgánica contenida en el agua residual y produce una eliminación del 75-80% de la DBO₅ del efluente [7].

Entre los puntos 2 y 3 (entrada y salida de la laguna facultativa), la remoción de nitrógeno que corresponde a un 17% aproximadamente, se debe a la misma causa (sedimentación), como se citó anteriormente, por existir escasa o nula presencia de moléculas inorgánicas nitrogenadas (NH₃, NO₂⁻ y NO₃⁻), no se lleva a cabo el ciclo del nitrógeno o proceso de mineralización de moléculas con este elemento. Por lo que el nitrógeno presente no está en forma de nutriente para los microorganismos.

6.4.5 Fósforo

El comportamiento del fósforo (Figura 6.7) está acorde con lo esperado, disminución gradual por el proceso de sedimentación.

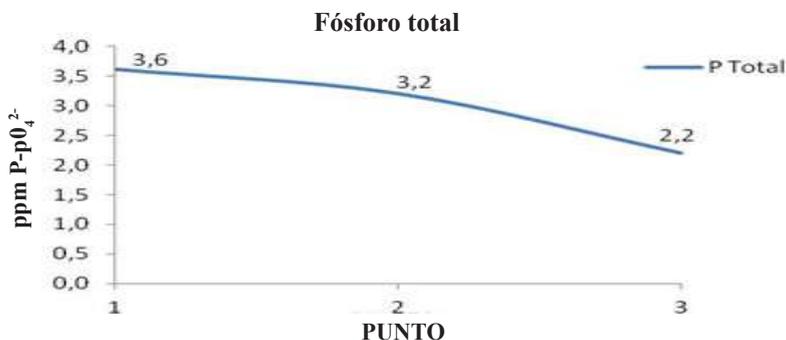


Figura 6.7. Fósforo inorgánico como orto-fosfato
Fuente: Elaboración propia

En todos los casos, el fósforo es removido por conversión de los iones fosfato presentes en el agua residual a una fracción sólida; esta fracción puede ser una sal insoluble precipitada o estar presente en la masa microbial en los lodos. Incluso si existe una absorción de

ortofosfato por parte de la biomasa algal, la sedimentación no puede ser despreciada [18].

El aporte de fósforo de la biomasa anaerobia contiene de 2 a 3% de P en peso seco, el fósforo es considerado un macro nutriente esencial el cual estimula el crecimiento de las poblaciones algales y de ciertas cianobacterias acelerando los procesos de eutrofización, un agua residual doméstica contiene aproximadamente 12 mg/L de P. El fósforo puede eliminarse del agua residual antes de someterse a un tratamiento biológico por precipitación del anión fosfato con cationes Ca^{+2} , Al^{+3} , o Fe^{+3} [19].

Los resultados muestran una remoción del fósforo de un 39% aproximadamente en todo el sistema. El contenido de fósforo que ingresa en el afluente al tratamiento es muy bajo comparado con las concentraciones que se encuentran en las aguas residuales domésticas, es decir el fósforo es un macro nutriente que se encuentra en déficit (3.6 mg/L en promedio), y durante el proceso se adiciona cal para incrementar el pH y evitar así los procesos fermentativos, por tal razón una parte del fósforo se debe estar sedimentándose tanto en las lagunas anaerobias y otra parte en la laguna anóxica de estabilización, y otra mínima parte debe ser removida incorporándose a la biomasa existente en el sistema de lagunaje que es en su gran mayoría anaeróbica. La existencia de un residual de fosfato en la salida de la laguna de estabilización de 2.2 mg/L demuestra que no existen procesos de eutrofización, y que la existencia de cianobacterias o comunidades de algas es nula en el sistema analizado.

Pese a que el fósforo es el nutriente limitante en las estequiometrias que describen la formula empírica de crecimientos biológicos tanto aerobio como anaerobios, los resultados obtenidos son tan bajos que no cumplirían con las relaciones de C/N/P teóricas, para una eutrofización apropiada, vital para que una balsa de estabilización facultativa sea eficiente; bajo estas condiciones la biomasa anaerobia (condición de la laguna) típica de sistemas de sedimentación, si utiliza eficientemente este nivel de fósforo, porque su requerimientos nutricional es menor debido a que su cinética de crecimiento bacterial es muy lenta.

6.4.6 Relación de nutrientes

Uno de los objetivos propuestos en esta investigación es establecer la relación DBO/N/P para evaluar si es la apropiada en el desarrollo de las algas. Según Mara D. (2004) la relación de nutrientes para el crecimiento bacteriano relaciona DBO:N:P en una proporción de aproximadamente 100:5:1, se hace la acotación de que los efluentes industriales pueden alterar esta relación y las aguas residuales pueden requerir suplementos nutricionales de nitrógeno y fósforo.

Existe de igual manera, una formulación detallada que describe el crecimiento de algas, la cual incluye al nitrógeno y al fósforo, que en algunas circunstancias pueden ser limitantes de tasa [19]. Estas formulaciones indican las cantidades de nitrógeno y fósforo necesarias para el crecimiento de autótrofos, además el crecimiento fototrófico en una laguna de estabilización elimina nitrógeno y fósforo en el agua residual, en algunas ocasiones los fotótrofos se dedican a captar fósforo en grandes cantidades lo que significa que la cantidad de P incorporado puede ser incluso mayor del 1% quizás tan alto como un 6%. De esta manera, la eliminación de nutrientes va asociada a la remoción de DBO.

Lo anterior también muestra, que la asimilación de carbono proviene del CO₂ generado en la laguna y éste en su gran mayoría proviene de la degradación aeróbica de la materia orgánica efectuada por las bacterias, de forma similar el amoníaco que se obtiene proviene de procesos de nitrificación; es decir, la relación ideal que plantea el investigador Mara D. de 100 DBO: 5 N: 1 P para el crecimiento bacteriano garantiza la eficiencia metabólica de las bacterias aeróbicas heterotróficas; existe una guía general en la cual aproximadamente 1/3 de la DBO se usa en reacciones catabólicas (energéticas) y aproximadamente 2/3 se utilizan en síntesis de biomasa (anabolismo).

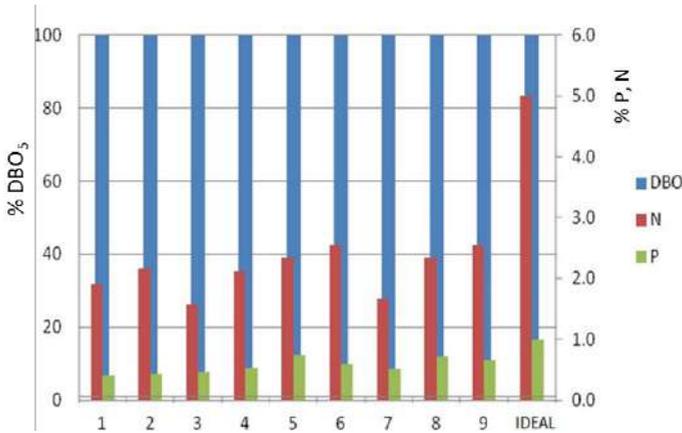


Figura 6.8. Representación gráfica de la relación DBO/N/P en el punto 2.

Fuente: Elaboración propia

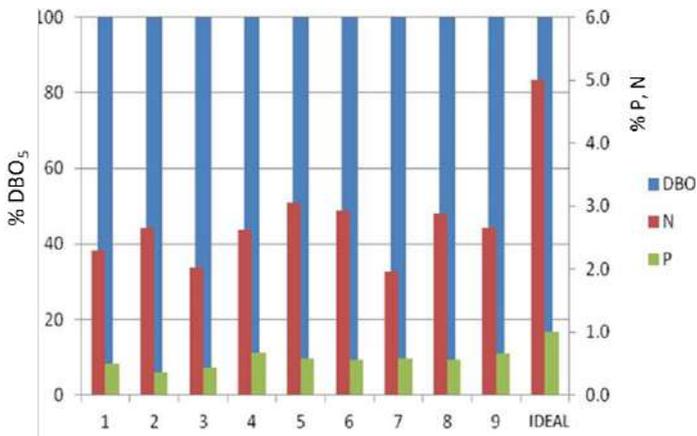


Figura 6.9. Representación gráfica de la relación DBO/N/P en el punto 3.

Fuente: Elaboración propia

Si el sistema presenta la relación ideal de nutrientes asociado al crecimiento bacteriano, influirá positivamente para que el sistema faculte a la biomasa algal para su crecimiento y por lo tanto garantizará que el oxígeno metabolito de la fotosíntesis esté disponible para ser utilizado por las bacterias, dinámica fundamental de una laguna de estabilización facultativa. En las figuras 6.8 y 6.9, la DBO corresponde al eje de la izquierda y el N y el P en el eje de la derecha. Se tienen diez relaciones, las nueve primeras son las que se calcularon con los resultados de los análisis de DBO/N/P para cada muestra y la última relación es la ideal 100/5/1.

Nótese como en esta representación de la entrada y salida de la laguna facultativa (punto 2 y punto 3), el nitrógeno y el fósforo que ingresan y salen de la laguna, son muy escasos en comparación con el ideal. Lo que quiere decir, que la cantidad de materia orgánica que entra es mucha en comparación con la presencia de nitrógeno y fósforo, razón por la cual se comprueba que el aporte nutricional es muy bajo para los microorganismos que pudieran estar en este hábitat, o que la cantidad de carga orgánica representada en la DBO, es grande para ser degradada por microorganismos con bajo aporte de nutrientes.

6.4.7 DBO DQO Y SST

La Demanda Química de Oxígeno DQO, la Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO y los Sólidos Suspendidos Totales SST, presentan disminución de las tres variables proporcionales entre sí (Figura 6.10), obedeciendo al proceso de sedimentación en las lagunas anaerobias y la laguna facultativa. Este proceso es propio de las lagunas anaerobias y como ya se ha citado, la sedimentación de los sólidos suspendidos es la causa de un importante porcentaje de degradación de la materia orgánica. A pesar de esto, este proceso no es el más importante en la laguna facultativa donde los procesos de degradación se dan principalmente por la actividad de microorganismos, no obstante, como se señaló anteriormente, la laguna facultativa no tiene actividad algal, si fuera así, se apreciaría una disminución mayor de estas tres variables en el punto 3.



Figura 6.10. Comportamiento de la DBO, la DQO y los SST.

Fuente: Elaboración propia

El sistema en su totalidad remueve, en términos de DBO, un 54% de carga, incluso se observa que este valor es bajo comparado con lo que se esperaría para un sistema de tratamiento anaerobio. Las lagunas anaeróbicas trabajan extremadamente bien bajo condiciones de diseño apropiado y sobrecargas no significativas logran remociones mayores al 60% a 20°C [12].

Se observa una remoción total del 71% en sólidos suspendidos totales, esto indica que el principal mecanismo de remoción en todo el sistema es la sedimentación, y los procesos de biodegradación y mineralización de la materia orgánica se dan en la biomasa asociada a los lodos sedimentados.

Un problema principal que está asociado a las balsas de estabilización es la gran concentración de sólidos suspendidos en el efluente, otro factor importante es el crecimiento de fotótrofos, el exceso de este material produce aumentos en la DBO del efluente, por un incremento del florecimiento algal [19].

Los resultados de la DBO y los SST obtenidos en el efluente de la laguna de estabilización son bajos comparados con el afluente proveniente de las lagunas de sedimentación, no se observan incrementos en la DBO ni en los sólidos, lo que indica que no existe biomasa algal que incremente estos parámetros, demostrando que no existe actividad fotosintética y por lo tanto producción de oxígeno, vitales para un óptimo funcionamiento de una laguna de estabilización facultativa.

6.4.8 Calcio y magnesio

El calcio y el magnesio están catalogados como elementos menores en la nutrición de los microorganismos del hábitat acuático, son de gran importancia en el buen desarrollo de la biomasa algal y bacterial en las lagunas facultativas. En la Figura 6.11, no se quiere mostrar la degradación de estos elementos, sino su presencia como componentes nutricionales en las aguas residuales. En las figuras el eje de la derecha que corresponde a las partes por millón de magnesio, se aprecia que hay una gran diferencia en comparación con el aporte de calcio (eje de la izquierda), esto es debido a que en el sistema existen tres estaciones alimentadoras de cal para evitar que el pH descienda y cree traumatismos en el medio.

Las estaciones alimentadoras de cal, están ubicadas al inicio de cada uno de los puntos de la figura. El incremento de la concentración de calcio en el punto 2, se debe a que el pH del efluente del sistema de sedimentación es más estable que en la estación No.1 donde llegan los efluentes del proceso que tienen un pH inferior a 6.0 casi siempre; la adición de cal previo a la entrada a la laguna de estabilización garantiza un buen nivel de alcalinidad para un sistema que sigue trabajando en condiciones anóxicas, y que puede demandar alcalinidad.



Figura 6.11. Comportamiento del calcio y magnesio.

Fuente: Elaboración propia

En el tratamiento anaerobio el control del pH es crítico, y el intervalo deseado para que los metanógenos sean eficientes es de 6.5 a 7.6. Los ácidos orgánicos producidos como productos intermedios, así como el ácido carbónico asociado a las elevadas concentraciones de CO₂, tienden a reducir el pH, en este tipo de tratamiento el uso de reguladores tiende a ser relativamente alto comparado con el tratamiento aerobio.

Los efluentes provenientes del lavado de caña y del proceso de elaboración, tienden a ser ácidos por la presencia de azúcares que son el medio ideal para que se den procesos fermentativos, por esta razón antes de que el afluente ingrese a la primera laguna de sedimentación, se adiciona cal en la primera estación con el objetivo de acondicionar el pH para el proceso anaeróbico y garantizar que se incremente la alcalinidad que actuará como un regulador en el sistema cuando las reacciones bioquímicas generen una disminución en el pH a valor por debajo de 6.6, crítico para producir inhibición de la metanogénesis.

La adición de cal produce un aumento en las concentraciones de Ca^{+2} y CO_3^{2-} cuando las concentraciones alcanzan cierto punto tiene lugar la precipitación de CaCO_3 , este precipitado puede mezclarse con los sólidos en suspensión del reactor o pueden precipitar formando una costra dura [19].

Una característica relevante de este sistema de tratamiento, es la presencia de un alto nivel de lodos sedimentados en las lagunas de sedimentación, a un nivel que incluso se observa esta situación en la laguna de estabilización; esto contribuye a que no se dé una zona fótica que permita el desarrollo de organismos fototróficos, vitales para el desempeño de una laguna facultativa; un factor que puede estar incrementando este parámetro es la cal ya que el sistema de dosificación no es controlado y el sistema no permite un tiempo de homogenización, y se pueden dar reacciones inversas donde la precipitación también elimine la alcalinidad.

6.4.9 Alcalinidad y pH

La alcalinidad definida como la capacidad del agua para neutralizar ácidos y su cantidad depende del contenido de sustancias alcalinas en la muestra, es un parámetro importante en el control del pH del proceso de depuración de las aguas residuales. En la Figura 6.12, el eje de la derecha muestra la escala de alcalinidad en ppm CaCO_3 y se observa que sólo hay un cambio sutil a través de todo el sistema. La ligera disminución en el punto 2 se debe a la pérdida de CO_2 a la atmósfera por la biodegradación de la materia orgánica. En este punto, es donde más se adiciona cal para incrementar la presencia de carbonatos y bicarbonatos para así evitar el descenso del pH por baja alcalinidad.

El pH es una variable crítica en todos los sistemas que emplean procesos biológicos tales como las plantas de tratamiento de aguas residuales, es por eso que en el sistema del ingenio azucarero existe una estación de bombeo de cal en cada punto de muestreo para ejercer un control eficiente sobre esta variable. Los resultados de pH que se observan en el eje de la izquierda de la Figura 6.12, muestran un buen control sobre el sistema respecto a que un pH por debajo de seis, desfavorecería los procesos biológicos en el sistema anaerobio. Sin embargo, en las lagunas facultativas deberían

presentar un pH por encima de ocho ya que la actividad fotosintética de las algas requiere más CO_2 del que se produce por respiración y descomposición [20]. En el sistema objeto de estudio, el punto 3 (salida de la laguna facultativa), se aprecia pH por debajo de ocho, lo que indica que hay altas concentraciones CO_2 debido a que no hay fotosíntesis y por ende no hay consumo del CO_2 producido.

Los resultados obtenidos en alcalinidad muestran que la adición de cal que se efectúa en la estación No 1 previa a la entrada al sistema de lagunas de sedimentación, garantiza un buen pH que no inhibe los procesos anaeróbicos. El pH del entorno en el cual crecen las bacterias es un parámetro muy importante, muchas bacterias prefieren condiciones cerca a la neutralidad o ligeramente alcalina, condiciones cercanas a un pH de 6.5 – 8.5, los metanógenos son un grupo sensible a pH menores de 6.2.

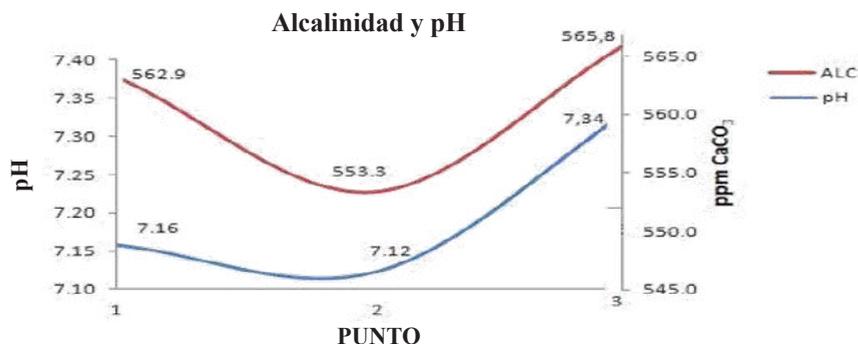


Figura 6.12. Comportamiento de la alcalinidad y el pH.

Fuente: Elaboración propia

Un aspecto muy importante que se observa entre los puntos 1 y 2 que corresponden a la entrada y salida del sistema de lagunaje de sedimentación (anaeróbico), es que el pH no sufre caídas drásticas se conserva entre un rango de 7.10 - 7.20; y esto es importante ya que el sulfuro de hidrógeno que se forma principalmente en las lagunas anaeróbicas por la reducción del sulfato por la bacteria *Desulfovibrio* spp, a sulfuro de hidrógeno (H_2S) es la principal fuente de olores desagradables; sin embargo, a un pH alrededor de 7.5 el sulfuro está presente como el ion bisulfuro (HS^-) y este no presenta olor irritante [21].

Como se menciona anteriormente en el numeral relacionado a calcio y magnesio, es muy importante tener una alcalinidad significativa en las balsas anaerobias que evite la caída de pH producto de las reacciones de hidrólisis y formación de ácidos orgánicos en la etapa fermentativa de la metanogénesis, se observa que aunque existe una caída en alcalinidad en la salida del sistema anaerobio, es mínima y alcanza a neutralizar la acidez que se libera y queda un 98.4% de la concentración que ingreso.

Se observa que el pH de la salida de la laguna de estabilización es de alrededor de 7.3 como efluente de un sistema de tratamiento es óptimo; sin embargo, evidencia poca actividad fotosintética y por lo tanto reafirma el hecho de que las condiciones de la laguna son anóxicas.

En lagunas de estabilización facultativas con presencia de biomasa algal, el pH en el sistema puede ser usado como un indicador de la siguiente manera:

- pH por encima de ocho es producido por velocidades fotosintéticas donde la demanda de CO₂ es mayor que las cantidades que se reemplazan por procesos de respiración y descomposición de la biomasa.
- pH por debajo de ocho indica fallas en el proceso fotosintético para utilizar completamente el CO₂ producido, es decir no existe una biomasa algal que participe en el ciclo facultativo de la laguna de estabilización.

6.4.10 Remoción de carga orgánica del sistema

Los resultados de DBO obtenidos durante la investigación, determinan los porcentajes de remoción de carga orgánica de todo el sistema (tres lagunas anaerobias y una laguna facultativa), aunque se muestra un valor máximo de 71% que es un buen valor, el promedio de 54% es un resultado aceptable para este tipo de sistemas de tratamiento de aguas residuales industriales, que pone de manifiesto una meta de mejoramiento (Figura 6.13).

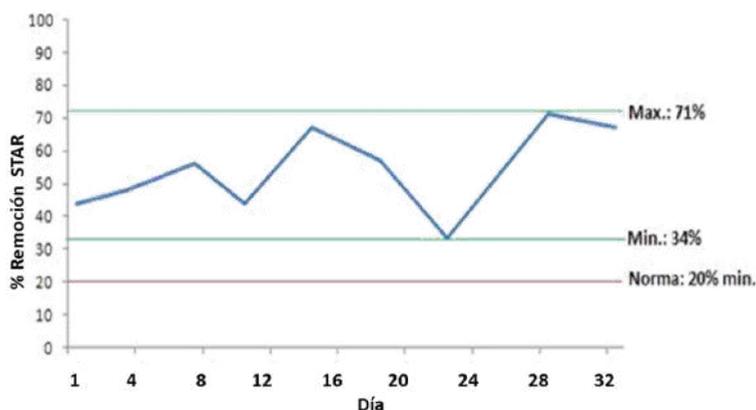


Figura 6.13. Porcentaje de remoción de todo el sistema de tratamiento de aguas residuales.

Fuente: Elaboración propia

6.5. Conclusiones

La medición de la zona fótica sirvió para evidenciar la gran turbidez de la laguna debido a un exceso de sólidos en suspensión que demuestra que la laguna trabaja con una sobrecarga orgánica ya que el disco Secchi determinó una penetración de luz máxima de 7 cm en promedio, cuando lo ideal hubiera sido unos 60 cm.

La coloración rosa de la laguna facultativa en estudio, se debe a la presencia de bacterias fotosintéticas purpuras oxidantes del sulfuro (Mara, 1986). Esta fotosíntesis bacteriana es anaerobia, lo cual no da lugar a la producción de oxígeno. Como la laguna requiere oxígeno, pero no lo tiene, la laguna facultativa está trabajando en condiciones anóxicas.

Debido a las condiciones anóxicas de la laguna, se favorece la proliferación de las bacterias purpuro sulfurosas que compiten con las algas ocasionando una reducción de su población tendiendo a eliminarlas, consecuentemente en la laguna hay baja eficiencia en la remoción de la carga orgánica. El cambio de coloración de la laguna facultativa es un buen indicador cualitativo del funcionamiento del proceso de degradación; hecho que se ve en los resultados de porcentajes de remoción de la DBO, lo ideal es evitar que estas bacterias salgan al cuerpo receptor ya que hacen parte de la biomasa que incrementa el valor de la DQO.

Resultados de análisis de sulfuros por encima de 6.4 ppm, indican niveles de toxicidad para las algas, su presencia inhibe el proceso fotosintético de las mismas (si las hubiere) y la producción de oxígeno; así mismo los sulfuros son utilizados por las bacterias purpuras del azufre como donadores de electrones, oxidándolos a sulfatos. A este proceso obedece que haya un aumento de sulfatos a la salida de la laguna facultativa.

La ausencia de oxígeno en la laguna facultativa indica que no hay procesos oxidativos que requieren de este elemento como portador de electrones, por eso son muy mínimos o no existen residuales de NH_3 , NO_2^- y NO_3^- en ella; la presencia de SO_4^{2-} , obedece a que hay una oxidación que utiliza sulfuros en vez de oxígeno como portadores de electrones. De esta manera, el SO_4^{2-} , que se esperaba encontrar como nutriente para las algas, es utilizado por las bacterias sulfato reductoras.

La ausencia de formas de nitrógeno oxidadas, son indicadores de la inexistencia o inhibidos los microorganismos encargados de llevar a cabo el proceso de nitrificación (conversión de NH_3 en NO_2 y NO_3) que corrobora que la laguna no está suficientemente eutrofizada.

No existe una relación adecuada para el crecimiento de microorganismos relacionado con equilibrio DBO:N:P de 100:5:1. Las relaciones encontradas en esta investigación, indican que hay un gran desequilibrio de la materia orgánica (representada en la DBO), respecto a la cantidad de nitrógeno que es muy baja. Es decir, hay mucha materia orgánica para la cantidad de nitrógeno total (sin considerar aún en qué forma se encuentra) y el fósforo oscila en valores generalmente bajos con respecto al esperado para el equilibrio ideal. Causante de la reducción en la eficiencia en el proceso de remoción de carga contaminante y en la inhibición del crecimiento de algas.

Aunque el nitrógeno total es relativamente proporcionado en los diferentes puntos del sistema, la no presencia de sus formas NO_2 y NO_3 , evidencia que en la laguna no existen colonias de microorganismos capaces de realizar el proceso de mineralización de moléculas de nitrógeno orgánico que se da mediante el proceso de oxidación aerobia, ausencia de colonias bacteriales quimiolitotróficas como son *Nitrobacter* y *Nitrosomonas*.

6.6. Referencias

[1] Boulier, G; Atchison, T. “*Practical Design and Application of the Aerated-facultative Lagoon*” Process Hinde Engineering Company. 1974. 1-32.

[2] Aponte, A. “Desarrollo de modelos ecológicos para carbono y nitrógeno en lagunas facultativas secundarias” *Ingeniería Investigación y Tecnología* 3. 2014a. 437-456.

[3] Aponte, A. “Validación de modelos hidrodinámicos de tres modelos topológicos de lagunas facultativas secundarias” *Ingeniería Investigación y Tecnología* 4. 2014b. 637-654.

[4] Gerardi, M; “The Biology and Troubleshooting of Facultative Lagoons” Wiley 2015. 35-42.

[5] Brotons, J. 2011. “La maximización del beneficio en las empresas depuradoras de aguas residuales. El caso de Valencia (España)” *Estudios Gerenciales* 27, 147-164.

[6] Vijai, S; Yuan, Q. 2017. Simplified empirical model for phosphorous removal in a facultative wastewater lagoon” *Journal of Environmental Management* 201, 1–5.

[7] Romero, J. *Tratamiento de aguas residuales por lagunas de estabilización* Bogotá: Escuela colombiana de ingeniería. Editorial Alfa omega. 1999.

[8] González, M; Pérez, S; Worg, A; Bello, R; Yañez, G. 2015. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Revista Argentina de Microbiología* 47, 229-235.

[9] De la Fuente, L; Romeo, O; Fernández, O; Vallejo, G; Ballesteros, S. 2019. Contaminación microbiológica en humidificadores de sistemas de oxígeno terapia de alto y bajo flujo: una revisión sistemática. *Medicina intensiva* 43, 18-25.

[10] Corbin, E. Facultative Lagoon Effluent Polishing Using Phase Isolation Ponds U.S. Environmental Protection Agency, Municipal Environmental Research Laboratory. 1981, 1-3.

[11] Ewing, T; Babauta J.T; Arci, E; Tang, N; Orellana, J; Heo, D; Beyenal, H. 2014. Self-powered wastewater treatment for the enhanced operation of a facultative lagoon. *Journal of Power Sources* 269, 284-292.

[12] Mara, D. *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries*. Earthscan. London. Sterling, VA. 2004. 293 pp.

[13] Ntengwe, F. 2005. The cost benefit and efficiency of waste water treatment using domestic ponds – the ultimate solution in Southern Africa *Physics and Chemistry of the Earth*. 30,735–743.

[14] Bitton, G., *Wastewater Microbiology*, Nueva York :Wiley-Liss. 1994.

[15] Mara, D; Pearson, H. Artificial freshwater environments: Waste stabilization ponds In: *Biotechnology*. Vol 8. (Editorial. W. Schoenborn) Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. 1986. 177-206.

[16] Casimiro, M. *Uso de Bacterias Sulfúricas Púrpuras y Verdes para la Eliminación de H₂S Contenido en Aguas Tratadas Utilizadas para el Riego*. México: División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco., 2006.

[17] Senzia, M; Mayo, A. 2002. Modelling nitrogen transformation and removal in primary facultative ponds. *Ecological Modelling*. 154, 207–215.

[18] Mesplé, F; Casellas, C; Troussellier, M; Bontoux, J. 1996 Modelling orthophosphate evolution in a high rate algal pond. *Ecological Modelling*. 89, 13–21.

[19] Rittmann, B; McCarty, P. *Bioteconología del Medio Ambiente Principios y Aplicaciones*. España. Mc Graw Hill. 2001. 760 pp.

[20] Mara, D; Alabaster, G; Pearson, H; Mills, S. *Waste Stabilization Ponds: A Design Manual for Eastern Africa*. Leeds, England: Lagoon Technology International.. 1992. 121 pp.

[21] Mara, D; Curtis, T; Dixo, N; Silva, S. 1994. Light Penetration in Waste Stabilization Ponds. *Water Research*. 28, 1031-1038.

APENDÍCE

- **Acetogénesis:** Etapa del proceso anaerobio en el que los productos de la acidogénesis son convertidos a ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono.
- **Acidogénesis:** Etapa del proceso anaerobio en la que los productos de la hidrólisis son convertidos a ácidos volátiles como el acético, propiónico y butírico.
- **Aerobio:** Proceso que requiere la presencia de oxígeno para desarrollarse.
- **Aguas crudas:** Aguas residuales que no han sido tratadas
- **Aguas residuales:** Aguas que contiene material disuelto o en suspensión luego de ser usada por una comunidad o industria.
- **Alga:** Microorganismos unicelulares o multicelulares con capacidad de realizar fotosíntesis y obtener carbono orgánico con la energía de la luz solar. Producen el oxígeno que necesitan las bacterias para degradar la materia orgánica en tratamientos de aguas residuales.
- **Anaerobio:** Proceso desarrollado en ausencia de oxígeno molecular.
- **Anóxico:** Proceso en el que la necesidad de oxígeno no es satisfecha.
- **Bacteria:** Grupo de organismos microscópicos unicelulares que en hábitats acuáticos desempeñan procesos de fermentación y oxidación.
- **Biodegradación:** Transformación de la materia orgánica por la acción de microorganismos en compuestos más simples en cuerpos de agua receptores o en procesos de tratamientos de aguas residuales.
- **Calcio (Ca^{2+}):** Componente de la pared celular de los microorganismos. Es un micronutriente de gran utilidad para las algas.

- **Carga Orgánica:** Producto de la concentración media de DBO por el caudal medio determinado en el mismo sitio. Se expresa en kilogramos por día (Kg/d).
- **Caudal (Q):** Cantidad de fluido que avanza en una unidad de tiempo, se expresa en metros cúbicos por día (m³/d)
- **Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO):** Cantidad de oxígeno empleado en la estabilización de la materia orgánica por acción de los microorganismos medido en un bioensayo durante cinco días a 20°C. Mide indirectamente la cantidad de materia orgánica biodegradable.
- **Demanda Química de Oxígeno (DQO):** Medida de la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación química de la materia orgánica del agua residual, usando como oxidante dicromato de potasio en un ambiente ácido a 140°C.
- **Disco Secchi:** Instrumento de medición de la penetración luminosa y por ello de la turbidez en masas de agua.
- **Fósforo (P):** Es un elemento químico de número atómico 15 y símbolo P. Se encuentra en la naturaleza combinado en fosfatos inorgánicos y en organismos vivos pero nunca en estado nativo. Hace parte de los macronutrientes esenciales de la mayoría de las plantas incluyendo las algas.
- **Hidrólisis:** Proceso bioquímico en el cual las moléculas de cadena larga son fraccionadas por la acción enzimática de las bacterias.
- **Magnesio (Mg²⁺):** Es un componente de la clorofila, activador de numerosas enzimas útil en la nutrición de las algas.
- **Metanogénesis:** Etapa del proceso anaerobio en el cual de genera gas carbónico y gas metano.
- **Nitrógeno (N):** El nitrógeno es un elemento químico, de número atómico 7, símbolo N y que en condiciones normales forma un

gas diatómico (nitrógeno diatómico o molecular) que constituye del orden del 78% del aire atmosférico. Hace parte de los macronutrientes esenciales en forma de amoníaco (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) o nitrito (NO_2^-) de la mayoría de las plantas incluyendo las algas.

- **Noria:** Máquina que se utiliza para sacar agua de un pozo o de otro lugar.

- **Oxígeno Disuelto (OD):** Concentración de oxígeno medida en un líquido por debajo de la saturación.

- **pH:** El pH es una medida de la concentración de protones (H^+) en una solución y, por lo tanto, de su acidez o de su alcalinidad. En términos sencillos: el valor del «pH» es un número aproximado entre 0 y 14 que indica si una solución es ácida ($\text{pH} < 7$), básica ($\text{pH} > 7$) o neutra ($\text{pH} = 7$).

- **Sólidos Suspendidos Totales (SST):** Corresponde a la cantidad de material (sólidos) que flotan o se encuentran suspendidas en las aguas residuales u otros líquidos y que es retenido después de realizar la filtración de un volumen de agua. Es importante como indicador puesto que su presencia disminuye el paso de la luz a través de agua evitando su actividad fotosintética en las corrientes, importante para la producción de oxígeno.

- **Sulfuros (S^{2-}):** Compuestos de azufre con número de oxidación -2, incluyendo ácido sulfhídrico, H_2S , o sulfuro de hidrógeno, e ion hidrosulfuro, HS^- , así como sulfuros metálicos solubles en ácidos y otros sulfuros insolubles.

- **Sulfato (SO_4^{2-}):** Compuesto de azufre con el estado de oxidación más alto (+6). Es la forma más oxidada que alcanza el azufre.

- **Temperatura:** Magnitud referida a las nociones comunes de caliente, tibio o frío que puede ser medido con un termómetro.

ACERCA DEL LOS AUTORES

JORGE ENRIQUE CASTILLO AYALA.

Licenciado en Química Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Químico Farmacéutico Universidad Nacional de Colombia, Tecnólogo Especializado en Química con Énfasis en Técnicas Modernas de Análisis Instrumental y Magister en Ciencias “Química” de la Universidad del Valle, especializado en soporte técnico en instrumentación Química (HPLC/UPLC, Espectroscopía UV/VIS, Disolución, Espectroscopía de Absorción Atómica, Espectroscopía NIR, GC-MS). Docente investigador con aplicaciones en el análisis instrumental, química de alimentos, ambiental y métodos quimiométricos.

Correo electrónico: Jorge.castillo01@usc.edu.co

Orcid: 0000-0002-4320-0761

GUILLERMO GARZÓN GARCÍA.

Químico Universidad Nacional de Colombia; M.Sc. Purdue University, USA; Ph.D. Northwestern University, USA; Posdoctorado Texas A&M University, USA. Profesor de Dedicación Exclusiva de la Universidad Santiago de Cali. Amplia trayectoria docente e investigativa en las áreas de Química Inorgánica y Aseguramiento de la Calidad. Miembro del Grupo GIEMA. Autor del texto “Fundamentos de Química General”, Serie Schaum, Editorial McGraw-Hill 1980; Coautor de “Manual de Laboratorio de Química Inorgánica II a Microescala”, 2018. Par Académico del Ministerio de Educación Nacional y de Colciencias.

Correo electrónico: ggarzon@usc.edu.co

Orcid: 0000-0001-8684-3911

JHON JAIRO RIOS ACEVEDO.

Químico de la Universidad del Valle, Magister y Doctor en Química Analítica de la Universidad Complutense de Madrid. Director del Grupo de Investigación en Electroquímica y Medio Ambiente (GIEMA). Docente investigador de la Universidad Santiago de Cali, experto en técnicas

cromatográficas, contribución en técnicas de microextracción en diferentes matrices utilizando fases sorbentes modificadas con aplicaciones analíticas en muestras ambientales, farmacéuticas, alimentos, materiales, entre otras.

Correo electrónico: jhon.rios04@usc.edu.co

Orcid: 0000-0001-9972-4591

SANDRA PATRICIA CASTRO NARVAEZ.

Química y Magister en Ciencias- Química- de la Universidad del Valle, docente investigadora con trayectoria en áreas de la química analítica e instrumental. Hace aportes al Grupo de Investigación en Electroquímica y Medio Ambiente (GIEMA) en las líneas de solución a problemas ambientales y estudio de nuevos materiales. En su recorrido académico-administrativo ha contribuido en la construcción de programas académicos de alta relevancia para el sur occidente Colombiano tales como Maestría en Química Industrial, Microbiología, Química Farmacéutica y Medicina Veterinaria. Ha desempeñado cargos directivos en el programa de Química y decanatura de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.

Correo electrónico: sacastro@usc.edu.co

Orcid: 0000-0002-2023-8935

ALEJANDRA PINEDA QUINTERO.

Estudiante de último semestre de Química en la Universidad Santiago de Cali, con conocimientos en análisis instrumental, aplicaciones medio ambientales, farmacéuticas y de alimentos. Auditora de calidad para las normas ISO 9000 y 17025. Trabajo investigativo de finalización de grado se orienta en la calidad de las aguas superficiales. Su liderazgo es evidenciado como ponente y organizadora de eventos académicos al interior del alma mater como el “I Simposio de Química Verde”, “III Congreso Colombiano de Electroquímica” y varias Semanas de la Química. Actualmente se desempeña como la auxiliar líder del Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad.

Correo electrónico: alejandrapineda@usc.edu.co

Orcid: 0000-0003-2725-1697

LIZBETH LORENA LÓPEZ PARRA.

Química y Magister en ciencias Química de la Universidad del Valle, Ph.D. en Química Orgánica y Biológica de la Universidad de São Paulo. Docente titular de la Universidad Santiago de Cali, con perfil investigativo en fitoquímica y la búsqueda de moléculas con actividad biológica a partir de productos naturales. Acompaña la línea de productos farmacéuticos y calidad ambiental del Grupo de Investigación en Electroquímica y Medio Ambiente.

Correo electrónico: lizabeth.lopez00@usc.edu.co

Orcid: 0000-0001-7183-2291

CAROLINA STEPHANIA MARTAN RODRIGUEZ.

Tecnóloga química Universidad del Valle, Química de la Universidad Santiago de Cali. Líder de calidad en laboratorios ambientales con conocimientos en normas internacionales ISO 9001, 17025, 14000; conocimientos en el tratamiento residual industrial, validación métodos y verificación de incertidumbres en análisis de aguas por diferentes técnicas analíticas clásicas e instrumentales.

Correo electrónico: caritomartan88@hotmail.com

Orcid: 0000-0003-4254-0729

DIANA CAROLINA NAZARIT.

Química de la Universidad Santiago de Cali, conocimientos normatividades internacionales ISO 17025, 9001. Analista de calidad de aguas por 7 años, cuenta con 5 años de experiencia en la coordinación de calidad de laboratorios. Su experiencia profesional se orienta en empresas de prestación de servicios ambientales y calidad ambiental de los procesos productivos.

Correo electrónico: dicanaza@gmail.com

Orcid: 0000-0002-9105-5191

DIANA MARCELA BURBANO BURBANO.

Química de la Universidad Santiago de Cali, Competencias certificadas por el SENA en operación de planta de agua potable, ha participado en

talleres relacionados con el manejo y protección ambiental de ACODAL, EMCASERVICIOS. ANDI. Actualmente es la Química Líder de una planta de tratamiento de agua potables y residuales del departamento del Cauca, ha liderado proyectos regionales para la CRC “Optimización de una PTAR adicionando sistema terciario bacterias y plantas macrófitas para tratamiento agua residual”.

Correo electrónico: lamarce1859@hotmail.com

Orcid: 0000-0003-3796-6936

JORGE HUMBERTO CARABALÍ YEPES.

Químico de la Universidad Santiago de Cali, actualmente se desempeña como Químico líder de una planta de tratamiento agua potable y residual doméstica de alto impacto en la calidad hídrica en el departamento del Cauca. Con conocimientos en el manejo de aguas de pozo y superficial, normas de legislación hídrica, ha participado en talleres de la Asociación Colombiana de Ingeniería Ambiental (ACODAL), hace aportes al grupo de EMCASERVICIOS, entidad proyectada al manejo eficiente de aguas en el departamento del Cauca, y lidera proyectos de proyección ambiental tal como el Vivero Paraíso.

Correo electrónico: humbertocarabali0511@hotmail.com

Orcid: 0000-0002-4224-8659

RAFAEL JIMÉNEZ ORTIZ.

Tecnólogo Químico de la Universidad del Valle, Químico de la Universidad Santiago de Cali, Magister en Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Universidad de Manizales. Diplomado en Legislación Ambiental de la Universidad Javeriana, manejo en segunda lengua (portugués). Actualmente es Asistente de Calidad en el Ingenio del Cauca, con manejo de diferentes técnicas analíticas, líder en el área ambiental de aguas residuales industriales y lagunas facultativas.

Correo electrónico: rafajim2012@hotmail.com

Orcid: 0000-0002-5044-481X

NATALIA ANDREA VALENCIA VELANDIA.

Tecnóloga Química de la Universidad del Valle, Química de la Universidad Santiago de Cali con conocimientos en sistemas de gestión de la calidad ambiental, técnicas de análisis principalmente en metales pesados y estadística aplicada; se ha desempeñado como coordinadora de laboratorios de suelos y mejoramiento ambiental.

Correo electrónico: natival4@hotmail.com

Orcid: 0000-0001-5798-6171

CAROLINA CASTILLO SUAREZ

Química de la Universidad Santiago de Cali, con conocimientos en sistemas de gestión de la calidad ISO 17025 y 9001. Capacitada en métodos de análisis para la determinación de pesticidas en matrices ambientales y humanas. Desempeños en análisis de rutina de aguas y alimentos como conservantes, aflotaxinas, plaguicidas, metales pesados y pruebas fisicoquímicas.

Correo electrónico: caro_castle@hotmail.com

Orcid: 0000-0002-9459-3032

JHONNY RANDAL MANZANO LOZANO

Tecnólogo en electrónica, Tecnólogo en supervisión de redes de energía eléctrica, Químico de la Universidad Santiago de Cali, experiencia y estudios en metrología énfasis en volumen y presiones, validación de métodos fisicoquímicos, buenas prácticas de manufactura, y buena práctica y uso de la calidad de dato. Actualmente es líder en aseguramiento de la calidad en una farmacéutica internacional en el departamento de “Tablet Press Processing”

Correo electrónico: hooper113@hotmail.com

Orcid: 0000-0001-8172-2467

PARES EVALUADORES

Jorge Eduardo Moncayo

Universidad Antonio Nariño

[Https://Orcid.org/0000-0001-6458-4162](https://Orcid.org/0000-0001-6458-4162)

Marco Alexis Salcedo

Universidad Nacional De Colombia, Sede Palmira

[Https://Orcid.org/0000-0003-0444-703X](https://Orcid.org/0000-0003-0444-703X).

Julian Zapata

Instituto De Química, Facultad De Ciencias Exactas

Y Naturales, Universidad De Antioquia

[Https://Orcid.org/0000-0002-8888-1521](https://Orcid.org/0000-0002-8888-1521)

William Palta

Universidad De San Buenaventura- Cali

[Https://Orcid.org/0000-0003-1888-0416](https://Orcid.org/0000-0003-1888-0416)

Marco Chaves

Fundación Universitaria María Cano - Sede Medellin

[Https://Orcid.org/0000-0001-7226-4767](https://Orcid.org/0000-0001-7226-4767)

Kevin Alexis García

Universidad Del Valle

[Https://Orcid.org/0000-0002-8412-9156](https://Orcid.org/0000-0002-8412-9156)

Alexander Lopez

Universidad De San Buenaventura Cali.

[Https://Orcid.org/0000-0003-0068-6252](https://Orcid.org/0000-0003-0068-6252)

Marco Alexis Salcedo

Universidad Nacional De Colombia

[Https://Orcid.org/0000-0003-0444-703X](https://Orcid.org/0000-0003-0444-703X)

Lucely Obando

Universidad Libre - Universidad De Sanbuenaventura Cali
[Https://Orcid.org/0000-0002-8770-2966](https://Orcid.org/0000-0002-8770-2966)

Clara Viviana Banguero

Universidad Libre
[Https://Orcid.org/0000-0002-4518-6799](https://Orcid.org/0000-0002-4518-6799)

Clara Mercedes Blanco Ospina

Unicatonica
[Https://Orcid.org/0000-0002-8640-8175](https://Orcid.org/0000-0002-8640-8175)

Margareth Mejia Genz

Instituto De Educación Digital Del Estado De Puebla
[Https://Orcid.org/0000-0002-5142-5813](https://Orcid.org/0000-0002-5142-5813)

Jean Jader Orejarena

Universidad Autónoma De De Puebla, México
[Https://Orcid.org/0000-0003-0401-3143](https://Orcid.org/0000-0003-0401-3143)

Mauricio Guerrero Caicedo

Director Programa De Comunicación Universidad Icesi
[Https://Orcid.org/0000-0001-6374-1701](https://Orcid.org/0000-0001-6374-1701)

Claudia Ximena Campo

Universidad Del Cauca
[Https://Orcid.org/0000-0001-5352-3065](https://Orcid.org/0000-0001-5352-3065)

Marcela America Roa

Universidad De Boyacá
[Https://Orcid.org/0000-0002-1481-211X](https://Orcid.org/0000-0002-1481-211X)

Margareth Mejia Genz

Instituto De Educación Digital Del Estado De Puebla
[Https://Orcid.org/0000-0002-5142-5813](https://Orcid.org/0000-0002-5142-5813)

Este libro fue diagramado utilizando la fuente tipográfica Times new roman bold para títulos en 16 puntos, Times new roman regular en 12 puntos para el cuerpo del texto. Se Terminó de imprimir en los talleres de SAMAVA EDICIONES - POPAYÁN COLOMBIA E.U.

Santiago de Cali 2020. Fue publicado por la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.