

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].

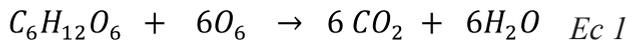
2.1.1. *Demanda química de oxígeno*

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].

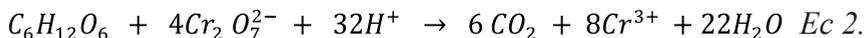
La utilización de carbohidratos o de proteína con estequiometrias conocidas con los equivalentes gramo de CO₂ ha permitido su aplicación como estándares de referencia. Se destaca que la DQO no incluye el oxígeno que convierte el nitrógeno reducido a nitrato, mientras que, el sulfuro reducido (R-SH → 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:

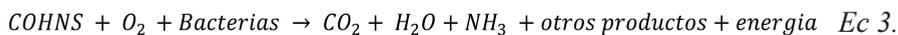


Al final de la prueba, cuando toda la materia orgánica químicamente se ha oxidado, se tienen como productos finales: el dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O) y cromo reducido (Cr^{3+}). La DQO así determinada se expresa como “el oxígeno equivalente al contenido en materia orgánica”, en miligramos por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

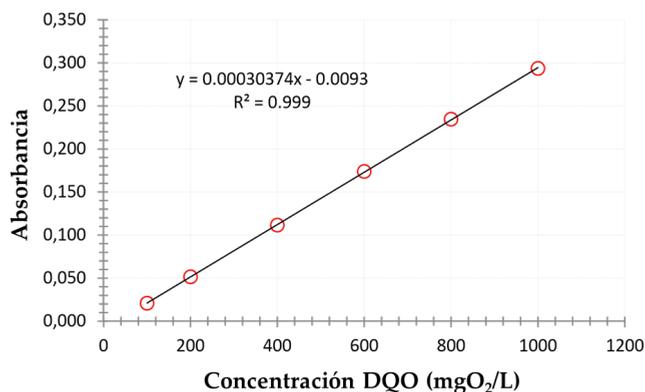


Figura 2.1. Curva de Calibración de Absorbancia vs. Concentración.

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.

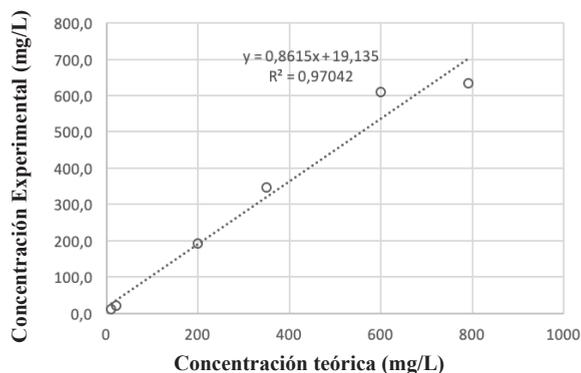


Figura 2.2. Curva de calibración para la determinación de la DBO₅ entre 10-792mg/L.

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 H₁ 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:

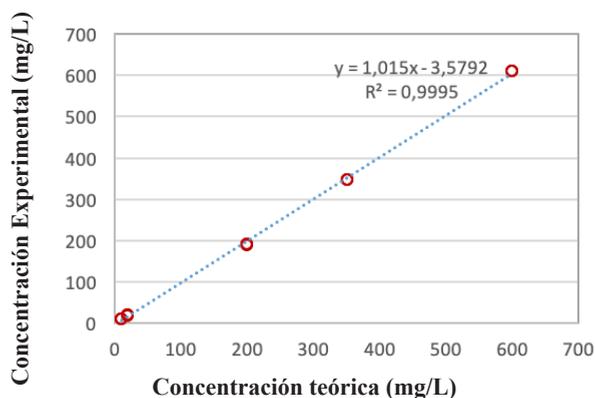


Figura 2.3. Curva de calibración para la determinación de la DBO₅ entre 10-600mg/L.

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.

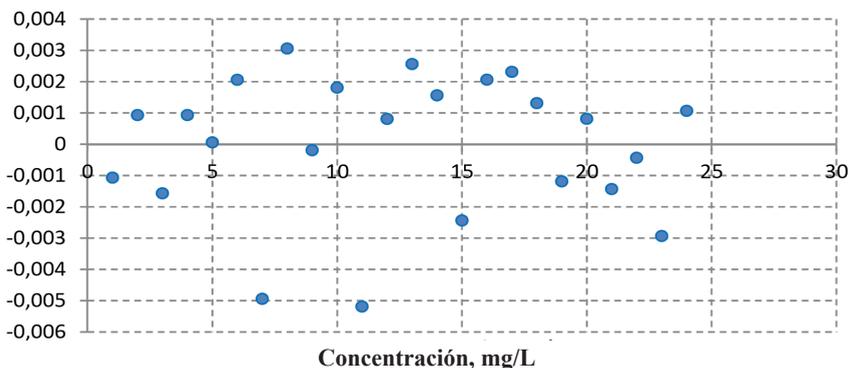


Figura 2.4. Representación de los residuos en la linealidad en la prueba de DQO
Fuente: Elaboración propia

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.

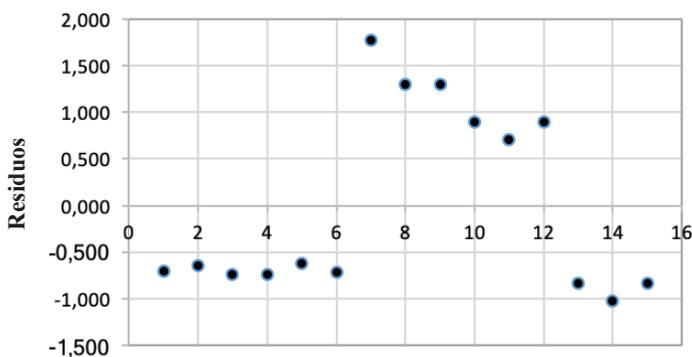


Figura 2.5. Representación de los residuos en la linealidad en la prueba de DBO₅
Fuente: Elaboración propia

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.

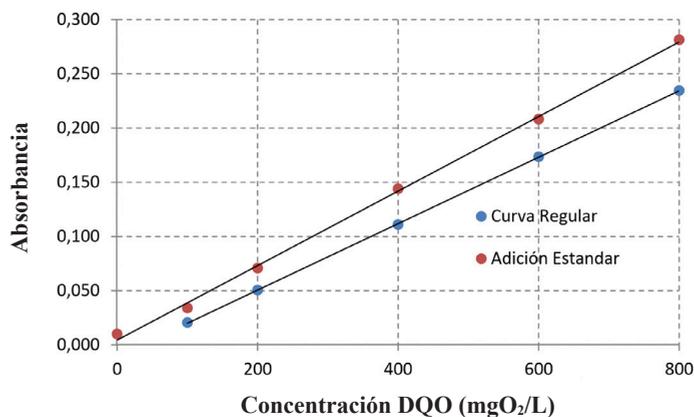


Figura 2.6. Curva regular y de adición de estándar para la evaluación de interferencias de matriz en el método de DQO.

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 x 10 ⁻⁶	0.00034 ± 6 x 10 ⁻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

Prueba	Parámetro	Muestras adicionadas (mg O ₂ /L);			
		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

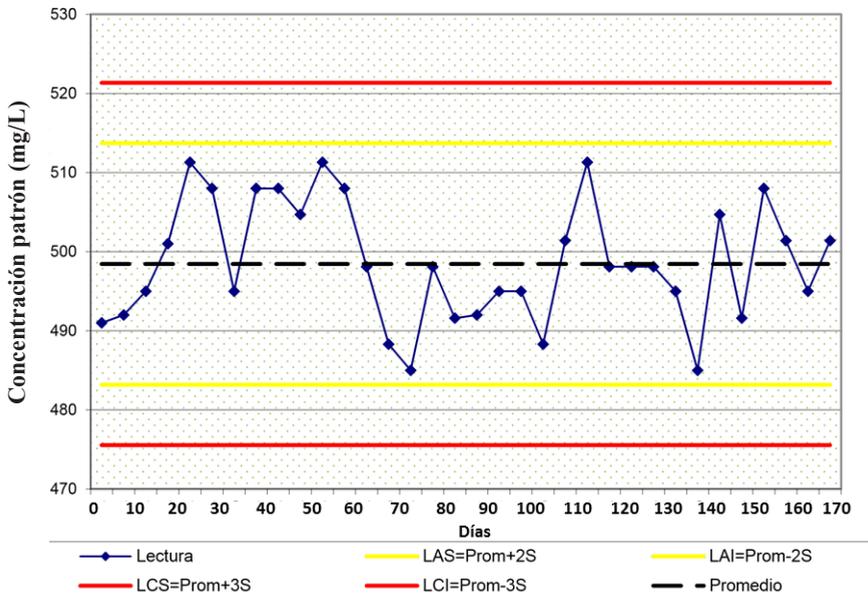


Figura 2.7. Carta de control para el patrón de 500 mg/L
 Línea central o promedio, X : 498.4 mg/L -
 Límites de alerta: $X + 2s$: 498.4 \pm 15.2 -
 Límites de control: $X + 3s$: 498.4 \pm 22.8

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., Amiri, M. 2017. Kinetic evaluation and process analysis of COD and nitrogen removal in UAASB bioreactor. *Journal of the Taiwan Institute 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 timebiochemical 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., Washington 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 stability 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 agrocombustibles en Colombia, *Ambiente & Sociedad*, XIV, 2, 153 -178.

