

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

CONTENIDO

1.	OBJETIVO.....	2
2.	ALCANCE	2
3.	RESPONSABLES.....	2
4.	TERMINOS Y DEFINICIONES	2
5.	REFERENCIA NORMATIVA/DOCUMENTOS REFERENCIALES	2
6.	CONDICIONES GENERALES/ POLITICAS DE OPERACIÓN	2
6.1	ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL	2
6.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	3
6.2.1	MATERIALES	3
6.2.2	EQUIPOS	3
6.2.3	REACTIVOS	3
6.2.4	PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	3
6.3	PATRON DE REFERENCIA	4
6.4	CONDICIONES AMBIENTALES REQUERIDAS	4
6.5	LIMITACIONES E INTERFERENCIAS	4
6.5.1	INTERFERENCIAS POR HALUROS:.....	4
6.6	CONTROLES Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	4
6.6.1	CURVA DE CALIBRACIÓN	5
6.7	FUNDAMENTO TÉCNICO	6
7.	DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA	6
7.1	TOMA, PRESERVACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRA	6
7.2	PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS.....	7
8.	CÁLCULOS.....	7
9.	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO.....	7
10.	FORMATOS PARA REGISTRO DEL PROCESO ANALITICO Y DE LOS RESULTADOS.....	8

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

1. OBJETIVO

Determinar la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar la materia orgánica presente en una muestra de agua, por el método colorimétrico SM 5220D.

2. ALCANCE

Este método de análisis aplica a muestras de aguas superficiales, residuales e industriales, lluvias y subterráneas.

3. RESPONSABLES

La ejecución del presente procedimiento es responsabilidad en orden decreciente de la dirección técnica, los analistas de laboratorio y los auxiliares técnicos.

4. TERMINOS Y DEFINICIONES

DQO = Demanda Química de Oxígeno.

mg O₂/L = miligramos de Oxígeno por litro.

LDM = Límite de Detección del Método

s = Desviación estándar

N = Normalidad

CV = Coeficiente de Variación

FAS = Sulfato Ferroso Amoniacal

5. REFERENCIA NORMATIVA/DOCUMENTOS REFERENCIALES

NTC-ISO/IEC 17025:2005, Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración

Determinación de Demanda Química de Oxígeno. Reflujo cerrado método colorimétrico SM 5220D. Métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales - APHA-AWWA-WEF. Edición 23 (2017). p 5-21 a p 5-22

6. CONDICIONES GENERALES/ POLITICAS DE OPERACIÓN

6.1 ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Antes de iniciar el análisis revisar instructivo para el aseguramiento de la calidad de los ensayos en el laboratorio de aguas de la Universidad del Quindío M.EDS-04.LA.INT.14. Utilizar como protección personal delantal de laboratorio, guantes de nitrilo, monogafas. Adicionalmente conocer las Hojas de seguridad de los productos Químicos manejados, y mantenerlas al alcance de todo el personal del Laboratorio de Aguas.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

6.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

6.2.1 Materiales

Para medición utilizado en este método debe ser de clase A con certificado de calibración o verificado de acuerdo con el procedimiento de verificación de material volumétrico.

- Viales o tubos de 16 × 100mm
- Transferpipeta de (1 – 10 mL)
- Transferpipeta de (100 – 1000 µL)
- Balones Aforados (Vol. 100, 250, 500, 1000 mL)
- Desecador

6.2.2 Equipos

Los equipos deben ser verificados y/o ajustados de acuerdo con el instructivo. Registrar los resultados en el formato de verificación correspondiente.

- Digestor para temperatura de 150°C.
- Cabina extractora
- Espectrofotómetro (Longitud de onda 420 nm rango bajo y 600 nm rango alto)
- Horno
- Nevera
- Balanza Analítica

6.2.3 Reactivos

- Biftalato de potasio (HOCC6H4COOK). Trazable a NIST, secado a 120°C hasta peso constante.
- Dicromato de potasio trazable a NIST, ($K_2Cr_2O_7$). secado a 103°C durante 2 horas.
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).
- Sulfato de plata (Ag_2SO_4) grado reactivo, en cristales o en polvo.
- Sulfato mercúrico $HgSO_4$ (sulfato de mercurio (II)).
- Agua desionizada.

6.2.4 Preparación de Reactivos

- **Solución de digestión alto rango:** disolver 10,216 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) grado estándar primario previamente seco a 150°C durante 2 horas en 500 mL de agua desionizada, adicionar 167 mL de Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, y 33,3 g de Sulfato de plata ($HgSO_4$). Disolver, enfriar a temperatura ambiente y aforar a 1000 mL con agua desionizada. Guardar en recipiente ámbar y refrigerar.
- **Solución de digestión bajo rango:** la preparación es igual a la solución de digestión de alto rango, pero se pesa es 1,022g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) grado estándar primario seco a 150°C durante 2 horas.
- **Solución de catálisis (reactivo de ácido sulfúrico):** Añadir 10,1 g de sulfato de plata (Ag_2SO_4) grado reactivo o técnico, en cristales o en polvo, en 1000 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), densidad 1,84 (en proporción de 5,5 g de Ag_2SO_4 /kg H_2SO_4 (aproximadamente 545 mL de ácido). Antes de emplearse, dejar reposar durante 1 o 2 días para lograr la disolución. Guardar en frasco ámbar.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

6.3 PATRON DE REFERENCIA

- **Solución estándar biftalato ácido de potasio KHP ($\text{KC}_6\text{H}_5\text{O}_4$) (1000mg/L DQO).** Disolver con agua desionizada 0,850 g de biftalato de potasio ($\text{KC}_6\text{H}_5\text{O}_4$) grado patrón primario (previamente triturado y seco a 110°C hasta peso constante) llevar a un litro. La solución es estable hasta por tres meses si se conserva en una botella ámbar si se almacena refrigerada; se debe verificar la presencia o ausencia de crecimiento biológico, y en caso afirmativo desechar la solución

La preparación de los reactivos se registra en el formato "M.EDS-04. LA.F.03 Preparación de reactivos"

6.4 CONDICIONES AMBIENTALES REQUERIDAS

Las condiciones ambientales no son críticas para la ejecución de este ensayo, ni tienen influencia sobre el resultado obtenido.

6.5 LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Los agentes oxidantes como el cloro y los producidos al acidificar la muestra se eliminan agregando La oxidación de la mayoría de compuestos orgánicos son del 95 al 100%. La piridina y los compuestos relacionados resisten la oxidación.

6.5.1 Interferencias por Haluros:

Los compuestos orgánicos volátiles reaccionan en proporción a su contacto con el oxidante. Los compuestos alifáticos de cadena lineal se oxidan más efectivamente en presencia de sulfato de plata, Ag_2SO_4 como catalizador; sin embargo, éste reacciona con los iones cloruro, bromuro y yoduro produciendo precipitados que son oxidados parcialmente.

La interferencia más común es el ion cloruro. El cloruro y los demás halógenos reaccionan con el ión plata e inhibe la acción catalizadora del sulfato de plata. Estas dificultades pueden superarse en buena parte, aunque no completamente, por acomplejamiento antes del proceso de reflujo con sulfato de mercurio (HgSO_4), que forma el haluro mercúrico correspondiente, muy poco soluble en medio acuoso. Si bien se especifica 1 g de HgSO_4 para 50 mL de muestra, se puede usar una menor cantidad cuando la concentración de cloruro sea menor de 2000 mg/L, mientras se mantenga una relación $\text{HgSO}_4:\text{Cl}^-$ de 10:1. El método no es aplicable para muestras que contengan más de 2000 mg de Cl^-/L

6.6 CONTROLES Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluye la siguiente Tabla 1.

Tabla 1. Control de calidad necesarios para la técnica demanda química de oxígeno

Calibración o Estandarización	Muestra Control (QCS)	Blanco del Método (MB)	Blanco Fortificado (LFB)	Duplicado de muestra fortificada (LFM & LFMD)
-	-	X	X	X

Tomado del SM Tabla 5020: I. control de calidad mínimo para los métodos de la parte 5000 (x - indica un tipo de control de calidad es obligatorio para el método)

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

- Solicitar al proveedor el Certificado de calidad de la solución estándar Biftalato de potasio
- Para el análisis de Demanda Química de Oxígeno, se registran los respectivos estándares de control (estándar de 50 mg/L O₂ - rango bajo y estándar de 500 mg/L O₂ – rango alto) teniendo en cuenta los límites de alerta.
- Agua desionizada para preparación de estándar y soluciones de trabajo con una conductividad eléctrica de 1 µS/cm a 25°C y con un pH mayor a 5,0 e inferior a 8,0.
- Lavar los viales y sus tapas con H₂SO₄ al 20% antes de su primer uso, para prevenir la contaminación.

6.6.1 CURVA DE CALIBRACIÓN

Preparación de la curva de calibración: concentración baja de 30 - 90 mg/L O₂ y Alta Concentración de 100 -900 mg/L O₂

A partir de la Solución madre de 1000 mgO₂/L de Biftalato ácido de potasio se toman los volúmenes registrados a continuación en la Tabla 1. (baja concentración) y diluimos los estándares a un volumen de 10 mL.

Tabla 1 30-90 mg/L O₂ concentración baja

No.	mL de Estándar (1000 mg/L)	mg O ₂ /L
Blanco	0	0
1	0.3	30
2	0.4	40
3	0.5	50
4	0.6	60
5	0.7	70
6	0.8	80
7	0.9	90

A partir de la solución madre de 1000 mgO₂/L de Biftalato ácido de potasio tomamos los respectivos volúmenes acuerdo a la concentración que vamos a preparar y lo adicionamos en balones de 10 mL, como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2 100-900mg/L O₂ concentración alta

No.	mL de Estándar (1000mg/L)	mg O ₂ /L
Blanco	0	0
1	1	100
2	2.0	200
3	3.0	300
4	4.0	400

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

No.	mL de Estándar (1000mg/L)	mg O ₂ /L
5	5.0	500
6	6.0	600
7	7.0	700
8	8.0	800
9	9.0	900

- Para el blanco utilice agua desionizada.
- Lea en el espectrofotómetro a 420 nm (concentración baja) y a 600 nm (concentración alta).
- Registrar en M.EDS-04. LA.F.07 Curva de calibración.

6.7 FUNDAMENTO TÉCNICO

La demanda química de oxígeno es un parámetro importante en el estudio de desechos industriales y en el control de plantas de tratamiento de residuos. Para muestras de una fuente específica, la DQO puede relacionarse empíricamente con la DBO, el carbono orgánico o materia orgánica

Las sustancias orgánicas e inorgánicas presentes en la muestra, se oxidan mediante reflujo cerrado por dos horas a una temperatura de 150°C en solución fuertemente ácida (H₂SO₄) con un exceso conocido de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) en presencia de sulfato de plata (Ag₂SO₄) que actúa como agente catalizador, y de sulfato mercurico (HgSO₄) adicionado para remover la interferencia de los cloruros.

Cuando una muestra es digerida, el ión dicromato oxida la materia orgánica presente en la muestra. Esto resulta en un cambio del cromo en estado hexavalente (Cr⁺⁶) a un estado trivalente (Cr⁺³). Ambas especies crómicas son coloreadas y absorben en la región visible del espectro (420 - 600 nm).

7. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

7.1 TOMA, PRESERVACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRA

Tomar un volumen de aproximadamente 100 mL de muestra en un frasco de plástico o, preferiblemente en vidrio. Preservar la muestra adicionando H₂SO₄ concentrado hasta un valor de pH < 2 y refrigerar a ≤ 6°C. El tiempo máximo de almacenamiento recomendado es de siete (7) días. Sin embargo, el tiempo máximo de vida útil de la muestra es de veintiocho (28) días. La muestra debe ser agitadas; en el caso de que contenga sólidos en suspensión.

Las muestras se rotulan en el M.EDS-04. LA.F.05 Rótulo de Muestras, mediante un código único el cual será su identificación durante su permanencia en el laboratorio de acuerdo a la información registrada en el M.EDS-04. LA.F.06 Registro de Ingreso de muestras.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

7.2 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- Precaliente el digestor mínimo media hora antes de colocar las muestras para que éste alcance 150°C.
- Adicionar volúmenes adecuados de muestra y reactivos, conforme a la siguiente tabla:

Tabla 3. Cantidades de muestra y reactivos

Tubo de digestión	Muestra mL	Solución de digestión mL	Solución catalizadora mL	Volumen total final mL
Tubos estándar de 16 × 100 mm	2,5	1,5	3,5	7,5

- Agregar cuidadosamente solución catalizadora por la pared del tubo de tal manera que se forme una capa de ácido debajo de la mezcla de muestra y solución digestora.
- Tapar herméticamente los tubos e invertirlos varias veces para mezclar completamente el contenido.
- Colocar los tubos en el digestor a 150°C, y dejar en reflujo durante 2 horas.
- Concluida la digestión, retirar los tubos del digestor y colocarlos en una gradilla hasta enfriar a temperatura ambiente.
- Leer en el espectrofotómetro a la longitud de onda correspondiente al tipo de muestra (420 – 600nm)

8. CÁLCULOS

El cálculo para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) se basa en leer la concentración de la muestra en la curva de calibración y calcularla de acuerdo a la siguiente expresión matemática:

$$DQO \text{ (mg O}_2\text{/L)} = \frac{M \times 1000}{V}$$

Donde:

M: Masa de oxígeno en el volumen final, en miligramos

V: Volumen de muestra, en mililitros

1000: Factor de conversión de mililitros a litros.

Toda la información referente a la prueba se registra en el M.EDS-04.LA.F.01 Registro datos primarios ensayos fisicoquímicos.

9. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Para aquellos valores que sean inferiores al Límite de cuantificación de método se informara “<LCM mg/L” (valor a definir después de haber realizado análisis estadístico). La dirección técnica del laboratorio revisa la información consignada en los registros y autoriza para el procesamiento de informes.

Por cada lote de 20 muestras o menos se deben realizar los siguientes controles:

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

Antes de iniciar el análisis DQO baja:

- Blanco con agua desionizada sin digerir y, un blanco digerido con el fin de determinar la calidad de los reactivos y obtener la absorbancia del ion dicromato.
- Estándar de biftalato ácido de potasio ($\text{KC}_6\text{H}_5\text{O}_4$) 50 mg/L (DQO baja)
- Graficar los controles de calidad en las cartas de control del método (M.EDS-04. LA.F.02)
- Muestra escogida aleatoriamente con adición de un estándar de 50 mg/L. Por duplicado, con el objetivo, de evaluar el porcentaje de recuperación y la diferencia porcentual relativa (%RPD).

Antes de iniciar el análisis DQO alta:

- Blanco con agua desionizada sin digerir y, un blanco digerido con el fin de determinar la calidad de los reactivos y obtener la absorbancia del ion dicromato.
- Estándar de biftalato ácido de potasio ($\text{KC}_6\text{H}_5\text{O}_4$) 500 mg/L (DQO alta)
- Graficar los controles de calidad en las cartas de control del método (M.EDS-04. LA.F.02)
- Muestra escogida aleatoriamente adicionada con estándar de 200 mg/L. Por duplicado, con el objetivo, de evaluar el porcentaje de recuperación y la diferencia porcentual relativa (%RPD).

La Dirección técnica evaluará los resultados y tendencias de las cartas de control, patrones, duplicados y blancos y documentará y tomará las medidas que sean necesarias cuando se encuentre alguna situación que lo amerite, tal como se establece en el instructivo de Aseguramiento de la calidad (M.EDS-04.LA.INT.14)

10. FORMATOS PARA REGISTRO DEL PROCESO ANALITICO Y DE LOS RESULTADOS

M.EDS-04.LA.F.01 Registro datos primarios ensayos fisicoquímicos

M.EDS-04.LA.F.02 Carta de control del método

M.EDS-04.LA.F.03 Preparación de reactivos

M.EDS-04.LA.F.05 Rótulo de Muestras

M.EDS-04.LA.F.06 Registro de Ingreso de muestras

M.EDS-04.LA.F.07 Curva de calibración

Elaboró: Jonathan Henao Valencia- Analista Laboratorio de Aguas	Revisó: Lina Marcela León Gallón –Dirección técnica laboratorio aguas Diana Milena Cardona Lindo – Profesional Apoyo Acreditación de Laboratorios	Aprobó: Luis Fernando Polanía Obando – Vicerrector de Extensión y desarrollo Social
Fecha: 2019/11/20	Fecha: 2020/02/12	Fecha: 2020/02/20

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN EL LABORATORIO
DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

FLUJOGRAMA

