

**VERIFICACIÓN DEL METODO DETERMINACION DE DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO EN AGUA
RESIDUAL, EN EL LABORATORIO MULTIPROPÓSITO DE CALARCA S.A. ESP**

**YENNY LORENA RUEDA ROBAYO
MARIA ANGELICA CASAYAN MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD TENOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE TECNOLOGÍAS
ESCUELA DE QUÍMICA
PEREIRA - RISARALDA**

2015

**VERIFICACIÓN DEL METODO DETERMINACION DE DEMANDA QUIMICA DE
OXIGENO EN AGUA RESIDUAL, EN EL LABORATORIO MULTIPROPÓSITO DE
CALARCA S.A. ESP**

YENNY LORENA RUEDA ROBAYO

MARIA ANGELICA CASAYAN MUÑOZ

TRABAJO DE GRADO

Requisito parcial para optar al título de Tecnólogo en Química

Director

ARIEL FELIPE ARCILA ZAMBRANO

Químico Industrial

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍAS

ESCUELA DE QUÍMICA

PEREIRA - RISARALDA

2015

NOTA DE ACEPTACION DEL TRABAJO DE GRADO

**VERIFICACIÓN DEL METODO DETERMINACION DE DEMANDA QUIMICA DE
OXIGENO EN AGUA RESIDUAL, EN EL LABORATORIO MULTIPROPÓSITO DE
CALARCA S.A. ESP**

Presentado por:

YENNY LORENA RUEDA ROBAYO

MARIA ANGELICA CASAYAN MUÑOZ

El suscrito director y jurado del presente trabajo de grado, una vez revisada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar la nota de:

Con la connotación:

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy __de __, de __.

Director: _____

Nombre: ARIEL FELIPE ARCILA

Jurado: _____

Nombre: LEONARDO BELTRAN ANGARITA

DEDICATORIA

A mi Madre y mi Hija

AGRADECIMIENTOS

- ❖ Al profesor Ariel Felipe Arcila por su orientación y aportes durante el desarrollo del trabajo.
- ❖ A el profesor Leonardo Beltrán Angarita y Edwin Álzate por tomarse el tiempo de revisar y evaluar el proyecto.
- ❖ A la empresa multipropósito por prestarnos sus instalaciones y muestras para la elaboración de este trabajo.
- ❖ A mis hermanos por todo su apoyo y aliento.

RESUMEN

En este trabajo se realizó la verificación del método para determinar demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales por colorimetría en rango bajo y rango alto. La muestra fue suministrada por el laboratorio de análisis de aguas de la empresa Multipropósito de Calarca S.A. ESP; se preservaron con ácido sulfúrico concentrado hasta $\text{pH} < 2$ y se almacenaron en envases plásticos rotulados.

Las muestras, el blanco y los estándares se introdujeron en las ampollas para DQO, cuando la concentración en la muestra fue menor a $150\text{mg O}_2/\text{L}$ se montó con las ampollas de digestión marca HACH, y cuando su concentración fue mayor a $150\text{mg O}_2/\text{L}$ se realizó con los reactivos preparados en el laboratorio.

Para la verificación, se hizo uso de material volumétrico calibrado, lavado adecuadamente y enjuagado con agua destilada. Las lecturas se realizaron con un espectrofotómetro a 420 nm (rango bajo) y 600nm (rango alto).

Finalmente, se realizaron análisis estadísticos a partir de los cálculos de la media, coeficiente de variación, desviación y % de error, parámetros que permiten determinar si el método a verificar, es adecuado y cumple con las especificaciones exigidas por la norma NTC/ISO/IEC17025.

**VERIFICACIÓN DEL METODO DETERMINACION DE DEMANDA QUIMICA DE
OXIGENO EN AGUA RESIDUAL, EN EL LABORATORIO MULTIPROPÓSITO DE
CALARCA S.A. ESP**

Contenido

1	INTRODUCCIÓN	9
2	JUSTIFICACION.....	11
3.	OBJETIVOS.....	13
3.1	OBJETIVO GENERAL	13
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	13
4.	MARCO DE REFERENCIA	14
4.1	TEORICO.....	14
4.1.1.	DQO.....	14
4.1.2.	DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO) METODO COLORIMETRICO	15
4.2	AGUAS RESIDUALES.....	15
4.3	VALIDACION	16
4.3.1	Selectividad.	16
4.3.2	Linealidad.	16
4.3.3	Precisión.	17
4.3.4	Repetibilidad.....	17
4.3.5	Reproducibilidad.....	17
4.3.6	Exactitud.....	17
4.3.7	Limite de cuantificación.....	17
4.3.8	Limite de detección.	17
4.3.9	Robustez.....	18
4.3.10	Especificidad.	18
4.3.11	Desviación estándar.	18
4.3.12	Porcentaje de recuperación.	18
4.4	MARCO LEGAL.....	19
4.4.1.	Acreditación en Colombia.....	19

5. METODOLOGÍA.....	21
5.1 METODOS DE ANALISIS.....	21
5.1.1. DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO METODO COLORIMETRICO RANGO BAJO	21
5.1.1.1 Materiales y Reactivos	21
5.1.1.2 Equipos	22
5.1.1.3. Preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración....	22
5.1.2. DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO METODO COLORIMETRICO RANGO ALTO	26
5.1.2.1. Materiales y Reactivos.....	26
5.1.2.2. Equipos	26
5.1.2.3. Preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración....	27
6. RESULTADOS Y DISCUSION	31
6.1. Datos DQO Rango Bajo	31
6.2. Datos DQO Rango Alto.....	32
7. CONCLUSIONES.....	36
8. BIBLIOGRAFIA	37

1 INTRODUCCIÓN

La validación de procedimientos analíticos es un tema de gran importancia para el análisis químico y una exigencia para los laboratorios donde se realizan. La verificación de ensayos es necesaria para ofrecer servicios confiables a los clientes e incrementar la competitividad del laboratorio.

Todos los métodos nuevos que se introduzcan en un laboratorio deben estar documentados, y todos los analistas que los vayan a utilizar han de recibir una formación adecuada y demostrar su competencia en su utilización antes de empezar a actuar en casos concretos, necesitan una verificación, los métodos comercializados. Si se realizan cambios importantes, se necesitará una validación completa.

La verificación de un método se realiza mediante una serie de pruebas normalizadas y experimentales de las que se obtienen datos sobre su exactitud, precisión, etc. El proceso que ha de seguirse para ello debe constar por escrito como procedimiento normalizado de trabajo.

Los métodos más comunes para estimar la contaminación orgánica se basan en la determinación global de las materias oxidables presentes en el agua y que son susceptibles de oxidarse a partir del oxígeno del medio.

Los métodos utilizados para el análisis de la materia orgánica contaminante son:

- La Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) medida de las materias orgánicas biodegradables.
- La Demanda Química de Oxígeno (DQO) medida de las materias oxidables por el dicromato de potasio en medio ácido.

La DQO puede considerarse como una medida aproximada de la demanda teórica de oxígeno. La DQO se define como la cantidad de oxígeno que es equivalente a la cantidad de dicromato de potasio, el cual es consumido por las materias disueltas y en suspensión, cuando la muestra es tratada por dicho oxidante en las concentraciones definidas.

Por tanto el laboratorio debe tener métodos apropiados y validados para los ensayos que satisfagan las necesidades del cliente. Es por ello, que le presente trabajo tiene como objetivo realizar una validación de la técnica de DQO por el método de reflujo cerrado, utilizando dicromato de potasio como agente oxidante bajo condiciones dadas por el laboratorio, para aguas crudas, residuales y tratadas en rango bajo y rango alto. [1]

2 JUSTIFICACION

El Laboratorio Ambiental de la Empresa Multipropósito de Calarcá S.A. ESP, cuenta con un sistema de calidad, planificado y documentado, basado en la Norma NTC ISO/IEC 17025/2005 (requisitos generales de competencia de los laboratorios de ensayo y calibración). [2].

Para responder a la normatividad vigente y a las necesidades de los usuarios internos y externos de suministrarles información válida, confiable, oportuna e imparcial está implementando su sistema de calidad bajo la Norma ISO 17025 “Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayo y calibración” y de esta manera cumplir con los requerimientos de gestión y técnicos exigidos por ésta en términos de organización, competencia del personal, documentación, infraestructura física e instrumental, métodos de análisis y aseguramiento de la calidad.

Todo lo anterior con el fin de obtener la acreditación, y dar así cumplimiento al DECRETO 1600 de 1994 que define al IDEAM como ente acreditador y al 3440 de 2004 para el cobro de las Tasas Retributivas.

Vale la pena recordar que las autoridades ambientales, para el ejercicio de su función, solo podrán aceptar los resultados de los análisis proporcionados por los laboratorios que cuentan con el certificado de acreditación suministrado por el IDEAM para la matriz agua, a partir del 01 de Agosto del 2007 (lo anterior se basa en el Decreto 2570 de Agosto 01 de 2006).

Adicionalmente, la Norma ISO / IEC 17025 estipula que los laboratorios que están en proceso de acreditación deben validar todas las metodologías que se usen en él, tanto las desarrollados por ellos mismos. Los criterios de calidad que al menos deben verificarse son la precisión, la reproducibilidad y la exactitud de los resultados obtenidos con el método ya que, de esta forma, se obtienen resultados comparables y verificables.

La herramienta utilizada para analizar la calidad de los métodos analíticos es la validación, La validación es la comprobación de que un método analítico provee datos objetivos dando cumplimiento a requisitos particulares del mismo, para darle un uso específico. [3].

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Ejecutar y comprobar que el método DQO reflujó cerrado colorimétrico rango bajo y rango alto, provee datos objetivos en el análisis de aguas residuales en el Laboratorio de la Empresa Multipropósito de Calarca S.A. ESP.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Aplicar el procedimiento general de verificación de metodologías analíticas, propuesto para el laboratorio de la Empresa Multipropósito de Calarca S.A. ESP.

Determinar las características o atributos del método analíticos que se va a verificar; los cuales son: media, desviación estándar y coeficiente de variación.

4. MARCO DE REFERENCIA

4.1 TEORICO

4.1.1. DQO

Es una medida de la cantidad de oxígeno consumido por la porción de materia orgánica existente en la muestra y oxidable por un agente químico oxidante fuerte. Específicamente representa el contenido orgánico total de la muestra, oxidable por dicromato en solución ácida. [4].

Cerca del 75% de los sólidos en suspensión y del 40% de los sólidos filtrables de un agua residual de concentración media son de naturaleza orgánica. Son sólidos que provienen de los reinos animal y vegetal, así como de las actividades humanas relacionadas con la síntesis de compuestos orgánicos. Los compuestos orgánicos están formados normalmente por combinaciones de carbono, hidrógeno y oxígeno, con la presencia, en determinados casos, de nitrógeno. También pueden estar presentes otros elementos como azufre, fósforo o hierro. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en el agua residual son las proteínas, 40-60%, hidratos de carbono, 25-50%, y grasas y aceites, 10%. Para poder evaluar el daño que pueden llegar a producir las aguas residuales, se emplean diversas técnicas. La Demanda Química de Oxígeno, DQO, es una de estas técnicas en la que podemos determinar la cantidad de materia orgánica putrescibles que están en el agua contaminada. La demanda de oxígeno de un agua residual es la cantidad de oxígeno que es consumido por las sustancias contaminantes que están en el agua durante un cierto tiempo, ya sean sustancias contaminantes orgánicas o inorgánicas. Una de las técnicas basadas en el consumo de oxígeno son la demanda química de oxígeno, DQO, esta, es la cantidad de oxígeno en mg/l consumido en la oxidación de las sustancias reductoras que están en un agua. Se emplean oxidantes químicos, como el dicromato potásico. Tal y como hemos dicho, el ensayo de la DQO se emplea para medir el contenido de materia orgánica tanto de las aguas naturales como de las residuales. En el ensayo, se emplea un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para la determinación del equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse.

La Oxidabilidad al permanganato es otra característica del agua a tener en cuenta. El agua se trata con permanganato potásico, KMnO_4 , que oxida a las sustancias de origen orgánico del agua. Después se determina la cantidad de permanganato. El hecho de que la medición del contenido en materia orgánica se realice por

separado viene justificado por su importancia en la gestión de la calidad del agua y en el diseño de las instalaciones de tratamiento de aguas. [5].

4.1.2. DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO) METODO COLORIMETRICO

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con una muestra bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumida se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno: mgO₂/L. El método colorimétrico se basa en la oxidación de la materia orgánica por medio de un oxidante fuerte como el dicromato, el cromo Cr⁺⁶ de color naranja presente en la solución de análisis se reduce a Cr⁺³ de color verde, la reducción del cromo depende directamente de su reacción con la materia orgánica total existente en la muestra, lo que permite cuantificar la materia orgánica presente en la muestra por medio del método colorimétrico que mide la Absorbancia del Cr⁺³ a 600nm. [6].

4.2 AGUAS RESIDUALES

Se consideran aguas residuales a los líquidos que han sido utilizados en las actividades diarias de una ciudad (domésticas, comerciales, industriales y de servicios). Comúnmente las aguas residuales suelen clasificarse como:

- * Aguas residuales municipales. Residuos líquidos transportados por el alcantarillado de una ciudad o población y tratados en una planta de tratamiento municipal.

- * Aguas residuales industriales. Las aguas residuales provenientes de las descargas de industrias de manufactura. En muchos casos las aguas residuales industriales requieren tratamiento antes de ser descargadas en el sistema de alcantarillado municipal; como las características de estas aguas residuales cambian de una a otra industria, los procesos de tratamiento son también muy variables. No obstante, muchos de los procesos empleados para tratar aguas residuales municipales se emplean también con las industriales. Existen aguas residuales industriales que tienen características compatibles con las municipales, por lo que se descargan directamente en los sistemas públicos de alcantarillado. [7].

4.3 VALIDACION

Según la norma ISO 9000_2000 el termino validación corresponde a una confirmación mediante un suministro de evidencia objetiva en el cual han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

NOTA 1 El término "validado" se utiliza para designar el estado correspondiente.

NOTA 2 Las condiciones de utilización para validación pueden ser reales o simuladas.

La validación ha sido objeto de atención por ser requerida en normas sobre sistemas de gestión de la calidad, sobre software y particularmente en la norma ISO 17025 sobre requisitos generales para laboratorios de calibración y ensayo. La validación establece por medio de estudios realizados en el laboratorio una base de datos que demuestran científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas ensayadas.

Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

Los estudios de validación demuestran que un método es utilizable para un analito en una matriz determinada usando la instrumentación especificada, la muestra a analizar y un tratamiento de datos especificado.

Para cumplir con la validación de una metodología se debe seguir con los parámetros de desempeño analítico, que son características de validación que necesitan ser evaluadas como exactitud, precisión, límite de detección, límite de Cuantificación, linealidad, intervalo de linealidad y robustez. [8].

4.3.1 Selectividad.

Describe la habilidad de un procedimiento analítico para diferenciar entre varias sustancias en la muestra y es aplicable a métodos en los que dos o más componentes son separados y cuantificados en una matriz compleja. [9].

4.3.2 Linealidad.

Se refiere a la proporcionalidad entre la concentración y la señal producida por el instrumento, es decir a medida que aumenta la concentración aumenta la señal, se cumple la ley de Beer, se conoce como el coeficiente de correlación (r^2) arrojado por la curva de calibración cuyo valor aceptable es 1.

4.3.3 Precisión.

Indica el grado de concordancia entre los datos obtenidos para el manejo y análisis de datos, para llevar a cabo una correcta evaluación y respaldar las conclusiones que proporciona dicho análisis.

4.3.4 Repetibilidad.

Precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo. [10].

4.3.5 Reproducibilidad.

Es la capacidad de un instrumento de dar el mismo resultado en mediciones diferentes realizadas en las mismas condiciones en diferentes periodos de tiempo. Esta cualidad debe evaluarse a largo plazo. Ésta es la gran diferencia con precisión que debe, en cambio, ser evaluada a corto plazo.

4.3.6 Exactitud.

Expresa la cercanía entre el valor que es aceptado y el valor encontrado obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces, se expresa en términos de error.

$$\% \text{ Error} = \frac{\text{valor experimental} - \text{error teorico}}{\text{error teorico}} * 100$$

4.3.7 Limite de cuantificación.

Se puede definir como la cantidad más pequeña de un analito que se pueda cuantificar confiablemente por el instrumento. Es un parámetro de análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices demuestra.

4.3.8 Limite de detección.

Cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito. [11].

4.3.9 Robustez.

Medida de la capacidad de un procedimiento analítico de permanecer inafectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y provee una indicación de su fiabilidad en condiciones de uso normales. [12].

4.3.10 Especificidad.

Habilidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se puede esperar que estén presentes. Típicamente éstos pueden incluir impurezas, productos de degradación, la matriz, entre otros. [13].

4.3.11 Desviación estándar.

Se conoce como un parámetro de calidad de la precisión. La desviación estándar da como resultado un valor numérico que representa el promedio de diferencia que hay entre los datos y la media. Se utiliza la siguiente fórmula.

$$S = \frac{\sum(X_i - X)^2}{N-1}$$

Donde

X_i es el dato que se está analizando

X es la media de los datos

N es el número de medidas

4.3.12 Porcentaje de recuperación.

Es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a una muestra, se expresa como porcentaje (%R) y se calcula de la siguiente manera:

$$\%R = \frac{Cf - CU}{CA} * 100$$

Dónde:

CF concentración del analito medida en la muestra adicionada

CU es la concentración en la muestra no adicionada

CA es la concentración conocida adicionada a la muestra

4.4 MARCO LEGAL

4.4.1. Acreditación en Colombia

La acreditación, según el decreto 2269/93 es el proceso mediante el cual se reconoce la competencia técnica y la idoneidad de organismos de certificación e inspección, laboratorios de ensayo y metrología.

Las ventajas para los laboratorios que se encuentran acreditados son:

- Se evidencia el cumplimiento de condiciones de seguridad y calidad dentro del mercado,
- Facilita un comercio ágil y con menores costos de transacción,
- Muestra competitividad, seguridad en los productos ofrecidos y se abre al comercio internacional, ciencia y tecnología.

El papel de la acreditación es el de otorgar confianza a los resultados de evaluación de la conformidad respecto del cumplimiento de normas técnicas o reglamentos técnicos, basándose principalmente en el los procedimientos aceptados globalmente y la verificación de las condiciones de aseguramiento metrológico. [14].

El proceso de acreditación es confiable puesto que es el resultado de un proceso global de definición de los requisitos, tanto de la actividad de acreditación y de los organismos que la desarrollan como de cada uno de los tipos de organismos de evaluación de la conformidad que sean acreditables.

Confianza en la acreditación:

- Competencia técnica
- Independencia e imparcialidad
- Procedimientos globalmente aceptados
- Esquema de vigilancia
- Evaluación por pares / Reconocimiento internacional

La acreditación se debe realizar de conformidad con la norma NTCISO/IEC 17011, aplicable al organismo de acreditación y de acuerdo con las normas técnicas para

cada una de las modalidades de organismos de evaluación. El laboratorio de análisis de aguas de la empresa multipropósito, se encuentra clasificado dentro de los laboratorios de ensayo o prueba, los cuales deben cumplir con la norma ISO/IEC17025:1995.

Los aspectos que se evalúan en el proceso de acreditación son:

- Organización: existencia legal, imparcialidad.
- Competencia técnica: recurso humano, recursos documentales, trazabilidad y atestación.
- Sistema de gestión: manual de calidad, procedimientos, documentos. [15].

5. METODOLOGÍA

A. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

La demanda química de oxígeno es la medida del oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica e inorgánica susceptible de oxidación, contenida en una muestra bajo condiciones de un agente específico, temperatura y tiempo. Los valores de este parámetro están asociados al grado de avance de la oxidación de los contaminantes.

B. PRINCIPIO DEL METODO

Las sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables presentes en la muestra, se oxidan mediante reflujo en solución fuertemente ácida (H_2SO_4) con un exceso conocido de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en presencia de sulfato de plata (Ag_2SO_4) que actúa como agente catalizador, y de sulfato mercurico ($HgSO_4$) adicionado para remover la interferencia de los cloruros. Después de la digestión, el remanente de $K_2Cr_2O_7$ sin reducirse titula con sulfato ferroso de amonio; se usa como indicador de punto final el complejo ferroso de ortofenantrolina (ferroina). La materia orgánica oxidable se calcula en términos de oxígeno equivalente.

5.1 METODOS DE ANALISIS

5.1.1. DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO METODO COLORIMETRICO RANGO BAJO

5.1.1.1 Materiales y Reactivos

MATERIALES		REACTIVOS
Cantidad	Descripción	Descripción
1	Desecador, con desecante e indicador coloreado de humedad	Solución patrón de hidrogeno ftalato de potasio
1	Beaker de 500 ml	Ácido sulfúrico concentrado
1 c/u	Pipetas aforadas clase A de 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 50 y 100 ml	Ácido sulfúrico 20%
1	Transferpette S 100-1000 μ L	Cromato de potasio

1	Transferpette S 1-10mL	Sulfato de Plata
1 c/u	Balones volumétricos clase A, 100, 200,250, 500, 1000 y 2000 mL	Ampollas para DQO marca HACH rango de 0-150

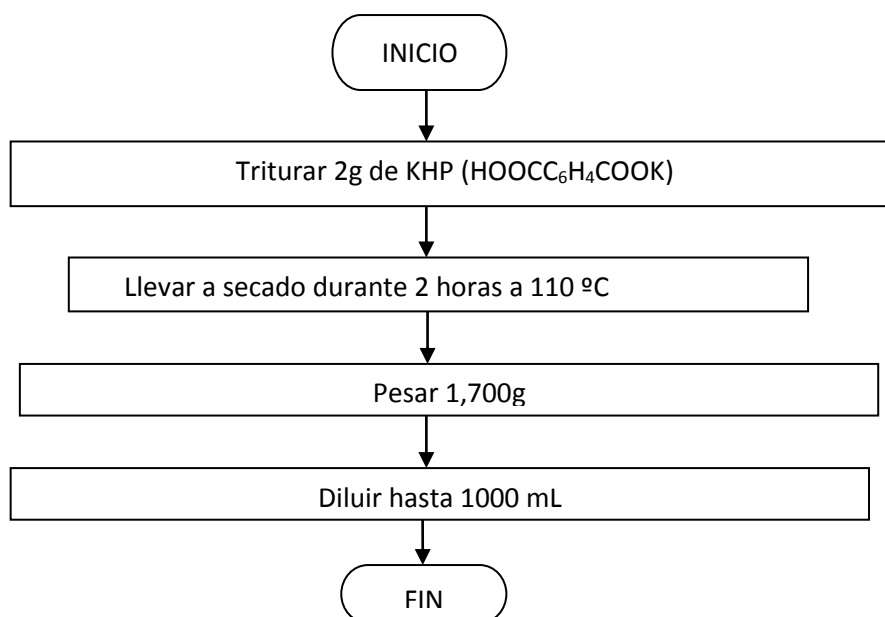
5.1.1.2 Equipos

- Destilador de agua
- agitador magnético con control de velocidad
- horno de secado con temperatura de 103 a 105°C
- unidad de purificación de agua ultrapura agua tipo 1
- balanza analítica (resolución 0,0001 g)
- termoreactor con temperatura a 150 °C
- espectrofotómetro.

5.1.1.3. Preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración

Soluciones patrón de Hidrogeno Ftalato de Potasio (KHP) patrón: se trituro ligeramente y luego se seco el KHP ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) durante 2 horas a 110 °C. Se disolvió 1,700g en agua destilada y diluyó hasta 1000 mL. El KHP tiene una DQO teórico de 1,176 mg O_2 /mg y esta solución tiene un DQO teórico de 2000 $\mu\text{g O}_2$ /mL. Es estable hasta 3 meses conservada a 4 °C para evitar el crecimiento biológico visible.

Solución Patrón de 2000mg O_2 /L



Preparación de soluciones estándar para la curva de calibración: se realizaron los cálculos correspondientes para preparar soluciones con concentraciones de 150, 200, 300, 500, 700, 800 y 900 mg/L, partiendo de una solución patrón de ftalato de potasio (KHP) 500 mg/L, obtenida de la solución preparada para la curva de calibración en rango alto.

A partir de la solución de 500 mg/L se realizaron las siguientes diluciones para bajo rango:

Tabla 1. Soluciones estándar Bajo Rango preparadas a partir de solución patrón de 500mg/L

Concentración (mg/L)	Alícuota Estándar	Volumen Final
	500	500
10	10	500
20	20	500
30	30	500
70	70	500
100	100	500
150	150	500

Preparación del estándar bajo:

Se tomaron 6 mL de solución estándar ftalato de potasio (500 mg/L), se depositaron en un balón volumétrico de 100 mL, se aforó con agua destilada para obtener el estándar bajo de 28 mg/L. Las soluciones se preservaron con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$.

Preparación del estándar alto:

Se tomaron 14 mL de solución estándar ftalato de potasio (500 mg/L), se depositaron en un balón volumétrico de 100 mL, se aforó con agua destilada para obtener el estándar alto de 70 mg/L. Las soluciones se preservaron con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$.

Preparación de la muestras a verificar:

Muestra 1: agua residual

Se tomaron alrededor de un litro de muestra de agua residual, se preservaron con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$, se realizó la lectura de esta, si es necesario se hace una dilución.

Muestra 1 adiciona de baja: agua residual + estándar (80 mg/L).

Tomar 10 ml de la solución de 500 mg/L de ftalato y aforar a 100 ml con agua residual, preservar con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$.

Muestra 2 adicionada alta: agua residual + estándar (150 mg/L)

6. DQO Bajo Rango.

- Ampollas para DQO marca HACH rango de 0 a 150.

Preparación de soluciones para la verificación:

Bajo Rango (20-150).

- Se colocaron 2.5mL del estándar de baja 50mg O₂/L en los tubos y se agregó en una ampolla para digestión de DQO marca HACH de Rango a 0-150mgO₂/L y se introdujeron en el termoreactor precalentado a 150°C y se dejaron en reflujo durante 2 horas. se enfrió a temperatura ambiente, se introdujo la muestra en una celda de 1cm y se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 420nm.
- Se colocaron 2.5mL del estándar de Alta 150mg O₂/L en los tubos y se agregaron en una ampolla para digestión de DQO marca HACH de Rango a 0-150mg O₂/L y se introdujeron en el termoreactor precalentado a 150°C y se dejó en reflujo durante 2 horas. se enfrió a temperatura ambiente, se introdujo la muestra en una celda de 1cm y se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 420nm.

DQO Bajo Rango (Menores a 150mg O₂/L)

- Se agregaron 2.5mL de las muestras, el blanco y los estándares en las ampollas para DQO rango de 0 a 150mgO₂/L Marca HACH. Se tapó herméticamente los tubos e invirtieron varias veces para mezclar completamente el contenido.
- Se introdujeron las ampollas en el termoreactor precalentado a 150°C y se dejaron en reflujo durante 2 horas. se enfrió a temperatura ambiente, se introdujo la muestra en una celda de 1 cm y se realizo su lectura en el espectrofotómetro a 420nm.

Tamaño de la muestra

Tomaron 2.5 mL de la muestra (si esta no presenta una DQO mayor a 900mgO₂/L), si es así se deben realizar diluciones, si la concentración de la muestra es menor a 150mgO₂/L se debe montar con las ampollas de digestión marca HACH, si es mayor a 150mgO₂/L se debe realizar con los reactivos preparados en el laboratorio.

Lectura de muestras

Las lecturas serán realizadas por dos analistas los días 1, 3 y 5, por triplicado a cada una de la muestras, además del blanco y el estándar bajo y alto.

5.1.2. DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO METODO COLORIMETRICO RANGO ALTO

5.1.2.1. Materiales y Reactivos

MATERIALES		REACTIVOS
Cantidad	Descripción	Descripción
1	Desecador, con desecante e indicador coloreado de humedad	Solución patrón de hidrogeno ftalato de potasio
1	Beaker de 500 ml	Ácido sulfúrico concentrado
1 c/u	Pipetas aforadas clase A de 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 50 y 100 ml	Ácido sulfúrico 20%
1	Transferpette S 100-1000µL	Cromato de potasio
1	Transferpette S 1-10mL	Sulfato de Plata
1 c/u	Balones volumétricos clase A, 100, 200,250, 500, 1000 y 2000 mL	

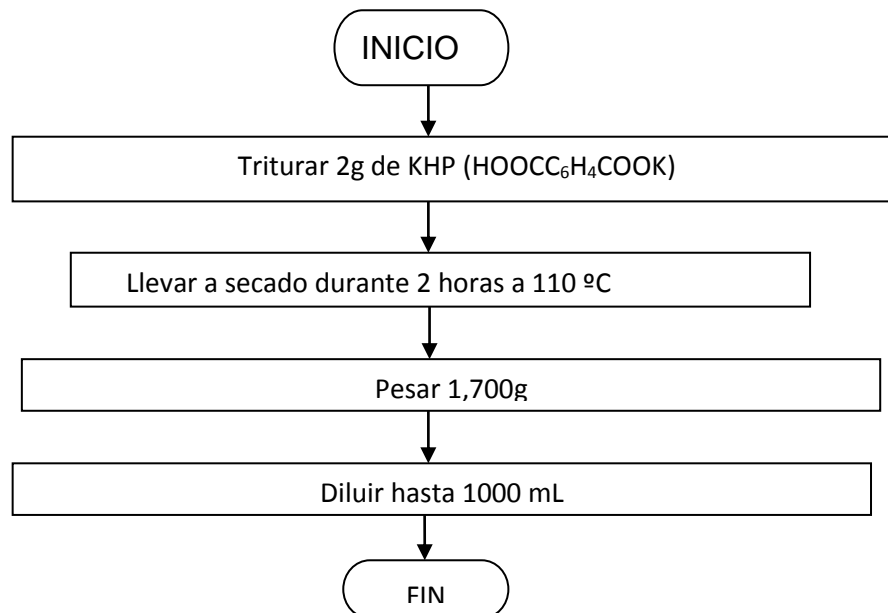
5.1.2.2. Equipos

- Destilador de agua
- agitador magnético con control de velocidad
- horno de secado con temperatura de 103 a 105°C
- unidad de purificación de agua ultrapura agua tipo 1
- balanza analítica (resolución 0,0001 g)
- termoreactor con temperatura a 150 °C
- espectrofotómetro.

5.1.2.3. Preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración

Soluciones patrón de Hidrogeno Ftalato de Potasio (KHP) patrón: se trituró ligeramente y luego se seco el KHP ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) durante 2 horas a $110\text{ }^\circ\text{C}$. Se disolvieron 1,700g en agua destilada y se diluyó hasta 1000 mL. El KHP tiene una DQO teórico de 1,176 mg O_2/mg y esta solución tiene un DQO teórico de 2000 $\mu\text{g O}_2/\text{mL}$. Es estable hasta 3 meses conservada a $4\text{ }^\circ\text{C}$ para evitar el crecimiento biológico visible.

Solución Patrón de 2000mg O_2/L



Preparación de soluciones estándar para la curva de calibración: se realizaron los cálculos correspondientes para preparar soluciones con concentraciones de 150, 200, 300, 500, 700, 800 y 900 mg/L, partiendo de una solución patrón de ftalato de potasio (KHP) 2000 mg/L.

Tabla 2. Soluciones estándar Alto Rango preparadas a partir de solución patrón de 2000mg/L

Concentración (mg/L)	Alícuota Estándar	Volumen Final
	2000	200
150	15	200
200	20	200
300	30	200
500	50	200
700	70	200
800	80	200
900	90	200

Preparación del estándar bajo:

Se toman 10 mL de solución estándar ftalato de potasio (2000 mg/L), se depositaron en un balón volumétrico de 100 mL, se aforó con agua destilada para obtener el estándar bajo de 170 mg/L. Las soluciones se preservaron con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$.

Preparación del estándar alto:

Se tomaron 40 mL de solución estándar ftalato de potasio (2000 mg/L), se depositaron en un balón volumétrico de 100 mL, se aforó con agua destilada para obtener el estándar alto de 215 mg/L. Las soluciones se preservan con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$.

Preparación de la muestras a verificar:

Muestra 1: agua residual

Se tomó alrededor de un litro de muestra de agua residual, se preservó con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$, se realizó la lectura de esta, si es necesario se hace una dilución.

Muestra 1 adiciona de baja: agua residual + estándar (180 mg/L)

Tomar 10 ml de la solución de 500 mg/L de ftalato y aforar a 100 ml con agua residual .preservar con ácido sulfúrico hasta $\text{pH} < 2$

Muestra 2 adicionada alta: agua residual + estándar (750 mg/L)

6. DQO Alto Rango.

H_2SO_4 al 20 %

Reactivo de Digestión: se añadió a unos 500 mL de agua destilada, 10,216 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, previamente secado a 150 °C durante 2 horas, 167 mL de H_2SO_4 concentrado, y 33.3 g HgSO_4 . Se disolvió y enfrió a temperatura ambiente y finalmente se diluyó hasta 1000 mL.

Reactivo de ácido sulfúrico ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{Ag}_2\text{SO}_4$): se añadió Ag_2SO_4 , en cristales o polvo, a H_2SO_4 concentrado en la proporción de 5,5 g de $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{Kg}$ de H_2SO_4 . Se dejó reposar 1 día para que este se disolviera.

6. Preparación de soluciones para la validación:

6.1. DQO Alto Rango (Mayores a 150mg O_2/L)

- Se lavaron los tubos y sus tapas con H_2SO_4 al 20 % antes de su uso para prevenir la contaminación.
- Se colocaron las muestras, el blanco y los estándares en los tubos y se agregó solución de digestión, se agregó cuidadosamente reactivo de ácido sulfúrico por la pared del tubo. Se tapó herméticamente los tubos e invirtieron varias veces para mezclar completamente el contenido.
- Cantidades de muestra y reactivos para los tubos de digestión utilizados:

TUBO DE DIGESTION	MUESTRA (mL)	Solución Digestión (mL)	Ácido Sulfúrico (mL)	Volumen Total (mL)
16 x 100 mm	2.5	1.5	3.5	7.5

- Se colocaron los tubos en el Termoreactor a 150 °C, y se dejaron en reflujo durante 2 horas. se enfrió a temperatura ambiente, se introdujo la muestra en una celda de 1cm y se realizó su lectura en el espectrofotómetro a 600nm.

7. DQO Alto Rango (150 – 900).

- Se colocaron 2.5mL del estándar de baja 200mg O₂/L en los tubos y se agregó solución de digestión, se agrega cuidadosamente reactivo de ácido sulfúrico por la pared del tubo. Se tapó herméticamente los tubos e invirtieron varias veces para mezclar completamente el contenido, después de esto se introdujeron en el termoreactor precalentado a 150°C y se dejaron en reflujo durante 2 horas. se enfriaron a temperatura ambiente, se introdujeron las muestras en una celda de 1cm y se realizaron la lectura en el espectrofotómetro a 600nm.

Tamaño de la muestra

Se tomaron 2.5 mL de la muestra (si esta no presenta una DQO mayor a 900mg O₂/L), si es así se debe realizar diluciones, si la concentración de la muestra es menor a 150mg O₂/L se debe montar con las ampollas de digestión marca HACH, si es mayor a 150mg O₂/L se debe realizar con los reactivos preparados en el laboratorio.

Lectura de muestras

Las lecturas serán realizadas por dos analistas los días 1, 3 y 5, por duplicado a cada una de la muestras, además del blanco y el estándar bajo y alto. Los atributos del método que se determinaron fueron media, desviación estándar coeficiente de variación y % de error, cálculos realizados manualmente.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Datos DQO Rango Bajo

En la tabla 3, se registran las lecturas realizadas a cada una de las muestras por triplicado, además de los resultados del tratamiento estadístico.

Tabla 3. Resultados DQO Rango Bajo

	rango bajo			
	estandar bajo	estandar alto	muestra natural adicionada	muestra natural
jun-12	25,1	73,6	85,4	41,2
	26,3	67,4	87,5	39,1
	25,7	77,7	78,1	40,5
jun-13	28,9	66,8	80,7	37,3
	30,0	71,1	79,5	41,5
	31,5	81,7	79,6	39,3
jun-20	25,9	75,7	82,2	36,4
	27,6	78,3	83,6	41,3
	30,7	65,5	76,9	39,3
jun-21	29,5	84,9	77,9	37,3
	28,2	71,6	81,9	38,1
	29,6	66,3	84,8	36,3
jun-21	30,5	78,2	88,2	36,5
	29,9	69,4	77,6	38,6
	29,5	75,1	86,4	41,7

MEDIA	28,6	73,6	82,0	39,0
DESVIACIÓN ESTANDAR	2,01	5,92	3,79	1,96
COEFICIENTE DE VARIACIÓN	7,05	8,05	4,62	5,03
PORCENTAJE DE ERROR	2,14%	5,14%	2,50%	2,50%

- $\% \text{ Error} = \frac{28,0-28,6}{28,0} * 100 = 2,14\%$ estándar bajo
- $\% \text{ Error} = \frac{70,0-73,6}{70,0} * 100 = 5,14\%$ estándar alto
- $\% \text{ Error} = \frac{80,0-82,0}{80,0} * 100 = 2,50\%$ muestra adicionada
- $\% \text{ Error} = \frac{40,0 - 39,0}{40,0} * 100 = 2,50\%$ muestra

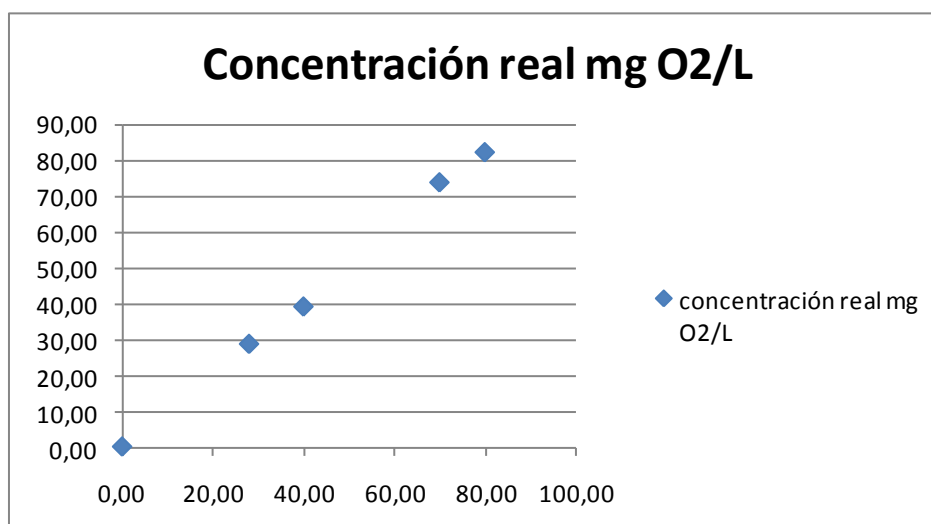
Realizando el análisis correspondiente de los resultados obtenidos, en el laboratorio Multipropósito de Calarca, estipula que en su sistema de gestión de calidad, el resultado del coeficiente de variación y la desviación estándar se encuentran dentro de los valores aceptables en el proceso de verificación inferiores al 10%.

El error relativo debe ser inferior al 10 %, por lo tanto los resultados del método aplicado son aceptables.

En la tabla 4, se registran las concentraciones teóricas y las obtenidas experimentalmente.

Tabla 4. Concentración teórica vs concentración real (Rango bajo).

concentración teórica mg O2/L	concentración real mg O2/L
0,00	0,00
28,00	28,60
70,00	73,60
80,00	82,00
40,00	39,00



Gráfica 1. Concentración teórica vs concentración real (Rango bajo).

6.2. Datos DQO Rango alto

En la tabla 5, se registran las lecturas realizadas a cada una de las muestras por triplicado, además de los resultados del tratamiento estadístico.

Tabla 5. Resultados DQO Rango alto

	rango alto			
	estandar bajo	estandar alto	muestra natural adicionada	muestra natural
jun 12	176,5	221,8	267,7	82,9
	177,3	220,8	260,5	75,3
	176,1	213,5	260,5	81,9
jun-13	166,1	218,5	260,0	86,9
	186,7	224,9	268,3	82,3
	167,0	223,5	261,7	89,5
jun 20	181,2	221,6	264,4	84,1
	168,6	214,4	262,0	86,7
	180,2	210,6	264,2	76,0
jun 21	174,8	215,2	266,0	79,4
	188,1	224,3	267,3	87,0
	181,4	221,8	266,0	82,0
jun 21	169,7	211,0	268,0	78,8
	189,0	212,9	264,3	83,6
	163,6	218,1	262,1	86,3

MEDIA	176,4	218,2	264,2	82,9
DESVIACIÓN ESTANDAR	8,153	4,909	2,920	4,30

COEFICIENTE DE VARIACIÓN	4,62	2,25	5,19	1,105
PORCENTAJE DE ERROR	3,76%	1,49%	1,61%	3,62%

- % Error= $\frac{170-176,4}{170} * 100 = 3,76\%$ estándar bajo
- % Error= $\frac{215-218,2}{215} * 100 = 1,49\%$ estándar alto
- % Error= $\frac{260-264,2}{260} * 100 = 1,61\%$ muestra adicionada
- % Error= $\frac{80-82,9}{80} * 100 = 3,62\%$ muestra

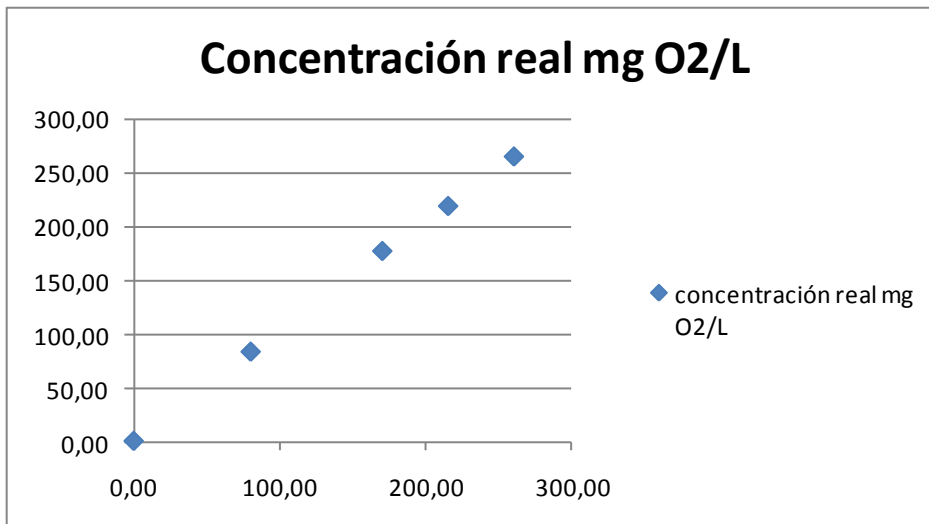
Realizando el análisis correspondiente de los resultados obtenidos, en el laboratorio Multipropósito de Calarca, estipula que en su sistema de gestión de calidad, el resultado del coeficiente de variación y la desviación estándar se encuentran dentro de los valores aceptables en el proceso de verificación inferiores al 10%.

El error relativo debe ser inferior al 10 %, por lo tanto los resultados del método aplicado son aceptables en el proceso de verificación.

En la tabla 5, se registran las concentraciones teóricas y las obtenidas experimentalmente.

Tabla 5. Concentración teórica vs Concentración Real (Rango Alto).

concentración teórica mg O2/L	concentración real mg O2/L
0,00	0,00
170,00	176,40
215,00	218,20
80,00	82,90
260,00	264,20



Gráfica 2. Concentración teórica vs concentración real (Rango Alto).

7. CONCLUSIONES

- La verificación del método analítico para determinar demanda química de oxígeno DQO, permite juzgar si este cumple con las especificaciones requeridas para la validación.
- Concentraciones altas de la solución digestora de Dicromato de Potasio
- generan mayores errores en el resultado final del análisis de muestras que contienen cargas orgánicas bajas.
- El proceso de verificación permite indagar si las condiciones de ensayo del método analítico son adecuadas para el analito que se va a estudiar.
- El análisis estadístico de muestras de aguas residuales presenta desviaciones estándar y coeficientes de variación aceptables para el proceso de verificación.

8. BIBLIOGRAFIA

[1]. I. Aguilera, S. R. (2003). Validación de la determinación de la DQO en la. Revista Cubana de Química , 18-19.

[2]. <http://multiproposito.com/producto-detalles-producto-5-p-1.htm>. (s.f.).
https://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/Legislaci%C3%B3n_del_agua/Decreto_2570.pdf. (s.f.).

[3]. Gomez, D. M. Validación de la metodología por el método estandar 3111^a – absorbancia atómica para el análisis de metales pesados en muestras de aguas y aguas residuales.

[4][6]. GIL, C. A. (2009). ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA MEDICIÓN. Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1780/1/57253L563.pdf>

[5]. http://www.hannaarg.com/pdf/002DQO_nota_tecnica.pdf

[7]. NAVARRA, G. (2014). Obtenido de <http://www.navarra.es/NR/ronlyres/D49F54B3-3E90-4E8E-B4B9-89B282D89410/0/5depuracionaguasresiduales.pdf>

[8]. CAROLINA OSPINA CASTAÑO, M. Z. (2012). Validación de la metodología de detección de los metales Cadmio, Niquel y Plomo en agua tratada por absorción atómica de llama en el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

[9][10][11][12][13]. LÓPEZ, M. N. (2009). VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DQO, DBO5 Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES EN EL ANÁLISIS DE AGUAS RESIDUALES PARA EL LABORATORIO DE AGUAS Y ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA. PEREIRA.

[14]. Normas oficiales para la calidad del agua en Colombia. Norma Técnica Colombiana. Características físicas del agua
http://www.imta.gob.mx/cotennser/images/docs/NOI/Normas_oficiales_para_la_calidad_del_agua_colombia.pdf

[15]. International Laboratory Accreditation Cooperation (I.L.A.C.). Razones por las cuales debería emplearse un laboratorio acreditado. Australia. Website: www.ilac.org Copyright ILAC2010