



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL
Sede Santo Domingo

FACULTAD CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E INDUSTRIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS
NATURALES

Informe de propuesta tecnológica para obtener el título de:

INGENIERO AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN DE DQO Y PROPUESTA PARA
SU IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DE LA UTE-
SANTO DOMINGO, ECUADOR.

Autor:

ANTHONY GERMAN ZAMBRANO LOOR

Directora:

Ing. Elsa Burbano, *MSc.*

Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador
Enero – 2017

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN DE DQO Y PROPUESTA PARA SU IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DE LA UTE-SANTO DOMINGO, ECUADOR.

Ing. Elsa Burbano, *MSc.*

DIRECTORA

APROBADO

Ing. Mirian Recalde Quiroz, *MSc.*

PRESIDENTA DEL TRIBUNAL

Ing. Paúl González Dávila, *MSc.*

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Judith García, *MSc.*

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Santo Domingo,.....de febrero de 2017.

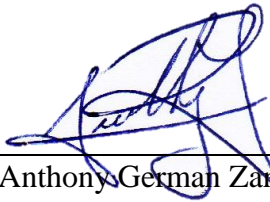
Autor: ANTHONY GERMAN ZAMBRANO LOOR

Institución: UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

Título: VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN DE DQO Y PROPUESTA PARA SU IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DE LA UTE-SANTO DOMINGO, ECUADOR.

Fecha: ENERO, 2017

El contenido del presente trabajo de investigación está bajo la responsabilidad del autor, y no ha sido plagiado.



Anthony German Zambrano Loo
C.I. 230025813-0



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

Sede Santo Domingo

Santo Domingo, 18 de enero del 2017

Ing. Mirian Recalde Q.

COORDINADORA DE LA CARRERA INGENIERÍA AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES

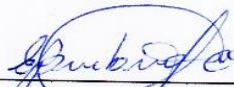
Presente.

De mis consideraciones.-

Mediante la presente tengo a bien informar que el trabajo escrito de titulación realizado por el señor: **ANTHONY GERMAN ZAMBRANO LOOR**, cuyo título es: **“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDICIÓN DE DQO Y PROPUESTA PARA SU IMPLEMENTACIÓN EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DE LA UTE-SANTO DOMINGO, ECUADOR”**, ha sido elaborado bajo mi supervisión y revisado en todas sus partes, el mismo que no ha sido plagiado, por lo cual autorizo su respectiva presentación.

Particular que informo para fines pertinentes.

Atentamente,



Ing. Elsa Burbano C.

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a Dios quien supo guiarme por el buen camino, para seguir adelante y no ceder ante cada uno de los problemas que se presentaban.

A mis padres Germania y Raúl, quienes estuvieron apoyándome día y noche en este camino, por sus consejos, comprensión, amor y la ayuda en cada uno de los momentos difíciles.

Mis hermanos Erick y Paul por ser uno de los pilares en mi vida, acompañándome para poderme realizar.

Anthony German Zambrano Looor.

Agradecimiento

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera profesional. A mi familia fuente de apoyo constante e incondicional y en especial expresar un enorme agradecimiento a mis padres Germania y Raúl que sin su ayuda hubiera sido imposible culminar y realizarme como profesional.

A mi directora de tesis Ingeniera Elsa Burbano y al Ingeniero Paúl González, gracias por orientarme, su paciencia y motivaciones ayudaron en gran medida la culminación de esta etapa de mi vida.

A mis amigos que hicieron que esta etapa de mi vida sea una increíble experiencia.

Anthony German Zambrano Loor.

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	2300258130
APELLIDO Y NOMBRES:	Zambrano Loor Anthony German
DIRECCIÓN:	Los Rosales 1 etapa mz 1 casa 4
EMAIL:	agzl19@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	2758273
TELÉFONO MOVIL:	0989018867

DATOS DE LA OBRA	
TITULO:	Validación del método de medición de DQO y propuesta para su implementación en el laboratorio de química de la UTE-Santo Domingo, Ecuador.
AUTOR O AUTORES:	Anthony German Zambrano Loor
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	25 de Enero de 2017
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Elsa Clara Burbano, MsC.
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TITULO POR EL QUE OPTA:	INGENIERO AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES
RESUMEN:	El agua, es el recurso natural más afectado o contaminado por diferentes actividades antropogénicas: aguas negras e industriales. Dentro del análisis físico-químico existe una variable o parámetro para el control de calidad tanto del agua potable o residual que es la Demanda Química de Oxígeno (DQO) que mide o determina la cantidad de oxígeno

	<p>requerido para oxidar la materia orgánica, por lo tanto esta variable se analiza mediante métodos establecidos y normalizados en un Laboratorio Químico. Para la determinación de la DQO, en el laboratorio se utilizó el Método de Reflujo Cerrado por espectrofotometría SM 5220 D establecido en la Standard Methods (2012), utilizando 5 diferentes volúmenes de ácido sulfúrico (1.5; 2; 2,5; 3; 3,5 ml de H₂SO₄). En el proceso de validación se realizaron 150 muestras durante 3 semanas (50 muestras por semana) utilizando los diferentes volúmenes de ácido antes mencionados y obteniendo datos confiables, que permitieron realizar la comparación de resultados tanto de los obtenidos en el Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo, como el que se obtuvo del Laboratorio Acreditado (Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental). Lo cual permitió obtener datos para la linealidad (curva de calibración), exactitud, límite de detección y cuantificación, repetibilidad y reproducibilidad (precisión), parámetros que se obtuvieron para el proceso de validación del método analítico de medición (análisis de DQO establecido por el método de reflujo cerrado).</p>
<p>PALABRAS CLAVES:</p>	<p>DQO, Standard Methods, reflujo cerrado, espectrofotometría, curva de calibración,</p>

	<p>validación, Exactitud, Límite de detección y cuantificación, Repetibilidad y reproducibilidad.</p>
<p>ABSTRACT:</p>	<p>Water is the natural resource most affected or contaminated by different anthropogenic activities: sewage and industrial sewage. Within the physical - chemical analysis there is a variable or parameter for the quality control of both potable and residual water, which is the Chemical Oxygen Demand (COD) that measures or determines the amount of oxygen required to oxidize organic matter, This variable is analyzed by established and standardized methods in a Chemical Laboratory</p> <p>For the determination of the COD, the Closed Reflux Method was used in the laboratory by spectrophotometry SM 5220 D established in Standard Methods (2012), using 5 different volumes of sulfuric acid (1.5, 2, 2.5, 3, 3 , 5 ml H₂SO₄). In the validation process 150 samples were carried out for 3 weeks (50 samples per week) using the different volumes of acid mentioned above and obtaining reliable data, which allowed the comparison of the results obtained both in the Chemistry Laboratory of the “Universidad Tecnológica Equinoccial” in Santo Domingo, as the one obtained from the Accredited Laboratory (Center for Technical Services and Environmental Technology Transfer). This allowed to obtain data for linearity</p>

	(calibration curve), accuracy, detection limit and quantification, repeatability and reproducibility (precision), parameters that were obtained for the validation process of the analytical method of measurement (COD analysis established by the Closed reflux method).
KEYWORDS	COD, Standard Methods, Closed reflux, spectrophotometry, calibration curve, validation, accuracy, detection limit and quantification, repeatability and reproducibility

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

f: 

ZAMBRANO LOOR ANTHONY GERMAN

C.I 230025813-0

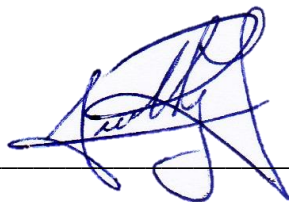
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **ZAMBRANO LOOR ANTHONY GERMAN**, CI 2300258130 autor/a de la propuesta tecnológica titulada: **Validación del método de medición de DQO y propuesta para su implementación en el Laboratorio de Química de la UTE-Santo Domingo, Ecuador** previo a la obtención del título de **INGENIERO AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Santo Domingo, 23 de enero del 2017

f: _____



ZAMBRANO LOOR ANTHONY GERMAN

C.I 230025813-0

ÍNDICE DE CONTENIDO

Portada	i
Sustentación y aprobación del tribunal	II
Responsabilidad del autor	III
Informe de la directora del trabajo de investigación.....	IV
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento.....	VI
Formulario de registro bibliográfico.....	VII
Declaración y autorización	XI
Índice de contenido.....	XII
Índice de tablas	XIII
Índice de figuras.....	XIV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. CONTENIDO TÉCNICO	3
2.1. Localización	3
2.2. Validación del método	3
2.3. Método del reflujo cerrado, para medición de DQO (Standard Methods).....	4
2.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	5
2.5. Método del reflujo cerrado por espectrofotómetro (DQO).....	5
2.6. Limitaciones e interferencias DQO.....	5
2.7. Equipos y materiales para determinación de DQO	6
2.8. Análisis de DQO	7
2.9. Propuesta tecnológica para uso del método validado en el Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo.	16
2.10. Análisis económico	17
III. CONCLUSIONES	18
RECOMENDACIONES.....	19
REFERENCIAS.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamiento y volumen de reactivos utilizados para cada tratamiento.....	8
Tabla 2. Resultados obtenidos de la medición de DQO en el laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo, 2016.....	10
Tabla 3. Prueba T de Student para determinar la exactitud de los valores tomados en la medición de DQO comparando con un dato referencial (laboratorio acreditado).....	10
Tabla 4. Estadística de la regresión de la curva de calibrado para la obtención de los límites de detección y cuantificación.....	11
Tabla 5. Condiciones establecidas para la propuesta tecnológica.....	16
Tabla 6: Proyección de costos para la implementación del método.....	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial Sede Santo Domingo..	3
Figura 2. Curva de calibración para el análisis de la DQO mediante el método del reflujo cerrado.....	9
Figura 3. Ensayos del método de repetibilidad y reproducibilidad para determinar la DQO en el Laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo, mediante un volumen de 1.5 mL de H ₂ SO ₄ concentrado.....	12
Figura 4. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 2.0 mL de H ₂ SO ₄).....	13
Figura 5. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 2.5 mL de H ₂ SO ₄).....	14
Figura 6. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 3.0 mL de H ₂ SO ₄).....	14
Figura 7. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 3.5 mL de H ₂ SO ₄).....	15

I. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los recursos naturales que permiten la vida en el planeta, “el 70,8% de la superficie de la Tierra está rodeada de agua, de la cual el 2,5% es agua dulce y/o apta para el consumo humano, pero la mayoría del agua se encuentra en glaciares o es inaccesible, por lo tanto solo se dispone para el consumo el 0,5% que se encuentra de manera superficial y subterránea” (CONTRATTO MUNDIALE SULL'ACQUA, 2007).

“Este es un recurso natural de utilidad pública y gestión social, vulnerable y escaso, que debe ser protegido en su ecosistema, de múltiples usos, los cuales ante su escasez deben ser priorizados y utilizados racional y eficazmente, indispensable para la supervivencia humana y del planeta. La ley debe garantizar el acceso equitativo y de calidad a toda la población sin distinción alguna, su gestión debe ser integral e integrada y de responsabilidad compartida entre las diversas contrapartes públicas y privadas implicadas en su conservación” (Basado en la Declaración Ministerial del Ecuador a KIOTO 2003).

Actualmente el agua se encuentra afectada debido principalmente a las actividades antrópicas, ya sea por contaminación de actividades agrícolas, residuos sólidos, actividades mineras o por descargas de efluentes domésticos, hacia los ríos más cercanos, lo cual hace que esta contenga altas concentraciones de DQO (Demanda química de oxígeno), DBO (Demanda biológica de oxígeno), nitritos, sólidos suspendidos entre otros parámetros lo que provoca que la calidad del agua posea características inapropiadas en su composición o no aptas para el consumo humano (Carta del agua, Consejo de Europa 1968).

La DQO que es una medida de la materia orgánica (MO) presente en el agua, se determina en la actualidad mediante el método del refluo cerrado, para lo cual se hace en primera instancia oxidar la MO con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), el mismo que es un oxidante fuerte, luego se agrega ácido sulfúrico (H_2SO_4) y se coloca en el digestor durante dos horas a 150 °C, para mediante calor degradar la MO presente en la muestra (Apha, 1995). En la metodología tradicional de refluo cerrado se requieren 3.5 ml de H_2SO_4 para la reacción en cada muestra, volumen que es significativo cuando se

realizan análisis de calidad de agua contaminada debido a que es necesario trabajar un número de muestras que sea representativo, llevando a un consumo importante de H_2SO_4 .

Para que los resultados de los análisis de laboratorio tengan confiabilidad es necesario realizar la validación de los métodos utilizados, por ello el Laboratorio de Química de la UTE-Santo Domingo, donde se realizan análisis de calidad de agua para profesionales externos, proyectos de investigación y tesis de estudiantes de esta institución, pretende validar la metodología de DQO. La validación consiste en realizar diferentes volúmenes de muestras y reactivos para determinar la repetibilidad y reproducibilidad del método en un ambiente definido, estos procedimientos se realiza con el fin de que los métodos obtengan datos confiables con los que se podrá realizar la comparación de resultados entre el laboratorio de la UTE y de un laboratorio acreditado.

Debido a que la adquisición del H_2SO_4 está restringida por las leyes ecuatorianas, se hace necesario definir una metodología que consuma menor volumen del ácido que la técnica estándar (SM 5220 D), al momento de analizar el contenido de DQO. Por lo cual se plantea la presente propuesta, la misma que tiene como objetivo la validación del método de refluo cerrado (método oficial de la Standard Methods) a diferentes volúmenes de ácido sulfúrico, de acuerdo a las condiciones del Laboratorio de Química de la UTE-Santo Domingo.

II. CONTENIDO TÉCNICO

2.1. Localización

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo, que se encuentra localizada en las siguientes coordenadas: latitud: $0^{\circ}13'57.864''$ S y longitud: $79^{\circ}12'23.05''$ O de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, ubicada en las estribaciones de la Cordillera de los Andes a 133 Km al Oeste de la ciudad de Quito. Limita al Norte con las provincias de Pichincha y Esmeraldas, al Sur con la Provincia de Los Ríos, al Este con la provincia de Cotopaxi y al Oeste con la provincia de Manabí. Cuenta con una superficie de 3.532 Km² en la que se asienta una población de 368.013 habitantes (de acuerdo al censo de población y vivienda del 2010). Tiene una altura promedio de 655 msnm, su temperatura media es de 23 °C, la precipitación promedio anual oscila entre los 500 a 5.000 mm/año y la humedad media mensual alcanza el 90.9%.

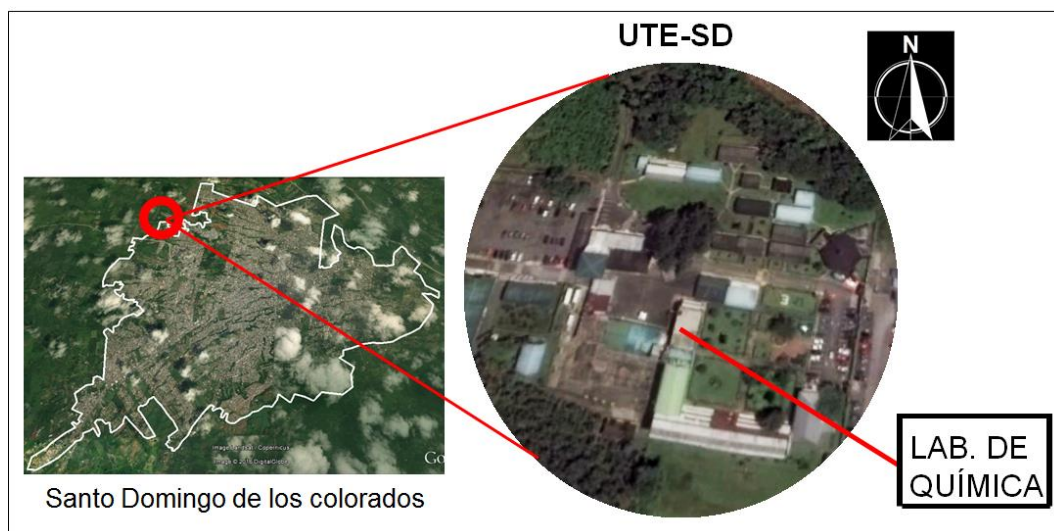


Fig. 1. Ubicación del Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial Sede Santo Domingo.

2.2. Validación del método

Según Lazos y Hernández (2004) definen que para validar un método de mediciones analíticas requiere de un proceso el cual se establezcan las limitaciones del método a

utilizar y la magnitud de las interferencia que puedan alterar o cambiar las características del método aplicado.

Esto lleva que al validar un método analítico permita obtener beneficios o ventajas que provee la validación de laboratorios de ensayos en aguas (Baptista, 2009), algunos de estos beneficios y ventajas son:

- Obtener una acreditación por parte de un organismo acreditador.
- Aumento en la satisfacción de los clientes cuando solicitan un trabajo analítico, en la que se supone que el laboratorio tiene un nivel de conocimiento experto sobre la calidad del agua que el cliente no tiene por sí mismo (Eurchem, 2005).
- Brindar confianza en los resultados emitidos sobre la calidad del agua, los cuales han demostrado ser adecuados para su propósito.
- Disminuir y controlar los factores que llevan a la imprecisión o inexactitud de un dato generado (Gomara, 2004).
- Aumentar los estándares de calidad en servicio, atención y producto, por parte de los proveedores de servicios, equipos y reactivos (Baptista, 2009).
- Contribuir a la mejora y preservación de los cuerpos de agua.
- Estar a la vanguardia del avance científico y tecnológico.

2.3. Método del reflujo cerrado, para medición de DQO (Standard Methods)

La Standard Methods es un texto que posee los diferentes tipos de métodos o técnicas para el análisis y control de la calidad del agua y agua contaminada aprobado por la USEPA. En la cual se encuentra el Método de Reflujo Cerrado (SM 5220 D) utilizado en el presente estudio. El principio del método (SM 5220D) se basa en la medición a una longitud de onda determinada del ión dicromato remanente o el ión trivalente (Cr^{+3}) resultante, luego de la oxidación de la materia orgánica presente en la muestra, que es equivalente al oxígeno consumido en la reacción (Standard Methods).

2.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Es la determinación de la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar la materia orgánica e inorgánica presente en una muestra de agua, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo. La oxidación se realiza mediante reflujo cerrado en solución fuertemente ácida con ácido sulfúrico (H_2SO_4), dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en exceso, sulfato de plata (Ag_2SO_4) que actúa como agente catalizador y biftalato de potasio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$) como estándar de DQO teórica (500 mg L^{-1}). Después de la digestión, se procede a medir las muestras en el fotocolorímetro

2.5. Método del reflujo cerrado por espectrofotómetro (DQO)

Una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos son oxidados con una mezcla de ácido crómico y sulfúrico a ebullición. La muestra se coloca a reflujo en una disolución de ácido fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Después de la digestión, el dicromato no reducido se mide espectrofotométricamente para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia oxidable en términos de oxígeno equivalente.

2.6. Limitaciones e interferencias DQO

El método de reflujo cerrado es más económico en el uso de reactivos de sales metálicas, pero para obtener resultados reproducibles requiere la homogenización de muestras que contengan sólidos suspendidos. Este método es aplicable para valores de DQO mayores de 50 mg L^{-1} , pero según la validación realizada, el límite se puede bajar a 20 mg L^{-1} . Además el método no oxida uniformemente todos los materiales orgánicos. Algunos compuestos son muy resistentes a la oxidación, mientras que otros tales como los carbohidratos son fácilmente oxidables, los compuestos alifáticos volátiles de cadena abierta no se oxidan.

2.7. Equipos y materiales para determinación de DQO

Preparación de muestra

En la preparación de las muestras se utilizó una Pipeta monocal PIPET-LITE XLS+ (volumen de 1 a 5 mL), debido a que permite alcanzar mayor precisión en la obtención de volúmenes en comparación con las pipetas tradicionales (serológicas).

Digestión

Para la digestión de las muestras y su posterior determinación de la concentración de la DQO, se utilizó un termoreactor RD 125, el mismo que tiene las siguientes características:

- Aplicaciones de digestión para corridas analíticas pre-programadas.
- Temperatura ajustable 0.0 - 150 °C para digestiones diseñadas por el usuario.
- Modelo ET 125 SC - SIN TAPA.
- Tiempo ajustable: 30 - 120 minutos.
- Contador digital de tiempo con parada automática y alarma acústica.
- Tiempo de pre-calentamiento: aproximadamente 10 minutos.

Medición

La medición de DQO se realizó a una longitud de onda de 600 nm, en el espectrofotómetro (Fotocolorímetro) marca THERMO SCIENTIFIC, modelo GENESYS, que tiene las siguientes características:

- Rango longitud de onda 325 nm - 1100 nm.
- Capacidades estándar: Mediciones de absorbancia, % transmitancia, Concentración.
- Ancho de banda espectral 8 nm.
- Precisión longitud de onda ± 2.0 nm

Preparación de disoluciones requeridas en el análisis de la DQO.

Para la determinación de la DQO se necesitó preparar en disolución acuosa las siguientes soluciones:

Disolución digestora de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

La disolución se preparó, según lo establecido en la NMX-AA-030-SCFI-2001, para lo cual se disolvieron 5.125 g de $K_2Cr_2O_7$ en aproximadamente 500 mL de H_2O destilada, donde posteriormente se añadieron 167 mL de H_2SO_4 concentrado (96 % de pureza), se dejó enfriar y se aforó a un litro. El reactivo se colocó previamente a 105 °C por dos horas en la estufa.

Solución de biftalato de potasio ($C_8H_5KO_4$):

Según lo establecido por la NMX-AA-030-SCFI-2001, se debió pesar 0.2155 mg de biftalato de potasio ($C_8H_5KO_4$) y luego disolver en agua destilada, luego aforar hasta los 500 mL y dejar reposar en un recipiente oscuro. El biftalato tiene una DQO teórica de 1,176 mg O_2 mg^{-1} y la solución tiene una DQO teórica de 500 mg O_2 L^{-1} .

Solución de ácido sulfúrico con adición de sulfato de plata:

La NMX-AA-030-SCFI-2001, estableció, que se debía pesar 4,5 g de sulfato de plata y luego adicionar 450 ml de ácido sulfúrico mezclar y dejar reposar en un recipiente oscuro por 1 o 2 días, para que la plata se disuelva.

2.8. Análisis de DQO

Cuantificación de DQO

Para determinar la DQO (método del reflujó cerrado), se utilizaron viales (tubos) para DQO, donde se colocaron a cada análisis y repetición un volumen de 2.5 mL de solución digestora de $K_2Cr_2O_7$, 1.5 mL de disolución de biftalato de potasio ($C_8H_5KO_4$) como muestra y según el tratamiento el H_2SO_4 - Ag_2SO_4 (tabla 1). Tapar y homogeneizar el contenido del tubo y colocar en el termoreactor por 2 horas a 150 °C. En cada "corrida" de análisis se preparó además de las muestras un blanco, que constó de los mismos reactivos excepto la muestra, que fue reemplazada por H_2O destilada. Finalizada la digestión se dejó enfriar a temperatura ambiente los tubos de DQO y posteriormente se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro GENESYS.

Tabla 1. Tratamiento y volumen de reactivos utilizados para cada tratamiento.

Tratamiento	N° de muestras/tratamiento	Cantidad de reactivos por muestra (mL)		
		H ₂ SO ₄	K ₂ Cr ₂ O ₇	C ₈ H ₅ KO ₄
T0	30	3.5	2.5	1.5
T1	30	3.0	2.5	1.5
T2	30	2.5	2.5	1.5
T3	30	2.0	2.5	1.5
T4	30	1.5	2.5	1.5

Tratamientos

Para el presente trabajo se estableció cuatro tratamientos más el testigo (análisis de DQO establecido por el método de reflujo cerrado), en cada tratamiento y testigo se colocó diferente volumen de H₂SO₄ (tabla 1) y se mantuvo el mismo volumen de K₂Cr₂O₇ que establece el método estándar. Las muestras ensayadas resultaron de 5 tratamientos * 2 repeticiones * 15 días diferentes (3 semanas), que dieron un total de 150 análisis. Las repeticiones se analizaron en condiciones de laboratorio durante un periodo de tres semanas laborables.

Intervalo de validación de DQO

Según lo establecido en la Standard Methods, SM 5220 D, el rango de aplicabilidad del método se encuentra entre 100 y 900 mg/L⁻¹ a una longitud de onda de 600 nm. Para que este procedimiento sea aplicable, la pérdida de luz debe ser ausente es decir que debe copar o absorber toda la luz para la obtención de la absorbancia.

Análisis y Resultados

Para la validación del método de DQO en el Laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo se realizó el análisis con el mismo operador en diferentes periodos de tiempo. Los parámetros que se tomaron en cuenta en este estudio fueron: linealidad (Curva de calibración), Exactitud, Límite de detección y cuantificación, Repetibilidad y reproducibilidad (Precisión).

Linealidad

La linealidad del método se determinó mediante la elaboración de una curva de calibración que tuvo cinco estándares de concentración: 125 mg L⁻¹ (Est. 1), 250 mg L⁻¹ (Est. 2), 500 mg L⁻¹ (Est. 3), 750 mg L⁻¹ (Est. 4) y 1000 mg L⁻¹ (Est. 5). El resultado obtenido (Fig. 2), nos indica que el método era lineal con un $R^2 = 0,9978$, desde concentraciones comprendidas entre 125 a 1000 mg L⁻¹, lo cual es aceptable en métodos de ensayo de laboratorio.

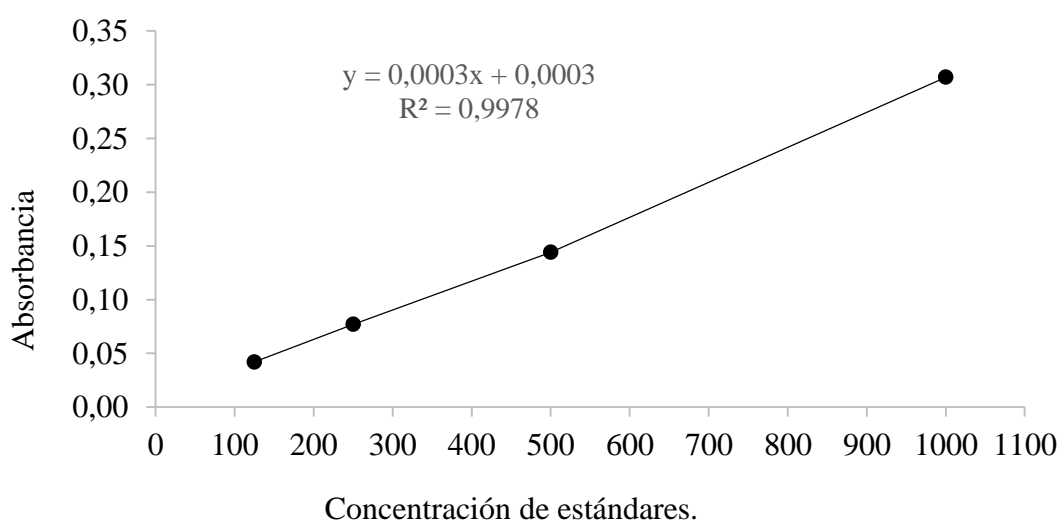


Fig. 2. Curva de calibración para el análisis de la DQO mediante el método del refluo cerrado.

Mediante el uso de la curva de calibración, se obtuvieron las siguientes concentraciones de DQO, donde se muestran los promedios de las dos repeticiones (tabla 2).

Tabla 2. Resultados obtenidos de la medición de DQO en el Laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo, 2016.

Semana	Tratamientos (H ₂ SO ₄)				
	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
1	312.21	318.80	335.28	358.35	727.45
	562.67	539.60	536.31	519.83	526.42
	463.81	480.28	476.99	533.01	358.35
	341.87	318.80	318.80	295.74	358.35
	420.97	388.01	519.83	605.81	582.44
2	229.83	114.48	249.60	186.98	266.08
	674.72	1136.09	984.50	684.61	697.79
	559.38	602.22	579.15	780.18	776.88
	404.49	681.31	589.04	678.01	631.88
	150.73	266.08	440.740	394.60	420.97
3	1719.39	1683.14	1300.87	1735.87	513.24
	503.35	355.06	444.03	562.67	641.76
	147.44	74.94	65.05	98.01	170.51
	58.46	140.85	71.64	144.14	355.06
	542.90	420.97	628.58	391.31	559.38

Exactitud

Los resultados de exactitud se muestran en la tabla 3, se los calculó de acuerdo a la metodología de la prueba de T de Student la cual indica diferencias significativas ($p < 0,05$) en la semana 1, mientras que en las semanas 2 y 3 los valores se encuentran dentro del rango (519 mg/L), dado que el valor de referencia debe ser lo más similar posible a los valores obtenido en la medición. (Rodríguez, 2004).

Tabla 3. Prueba T de Student para determinar la exactitud de los valores tomados en la medición de DQO comparando con un dato referencial (laboratorio acreditado).

Semana	Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
1	mg/L	25	448	115,53	400,31	495,69	-3,07	0,0052
2	mg/L	25	527,21	260,89	419,52	634,9	0,16	0,8762
3	mg/L	25	533,14	521,85	317,74	748,55	0,14	0,8933

Límite de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se los calculó mediante la regresión de los datos de la curva de calibrado y la aplicación de ecuaciones (tabla 4).

Tabla 4. Estadística de la regresión de la curva de calibrado para la obtención de los límites de detección y cuantificación.

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,998916
Coefficiente de determinación R ²	0,997832
R ² ajustado	0,996748
Error típico	0,006703
Observaciones	4
	Coefficientes
Intercepción	0,000261
Variable X 1	0,000303

Los límites de detección y cuantificación fueron:

$$LD = Y_b + (3 S_b)$$

Donde:

LD = Límite de detección.

Y_b = Intercepción.

S_b = Error típico.

$$LD = 0,00026 + (3 * 0,00670) = 0,02036$$

$$LC = Y_b + (10 S_b)$$

Donde:

LC = Límite de cuantificación.

Y_b = Intercepción.

S_b = Error típico.

$$LC = 0,00026 + (10 * 0,00670) = 0,06726$$

Límites expresados en concentración de DQO

$$LD = (0,02036 - 0,00026) / 0,0029 = 7,0 \text{ mg/L}$$

$$LC = (0,06726 - 0,00026) / 0,0029 = 23,1 \text{ mg/L}$$

Repetibilidad y Reproducibilidad (R&R)

Tratamiento 1 (H₂SO₄: 1.5 mL)

En la figura 3 se muestra que al utilizar un volumen de 1.5 mL de H₂SO₄ concentrado en la semana 1 (muestras 1 – 5), el método es repetible y reproducible, debido a que los valores se encuentran dentro del rango del primer al tercer cuartil, no así en las dos semanas siguientes (muestras 6 -15), donde los promedios de las mediciones están fuera del rango permitido (Q1 – Q3). Esto podría deberse a que la reacción de digestión dentro de los viales no se realiza de manera uniforme, pero estos valores son significativamente diferentes ($p = 0.962648$) al nivel del 1 % de significancia para ensayos de laboratorio.

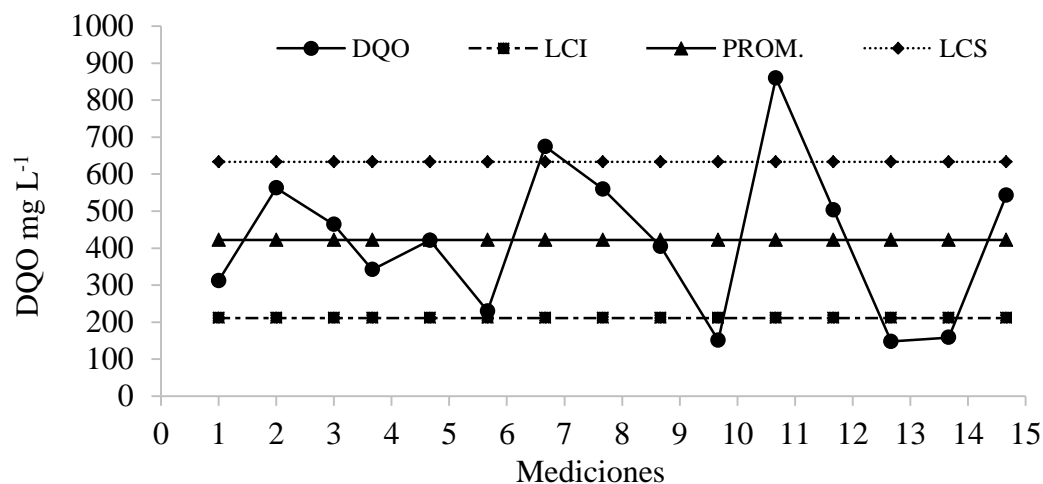


Figura 3. Ensayos del método de repetibilidad y reproducibilidad para determinar la DQO en el Laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo, mediante un volumen de 1.5 mL de H₂SO₄ concentrado.

Tratamiento 2 (H₂SO₄: 2.0 mL)

La figura 4 muestra que al realizar la digestión de las muestras de agua utilizando un volumen de 2.0 mL de H₂SO₄ concentrado, al igual que en el tratamiento anterior (1.5 mL de H₂SO₄) en la semana 1 (muestras 1 – 5), el método es repetible y reproducible, debido a que los valores se encuentran dentro del rango del primer al tercer cuartil (Q1 – Q3), lo que no ocurre en las semanas siguientes donde las muestras de la 6 a la 15, se encuentran fuera del rango permitido (Q1 – Q3), promedios que estadísticamente son significativos ($p = < 0.01$) al nivel del 1 %.

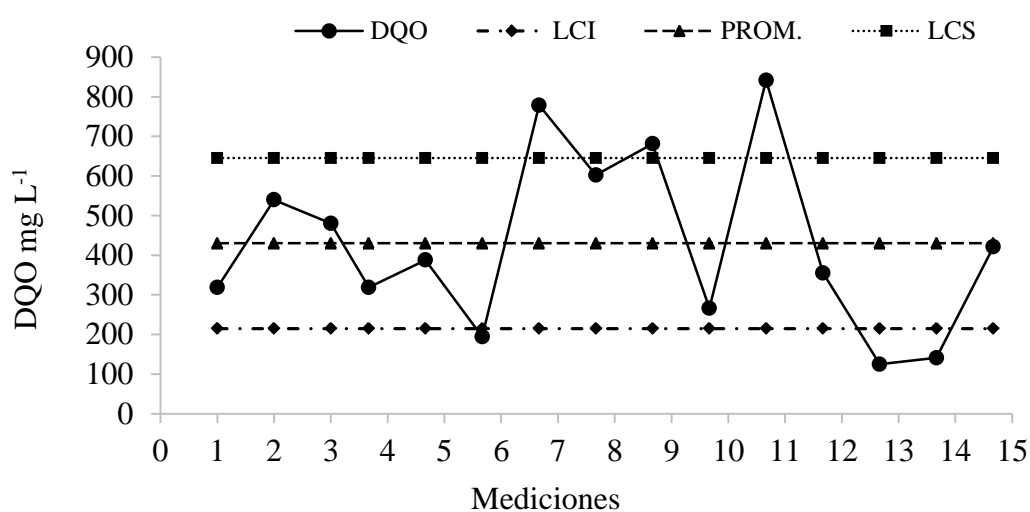


Figura 4. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 2.0 mL de H₂SO₄).

Tratamiento 3 (H₂SO₄: 2.5 mL)

Al utilizar un volumen de 2.5 mL de H₂SO₄ concentrado para la digestión de las muestras de agua, se determinó que el método del reflujó cerrado en las condiciones del laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo, no es repetible, ni reproducible (Figura 5), debido a que los promedios se encuentran fuera del rango establecido (Q1 – Q3). Estadísticamente los valores son significativos ($p = < 0.01$) al nivel del 1 %, lo que significa que por lo menos uno de los promedios es diferente.

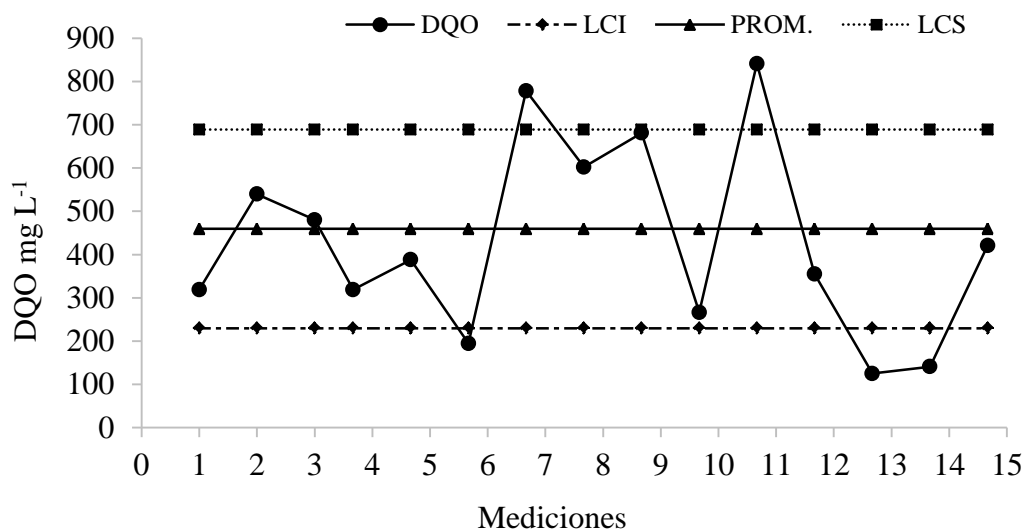


Figura 5. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 2.5 mL de H₂SO₄).

Tratamiento 4 (H₂SO₄: 3.0 mL)

Los promedios de la DQO determinados mediante el método del reflujó cerrado en condiciones del laboratorio de Química de la UTE Sede Santo Domingo estadísticamente son significativos ($p < 0.01$) al nivel del 1 %, lo que significa que por lo menos uno de los promedios es diferente y queda fuera del rango permisible (Q1 – Q3), (Figura 6).

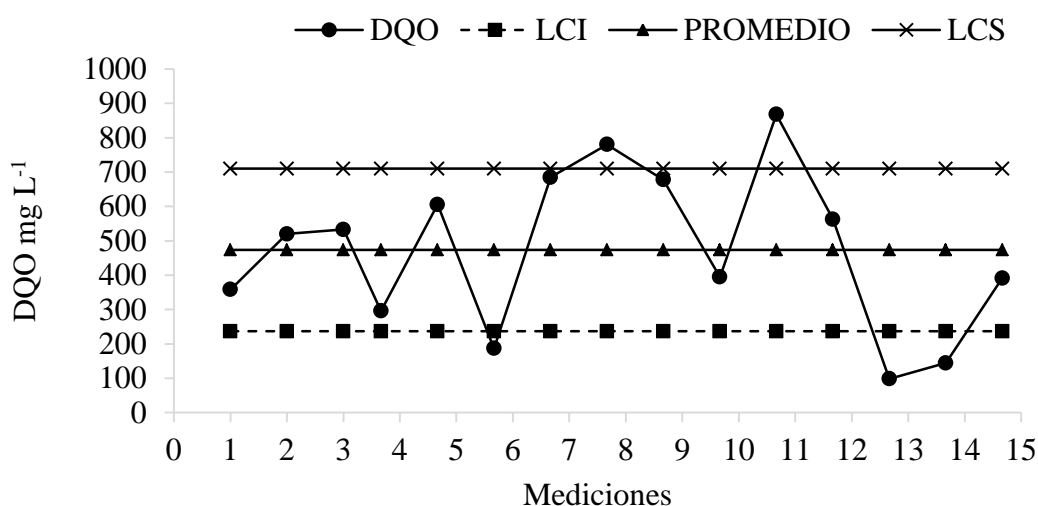


Figura 6. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 3.0 mL de H₂SO₄).

Tratamiento 5 (H₂SO₄: 3.5 mL)

Al realizar la digestión de muestras de agua usando un volumen de 3.5 mL de H₂SO₄ concentrado, se determinó que el método del reflujó cerrado trabajó en similares condiciones en los diferentes tiempos, por lo cual se puede observar (Figura 7) que el método en estas condiciones es repetible y reproducible, debido a que los promedios se encuentran dentro del rango establecido (Q1 – Q3). Lo anterior a pesar de que estadísticamente los valores son significativos ($p = < 0.01$) al nivel del 1 % de significancia.

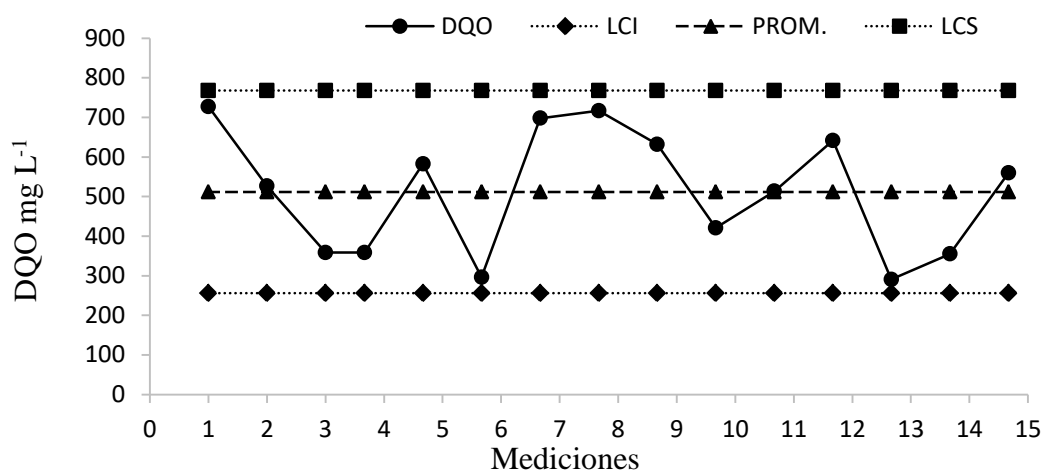


Figura 7. Repetibilidad y reproducibilidad del método para determinar la DQO en el Lab. de Química de la UTE Sede Sto. Dgo, (vol. = 3.5 mL de H₂SO₄).

2.9. Propuesta tecnológica para uso del método validado en el Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo.

De acuerdo al volumen óptimo que se determinó de los análisis, se propone que en el Laboratorio de Química. Se utilice el método de reflujo cerrado con las siguientes condiciones, de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 5. Condiciones establecidas para la propuesta tecnológica.

Variables	Preparación de las muestras	Etapa de digestión	Enfriamiento de las muestras (ambiente)	Medición
Temperatura (T°)	20 °C	150 °C	20 °C	24 °C
Tiempos (min u horas)	-----	2 horas	20 minutos	-----
Equipo	Temperatura máxima	Equipo		Longitud de onda
Termo reactor RD 125	150°C	Fotocolorímetro Thermo Scientific, modelo Genesys		600 nm (nanómetros)
Consumo más bajo				
3,5 ml de H ₂ SO ₄ (Ácido Sulfúrico) establecido en la Standard Methods				

2.10. Análisis económico

Presupuesto

Los costos detallados en la tabla 6 son un estimado de lo que podría costar implementar este método en el Laboratorio de Química de la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo.

Tabla 6: Proyección de costos para la implementación del método.

Equipos	Marca	Costo
Fotocolorímetro Genesys	Thermo Scientific	\$ 4000
Termo reactor RD 125	The Lovibond	\$ 1200
Reactivos	Cantidad	Costo
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)*	1 Lt.	\$ 45
Sulfato de plata (Ag ₂ SO ₄)	100 g.	\$ 80
Dicromato de potasio (K ₂ Cr ₂ O ₇)	250 g.	\$ 50
Biftalato de potasio (C ₈ H ₅ KO ₄)	100 g.	\$ 50
Agua destilada	1 Lt.	\$ 2
Materiales de vidrio e insumos		\$ 1000
TOTAL		\$ 6427

Ácido sulfúrico (H₂SO₄)* Reactivo restringido por la Secretaria Técnica de Drogas.

III. CONCLUSIONES

Para la validación de un método analítico se necesita que en un laboratorio se cumplan estrictamente una serie de requisitos principalmente la temperatura ambiental, debido a que si esta no es estable los valores obtenidos difieren en cada medición, haciendo que éstos no sean confiables.

El volumen de H_2SO_4 concentrado usado en la digestión del método de reflujo cerrado no puede ser menor al estipulado por el método (3,5 mL), debido a que no se realiza la reacción adecuadamente.

El tratamiento 5 (H_2SO_4 : 3.5 mL) fue el único tratamiento el cuál fue repetible y reproducible a condiciones del laboratorio de la universidad dado que todos los promedios se encuentran en los límites superiores e inferiores, descartando así los otros tratamientos.

La validación de un método analítico de medición facilitara al laboratorio de química de la universidad obtener una confiabilidad en los resultados a obtener en futuras mediciones.

RECOMENDACIONES

Se recomienda establecer un área adecuada para realizar los ensayos de determinación de la DQO, donde se puedan controlar las condiciones climáticas, especialmente temperatura y humedad.

Además realizar la calibración de los equipos a utilizar para así obtener mediciones confiables.

REFERENCIAS

- “Análisis de agua - determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la NMX-AA-030-1981)”. Norma oficial Mexicana NMX-AA-030-SCFI-2001 Secretaría de Eco-nomía DGN.
- Agua para Todos, Agua para la Vida, Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo (versión española del UN WWDR), UNESCO/Mundi-Prensa Libros, 2003.
- Aguilera I.; Rodríguez S.; Pérez R.M.; Buzón J. y Camacho M.. (2003). Validación de la determinación de la DQO en la unidad analítica del CEBI. Revista Cubana de Química, XV(2): 18-25
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Washington DC, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 5-6 - 5-10.
- APHA. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. AWWAAPHA-WEF (American Water Works Association, American Public Health Association, Water Environment Federation). Franson, M.A., Ed. 19a. ed. Washington, D.C. EEUA.
- Boqué R.; Maroto A.; Riu J. y Rius F.X. 2002. Validation of Analytical Methods. International Journal of Fats and Oils, 53(1): 128-143.
- Castillo, D. y J. Pérez (2008). Implementación y validación de técnicas analíticas para el control de calidad en aguas de consumo humano y aguas residuales. (Tesis inédita de grado). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador.
- Eurachem. 2005. Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. En: Guía de Laboratorio para la validación de Métodos y Temas Relacionados. Centro Nacional de Metrología. Publicación técnica cnm-mrd-pt-030. 2da. Edición. 67 p.
- Fátima Soto Rodríguez. (2003). Declaración Ministerial del Ecuador a KIOTO, III Foro Mundial del Agua, Kioto, Japón . 2016, de Agua Latino américa Sitio web: <http://www.agualatinoamerica.com/NewsView.cfm?pkArticleID=122>

- Guía EURACHEM/CITAC "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", 2nd Ed. (2000)
- HACH Technical center for Applied Analytical Chemistry. Introduction to Chemical Oxygen Demand. Booklet N° 8. Hach Company, U.S.A.
- Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories Edition 2. Nordtest Report TR537. Approved 2004-02. ISSN: 0283-7234.
- II Comitato Italiano - Chi Siamo, CICMA. (2007). [Contrattoacqua.it](http://contrattoacqua.it). Recuperado 3 de Junio del 2016, tomado de <http://contrattoacqua.it/chi-siamo/il-comitato-italiano/>
- Lazos Martínez R.J. y Hernández Gutiérrez I. 2004. La validación de métodos: un enfoque práctico. Simposio de metrología. 5 p.
- Lenore S. Clesceri, WEF, Chair. Arnold E. Greenberg, APHA. Andrew D, Eaton, AWWA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. 2005 SM 5220-D pág.: 5-14, 5-16.
- Leon, C . (2009). ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA MEDICIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO POR EL MÉTODO RESPIROMÉTRICO Y LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO. 2016, de DBO-DQO Sitio web:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1780/1/57253L563.pdf>
- Maza, D. (2013). Validación de métodos analíticos para: DBO, DQO, nitritos, sólidos totales, cloruros y dureza total para análisis de aguas naturales, aguas de consumo humano y aguas residuales en el laboratorio de Ingeniería Ambiental (Laboratorios UTPL) (Tesis inédita de grado). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador.
- Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation. Technical Report N°. 1/2007. March 2007. Eurolab- France
- Portuondo Paisan Y. y Portuondo Moret J. 2010. La repetibilidad y reproducibilidad en el aseguramiento de la calidad de los procesos de medición. Tecnología química, XXX(2): 117-121.
- Rodríguez N, Torres D, Carvajal M. Confiabilidad del método de Jaffé modificado por Laboratorios Heiga.

Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 21 ST Edition. APHA
AWWA WEF. 2005. Métodos 5210D paginas 5-10 a 5-13 y 5220D paginas 5-18
y 5-19.

Standard Methods for the Examination of water and wastewater 21th Edition,
corresponde Standard Methods ONLINE. Chemical Oxygen Demand - 5220 D
Closed Reflux, Colorimetric Method.

Standard Methods for the Examination of water and wastewater 21th Edition,
corresponde Standard Methods ONLINE, Método 1060. Collection and
Preservation of Samples.

Villamizar, M. Estandarización de métodos analíticos usados para el análisis del agua,
en el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales
(CEIAM). 2008, Universidad Industrial de Santander, pág. 23.