

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 1 de 6

1. Objeto.

Determinar la demanda química de oxígeno en muestras de agua, para establecer su grado de contaminación debido a sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables, según la norma SM 5220 C método del reflujo cerrado. Asegurando la entrega oportuna de resultados confiables a nuestros clientes y su satisfacción en la prestación del servicio. La metodología desarrollada comprende desde el tratamiento de la muestra hasta su posterior cuantificación.

2. Alcance.

Este instructivo aplica para el análisis de aguas residuales no domésticas, aguas residuales domésticas, aguas subterráneas, aguas superficiales.

3. Referencias Normativas.

- American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. STANDARD METHODS: For the Examination of Water and Wastewater, 23RD Edition, American Public Health Association 800 I Street, NW. Washington D.C., 2017. ISBN 978-087553-287-5.
- Instructivo para determinar el contenido de DQO en aguas. Gestión de Tecnología de Negocio. Centro de Innovación y Tecnología. Departamento de Servicio Técnico de Laboratorio de Transporte y Transversales. Laboratorio de Aguas y Suelos. Instituto Colombiano de Petróleo.

4. Definiciones.

- Blanco:** agua reactivo o matriz equivalente a la que no se le aplica ninguna parte del procedimiento analítico y sirve para evaluar la señal de fondo.
- Blanco fortificado:** es una herramienta estadística que garantiza la calidad de los resultados, y permite llevar un control sobre la prueba y a su vez sobre los equipos.
- DQO:** Demanda Química de Oxígeno.
- FAS:** Sulfato Ferroso Amónico.
- Muestra:** parte representativa de la materia objeto del análisis.
- SM:** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
- Solución de referencia:** solución preparada a partir de un reactivo grado analítico que contiene el analito a determinar. Solo deben ser empleados para realizar calibraciones y blanco fortificado, ya que no se encuentran presentes los componentes de la matriz que acompañan al analito en las muestras.
- Titulación volumétrica:** La valoración o titulación es un método de análisis cuantitativo en el laboratorio que se utiliza para determinar la concentración desconocida de un reactivo a partir de un reactivo con concentración conocida. Debido a que las medidas de volumen desempeñan un papel fundamental en las titulaciones, se les conoce también como análisis volumétrico.

5. Condiciones Generales.

La demanda química de oxígeno (DQO) es definida como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con una muestra bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumido es expresado en términos de equivalentes de oxígeno, se usa como una medida del oxígeno equivalente al contenido de materia orgánica de una muestra, que es susceptible a la oxidación por un oxidante químico fuerte.

Para muestras de una fuente específica; la DQO puede relacionarse empíricamente con la DBO, el carbono orgánico o la materia orgánica. La prueba es útil para monitoreo y control luego que se ha establecido la correlación. Debido a sus propiedades químicas únicas, el ión dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) es el oxidante utilizado preferiblemente para este análisis.

Método de reflujo cerrado.

El método utilizado para el análisis es reflujo cerrado volumétrico, el cual consiste en someter la muestra a reflujo en una solución fuertemente ácida con un exceso conocido de un agente oxidante (dicromato de potasio $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$); posterior a la digestión, el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ residual no reducido, se titula con sulfato ferroso amónico para determinar la cantidad de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ consumido, y la materia orgánica oxidable se calcula en términos de oxígeno equivalente.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 2 de 6

5.1 Interferencias.

- > La oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos está entre el 95% y el 100% del valor teórico. La piridina resistente a la oxidación y los compuestos orgánicos volátiles se oxidan sólo en la medida en que permanezcan en contacto con el agente oxidante.
- > Los compuestos alifáticos de cadena recta se oxidan más eficazmente cuando se agrega sulfato de plata (Ag₂SO₄) como catalizador.
- > Las interferencias por haluros se pueden eliminar por precipitación con iones de plata y filtración antes de la digestión; La interferencia más común es el ion cloruro, que reacciona con la plata y precipita cloruro de plata, lo que inhibe la actividad catalítica de la plata. La plata reacciona con los bromuros y yoduros produciendo precipitados que son oxidados parcialmente. Las dificultades causadas por la presencia de los cloruros pueden obviarse en gran parte acomplejándolos con sulfato mercúrico (HgSO₄), formando el complejo soluble cloromercuriato (II), antes del reflujo. Se ha especificado 1.0 g de HgSO₄ para 50 mL de muestra, es posible utilizar una cantidad menor cuando se sabe que la concentración de cloruro de la muestra es inferior a 2000 mg/L, siempre que se mantenga una proporción 10:1 de HgSO₄: Cl⁻.

La reacción de oxidación por los cloruros es:



La interferencia de los cloruros se evita por la adición de sulfato mercúrico:

- > El amoníaco, ya sea que esté presente en el desecho o que sea liberado de la materia orgánica que contiene nitrógeno, no se oxida, si el cloro elemental está presente reacciona con estos compuestos, de ahí que la eliminación de esta interferencia es difícil.
- > Los nitritos (NO₂⁻) producen una DQO de 1.1 mg O₂/mg NO₂-N. Debido a que la concentración de NO₂⁻ en aguas rara vez excede 1 o 2 mg de NO₂-N /L, la interferencia se considera insignificante y generalmente se ignora. Para eliminar una interferencia significativa por NO₂⁻, se agrega a las muestras y al blanco 10 mg de ácido sulfámico por cada mg NO₂-N presente en el volumen de muestra utilizado.
- > Las especies inorgánicas reducidas tales como hierro ferroso, sulfuro, manganeso manganeso, etc, se oxidan cuantitativamente bajo las condiciones del ensayo. Para las muestras que contengan niveles significativos de estas especies, se puede suponer una oxidación cuantitativa (estequiométrica) a partir de la concentración inicial conocida de cada una de las especies interferentes, y se pueden hacer correcciones al valor obtenido de la DQO.
- > Las sales de Ag, Cr⁺⁶ y Hg usadas en la determinación de la DQO, producen residuos muy peligrosos. El mercurio presenta mayor efecto tóxico. Si la contribución de cloruros a la muestra es insignificante, la adición de HgSO₄ se puede omitir.

5.2 Muestreo, preservación y almacenamiento.

Tomar muestras representativas siguiendo las instrucciones dadas en el SM 1060. Las muestras deben ser recolectadas en recipiente de vidrio preferiblemente, y pueden ser muestras puntuales o compuestas. Las muestras inestables deben ser analizadas rápidamente, preservar con H₂SO₄ hasta pH <2.0 y refrigerar. Antes del análisis, llevar las muestras a temperatura ambiente, las muestras con sólidos suspendidos se deben homogenizar completamente, y para las muestras que contienen hidrocarburos se debe emplear un embudo de separación y eliminar la parte orgánica presente en la muestra.

Si se van a relacionar la DQO con la DBO o el COT, las muestras deben ser analizadas el mismo día.

Hacer las diluciones preliminares para aguas de desecho que tengan una DQO alta, para reducir el error inherente de medir volúmenes de muestra pequeños.

Almacenar las muestras preservadas con ácido sulfúrico hasta pH <2.0 y refrigerar por un periodo recomendado de 7 días y 28 días máximo.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 3 de 6

5.3 Materiales, equipos y reactivos.

5.3.1 Materiales.

- Agitador magnético con barra cubierta de teflón.
- Tubos de digestión: tubos de cultivo de borosilicato de 16 x 100 mm, con tapones rosca forrados con TFE.
- Vasos de precipitado de volúmenes 25, 50, 100 mL.
- Pipetas de diferentes volúmenes.
- Balones aforados de diferentes volúmenes.
- Espátula.

5.3.2 Equipos.

- Balanza analítica.
- Termorreactor
- Bureta
- Dosimat 7
- pHmetro
- Agitador Vórtex.

5.3.3 Reactivos.

- **Solución de dicromato de potasio 0.102 N (0.0167M):** para rango de concentración bajo (20-300 mg O₂/L): disolver en agua tipo II y/o destilada, 2.4515g de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) grado estándar primario, previamente seco a 150°C por 2 h, adicionar 83.5 mL de ácido sulfúrico H₂SO₄ concentrado y 16.65 g de sulfato de mercurio HgSO₄, disolver en baño de hielo y diluir a 500 mL.
- **Solución de dicromato de potasio 0.2082 N (0.0347M):** para rango de concentración alto (300-800 mg O₂/L): disolver en agua tipo II y/o destilada, 5.1080 g de dicromato de potasio K₂Cr₂O₇) grado estándar primario, previamente seco a 150°C por 2 h, adicionar 83.5 mL de ácido sulfúrico H₂SO₄ concentrado y 16.65 g de sulfato de mercurio HgSO₄, disolver en baño de hielo y diluir a 500 mL.
- **Solución estándar de hidrógeno f-talato de potasio 500 mgO₂/L:** pulverizar y secar a 110°C hidrógeno F-talato de potasio (HOOC₆H₄COOK) hasta peso constante. Disolver 425 mg en agua tipo II y/o destilada y luego diluir a 1000 mL. Esta solución estándar tiene un valor teórico de DQO de 500 mgO₂/L. La solución es estable cuando está refrigerada pero no indefinidamente. Desechar la solución si hay presencia visible de material biológico.
- **Solución estándar de Hidrógeno F-talato de potasio para el Blanco Fortificado bajo de 50 mgO₂/L:** preparar esta solución por dilución de la solución estándar de 500 mg O₂/L. Tomar 100 mL de la solución de 500 mg O₂/L y diluir a 1000 mL con agua destilada.
- **Solución de FAS 0.10 N:** disolver 39.214g de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O en aproximadamente 600 mL de agua tipo II y/o destilada que contenga 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, enfriar y diluir a 1000 mL.
- **Solución de FAS 0.05 N:** disolver 19.607g de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O en aproximadamente 600 mL de agua tipo II y/o destilada que contenga 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, enfriar y diluir a 1000 mL.
- **Sulfato Mercúrico (HgSO₄):** en cristales o en polvo.
- **Ácido Sulfámico:** requerido solo si hay interferencia de NO₂. Adicionar 10 mg de Ácido sulfámico por cada mg de NO₂-N en el volumen de muestras.
- **Solución de ácido sulfúrico – sulfato de plata:** añadir sulfato de plata a ácido sulfúrico concentrado, en proporción de 5.5 g de Ag₂SO₄/Kg de H₂SO₄ es decir 25.3 g de Ag₂SO₄/2.5 L de H₂SO₄. Dejar reposar hasta total disolución.
- **Solución indicadora de Ferroina:** disolver 1.485 g de 1,10 Fenantrolina monohidratada y 695 mg de FeSO₄.7H₂O en agua tipo II y/o destilada y diluir a 100 mL.

Nota 1: Los volúmenes de aforo de las soluciones pueden cambiar, en este caso la cantidad de reactivo empleado en la preparación de las soluciones, debe ser proporcional al volumen de aforo de las soluciones.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 4 de 6

6. Contenido.

A continuación, se presentan las actividades para desarrollar el análisis de DQO en matrices acuosas.

6.1 Análisis de cloruros.

Realizar prueba cualitativa de cloruros con solución de nitrato de plata. Adicionar un volumen aproximado de 5 mL de muestra y agregar 5 gotas de solución de nitrato de plata 0.1 N. La presencia de un gran precipitado blanco lechoso indica una concentración de cloruros altos, y la presencia de una tenue apariencia lechosa, indica un bajo contenido de cloruros en la muestra.

Si la prueba cualitativa indica bajo contenido de cloruros, continuar con en el análisis de DQO descrito en el numeral **6.1.2**. Digestión; la interferencia de cloruros menores a 2000 mg Cl⁻/L es eliminada con el sulfato mercúrico contenido en la solución digestora de dicromato de potasio.

Si la prueba cualitativa indica un alto contenido de cloruros, realizar el análisis de cloruros en aguas, para calcular estequiométricamente la cantidad de sulfato de plata requerida para precipitar los cloruros presentes en el volumen de muestra a precipitar (30 mL), y luego realizar pretratamiento de la muestra con sulfato de plata.

Cálculo de factor estequiométrico:



Un mol de sulfato de plata precipita dos moles de cloruros, teniendo en cuenta este factor estequiométrico, calcular el peso de sulfato de plata requerido para precipitar los cloruros presentes en la muestra.

6.1.1 Pretratamiento de la muestra con alto contenido de cloruros.

- Agitar la muestra y medir aproximadamente 30 mL.
- Adicionar con espátula, la cantidad de sulfato de plata sólido requerido estequiométricamente para precipitar los cloruros presentes en la muestra.
- Agitar usando Minishaker para disolver el sulfato de plata y precipitar todos los cloruros.
- La adición de sulfato de plata se debe hacer hasta que no se observe más precipitado de cloruros.
- Dejar decantar.
- Medir 25 mL del sobrenadante.
- Continuar con el procedimiento descrito en el numeral 6.1.b.

6.1.2 Digestión.

- Tomar 2.5 mL de muestra bajo agitación magnética en el tubo de digestión.
- Adicionar 1.5 mL de solución de dicromato de potasio 0.0167 M (para rango bajo) ó 0.0347 M (para rango alto) y 3.5 mL de ácido sulfúrico-sulfato de plata.
- Tapar bien los viales y agitar en el Vórtex. Colocarlos en el Termoreactor y calentar a 150°C ± 2°C por 2 horas.
- Realizar el mismo procedimiento con un blanco de reactivos, midiendo 2.5 mL de agua tipo II y/o destilada y adicionando los reactivos de dicromato y ácido sulfúrico.
- Enfriar a temperatura ambiente.

Nota 2: Estos recipientes sellados pueden estar bajo presión por los gases generados durante la digestión. Usar elementos de protección.

Tener extremo cuidado, pues incluso trazas de compuestos orgánicos que se encuentren en el material de vidrio o provenientes de la atmósfera, pueden causar contaminación cruzada.

Muestras con DQO > 800 mg O₂/L.

Para muestras con concentraciones de DQO mayores a 800 mg O₂/L, hacer dilución de la muestra previa a la digestión. Continuar con el procedimiento de análisis descrito en el numeral **6.1.2**

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 5 de 6

6.2 Titulación

6.2.1 Estandarización de la Solución de Sulfato Ferroso Amoniacal (FAS) 0.10 N: Medir con pipeta 1.5 mL de solución de dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$ 0.0347 M y adicionar a un vaso de precipitado, agregar 2.5 mL de agua destilada y/o tipo II, 3.5 mL de solución catalizadora (ácido sulfúrico concentrado + sulfato de plata) y 1 o 2 gotas de indicador ferroína, enfriar a temperatura ambiente. Valorar con solución de sulfato ferroso amoniacal (FAS) 0.10 N (realizar la estandarización por triplicado).

6.2.2 Estandarización de la solución de Sulfato Ferroso Amoniacal (FAS) 0.05 N: Medir con pipeta 1.5 mL de solución de dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$ 0.0167M y adicionar a un vaso de precipitado, agregar 2.5 mL de agua destilada y/o tipo II, 3.5 mL de solución catalizadora (ácido sulfúrico concentrado + sulfato de plata) y 1 o 2 gotas de indicador ferroína, enfriar a temperatura ambiente. Valorar con solución de sulfato ferroso amoniacal (FAS) 0.05 N (realizar la estandarización por triplicado).

Calcular la concentración del FAS (N) según la siguiente fórmula:

$$\text{Normalidad del FAS} = \frac{\text{Volumen } (K_2Cr_2O_7) \times \text{Normalidad } (K_2Cr_2O_7)}{\text{Volumen (FAS)}}$$

Dónde:

Normalidad del FAS = Normalidad de la solución de FAS

Volumen ($K_2Cr_2O_7$) = Volumen de solución de $K_2Cr_2O_7$ en mL

Normalidad ($K_2Cr_2O_7$) = Concentración de la solución de $K_2Cr_2O_7$

Volumen (FAS) = volumen gastado en mL

Nota 3: La estandarización del FAS (N) se realiza cada vez que se realice lectura de muestras.

6.2.3 Titulación de las muestras.

- > Titular en cada muestra el exceso de $K_2Cr_2O_7$ con solución de FAS (Sulfato Ferroso Amoniacal).
- > A las muestras digerida, adicionar de 1 o 2 gotas del indicador (ferroína) y titular con solución de FAS 0.05N o 0.10N, dependiendo del rango de concentración a analizar, el punto final corresponde al primer cambio de color azul – verdoso a un marrón rojizo el cual debe permanecer por 1 minuto o más.
- > Tener en cuenta el volumen de la solución titulante de FAS gastado en el análisis, para los respectivos cálculos.
- > Realizar el mismo procedimiento para el blanco, blanco fortificado y demás controles de calidad.

6.3 Cálculos.

Calcular la concentración de DQO según la siguiente ecuación:

$$\text{DQO como mg } O_2/\text{L} = \frac{(A - B) \times N \times 8 \times 1000}{\text{mL de muestra}}$$

Dónde:

A = Promedio de mL de FAS utilizado para los blancos digeridos

B = mL de FAS utilizado para la muestra

N = Normalidad del FAS

8 = Peso equivalente del Oxígeno.

6.4 Control de Calidad.

Para garantizar la calidad de los resultados emitidos, los controles de calidad establecidos para el método de ensayo son los siguientes:

Al imprimir este documento se convierte en copia no controlada del SIG y su uso es responsabilidad directa del usuario

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO			
	Código: IN-GAA-111	Versión: 03	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 6 de 6

Blanco de reactivos (blanco del método): analizar en cada set de 20 muestras (o menos) un blanco de agua destilada, el cual debe tener todos los reactivos que normalmente están en contacto con la muestra durante todo el procedimiento analítico.

Blanco Fortificado: analizar una solución de referencia de concentración conocida, 50 mgO₂/L para la concentración baja y 500 mgO₂/L para la concentración alta, preparada de la misma fuente de referencia usada, y procesarla con todos los pasos de preparación y análisis de las muestras, con la finalidad de evaluar el rendimiento del método y la recuperación del analito en la matriz blanco.

Matriz fortificada y duplicado de matriz fortificada: fortificar una muestra de agua superficial, subterránea o residual (doméstica o industrial) con una cantidad conocida del analito (la misma concentración con la que se prepara el blanco fortificado), con la finalidad de evaluar la recuperación del analito en una muestra real y separar el efecto matriz del desempeño del laboratorio. El duplicado se prepara de una segunda porción de muestra. Como mínimo, Incluir una muestra fortificada y su duplicado con cada lote de muestras a analizar. Evaluar los resultados como porcentaje de recuperación; el duplicado evalúa la precisión y exactitud.

MCC: con cada lote de muestras analizar una muestra preparada con la concentración del Mínimo Nivel de Reporte (MRL). El criterio de aceptación del MRL es del $\pm 50\%$ de error.

Registrar los datos obtenidos en la bitácora del análisis. Evaluar estos controles según lo estipulado en el instructivo "Aseguramiento de la validez de los resultados".

6.5 Incertidumbre.

La estimación de la incertidumbre para el análisis de Demanda Química de Oxígeno por reflujo cerrado fue desarrollada de acuerdo al instructivo general "Estimación de incertidumbre".

6.6 Reporte de resultados.

Una vez realizados los cálculos y la revisión, para asegurar la calidad y confidencialidad de los mismos, el valor obtenido debe ser reportado teniendo en cuenta el instructivo general "Manejo de cifras significativas".

Si durante la ejecución del análisis se presenta una situación anómala y/o se tiene información relevante que facilite la interpretación del resultado, se debe realizar la nota aclaratoria en el sistema y en la bitácora de análisis.

7. Flujograma.

No aplica

8. Documentos de Referencia

- > Bitácora del análisis
- > Bitácora de equipos (Termoreactor Orion Cod.165, Dosimat plu 715, Agitador vórtex, Bureta # 2)
- > Carta de control (Hoja de excel - Equipo reporte de resultados)

9. Historial de Cambios

Versión	Fecha	Cambios	Elaboró / Modificó	Revisó	Aprobó
01	22/02/2019	Documento Nuevo	Marcela Jaramillo. <i>Analista de lab.</i>		Marco A. Torres <i>Director ICAOC</i>
02	13/03/2019	Correcciones estructurales y de redacción.	Marcela Jaramillo. <i>Analista de lab.</i>	Karen Mendoza <i>Responsable unidad</i>	Mario Gutiérrez <i>Prof. de Calidad</i>
03	03/08/2022	Ajustes en la nomenclatura del blanco fortificado y el alcance.	Juan Arévalo <i>Analista de lab.</i>	Karen Mendoza <i>Prof. Calidad</i>	Juan Manuel Trujillo <i>Director CCA</i>