



## MÉTODO ANALÍTICO DQO: REFLUJO CERRADO Y COLORIMÉTRICO, SM 5220 D.

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá

Código: D-7.2-22

Versión: 15

Revisó: Subdirector de Planeación y O.T.

Aprobó: Director General (E).

Fecha: 09 de Julio de 2025

Fecha: 09 de Julio de 2025

Resolución: 100-03-10-23-1338-2025

Páginas: 1 de 7

### 1. DESCRIPCIÓN

La demanda química de oxígeno (DQO) determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo.

### 2. ALCANCE

Este método analítico se aplica para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas superficiales, subterráneas y residuales domésticas y no domésticas.

### 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

#### 3.1 Principio

Las sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables presentes en la muestra, se oxidan mediante reflujo cerrado 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 que actúa como agente catalizador y de sulfato mercúrico ( $HgSO_4$ ) adicionado para eliminar la interferencia por cloruros. Después de la digestión, el oxígeno consumido se determina indirectamente mediante lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 420 nm para rango bajo y 600 mn para rango alto.

#### 3.2 Interferencias

La interferencia más común es el ion cloruro. Los cloruros reaccionan con el ión plata para precipitar cloruro de plata y esto inhibe la acción catalítica de la plata. Los iones bromuro, yoduro y cualquier otro reactivo que inactive el ión plata puede interferir de manera semejante. Tales interferencias son negativas y tienden a interferir en el poder oxidativo del dicromato de potasio. La adición de sulfato de mercurio  $HgSO_4$  en la proporción de 1 g por cada 50 mL de muestra es adecuada, es posible utilizar una cantidad menor si se conoce que la concentración de cloruros es menor de 2000 mg/L, siempre que se mantenga una relación en masa de 10:1 de  $HgSO_4:Cl^-$  para la acción de los cloruros. No utilice la prueba para muestras que contengan cloruros en concentraciones superiores de 2000 mg  $Cl^-/L$ .

La determinación de DQO por método colorimétrico no es aplicable cuando hay presencia de interferentes que absorben la luz visible, como la materia suspendida insoluble y componentes coloreados. Si algún tipo de estas interferencias ocurre, el ensayo debe realizarse por el método titulométrico.

#### 4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico de 100 mL y refrigerar a <6°C, mantener en la oscuridad. Si no se analiza inmediatamente luego de extraída la muestra, acidificar con ácido sulfúrico a pH <2. El tiempo de preservación de la muestra es de hasta 28 días.

#### 5. MATERIALES Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific placa 0107.
- Balanza analítica Radwag placa 1070
- Tubos de digestión de 16x100 mm con tapa rosca de TFE.
- Micro-reactor Hach DRB 200 placa 0062.

#### 6. REACTIVOS

- **Solución de digestión de rango alto:** En 500 mL de agua destilada adicione 10.216 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> previamente secado a 150°C durante 2 horas, seguidamente adicione 167 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 33.3 g HgSO<sub>4</sub>, disolver, dejar enfriar a temperatura ambiente y diluir hasta 1000 mL.
- **Solución de digestión de rango bajo:** Prepare esta solución siguiendo el procedimiento para rango alto, teniendo en cuenta que se toman 1.022 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.
- **Reactivos de ácido sulfúrico:** Agregar sulfato de plata (Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) grado reactivo o técnico a Ácido Sulfúrico concentrado en la proporción de 5.5 g de Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/kg de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 kg de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> equivale a 544 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aproximadamente). Esperar 1 o 2 días antes de usar esta solución para permitir la disolución completa del Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- **Estándar de ftalato de potasio e hidrógeno:** Triturar ligeramente y secar biftalato de potasio (HOOCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK) a 110°C hasta masa constante, disolver 425 mg en agua destilada y diluir a 1000 mL. El biftalato tiene una DQO teórica de 1,176 mg

O<sub>2</sub>/mg y la solución tiene una DQO teórica de 500 mg O<sub>2</sub>/L. También puede disolver 850 mg en agua destilada y diluir a 1000 mL para obtener una solución con una DQO teórica de 1000 mg O<sub>2</sub>/L. la solución es estable si se conserva refrigerada, pero no indefinidamente. Estar alerta por si se presenta crecimiento biológico, la preparación semanal suele ser satisfactoria.

## 7. PROCEDIMIENTO

Agregue 2,5 mL de muestra en un tubo de 16x100 mm, luego agregue 1,5 mL de solución de digestión y finalmente agregue cuidadosamente 3,5 mL de reactivo de ácido sulfúrico. Preferiblemente use micropipetas para tomar estos volúmenes.

Dimensiones del tubo de digestión (ancho x alto)	Volumen de muestra, mL	Volumen de solución de digestión, mL	Volumen de reactivo de ácido sulfúrico, mL	Volumen final, mL
16x100 mm	2,5	1,5	3,5	7,5

- Tape herméticamente los tubos e invierta varias veces para mezclar completamente el contenido, no olvide utilizar los elementos de protección personal, especialmente para los ojos.
- Coloque los tubos de digestión en el micro reactor previamente calentado a  $150\pm2$  °C, digeste en reflujo cerrado durante dos horas y deje enfriar a temperatura ambiente.
- Si la solución digerida se torna de color verde intenso repetir los pasos anteriores con una dilución mayor de la muestra.
- Agite el contenido de los tubos de digestión y deje en reposo hasta que la materia en suspensión se sedimente y asegúrese de que el camino óptico esté despejado.
- Mida la absorbancia de cada una de las muestras a la longitud de onda seleccionada. Para muestras con concentraciones en rango alto utilice una longitud de onda de 600 nm y para muestras con concentraciones en rango bajo utilice una de 420 nm.

## 8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

Prepare estándares de concentración conocida en matraces volumétricos de 50 mL para la construcción de las curvas de calibrado a partir de una solución de 1000 mg O<sub>2</sub>/L, tal como se observa en las tablas 1 y 2 para rango bajo y rango alto respectivamente.

**Tabla 1.** Preparación de estándares para curva de calibración rango bajo.

ESTÁNDARES (mg/L)	VOLUMEN EN mL DE ESTÁNDAR DE 1000 mg/L
0	0
30 (MRL)	1.5
40	2.0
50	2.5
70	3.5
90	4.5

**Tabla 2.** Preparación de estándares para curva de calibración rango Alto.

ESTÁNDARES (mg/L)	VOLUMEN EN mL DE ESTÁNDAR DE 1000 mg/L
90	4.5
100	5
200	10
500	25
800	40

Calcule la concentración de las muestras analizadas a partir de la siguiente ecuación

$$DQO \text{ mg O}_2/\text{L} = \frac{\text{Abs} - \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}} \times FD$$

Dónde:

Abs = Absorbancia de la muestra.

FD= Factor de Dilución de la muestra.

Las curvas deben ser lineales. Sin embargo, puede ocurrir cierta falta de linealidad, dependiendo del instrumento utilizado y la precisión general necesaria.

Se interpolan los datos de absorbancia de las muestras en la curva de calibración para obtener los resultados. No se debe hacer resta de blanco debido al alto valor de la absorbancia.

## **9. SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD**

Cada vez que se realice una curva de calibración, recalcule la concentración de los estándares utilizados para la construcción de la misma curva. Los valores recalculados deben cumplir con los siguientes criterios de aceptación: %Error de  $\pm$  50% para concentraciones  $\leq$  3 veces el MRL,  $\pm$  20% para concentraciones entre 3 y 5 veces el MRL y  $\pm$  10% para concentraciones  $>$  5 veces el MRL.

Por cada lote de 20 muestras analice lo siguiente:

- Un Blanco de Laboratorio sin digestar como solución de referencia
- Un blanco de laboratorio digestado, el resultado no debe ser  $\geq$  1/2 del Límite de Cuantificación del Método.
- Un Blanco Fortificado de Laboratorio (BFL) en el Límite de Cuantificación del Método. Error aceptado  $\leq$  50%.
- Un Blanco Fortificado de Laboratorio (BFL) a una concentración de 80 mg/L. Error aceptado  $\leq$  10%.
- Un Blanco Fortificado de Laboratorio (BFL) a una concentración de 400 mg/L. Error aceptado  $\leq$  10%.
- Una muestra por duplicado. RPD  $\leq$  20%.
- Una muestra enriquecida por duplicado a 45 mg/L en rango bajo o a 400 mg/L en rango alto.

## **10. MANTENIMIENTO**

Se debe llevar un buen control del tiempo de calentamiento y de la seguridad de la digestión. Verificar que los tubos de digestión se encuentren en perfecto estado, espectrofotómetro y micro digestor calibrados.

## **11. BIBLIOGRAFÍA**

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. In: Lipps Wc, Braunt-Howland Eb, Baxter Te. Eds. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 24th Ed. Washington Dc: APHA PRESS;2023. Sección, SM 5220 D.

## **12. CONTROL DE CAMBIOS**

Fecha	Resolución	Versión	Detalle

12/10/2010	300-03-10-23-1426	01	Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-27: MÉTODO ANÁLITICO REFLUJO CERRADO PARA DQO.
25/06/2011	300-03-10-23-0686	02	En el ítem de bibliografía se cambió el dato del "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 20 ed., New York, 1999" por la de "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA – AWWA – WEF. 21 ed. 2005". DQO: Reflujo Cerrado y Colorimétrico, SM 5220 D.
13/01/2014	300-03-10-23-0046	03	Se anexó el criterio de evaluación de la precisión y exactitud y se actualizó el Standard Methods Ed. 22 de 2012.
10/04/2014	300-03-10-23-0523	04	En el numeral 5. Reactivos, cambio el término "agua destilada, filtrada bajo filtros de arena y carbón activado, clorada, regulada con permanganato de potasio y desionizada" por "Agua Destilada o del Sistema de Ósmosis Inversa". Cambio en la parte de Algoritmo (Punto 8) en las dimensiones del tubo de digestión – milímetros (mm). Se especificó según el SM – 22° ed. Que por cada lote de muestras se debe correr un blanco por duplicado, donde uno de ellos se lleva a digestión y el otro no y se lee directamente. Esto en el Punto 10 de Seguimiento y Control. Se especificó en la parte de Mantenimiento – Punto 11, que el digestor también debe estar calibrado.
09/06/2016	300-03-10-23-0649	05	Se elimina Skoog como referencia bibliográfica. Se anexa el blanco y el LC en la curva de calibración. Se organiza el control del método según el Estándar Methods Ed 22: Según Tabla 5020:I del Standard Methods Ed 22. Cada 20 muestra se debe realizar y registrar en la captura de datos lo siguiente: Verificar la curva de calibración con un patrón de la misma, la diferencia no debe ser mayor del 10%. Analizar un blanco, realizar una acción correctiva si su resultado es $\geq$ al límite de cuantificación. Analizar un patrón de 100 mg/L. % Error aceptado $\leq$ 10%. Analizar un patrón de 500 mg/L. % Error aceptado $\leq$ 10%. Analizar una muestra por duplicado. Coeficiente de variación aceptado $\leq$ 20%. Analizar una muestra enriquecida por duplicado. Coeficiente de variación aceptado $\leq$ 20%. % Recuperación aceptado $\leq$ 80-120%. Se debe realizar curva nueva cada vez que se acaben la solución de digestión. Cada vez que se realice curva nueva se hace una prueba de porcentaje de recuperación. Cada lote de muestras se debe correr un blanco con digestión y un blanco sin digestión con el fin de verificar la estabilidad del dicromato, por ello estos no deben tener una diferencia de más del 20%.
05/10/2016	300-03-10-23-1303	06	Se actualiza el logo corporativo. Se especifica el control de calidad por cada lote. Se cambia el uso del coeficiente de variación por el RPD.
06/10/2017	300-03-10-23-0127	07	Se documentan las temperaturas de secado del dicromato y el biftalato.
15/08/2018	300-03-10-23-1436	08	En el ítem de bibliografía se cambió el dato del "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA – AWWA – WEF. 22° ed. 2012. DQO: Reflujo Cerrado y Colorimétrico, SM 5220 D." por la de "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA – AWWA – WEF. 23° ed. 2017. DQO: Reflujo Cerrado y Colorimétrico, SM 5220 D." En el ítem Seguimiento y Control se cambió el dato de "Cada 20 muestra, se debe realizar y registrar en la captura de datos lo

			<p>siguiente.” por “Cada 20 muestra o cada lote, se debe realizar y registrar en la captura de datos lo siguiente.”.</p> <p>En el ítem Seguimiento y Control se cambió el criterio de aceptación del blanco, indicado así: “Analizar un blanco, realizar una acción correctiva si su resultado es <math>&gt;1/2</math> del límite de cuantificación”; se eliminaron los ítems “Analizar un patrón de 100 mg/L. % Error aceptado <math>\leq 10\%</math>” y “Analizar un patrón de 500 mg/L. % Error aceptado <math>\leq 10\%</math>”.</p> <p>En el ítem Seguimiento y Control se anexo lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Compare cada punto de calibración con la curva y vuelva a calcular su concentración. Si los valores recalcados no están dentro de los criterios de aceptación del método, <math>\leq 3</math> veces el MRL <math>\pm 50\%</math>; entre 3 y 5 veces el MRL <math>\pm 20\%</math>; o <math>&gt;5</math> veces el MRL <math>\pm 10\%</math>.</li> <li>• Analizar un estándar igual al MRL. % Error aceptado <math>\leq 30\%</math>.</li> <li>• Analizar un estándar correspondiente al punto medio de la curva o por debajo de esta, preparado a partir de una segunda fuente, % Error aceptado <math>\leq 10\%</math>.</li> </ul>
19/11/2019	300-03-10-23-1429	09	<p>En la sección 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO, en el numeral 3.1 PRINCIPIO se eliminó del segundo párrafo la información relativa a las matrices de aplicación del experimento, independizándola dentro de la estructura del método, mediante la adición del ítem 2. - ALCANCE del método, así: “Este método analítico se aplica para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas superficiales y residuales tanto industriales como domésticas, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 50 mg/L y 800 mg/L”.</p> <p>Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-27 a D-7.2-22 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.</p>
18/07/2020	300-03-10-23-0792	10	<p>Se ajusta el ensayo al Standard Method Ed 23 así: se incluye un punto en la curva de calibración de 100 mg/L, se detallan los valores de las concentraciones de control para evitar variaciones, se ajustan los criterios de RPD para diferentes rangos de concentraciones.</p>
16/11/2021	300-03-10-23-2356	11	<p>Se especifica en la preparación de la solución de digestión que se usa la de rango alto de trabajo. Se hace una modificación en el control de calidad del blanco.</p>
18/01/2022	300-03-10-23-2981	12	<p>Reestructuración del método de DQO reflujo cerrado, teniendo en cuenta la verificación realizada previamente y la metodología de referencia.</p>
26/05/2022	300-03-10-23-1320	13	<p>Se reajusta el procedimiento para la determinación de DQO en muestras. Adicional se definen nuevos controles de calidad para el desarrollo de la metodología analítica.</p>
24/11/2023	300-03-10-23-2554	14	<p>Se actualiza el documento para la determinación de DQO de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 5220 D de 2022, edición 24.</p>
09/07/2025	100-03-10-23-1338	15	<p>Se corrigió el año a la versión vigente de Standard Methods (2023)</p>

**Última línea-----última línea-----última línea**