

# Material de Referencia para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en Aguas y Aguas Residuales.

Rogelio Mayarí Navarro<sup>1</sup>, Ma. del C. Espinosa Lloréns<sup>1</sup>, Margaret Suárez Muñoz<sup>2</sup>, Xiomara Rodríguez Petit<sup>1</sup>, Yamilé Álvarez Llaguno<sup>1</sup>, Sandra Pedro.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Estudios sobre Contaminación Ambiental (DECA), Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ave. 25 y 158, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Apartado Postal 6990. Tlf. 271-8897. Fax (537) 336321. E-mail: [deca@infomed.sld.cu](mailto:deca@infomed.sld.cu)

<sup>2</sup> Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional. Avenida 243 #19815 Reparto Fontanar Boyeros, Ciudad Habana, Cuba. C. P 19250. Tel. FAX: 453599. E-mail: [margaret@apache.isctn.edu.cu](mailto:margaret@apache.isctn.edu.cu)

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigaciones en Metrología (INIMET). Consulado No. 206, entre Ánimas y Trocadero. Centro Habana. Ciudad de La Habana.

**RESUMEN:** Con el objetivo de obtener un material de referencia para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas y aguas residuales, se realizó un estudio a dos muestras a un nivel de concentración, las cuales fueron, preparadas y sometidas a análisis en el DECA, determinándose su estabilidad. Estas muestras fueron evaluadas mediante estudio colaborativo y se corroboraron sus características de interés. La obtención de resultados confiables en los laboratorios ambientales de análisis físico-químico para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales es de vital importancia; para ello el establecimiento de controles internos y externos, con el uso de muestras referencias se hace fundamental. En el campo ambiental, en específico, los materiales de referencia son de gran utilidad en los procesos de validación de métodos analíticos, para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales, así como en el aseguramiento de la calidad de las mediciones realizadas en los laboratorios ambientales. Es necesario señalar la importancia particular de contar, en este campo, con métodos que ofrezcan resultados con precisión y veracidad, ya que éstos se usan con fines regulatorios o legales. La adquisición de un material de referencia en nuestras condiciones es muy difícil y costosa, lo cual nos ha motivado para la elaboración de un material de referencia que cumpla con los requisitos establecidos en las normas internacionales con un mínimo de gastos en su obtención. De ahí que fuese propósito del DECA acreditado por la NC ISO y que cumple con los requisitos establecidos en la NC-ISO- Guía 34, la elaboración de un material de referencia.

**ABSTRACT:** With the objective of obtaining a reference material for the determination of the chemical demand of oxygen in waters and residual waters, was carried out a study it shows at a concentration level, which were, prepared and subjected to analysis in the DECA, being determined their stability. This samples was evaluated by means of study collaborative and their characteristics of interest were corroborated. The obtaining of reliable results in the environmental laboratories of physical-chemical analysis for the analytic determinations of pollutants in residual waters is of vital importance; for it the establishment of internal and external controls, with the use of samples references becomes fundamental. In the environmental field, in specific, the reference materials are of great utility in the processes of validation of analytic methods, for the analytic determinations of pollutants in residual waters, as well as in the insurance of the quality of the mensurations carried out in the environmental laboratories. It is necessary to point out the peculiar importance of counting, in this field, with methods that offer been accurately and truthfulness, since these are used with ends regulatorios or legal. The acquisition of a reference material under our conditions is very difficult and expensive, that which has motivated us for the elaboration of a reference material that it fulfills the requirements settled down in the international norms with a minimum of expenses in its obtaining

With the result that was purpose of the DECA credited by the NC ISO and that it fulfills the requirements settled down in the NC-ISO - it Guides 34, the elaboration of a reference material.

**Palabras Clave:** Aguas residuales, Demanda química de oxígeno, Competencia técnica, Material de referencia.

**Words Key:** waste waters, Chemical Demand of Oxygen, technical Competition, reference materials.

## INTRODUCCIÓN

La obtención de resultados confiables en los laboratorios ambientales de análisis físico-químico para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales es de vital importancia; para ello el establecimiento de controles internos y externos, con el uso de muestras referencias se hace fundamental<sup>1</sup>. En el campo ambiental, en específico, los materiales de referencia son de gran utilidad en los procesos de validación de métodos analíticos, para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales, así como en el aseguramiento de la calidad de las mediciones realizadas en los laboratorios ambientales<sup>2</sup>.

La moderna tecnología del mundo de hoy requiere de un vasto número de materiales de referencia (MR) en amplios y diversos campos, con una creciente demanda de los mismos<sup>2</sup>. La razón fundamental de su amplio uso es debida a que los mismos (en laboratorios de medición química), comparación con las pérdidas por errores) y referidas (trazables) al Sistema Internacional de Unidades (SI). Estas mediciones repercuten a su vez, en la toma de decisiones acertadas, ya sea para el control de un proceso de producción, para la compra de un determinado producto, para verificar el cumplimiento de alguna norma, o bien para lograr la aceptación de un producto o servicio tanto a nivel nacional como internacional<sup>3</sup>.

Es necesario señalar la importancia particular de contar, en este campo, con métodos que ofrezcan resultados con precisión y veracidad, ya que éstos se usan con fines regulatorios o legales. La adquisición de un material de referencia en nuestras condiciones es muy difícil y costosa, lo cual nos ha motivado para la elaboración de un material de referencia que cumpla con los requisitos establecidos en las normas internacionales con un mínimo de gastos en su obtención

De ahí que fuese propósito del DECA acreditado por la NC ISO y que cumple con los requisitos establecidos en la NC-ISO- Guía 34, la elaboración de un material de referencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno

La Demanda Química de Oxígeno proporciona una medida del oxígeno equivalente a aquella porción de material orgánico contenido en una muestra susceptible de ser oxidada por un agente químico fuerte. Este análisis es utilizado para medir la fortaleza contaminante de los residuales domésticos e industriales

Todas las soluciones fueron preparadas con agua de tipo I, con conductividad menor de 0.1  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , y condiciones de esterilidad. Se utilizaron los materiales de referencia certificados comerciales de Minerales y Demanda de la firma UltraScientific (Estados Unidos).

Demanda Química de Oxígeno

Estándar de Hidrógeno Ftalato de Potasio (KHF). (Se utilizaron para estos ensayos dos tipos de reactivo: Reactivo Estándar de Hidrógeno Ftalato de Potasio para análisis sustancia patrón primario para valoración con una pureza entre 99.95-100.05% e Hidrógeno Ftalato de Potasio material de referencia directamente frente a material de referencia del NIST, en dependencia del alcance del análisis).

Reactivo #1: Mezcla de ácido sulfúrico con dicromato de potasio.

Características metrológicas del método de ensayo

Según los Métodos Estándar para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales<sup>4</sup> y las especificaciones prácticas, las características metrológicas del método de ensayo<sup>5-8</sup> son las siguientes:

- Especificidad/Curva Patrón: 200-1000 mg/L
- Precisión (repetibilidad y reproducibilidad): 10% CV
- ER, Sesgo, Veracidad: 2,2%
- Rango de trabajo/rango de Medición: 200-1000 mg/L
- Límite de cuantificación/Límite de determinación: 25 mg/L

### **Procesamiento Estadístico.**

En los ensayos participaron cinco laboratorios que utilizaron diferentes métodos para validar el material de referencia utilizado para la determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO). Los laboratorios participantes en el estudio fueron el Laboratorio de Analítica de Aguas y Aguas Residuales del Dpto. de Estudios sobre Contaminación Ambiental, CNIC (DECA-CNIC) que utilizó un método estandarizado de refluo cerrado (kits comerciales) y determinación fotométrica, al igual que el Laboratorio de Análisis Ambiental del Instituto Superior de Ciencias y Tecnologías Aplicadas (ISCTN) (LAA-ISCTN); y el Laboratorio de Análisis Químico del Departamento de Análisis y Ensayo del Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN). El Laboratorio de Aguas Residuales del Acueducto (Lab. Acue) empleó un método de refluo abierto con determinación volumétrica, al igual que el Laboratorio de Análisis Físico-Químico del INHEM (Lab. Análisis FQ-INHEM). El estudio se llevó a cabo utilizando diferentes unidades de un lote del material de referencia para

DQO. De estos cinco laboratorios, tres se encuentran acreditados, uno en proceso de acreditación y el restante es un Centro de Referencia Nacional.

Los resultados de desempeño del laboratorio del DECA fueron comparados con anterioridad con materiales de referencia certificados comerciales.

Se empleó el programa de computación EXCEL (Microsoft, 2000)<sup>9</sup> y el paquete de programas estadístico Statistica for Windows (StatSoft, 1998)<sup>10</sup>, calculándose la media ( $\bar{X}$ ), la desviación típica ( $s$ ), el coeficiente de variabilidad (CV, %) y el recobrado (Rec, %).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características básicas del material de referencia (estudio de estabilidad, homogeneidad y trazabilidad)

- Estabilidad

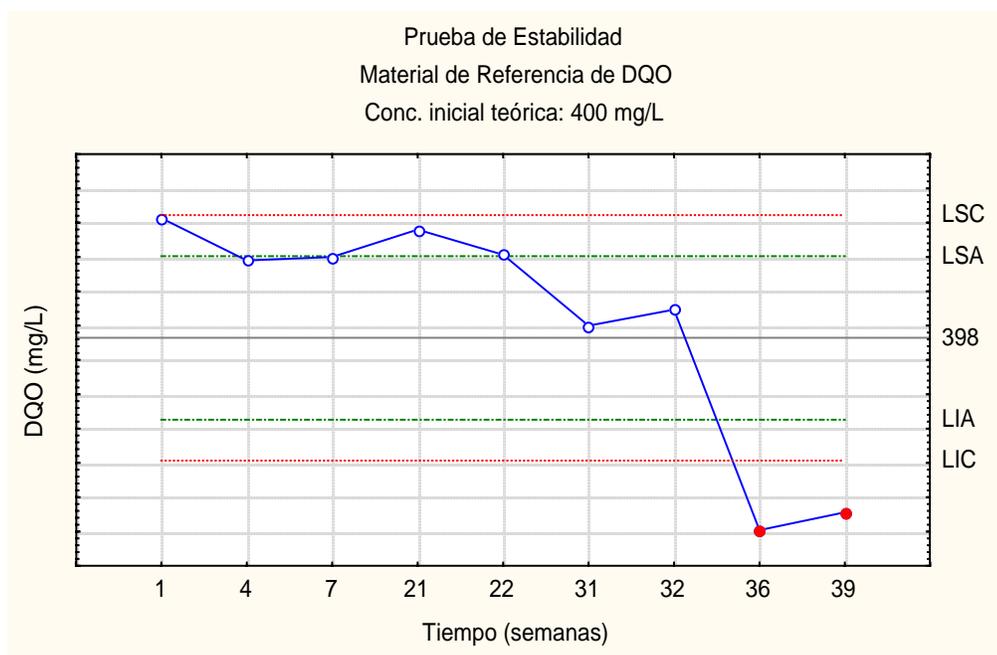


Figura I. Gráfico de estabilidad para DQO, solución concentrada en condiciones de refrigeración (mg/L).

LCS	Límite de control superior
LCI	Límite de control inferior
LAS	Límite de advertencia superior
LAI	Límite de advertencia inferior

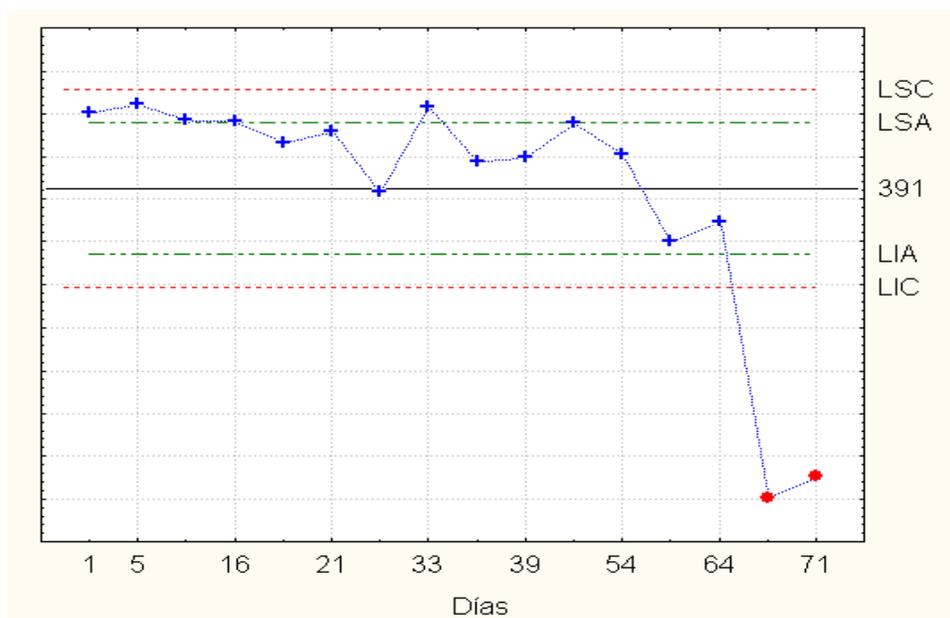


Figura II Gráfico de estabilidad para DQO, solución diluida en condiciones de refrigeración (mg/L).

<i>LCS</i>	<i>Límite de control superior</i>
<i>LCL</i>	<i>Límite de control inferior</i>
<i>LAS</i>	<i>Límite de advertencia superior</i>
<i>LAI</i>	<i>Límite de advertencia inferior</i>

En las Figuras I y II se observa que la solución más concentrada, como se esperaba, es mucho más estable que la diluida, ya que mientras la primera es estable aproximadamente por 6 meses, la segunda sólo se mantiene estable por 64 días, en condiciones de refrigeración.

En el caso de la preparación del material de referencia de DQO, se realizaron los ensayos de estabilidad con el material concentrado y con la posterior dilución de los 20 mL a 1L. De lo observado en las Figuras I y II puede concluirse que la solución más concentrada, es mucho más estable que la diluida, ya que mientras la primera es estable aproximadamente por 6 meses, la segunda sólo se mantiene estable por 64 días, en condiciones de refrigeración.

Por todo esto, para el uso de este material de referencia, debe establecerse que el material después de abierto y preparada la solución puede mantenerse en refrigeración por 64 días, lo cual no concuerda totalmente con lo reportado por los Métodos Estándar<sup>4</sup> para este tipo de soluciones, ya que en el mismo se plantea que una solución de 500 mg /L de DQO es estable en envases de plástico o vidrio, al menos por tres meses. Consideramos que debido a las condiciones de humedad y temperatura de nuestro país, se ve más favorecido el crecimiento microbiológico, principal causa de degradación de este MR, que hacen que la estabilidad sea menor en este caso que la reportada por la literatura<sup>3,10</sup>. Esto es importante, teniendo en cuenta que se trata de no agregar preservos a este material de referencia ya que su adición podría contribuir al aumento de la DQO del material.

#### Homogeneidad

En la Tabla 1 se presentan el análisis de los componentes de la varianza para el caso del método de ensayo de la DQO. Para comprobar la homogeneidad de los materiales de referencia internos se utilizaron los datos obtenidos en los estudios interlaboratorios<sup>11, 12</sup>. En el análisis de los componentes de la varianza para el caso del método de ensayo de la DQO, puede observarse que a ésta contribuyen dos componentes, uno para cada factor (Laboratorio y Frasco). De éstos el factor de mayor contribución en este caso es el del laboratorio con un

89.57 % de la variación total. Como el porcentaje de la varianza para el factor Frascos es mucho menor que el del Laboratorio y que el Error puede decirse que el material de referencia es homogéneo<sup>13</sup>

Tabla 1. Análisis de varianza de componentes para los resultados del estudio interlaboratorio para DQO.

Fuente	Suma de cuadrados	G.I.	Cuadrado Medio	Varianza Componentes	Porcentaje
Laboratorio	14709.3	4	3677.33	601.217	89.57
Frasco	252.667	5	50.5333	0.0	0.0
Error	1400.67	20	70.0333	70.0333	10.43
Total (corregido)	16362.7	29			

El comportamiento del desempeño de los cinco laboratorios participantes en el estudio para la DQO se muestra en la Figura III, donde se observa que todos los laboratorios con excepción del laboratorio 2, presentan valores cercanos al valor teórico estimado para el material de referencia. La tendencia en todos los casos es a la subestimación del valor esperado.

Teniendo en cuenta el análisis de desempeño de los cinco laboratorios de que para los mismos se requiere como mínimo de cinco laboratorios se decidió incluirlos a todos en la asignación del valor al material de referencia.

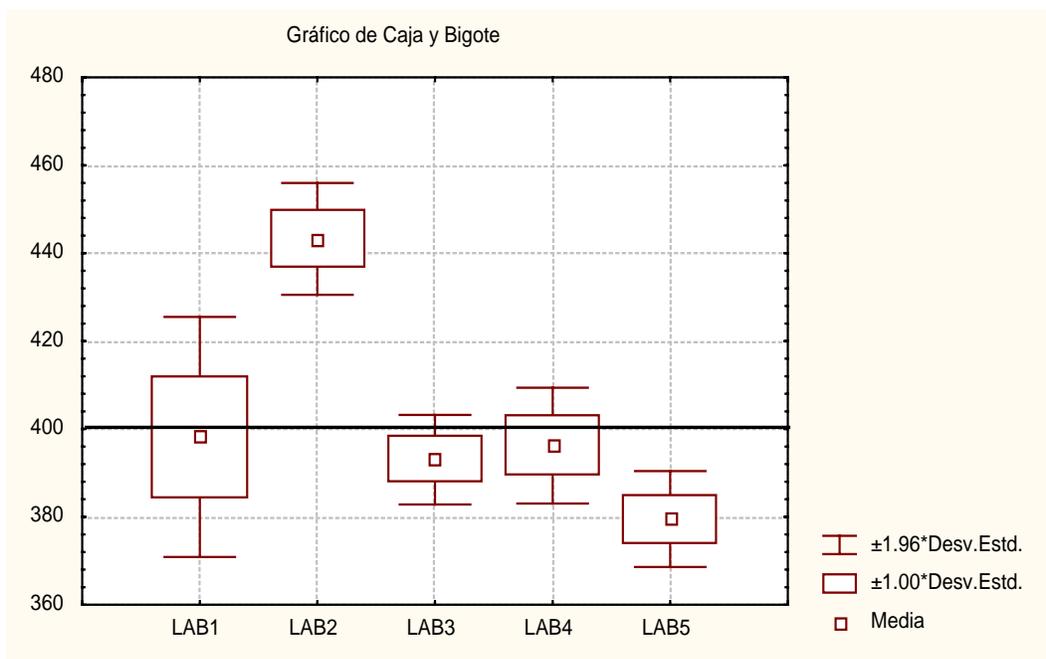


Figura III. Resultado del estudio interlaboratorio para DQO.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el estudio interlaboratorio y aplicando lo estipulado en el Proyecto de Norma Cubana para la Estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico<sup>14</sup>, se obtuvieron los valores de la tabla 2 para la media del material de referencia, su incertidumbre y el intervalo de confianza:

**Tabla 2.** Valores asignados al material de DQO

Estadígrafo	Valor
DE de la Reproducibilidad	26
U expandida	52
Valor de consenso	401±52
Intervalo de aceptación *	401±52

(\*) calculado como Intervalo de tolerancia estadística, con  $\pm 2DE$  (según NC ISO Guía 35:1998).

Los valores obtenidos en la tabla 2 muestran que el valor de consenso del MR del DECA, tiene un aceptable nivel de incertidumbre si es comparado con el material de referencia de la firma Ultrascientific. Aunque el valor del material de referencia certificado es mucho menor que el estudiado, haciendo un estimado en valores relativos de la incertidumbre en ambos caso, el material de la Ultrascientific tiene una incertidumbre relativa del 29% mientras que el elaborado por el DECA de un 13%.

**Utilización regular de MRC y/o control interno de la calidad utilizando MR secundarios;**

La utilización de materiales de referencia internos (MRI) tanto como la de materiales de referencia certificados (MRC) es de gran importancia pues nos permite la determinación de la desviación estándar de la repetibilidad para la determinación de la incertidumbre. La incertidumbre del método se calculó utilizando la desviación estándar de la repetibilidad de muestras y materiales de referencia según los criterios de la norma cubana (NC, 2001)<sup>12</sup>. Además, permiten:.

- Participación en programas de intercomparación entre laboratorios o ensayos de aptitud;
- Repetición de ensayos o calibraciones utilizando el mismo o diferentes métodos;
- Correlación de resultados para diferentes características de un objeto.
- Certificación de la competencia del analista
- Calibrado mediante materiales de referencia
- Mantenimiento de gráficos de control

Por otra parte, la aplicación de los materiales de referencia internos desarrollados en el laboratorio ha permitido el mantenimiento de gráficos de control. En la figura IV se muestra como ejemplo un gráfico de control de la media para el ensayo de Fósforo orto (método del vanadatmolibdato)

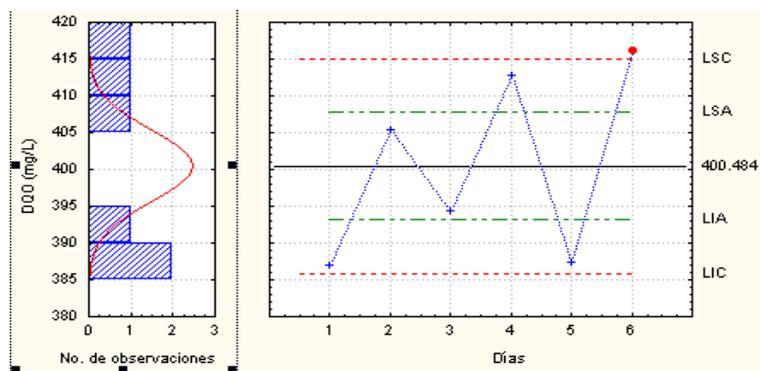


Figura 4. Gráfico de control de la media utilizando el material de referencia para el control interno del método de DQO.

- LCS Límite de control superior
- LCL Límite de control inferior
- LAS Límite de advertencia superior
- LAI Límite de advertencia inferior

## CONCLUSIONES

La experiencia acumulada en el desarrollo de materiales de referencia, ha hecho posible que se inicien los estudios, por primera vez en Cuba, para la certificación del material de referencia de DQO, los cuales han dado como resultados que:

- Es un material homogéneo y estable por 6 meses (solución concentrada, forma comercializable), teniendo en cuenta que se trata de un material sin preservos;
- Tiene un valor asignado de  $401 \pm 52$  mg/L, de acuerdo a lo obtenido en la primera intercomparación;
- Es mucho más barato que el obtenido comercialmente y muy factible (114 veces más económico) para nuestros laboratorios.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Espinosa M. C., R. Mayarí, M. Ruiz, O. Correa, X. Rodríguez, J. Machado. Aspectos del control de la calidad en laboratorios de ensayo, de acuerdo con NC-ISO/IEC 17025:2000. Memorias de la 17ma Conferencia de Química. Stgo. de Cuba. Diciembre 4-6, ISBN: 959-207-083-0 (Publicación electrónica). 2002.
2. Espinosa M. C., Pedro S., Mayarí R., M. Ruiz, O. Correa, Empleo de materiales de referencia certificados en ensayos de aguas y aguas residuales. **Contribución a la Educación y la Protección Ambiental**, 5, 2004
3. Dávila N., Betancourt A., Hernández J. E., Material de Referencia para el análisis de la Leche. **Revista Normalización**, 1, 22- 25, 2001.
4. APHA, AWWA, ECF. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. EE.UU. 1998.
5. NC ISO/IEC 17025:2000. Requisitos para la competencia técnica de los laboratorios de calibración y ensayo. ONN. Ciudad de La Habana. (2000)
6. ISO 5725-1: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions. 1994
7. ISO 5725-2: (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2 Basic methods for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. 1994
8. ISO 5725-4 : (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 4. Basic method for the determination of the trueness of a standard measurement method. 1994
9. Microsoft® Excel, (2000), ver 9. Microsoft USA. 2000
10. STATISTICA for Windows. (1998) StatSoft, Inc. E.U. 1998
11. NC ISO/IEC Guía 43-1,. Ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios – parte 1: desarrollo y funcionamiento de programas de ensayos de aptitud. 2000
12. ONARC. Política ensayos de aptitud para los laboratorios de ensayo y calibración acreditados y en proceso de acreditación. Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba. ONN. Ciudad de La Habana. 2004.
13. Drolc A., M. Cotman, M. Roš. Uncertainty of chemical oxygen demand determination in waste water samples. Accreditation and Quality Assurance. Springer. 2003
14. NC (2001) Estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico. Norma Cubana. 2001