

Precisión y exactitud para las determinaciones de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas por luminiscencia

Precision and accuracy for determinations of Biochemical Oxygen Demand in Water by Luminescence

COLCIENCIAS TIPO 5. REPORTE DE CASO

RECIBIDO: FEBRERO 14, 2014; ACEPTADO: MARZO 20, 2014

Marlon Enrique Castillo Bertel¹ José del Carmen Jaimes Morales, M.Sc²
marlonenrique0511@hotmail.com jjaimemor@yahoo.es
Rosa Leonor Acevedo Barrios, Ph.D (c)³ Carlos Alberto Severiche Sierra, M.Sc³
rosautb@gmail.com cseveriches@gmail.com

(1) Laboratorio de Calidad de Aguas, Aguas de Cartagena S.A. E.S.P., Colombia

(2) Grupo Proyectos Alimentarios PROAL, Universidad de Cartagena, Colombia

(3) Grupo de Investigación GISAM, Universidad Tecnológica de Bolívar. Cartagena -Colombia

Resumen

El propósito de un análisis químico de aguas es generar resultados correctos y confiables, siendo la verificación de ensayos uno de los aspectos más importantes para conseguir este propósito; además constituye un factor clave para la prestación de servicios analíticos. En el presente estudio se hizo la evaluación del método analítico luminiscente, para la determinación de la demanda bioquímica en aguas. El objetivo de este trabajo fue confirmar la aplicación correcta del método para el análisis de aguas. Se trabajaron muestras de agua superficial, residual y marinas, siguiéndose estrictamente los protocolos de verificación. Se encontraron resultados satisfactorios en precisión y exactitud con el fin de emitir resultados confiables y reales de la muestra analizada.

Palabras Clave

Agua; demanda bioquímica de oxígeno; luminiscencia.

Abstract

The purpose of a chemical water analysis is to generate accurate and reliable results, being the verification test one of the most important aspects for this purpose, also constitutes a key factor to provide analytical services. In the present study evaluation luminescent analytical method for the determination of the BOD in water was made. The aim of this study was to confirm the correct application of the method for water analysis. Surface samples, and residual sea water were worked strictly verification protocols being followed. Were found satisfactory precision and accuracy to deliver reliable and actual results of the sample.

Keywords

Water; biochemical oxygen demand; luminescence.

I. INTRODUCCIÓN

El aumento en la demanda de agua potable se debe al crecimiento demográfico mundial, al rápido desarrollo económico y social, a la urbanización acelerada, y a las mejoras en el nivel de vida y de los ecosistemas circundantes (Cheng, Hu & Zhao, 2009; Sarabia, 2011). El control de la potabilidad y de la calidad del agua son muy importantes, ya que éste es el medio de transporte de todas las sustancias y los compuestos, tanto biológicos, como fisicoquímicos (Arboleda, 2000). Para llevar a cabo su inspección, vigilancia y control, es necesario realizar un seguimiento de las características fisicoquímicas y microbiológicas del proceso de potabilización de agua y del producto terminado, con el fin de compararlas con los valores normativos (Simanca, Álvarez, Paternina, 2010; EPA, 2007). El aumento de la población –y sus impactos relacionados–, continúan ejerciendo una gran presión sobre los recursos de agua alrededor del mundo. Al mismo tiempo, el aumento de residuos municipales y agrícolas, las aguas de desagüe y los productos derivados de la industria; los efectos climáticos globales; y los desequilibrios ecológicos, comprometen aún más la calidad del agua (Sánchez, 2008).

Aunque la tendencia al mejoramiento de la calidad del agua está en aumento, por lo menos en cuanto a Demanda Bioquímica de Oxígeno [DBO], Demanda Química de Oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos totales, la contaminación del recurso hídrico es un problema ambiental grave en Latinoamérica. Las fuentes de materia orgánica son diversas; entre ellas se encuentran las actividades agrícolas e industriales, y las aguas residuales generadas en zonas urbanas y rurales (Mendez, San Pedro, Castillo, & Vasquez, 2010).

La Relación entre la DBO y el crecimiento bacteriano, fundamentado en las características físicas y químicas del ambiente, influyen en el crecimiento microbiano. El aumento de materia orgánica promueve el desarrollo de bacterias que consumen cantidades importantes de oxígeno (Mendez et al., 2010).

Desde el punto de vista ambiental, las pruebas de DBO constituyen una estimación semicuantitativa de la cantidad de materia orgánica fácilmente biodegradable que contiene una muestra de agua. Ya que no existen formas directas para medir una diversidad tan grande de sustancias, como la que puede ser cobijada bajo el rotulo de materia orgánica fácilmente biodegradable, los métodos de medición se

fundamentan en una ponderación indirecta basada en la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar biológicamente la materia presente (Muñoz et al., 2012). Es decir, los métodos de medición se fundamentan en la hipótesis de que la cantidad de materia orgánica contenida en la muestra es directamente proporcional a la cantidad de oxígeno que requiere una población bacteriana para digerirla (Muñoz et al., 2012).

En la investigación que da origen a este artículo, el método se basa en la determinación de los requerimientos de oxígeno para la degradación bioquímica de la materia orgánica (demanda de carbono) –tanto por organismos, como por oxidación de la misma– presente en una muestra de agua.

El método consiste en llenar con muestra, hasta rebosar, un frasco de DBO; el contenido de oxígeno molecular disuelto se mide por electrometría antes y después de la incubación, y la DBO se calcula mediante la diferencia entre el OD inicial y final. Este análisis es realizado por un período de incubación de cinco días (DBO5) a una temperatura de 20°C dentro de un medio controlado (botella de DBO cerrada colocada dentro de una incubadora).

En el presente trabajo se llevó a cabo la verificación del método luminiscente para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

El método de referencia aplicado es el descrito en la edición 22 de los *Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales, métodos 5210 B y 4500-0 G* (Rice, Baird, Eaton, & Clesceri, 2012). Este es aplicable a todo tipo de agua. Las razones detrás de la mayoría de las interferencias son:

- calidad del agua de dilución, si ésta es baja, ocasionará un sesgo positivo;
- cuando el pH de las muestras difiere del rango 6-8, los resultados serán bajos, lo que se soluciona neutralizando a pH entre 6.5-7.5 con ácido sulfúrico 1 N o hidróxido de sodio 1 N;
- por la presencia de algunos contaminantes en los materiales utilizados para el muestreo o en las botellas DBO, como los detergentes utilizados en el lavado de materiales;
- la temperatura de incubación –cambios bruscos en esta pueden influir en los resultados–;

- la luz directa sobre las muestras puede desencadenar procesos fotosintéticos que afectan de manera directa el resultado de la DBO; y
- el almacenamiento prolongado a una temperatura $> 6^{\circ}\text{C}$ entre la recolección y el análisis, puede degradar significativamente la muestra y alterar su resultado produciendo valores de DBO bajos.

Se muestra a continuación en detalle la ruta desarrollada:

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras:

Las muestras puntuales pueden recogerse directamente en botellas Winkler de volumen conocido o en botellas plásticas o de vidrio ámbar de 500 mL de volumen mínimo. En todo caso, deben analizarse lo más pronto posible. Si el análisis comenzara antes de las 2 horas, el enfriamiento es innecesario; en caso contrario se deben almacenar a 6°C y comenzar el análisis dentro de las seis horas posteriores a la recolección. Si esto no fuera posible, es necesario mantener las muestras a 6°C y reportar el tiempo y la temperatura de almacenamiento junto con los resultados.

Para muestras compuestas, se debe mantener la temperatura a 6°C mientras se obtienen y limitar el tiempo de composición a 24 horas. Se debe seguir el mismo criterio indicado para muestras puntuales respecto al tiempo de conservación antes de iniciar el análisis. En ningún caso, se puede analizar una muestra después de 48 horas de haber sido recolectada.

Reactivos

Todos los reactivos son de grado analítico, excepto se indique alguna especificación.

Se debe preparar la cantidad necesaria y desechar si hay cualquier signo de precipitación y/o crecimiento biológico en los frascos de almacenamiento o de dilución.

Soluciones ácida y básica, 1 N, para neutralización de muestras cáusticas y ácidas:

Para la solución ácida, a un volumen apropiado de agua destilada, se agrega, muy lentamente y mientras se agita, 28 mL de ácido sulfúrico concentrado, diluir a 1 L.

Para la solución básica, se disuelven 40 g de NaOH en agua destilada y se diluyen a 1 L.

Procedimiento

Las condiciones ambientales no son críticas para la realización de este ensayo.

Preparación y montaje de la muestra

Una vez recibida la muestra, se coloca en la incubadora para que alcance la temperatura de ésta antes de procesarla. Se verifica que el pH esté entre 6 y 8; si no es así, se ajusta con solución de ácido sulfúrico o hidróxido de sodio, ambos 1N; finalmente, se adiciona a la botella de DBO y se inocula la muestra.

Dilución directamente en la botella de DBO

A dos botellas, se añade el volumen de muestra seleccionado, 4 mL de la semilla y se completa con agua de dilución. Se debe tapar, agitar y verificar que no se presenten burbujas (de existir éstas, se debe descartar).

Dilución previa en otro recipiente

Se determina el volumen a preparar (mínimo 700 mL) y a partir de éste, se calcula los volúmenes de muestra, inóculo y agua de dilución. Añada estos a una probeta o vaso de precipitado y trasvase a otro recipiente varias veces; finalmente trasvase a dos botellas de DBO, tape y verifique no hayan burbujas (de existir éstas, descartar).

Una vez preparada la muestra, se determina el OD inicial en una de estas botellas. Se debe cubrir la segunda botella con sello de agua y garantizar que éste se mantenga durante los cinco días de incubación; por último, se determine el OD final.

- Preparación de una muestra con cloro residual

La presencia de sustancias tóxicas en la muestra puede causar disminución de la DBO. El cloro residual en bajas concentraciones puede ser eliminado manteniendo la muestra por una o dos horas a temperatura ambiente a la luz (tiempo que se puede alcanzar durante el transporte y la manipulación) o aireando por igual tiempo. No obstante, se debe verificar si el cloro residual persiste (clorímetro portátil). Si es así, se procede a su eliminación usando el siguiente método: adicionar en un erlenmeyer de 250 mL: 100 mL de muestra, 10 mL de H_2SO_4 0.02 N y 10 mL de KI al 10 %; adicionar tres gotas de almidón indicador y valorar hasta punto final incoloro con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01 N.

De realizarse la deoloración con sulfito de sodio como alternativa, al valorar debe cambiarse la concentración del H_2SO_4 por 1+50 ó por ácido acético 1+1.

Cálculos y presentación de los resultados

$$DBO_5, \text{mg/L} = [(C_{o i} - C_{o f}) - (B_{o i} - B_{o f}) * f] / P$$

Dónde:

- $C_{o i}$ = oxígeno disuelto inicial, mg O₂/L
 $C_{o f}$ = oxígeno disuelto al final de la incubación, mg O₂/L
 $B_{o i}$ = OD del control de semilla al inicio, mgO₂/L
 $B_{o f}$ = OD del control de semilla después de la incubación, mgO₂/L
 P = fracción volumétrica decimal de la muestra
 F = volumen de siembra en la muestra / volumen de siembra en el control de siembra

Control de calidad del método

Consiste en verificar la calidad del agua de dilución, la efectividad del inóculo y la técnica analítica. Con cada lote de muestras se analizan: blancos del agua de dilución, controles de semilla y controles de estándar de glucosa-ácido glutámico.

Control del agua de dilución

El blanco control se considera una comprobación aproximada de la calidad del agua de dilución. Si la disminución del oxígeno del agua excede de 0.2 mg/L, revise el procedimiento, incluida la obtención del agua desionizada.

Control del estándar

El estándar de 150 mg/L debe dar un resultado de 198; 30,5 mg O₂/L. Cuando se analicen muestras cuya DBO esperada sea baja, es recomendable analizar también patrones de baja concentración, por ejemplo 3-10 mg/L de GAG.

Control de la técnica analítica

Para muestras y patrones se debe cumplir con los siguientes criterios:

- Oxígeno disuelto final: 1 mg/L.
- Consumo de oxígeno disuelto: 2 mg/L.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los protocolos de verificación se evaluaron los siguientes parámetros: precisión y exactitud (Cortés & García, 2009; Cortés, 1999; Cortés, 2010; Velázquez, Pimentel, & Ortega, 2011).

A continuación se exponen e interpretan los resultados

obtenidos en los ensayos de verificación del método, que se realizaron siguiendo el procedimiento de análisis referenciado. Los resultados descritos se obtuvieron con muestras de agua superficial, residual o marina, así como con muestras certificadas, internas de control rutinario y con las empleadas en las pruebas de desempeño del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [IDEAM].

Precisión

Como este método analiza simultáneamente de tres diluciones diferentes, para cada tipo de muestra se las ha considerado como criterio de repetibilidad.

Los datos de repetibilidad se muestran en la Tabla 1. La repetibilidad, con base en los contenidos y la tabla de Horwitz, puede considerarse satisfactoria.

Tabla 1. Repetibilidad con muestras de diferente procedencia

Tipo de muestra	CV% promedio (intervalo)	Número de muestras
superficial	9.1 (2.7-15.5)	2
superficial	5.6 (1.2-18.0)	8
residual	6.7 (0.3-12.2)	7
mar	7.1 (0.1-14.3)	14
mar	7.5 (1.8-12.7)	10
mar	7.3 (5.7-10.1)	3

En la Tabla 2 se detalla la reproducibilidad interna; se consideraron patrones internos y muestras certificadas que se analizaron en más de un día y considerando los valores promedio; Los resultados también son satisfactorios.

Tabla 2. Datos de reproducibilidad interna

Muestra	CV%	Veces analizado
Certificada de 327 mg/L	15.5	2
Patrón interno de 3.96 mg/L	6.4	5
Patrón interno de 198 mg/L	8.1	3

Exactitud

En las Tablas 3 y 4 se muestran los ensayos para la determinación de la exactitud, siendo las pruebas de desempeño del IDEAM, muestras certificadas y patrones internos, el derrotero para la consecución de este parámetro de calidad analítica.

Las pruebas de evaluación de desempeño del IDEAM muestran resultados satisfactorios en 2010 (100 puntos); en 2011 muestran sólo 40 puntos pues en la concentración baja, los resultados fueron altos por tres métodos

diferentes (respirométrico, Winkler y electrométrico), lo que parece indicar alguna contaminación.

Tabla 3. Muestras certificadas

mg/L	n	intervalo Zscore
17.2	2	0.13/0.45
327	5	-1.21/0.63
2011	50	70

Considerando el promedio \pm 15.4% aunque para muestras inferiores a 30 mg/L, el intervalo puede ser mayor; por ejemplo muestras IDEAM 2009 (11.5 mg/L-24.6%), 2010 (27 mg/L-18.4% y 2011 (15.1 mg/L-17.2).

Tabla 4. Patrones internos

concentración (mg/L)	n	resultados
3.96 \pm 0.61	15	3.28-4.44
26.4 \pm 4.0	2	26.1-26.2
198 \pm 30.5	8	168-208

IV. CONCLUSIONES

El método estandarizado presenta características de desempeño adecuadas, al ser preciso (coeficientes de variación <10%), veraz (no presenta sesgo significativo), y contar con un adecuado intervalo de concentración y una concentración mínima a reportar –se estima en 0.2 mg/L, tomada de la concentración máxima permitida del agua de dilución–.

Estas características permiten que se ajuste al propósito para el cual fue diseñado, que consiste en la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en muestras de aguas.

Se convierte en un método de referencia para otros laboratorios que deseen aplicarlo en Colombia, al estar este parámetro acreditado ante el IDEAM, ya que puede reportar resultados correctos y confiables, además de ser una guía a nivel internacional.

V. REFERENCIAS

- Arboleda J. (2000). *Teoría y práctica de la purificación del agua*. Bogotá, Colombia: McGraw-Hill
- Cheng, H., Hu Y., & Zhao, J. (2009). Meeting China's water shortage crisis: current practices and challenges. *Environmental Science & Technology Journal*, 43(2), 240-244
- Cortés, C. & García, R. (2009). *Validación con base en los criterios de aplicación de la Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 en mediciones químicas y físicas*. México D.F., México: Entidad Mexicana de Acreditación [EMA]
- Cortés, C. (2010). *Validación de métodos* [Dcto. No. MP-CA005-02]. México D.F., México: Entidad Mexicana de Acreditación [EMA]

- Cortes, G. (1999). *Lineamientos para el control de calidad analítica*. Bogotá, Colombia: Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [IDEAM]
- E. Rice, R. Baird, A. Eaton & L. Clesceri [Eds.]. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* [22th ed.]. Washington, D.C.: APHA/AWWA/WEF.
- Environmental Protection Agency [EPA] (2007). *Guidelines for water reuse* [EPA-Part III, 40 CFR, Part 122, US2007. Washington D.C.: EPA / USAID
- Mendez, R., San Pedro, L., Castillo, E., Vasquez, E. (2010). Modelación del tiempo de conservación de muestras biológicas de agua. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(4), 327-335
- Muñoz, H., Suarez, J., Vera, A., Orozco, S., Battle, J., Ortiz, A., & Mendiola, J. (2012). Demanda bioquímica de oxígeno y población en la subcuenca del río Zahuapan, Tlaxcala, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(1), 27-38
- Sánchez, A. (2008). Efectos de los trihalometanos sobre la salud. *Revista Higiene y Sanidad Ambiental*, (8), 280-290
- Sarabia, I. (2011). Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2), 103-113
- Simanca, M., Álvarez, B., & Paternina, R. (2010). Calidad física, química y bacteriológica del agua envasada en el municipio de Montería. *Revista Temas Agrarios*, 15(1), 71-83
- Velázquez, M., Pimentel, J., & Ortega, M. (2011). Estudio de la distribución de boro en fuentes de agua de la cuenca del río Duero, México, utilizando análisis estadístico multivariado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(1), 9-30.

CURRÍCULOS

Marlon Enrique Castillo Bertel. Químico egresado de la Universidad de Cartagena. Especialista Grado Superior del Laboratorio de Calidad de Aguas de la empresa Aguas de Cartagena SA ESP en Cartagena de Indias, Colombia.

José del Carmen Jaimes Morales. Ingeniero de Alimentos, Licenciado en Biología y Química, Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Magister en Ingeniería Química, Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Investigador del Grupo Proyectos Alimentarios PROAL y Docente en la Universidad de Cartagena. Cartagena de Indias, Colombia.

Rosa Leonor Acevedo Barrios. Bióloga, Magister en Microbiología, Doctorando en Toxicología Ambiental. Docente Investigador de la Universidad Tecnológica de Bolívar. Investigador del Grupo de Investigaciones en Sistemas Ambientales y Materiales GISAM de la Universidad Tecnológica de Bolívar.

Carlos Alberto Severiche Sierra. Químico, Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. Docente Investigador de la Universidad de Cartagena y Universidad Tecnológica de Bolívar. Investigador del Grupo de Investigaciones en Sistemas Ambientales y Materiales GISAM de la Universidad Tecnológica de Bolívar.