

**Calidad del Agua
-Determinación de la
Demanda Bioquímica de
Oxígeno en efluentes
industriales -
Determinación del OD
empleando Oxímetro.**

ICS 13.060.30 Aguas residuales

SEPTIEMBRE 2005

Prefacio

La redacción de la Norma Boliviana NB 64011 “Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en efluentes industriales – Determinación del OD empleando oxímetro”; ha sido encomendada al Comité Técnico Normalizador N° 6.4 “Calidad del agua”, integrado por las siguientes personas e instituciones:

REPRESENTANTE	ENTIDAD
Eduardo Díaz	Dirección de cuencas - MDS
Gonzalo Lima	UMSA - Ing. Química
Rolando Bustillos	UMSA - Ing. Química
Gonzalo Gorrity	América Textil
Jorge Quintanilla	ABLEA - IIQ
Santiago Morales	Universidad Tecnológica Boliviana
Stana Stoeva	Escuela Militar de Ingeniería
Julio Cesar Calderón	IGEMA - UMSA
Christian Romero	CPTS
Luis Cáceres	IBTEN
Carolina Palacios	CNI
Lucía Alanoca	IE - UMSA / IRD
Jaime Chincheros	LCA - UMSA
Evel Álvarez	AISA
Brian Gonzáles	GECMA S.R.L
Mariana Rojas	GMLP - DCA
Martha Ameller	GMLP - DCA
William Choque	Consultor
Fernando Trigo	SAGUAPAC
Rosario Mena	SPECTROLAB
Rolando Álvarez	FLASH S.R.L
Ana María Romero	Centro de Aguas y Saneamiento Ambiental - UMSS
Luis Romero B.	IBNORCA

Fecha de aprobación por el Comité Técnico 2005-08-11

Fecha de aprobación por el Consejo Rector de Normalización 2005-08-25

Fecha de ratificación por la Directora de IBNORCA 2005-09-09

Calidad del Agua –Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en efluentes industriales – Determinación del OD empleando Oxímetro.**0 INTRODUCCION**

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días. El método se basa en medir el oxígeno consumido por una población microbiana en condiciones en las que se ha inhibido los procesos fotosintéticos de producción de oxígeno en condiciones que favorecen el desarrollo de los microorganismos.

DBO de carbono frente a DBO de nitrógeno

La oxidación de las formas reducidas del nitrógeno, mediada por microorganismos, requiere nitrógeno. Desde siempre se ha considerado el requerimiento de nitrógeno una interferencia en la determinación del DBO, como demuestra claramente la inclusión de amoníaco en el agua de disolución. En la actualidad, es posible evitar dicha interferencia mediante un inhibidor químico. Si no se utiliza éste el requerimiento de oxígeno medido corresponde a la suma de los requerimientos de carbono y de nitrógeno.

Las determinaciones que incluyen el requerimiento de nitrógeno no son útiles, por lo general, para evaluar el requerimiento de oxígeno asociado con la materia orgánica.

1 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta norma establece el método de análisis para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) en aguas residuales industriales.

Nota

Se determina la cantidad de oxígeno utilizada por una población microbiana heterogénea para transformar la materia orgánica, en un periodo de incubación de 5 días a 20 °C.

2 DEFINICIONES

Para los propósitos de esta norma se aplican las siguientes definiciones:

2.1 Agua residual

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, y la resultante de la combinación de ellas.

2.2 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)

Es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días.

2.3 Desviación estándar experimental

Para una serie de n mediciones del mismo parámetro (mensurando), es la magnitud **s** que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

En donde x_i es el resultado de la i -ésima medición y \bar{x} es la media aritmética de los n resultados considerados.

2.4 Medio aerobio

Es aquel en el cual se desarrollan microorganismos en presencia de oxígeno molecular.

2.5 Medio anaerobio

Es aquel en el cual se desarrollan microorganismos en ausencia de oxígeno molecular.

2.6 Mensurando

Magnitud particular sujeta a medición.

2.7 Material de referencia certificado

Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de las propiedades están certificados por un procedimiento que establece la trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad, y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza.

2.8 Precisión

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre.

$$x = \bar{x} \pm t_{\alpha/2} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

donde:

- \bar{x} es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;
- $t_{\alpha/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia del 95 %;
- S es la desviación estándar de la muestra;
- n es el número de réplicas, y
- x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

2.9 Solución tampón

Tipo de solución que mantiene constante su pH ante una pequeña adición de un ácido o de una base.

2.10 Trazabilidad

Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por la cual pueda ser relacionado a referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas.

3 FUNDAMENTO

La prueba de DBO mide la cantidad de oxígeno molecular disuelto que se consume por acción química y microbiológica cuando una muestra se incuba bajo condiciones establecidas en un periodo de tiempo. Es muy posible que para la mayoría de las muestras examinadas en el laboratorio, el consumo de oxígeno se deba principal o totalmente a la actividad de las bacterias que se alimentan de la materia orgánica presente en la muestra, y en el caso de efluentes purificados, a la respiración de los organismos presentes en ella. Debido a que la solubilidad del oxígeno en el agua es de tan solo 9 mg/l a 20 °C (a nivel del mar), las muestras por lo general se diluyen con "agua de dilución" aireada. El agua de dilución además de oxígeno contiene nutrientes inorgánicos para las bacterias, una pequeña cantidad de solución amortiguadora, y un inóculo de microorganismos, generalmente provenientes de un efluente de aguas de desecho de cloacas, que se agregan en caso de que la muestra sea estéril.

3.1 Necesidad de disolución

La concentración de DBO en la mayoría de las aguas residuales supera la concentración de oxígeno disuelto (OD) disponible en una muestra saturada de aire. Por tanto, es necesario diluir la muestra antes de incubarla para equilibrar de forma adecuada el requerimiento y el suministro de oxígeno (ver Tabla 1). Ya que el crecimiento bacteriano requiere nutrientes tales como nitrógeno, fósforo, y metales traza, se añaden éstos al agua de disolución (dilución), la cual es tamponada para asegurar que el pH de la muestra incubada se mantenga en un intervalo adecuado para el crecimiento bacteriano. La estabilización completa de una mezcla puede requerir un período de incubación demasiado largo para fines prácticos; por lo tanto, el período de 5 días ha sido aceptado como el período de incubación estándar.

Si el agua de dilución es de mala calidad, aparecerá como DBO de la muestra. Este efecto se verá ampliado por el factor de dilución, y tendrá como resultado un posible sesgo. El método que se presenta a continuación contiene tanto un control como un blanco del agua de dilución. Se verifica además si la calidad de las aguas de dilución sembradas es aceptable midiendo su consumo de oxígeno a partir de una mezcla orgánica conocida, normalmente glucosa y ácido glutámico.

Se mezcla un volumen conocido de muestra con un volumen conocido de agua de dilución. Se determina la concentración de oxígeno disuelto en la mezcla. La misma se incuba a 20 °C por 5 días. Se determina la concentración de oxígeno disuelto en la mezcla incubada y de los resultados obtenidos se calcula la cantidad de oxígeno disuelto absorbida durante la incubación.

Tabla 1 - Diluciones recomendadas para la determinación de la DBO₅

DBO ₅ esperada en mg/l de oxígeno	Factor de dilución*	Resultado (Redondeado)	Aplicable En general
3 a 6	Entre 1, 1 y 2	0.5	R
4 a 12	2	0.5	R,E
10 a 30	5	0.5	R,E
20 a 60	10	1.0	E
40 a 120	20	2.0	S
100 a 300	50	5.0	S,C
200 a 600	100	10.0	S,C
400 a 1200	200	20.0	I,C
1000 a 3000	500	50.0	I
2000 a 6000	1000	100.0	I

Significado de las letras

R: Agua de río;
 E: Aguas residuales urbanas depuradas biológicamente;
 S: Aguas residuales decantadas o efluente industrial débilmente contaminado;
 C: Aguas residuales urbanas crudas;
 I: Efluente industrial fuertemente contaminado.

4 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

El muestreo se realiza conforme a la NB 64002. Si no se pueden procesar las muestras de inmediato, se deben almacenar a una temperatura de 4 °C. En caso de trabajar con muestras compuestas recogidas durante un periodo largo de tiempo, es conveniente mantener todas las muestras a 5 °C hasta que se pueda componer la muestra compuesta para la determinación de DBO.

Las muestras deben estar libres de preservantes. Es importante que durante el periodo de incubación haya presente un exceso de oxígeno disuelto y de preferencia, que después de los cinco días haya aún un 30 % del valor de saturación, mayor de 1 mg/l.

5 INTERFERENCIAS

5.1 La incubación ha de llevarse a cabo a temperatura constante de 20 °C +/- 0.5 °C y en la oscuridad, ya que las muestras pueden contener algas, las que si se incuban a la luz, pueden liberar oxígeno por fotosíntesis e interferir así con la determinación de la DBO. Las muestras a temperatura ambiente durante varias horas pueden sufrir cambios marcados en la DBO, aumentando o disminuyendo según el carácter de la muestra.

5.2 No se debe usar agua de dilución que ha sido destilada en aparatos de cobre, pues esto inhibe la oxidación bioquímica. La concentración máxima de cobre aceptable es 0,01 mg/l.

5.3 La presencia de burbujas durante el periodo de incubación altera la determinación de la DBO.

5.4 La calidad de agua de dilución satisfactoria es aquella que al incubarla con o sin inóculo no absorba mas de 0,2 mg/l de oxígeno y en ningún caso debe absorber más de 0,5

mg/l. Un consumo alto de oxígeno se asocia a menudo con la presencia de vapores orgánicos solubles en aguas que se encuentran presentes en la atmósfera del laboratorio. El aire que se emplea en la aireación debe ser tan limpio como sea posible.

6 EQUIPOS Y APARATOS

6.1 Botellas de incubación, capacidad de 250 ml a 300 ml. Límpiense los frascos con un detergente, enjuéguese perfectamente, y séquese antes de usarlos. Como precauciones contra la entrada de aire en la botella durante la incubación, utilícese un cierre hidráulico. Para conseguir uno satisfactorio inviértanse los frascos en un baño de agua o échese agua a la boca ensanchada de las botellas de DBO especiales. Colóquese una taza de papel o de plástico, o una caperuza de papel de aluminio sobre la boca ensanchada de botella para reducir la evaporación del cierre hidráulico durante la incubación.

6.2 Incubador de aire o baño de agua, controlado por termostato a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Elimínese toda la luz para evitar la posibilidad de producción fotosintética de OD.

6.3 Medidor de Oxígeno con membrana permeable de oxígeno

7 REACTIVOS

7.1 Solución tampón de fosfato: Disuélvase 8,5 g de KH_2PO_4 , 21,75 g de K_2HPO_4 , 33,4 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1,7 g de NH_4Cl en unos 500 ml de agua destilada y dilúyase hasta 1 l. El pH de la solución debería ser de 7,2 sin ajustes adicionales. Deséchese el reactivo (o cualquiera de los siguientes reactivos) si hay algún signo de crecimiento biológico en frasco de reserva.

7.2 Solución de sulfato de magnesio: Disuélvanse 22,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y dilúyase hasta 1 l.

7.3 Solución de cloruro de calcio: Disuélvanse 27,5 g de CaCl_2 en agua destilada y dilúyase hasta 1 l.

7.4 Solución de cloruro férrico: Disuélvanse 0,25 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y dilúyase hasta 1 l.

7.5 Soluciones ácida y básica, 1N, para neutralización de muestras residuales cáusticas y ácidas.

7.5.1 Ácida: Lentamente y mientras se agita, añádanse 28 ml de ácido sulfúrico conc. a agua destilada. Dilúyase hasta 1 l.

7.5.2 Básica: Disuélvanse 40 g de hidróxido sódico en agua destilada. Dilúyase hasta 1 l.

7.6 Solución de sulfito sódico: Disuélvanse 1,575 g de Na_2SO_3 en 1 000 ml de agua destilada. Esta solución no es estable; debe prepararse a diario.

7.7 Inhibidor de la nitrificación: 2cloro-6-(tricloro metil) piridina

7.8 Solución de glucosa-ácido glutámico: Séquense glucosa de calidad para reactivos a 103°C durante una hora. Añádanse 150 mg de glucosa y 150 mg de ácido glutámico a agua destilada y dilúyase hasta 1l Prepárese siempre inmediatamente antes de usarla.

7.9 Solución de cloruro de amonio; Disuélvanse 1,15 g de NH_4Cl en unos 500 ml de agua destilada, ajústese el pH a 7,2 con solución de NaOH , y dilúyase hasta 1l. La solución contiene 0,3 mg N/ml.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 Preparación de agua para dilución: Colóquese el volumen deseado de agua en un frasco adecuado y añádase 1 ml de las soluciones de tampón fosfato, de MgSO_4 , de CaCl_2 , y de FeCl_3 por cada litro de agua. Si se desea, siémbrese el agua de disolución como en la sección 8.4.1. Ensáyese y almacénese el agua de disolución como se ha descrito en las secciones 8.2 y 8.3, de forma que siempre se tenga a mano agua de calidad garantizada.

Antes de usar el agua de dilución debe ponerse a una temperatura de 20 °C. Satúrese con OD agitando en una botella parcialmente llena o aireando con aire filtrado libre de materia orgánica. Alternativamente, almacénese en frascos taponados con algodón durante el tiempo suficiente para que el agua se sature de OD. Protéjase la calidad del agua utilizando material de vidrio, tubos y frascos limpios.

8.2 Control del agua de dilución: Utilícese este procedimiento como una comprobación aproximada de la calidad del agua de dilución.

Si la depleción de oxígeno del agua candidata excede de 0,2 mg/l, obténgase una muestra de agua satisfactoria mejorando la purificación, o de otra fuente. Alternativamente, si se inhibe la nitrificación, almacénese el agua de dilución, sembrada tal como se ha especificado antes, en una habitación oscura a temperatura ambiente hasta que la captación de oxígeno se haya reducido lo suficiente para cumplir los criterios de comprobación del agua de dilución. Compruébese la calidad del agua de dilución almacenada que se está usando, pero sin añadir simiente al agua de dilución almacenada, para mejorar la calidad. No se recomienda su almacenamiento cuando el DBO se va a determinar sin inhibir la nitrificación ya que pueden desarrollarse organismos nitrificantes durante este tiempo. Compruébese el agua de dilución almacenada para determinar si sigue habiendo suficiente amoniaco después del almacenamiento. Si no es así, añádase solución de cloruro de amonio para proporcionar un total de 0.45 mg de amoniaco/L en calidad de nitrógeno. Si el agua de dilución no ha sido almacenada para mejorar su calidad, añádase suficiente material de siembra como para producir una captación de OD de 0.05 a 0.1 mg/l en 5 días a 20°C. Incúbese un frasco de DBO lleno de agua de dilución durante cinco días a 20°C. Determinése el OD inicial y final como en los párrafos 8.6 y 8.9. La captación de OD en 5 días a 20°C no debería ser mayor de 0.2 mg/l y preferiblemente no mayor de 0.1mg/l.

8.3 Control de glucosa-ácido glutámico: Debido a que la prueba del DBO es un bioensayo, sus resultados pueden verse influidos en gran medida por la presencia de sustancias tóxicas o por el uso de un material de siembra de baja calidad. Las aguas destiladas suelen estar contaminadas con cobre; algunas simientes cloacales son relativamente inactivas. Con tales aguas y simientes siempre se obtienen resultados bajos. Compruébese periódicamente la calidad del agua de dilución, la efectividad de la simiente, y la técnica analítica mediante determinaciones del DBO en compuestos orgánicos puros y en muestras con adiciones conocidas. En general, para determinaciones del DBO que no requieren una simiente adaptada, utilícese una mezcla de 15mg de glucosa/l y 150 mg de ácido glutámico/l como solución de control patrón. La glucosa tiene una tasa excepcionalmente alta y variable de oxidación, pero cuando se utiliza con ácido glutámico, dicha tasa se estabiliza, y es similar a la obtenida con muchas aguas residuales municipales. Alternativamente, si un agua residual particular contiene un componente

principal identificable que contribuya al DBO, utilícese este compuesto en lugar de la glucosa-ácido glutámico.

Determinese el DBO de 5 días a 20°C de una disolución al 2 por 100 de la solución de control patrón de glucosa-ácido glutámico utilizando las técnicas expuestas en las secciones 8.4 a 8.9.

8.3.1 Verificación independiente del método

Resulta aconsejable verificar el método periódicamente, usando para ello un sustrato normalizado.

Para este propósito se recomienda el siguiente procedimiento:

8.3.1.1 Se disuelven 150 mg de glucosa y 150 mg de ácido glutámico (ambos previamente secados a 105 °C durante una hora) en 1 l de agua destilada; esta disolución debe estar recién preparada cuando se vaya a emplear.

8.3.1.2 Se prepara una disolución de 1 en 50 (trabajando por el método de la botella corresponde a 6 ml del patrón diluyendo a 300 ml; o bien 4,9 ml del patrón en 245 ml) y se determina la DBO de la manera usual. La DBO debe ser aproximadamente 198 ± 30 mg/l.

8.4 Siembra

8.4.1 Fuente de la simiente: es necesario tener presente una población de microorganismos capaces de oxidar la materia orgánica biodegradable de la muestra. El agua residual doméstica, los efluentes no clorados, o desinfectados por otros medios, de las centrales de tratamiento biológico de los residuos, y las aguas de superficie que reciben las descargas de agua residual contienen poblaciones microbianas satisfactorias. Algunas muestras no contienen una población microbiana suficiente (por ejemplo, algunos residuos industriales no tratados, residuos desinfectados, residuos de alta temperatura, o con valores de pH extremos). Para tales residuos, siémbrese el agua de dilución añadiendo una población de microorganismos. La simiente preferida es el efluente de un sistema de tratamiento biológico procesador de residuos. Cuando no se disponga de ésta, utilícese el sobrenadante del agua residual doméstica después de dejarlo reposar a temperatura ambiente durante al menos 1 hora, pero no más de 36 horas. Cuando se utiliza el efluente de un proceso de tratamiento biológico, se recomienda inhibir la nitrificación.

Algunas muestras pueden contener materiales no degradados a las tasas normales por los microorganismos en el agua residual doméstica en reposo. Siémbrese tales muestras con una población microbiana adaptada obtenida del efluente no desinfectado de un proceso biológico de tratamiento del residuo. En ausencia de tal servicio, obténgase simiente del agua receptora por debajo (preferiblemente de 3 a 8 km) del punto de descarga. Cuando tampoco se disponga de dichas fuentes de simiente, desarróllese una simiente adaptada en el laboratorio aireando continuamente una muestra de agua residual doméstica en reposo y añadiendo pequeños incrementos diarios de residuos. De forma opcional, utilícese una suspensión de suelo o lodo activo, o una preparación de simiente comercial para obtener la población microbiana inicial. Determinese la existencia de una población satisfactoria ensayando el rendimiento de la simiente en prueba de DBO realizada en la muestra. Los valores del DBO que aumentan con el tiempo de adaptación hasta un valor estable alto indican adaptación con éxito de la simiente.

8.4.2 Simiente control: Determinar el DBO del material de siembra como para cualquier otra muestra. Es la simiente control. A partir de este valor y de uno conocido de la dilución

del material de siembra (en el agua de dilución) determínese la captación de OD de la simiente. Lo ideal es hacer disoluciones de la simiente tales que la mayor cantidad resulte en al menos el 50 por 100 de depleción del OD. La representación de la depleción del OD, en miligramos por litro, frente a mililitros de simiente tendría que ser una línea recta cuya pendiente corresponde a la depleción de OD por mililitro de simiente. La intersección del eje OD representa la depleción de oxígeno causada por el agua de disolución y debería ser inferior a 0.1 mg/l (párrafo 8.7). Para determinar la captación de OD de una muestra se resta la captación de OD de la simiente de la captación de OD total. La captación de OD total del agua de disolución sembrada debería oscilar entre 0.6 mg/l y 1.0 mg/l.

Se describen las técnicas para añadir material de siembra al agua de disolución para dos métodos de disolución (dilución) de la muestra (sección 8.5.7).

8.5 Pretratamiento de la muestra

8.5.1 Muestras con alcalinidad cáustica o acidez: Neutralícense las muestras a un pH entre 6.5 y 7.5 con una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) o de hidróxido sódico (NaOH) de concentración tal que la cantidad de reactivo no diluya la muestra en más del 0,5 por 100. El pH del agua de dilución sembrada no debería verse afectado por la menor dilución de la muestra.

8.5.2 Muestras que contienen compuestos de cloro residual: Si es posible evítense las muestras que contengan cloro residual, tomándolas antes del proceso de cloración. Si la muestra ha sido clorada pero no hay residuo detectable de cloro, siémbrese el agua de dilución. Si hay cloro residual, elimínese el cloro de la muestra y siémbrese el agua de dilución (sección 8.5.7). No ensayar las muestras cloradas / descloradas sin sembrar el agua de dilución. En algunas muestras, el cloro desaparecerá en el plazo de 1 hora a 2 horas después de su exposición a la luz. Esto suele ocurrir durante el transporte o la manipulación de la muestra. Para las muestras en las que el residuo de cloro no se disipa en un tiempo corto razonable, destrúyase el cloro residual añadiendo solución de Na_2SO_3 . Determínese el volumen requerido de solución Na_2SO_3 en una fracción de 100 ml a 1 000 ml de muestra neutralizada añadiendo 10 ml de 1 + 1 ácido acético o 1 + 50 H_2SO_4 , 10 ml de solución de yoduro potásico (KI) (10 g/100 ml), y titulando con solución de Na_2SO_3 hasta el punto final del almidón-yodo para el residuo. Añádase a la muestra neutralizada el volumen relativo de la solución Na_2SO_3 determinada por la prueba anterior, mézclase, y después de 10 minutos a 20 minutos, compruébese el cloro residual de la muestra.

Nota

El exceso de Na_2SO_3 ejerce un requerimiento de oxígeno y reacciona lentamente con ciertos compuestos de cloraminas orgánicas que pueden estar presentes en las muestras cloradas.

8.5.3 Muestras que contienen otras sustancias tóxicas: Ciertos residuos industriales, por ejemplo, los residuos resultados del plateado, contienen metales tóxicos. Tales muestras suelen requerir un estudio y tratamiento especiales.

8.5.4 Muestras supersaturadas con OD: En aguas frías, o en aguas donde se produce la fotosíntesis, es posible encontrar muestras que contienen más de 9 mg OD/l a 20°C. Para evitar la pérdida de oxígeno durante la incubación de tales muestras, redúzcase el OD hasta la saturación a 20°C calentando la muestra aproximadamente 20 °C en frascos parcialmente llenos mientras se agitan con fuerza o se airean con aire limpio, filtrado y comprimido.

8.5.5 Ajuste de la temperatura de la muestra: Póngase las muestras a 20 °C \pm 0,5 °C antes de hacer diluciones.

8.5.6 Inhibición de la nitrificación: Si se desea inhibir la nitrificación, añádanse 3 mg de 2-cloro-6- (tricloro metil) piridina (TCMP) a cada frasco de 300 ml antes de taponarlos o añádase una cantidad suficiente al agua de dilución para obtener una concentración final de 10 mg/l.

Nota

Es probable que el TCMP puro se disuelva lentamente y puede que flote en la capa superior de la muestra. Algunas fórmulas comerciales se disuelven mejor pero no son TCMP al 100 por 100; ajústese la dosificación en consecuencia.

Entre las muestras que requieren inhibición de la nitrificación se incluyen, pero no son las únicas, los efluentes tratados biológicamente, las muestras sembradas con efluentes tratados biológicamente y las aguas fluviales. Debe hacerse la observación del uso de inhibición del nitrógeno cuando se presente el informe de los resultados.

8.5.7 Técnica de dilución.- Las diluciones que dan lugar a un OD residual de al menos 1mg/l y una captación de OD de al menos 2 mg/l después de 5 días de incubación producen los resultados más fiables. Háganse varias diluciones de la muestra preparada para obtener captación de OD en dicho intervalo. La experimentación con una muestra concreta permitirá el uso de un número menor de diluciones. Un análisis más rápido, tal como el DQO (NB 64009), presenta una correlación aproximada con el DBO y sirve como una guía para seleccionar las diluciones. En ausencia de datos previos, utilícense las siguientes diluciones: 0,0 a 1,0 por 100 para los residuos industriales fuertes, 1 a 5 por 100 para las aguas residuales depuradas y brutas, del 5 al 25 por 100 para el efluente tratado biológicamente y del 25 al 100 para las aguas fluviales contaminadas. Adicionalmente consúltese la Tabla 1.

Prepárense las diluciones en probetas y pásense después a frascos de DBO, o prepárense directamente en frascos de DBO. Cualquier método de dilución puede combinarse con cualquier técnica de determinación del OD. El número de frascos que se preparen de cada dilución depende de la técnica OD y del número de duplicados deseados.

Cuando se utilizan probetas para preparar las diluciones y es necesario sembrar, añádase la simiente directamente al agua de dilución o a las probetas individuales antes de diluir. La siembra de las probetas evita una disminución de la proporción de simiente con respecto a la muestra a medida que se hacen diluciones mayores. Cuando estas se preparan en los frascos de DBO y es necesario sembrar, añádase la simiente directamente al agua de dilución o a los frascos DBO.

8.5.7.1 Diluciones preparadas directamente en frascos de DBO: Utilizando una pipeta volumétrica de boca ancha, añádase el volumen de muestra deseado a frascos de DBO individuales de capacidad conocida. Añádase cantidades adecuadas del material de siembra a los frascos DBO individuales o al agua de dilución. Llénese los frascos con suficiente agua de dilución, sembrada si es necesario, de forma que la inserción del tapón desplace todo el aire, sin dejar burbujas. Para diluciones mayores de 1:100 hágase una primera dilución en una probeta antes de hacer dilución final en el frasco. Cuando se utilizan los métodos yodométricos de titulación para medir el OD, prepárense dos frascos de cada una de las diluciones. Determínese el OD inicial en un frasco. Ajústese herméticamente el tapón al segundo frasco, póngase un sello hidráulico, e incúbese durante 5 días a 20°C. Si se utiliza el método del electrodo de membrana para medir el OD, prepárese sólo una botella de DBO de cada dilución. Determínese el OD inicial de este frasco y reemplácese cualquier volumen desalojado con agua de dilución hasta llenarlo. Círrese herméticamente, con cierre hidráulico, e incúbese durante 5 días a 20°C. Aclárese el electrodo OD entre las determinaciones para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

8.6 Determinación de OD inicial: Si la muestra contiene materiales que reaccionan muy deprisa con el OD, determínese el OD inicial inmediatamente después de llenar el frasco DBO con muestra diluida. Si la captación rápida inicial de OD es insignificante, el tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución y la determinación del OD inicial no es crítico.

Utilícese el método del electrodo de membrana para determinar el OD inicial en todas las diluciones de la muestra, los blancos de dilución y, cuando sea apropiado, los controles de simiente; de acuerdo al siguiente procedimiento:

8.6.1 Se llena una botella de incubación con cada dilución, dejando que desborde ligeramente. Deben tomarse precauciones para evitar la modificación del contenido de oxígeno del medio.

8.6.2 Se eliminan las burbujas de aire adheridas a las paredes.

8.6.3 Se mide la concentración de oxígeno disuelto a tiempo cero en cada una de las botellas, utilizando el método del oxímetro.

8.6.4 Se cierran las botellas evitando que queden atrapadas burbujas de aire.

8.6.5 Se colocan las botellas con las soluciones de ensayo diluidas en la incubadora y se mantienen en la oscuridad durante 5 días \pm 4 h.

8.6.6 Tras la incubación, se determina la concentración de oxígeno disuelto en cada una de las botellas, utilizando el método especificado.

8.7 Blanco del agua de dilución: Empléese en blanco del agua de dilución como un control aproximado de la calidad del agua de dilución no sembrada y de la limpieza de los frascos de incubación. Junto con cada lote de muestras, incúbese un frasco de agua de dilución no sembrada. Determínese el OD inicial y final tal como se especifica en los párrafos 8.6 y 8.9. La captación de OD no deberá ser mayor de 0,2 mg/l y preferiblemente no superior a 0.1 mg/l.

8.8 Incubación: Incúbese a 20 °C. \pm 1 °C los frascos de DBO que contengan las diluciones deseadas, los controles de simiente, los blancos de agua de dilución, y los controles de glucosa-ácido glutámico. Sellar los frascos como se ha descrito en la sección 8.5.7.

8.9 Determinación del OD final: Después de 5 días de incubación, determínese el OD en las diluciones de la muestra, en los blancos y en los controles, como en la sección 8.6

9 CÁLCULO

Cuando el agua de dilución no está sembrada:

$$\text{DBO}_5 \text{ mg/l} = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Cuando el agua de dilución está sembrada;

$$\text{DBO}_5 \text{ mg/l} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2) \times f}{P}$$

donde:

D_1 = OD de la muestra diluida inmediatamente después de su preparación mg/l

D_2 = OD de la muestra diluida después de 5 días de incubación a 20°C, mg/l,

P = Fracción volumétrica decimal de la muestra utilizada.

B_1 = OD del control de simiente antes de la incubación, mg/l (apartado 4d)

B_2 = OD del control de simiente después de la incubación, mg/l (apartado 4d) y

f = Proporción de la simiente en la muestra diluida con respecto a la del control de simiente = (% de simiente en la muestra diluida) / (% simiente en el control de simiente)

Si se añade directamente la simiente a la muestra o a las botellas control de simiente:

f = (volumen de simiente en la muestra diluida) / (volumen de simiente en el control de simiente).

Exprésense los resultados como DBOC_5 , si se inhibe la nitrificación. Si mas de una dilución de la muestra cumple los criterios de un OD residual de al menos 1 mg/l y una depleción de OD de al menos 2 mg/l, y no hay evidencia de toxicidad a concentraciones de muestra mayores o de error obvio, hállese el promedio de los resultados que encajan en el intervalo aceptable.

No se deben hacer correcciones para la captación de OD por el blanco de agua de dilución durante la incubación. Esta corrección es innecesaria si el agua de dilución cumple los criterios del blanco estipulados antes. Si el agua de dilución no cumple estos criterios, es difícil hacer las correcciones adecuadas y los resultados serían cuestionables.

10 INCERTIDUMBRE Y SESGO

Véase Anexos A y B del [NB 64003](#)

11 INFORME

El responsable de elaborar todo informe que sea resultado de la aplicación de la Norma mínimamente debe considerar los siguientes puntos:

- 1 Objetivos
- 2 Procedimiento y métodos empleados
- 3 Referencias de la industria (razón social, localización, código CAEB)
- 4 Identificación del personal responsable
- 5 Resultados
- 6 Tabulación y comparación de valores con normas legales
- 7 Conclusiones y recomendaciones

12 BIBLIOGRAFIA

Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 15th Edition 1978. Método 5210. Pág. 5-2 – 5-12.

Universidad de Costa Rica. Centro de Investigación en contaminación Ambiental. Demanda Bioquímica de Oxígeno.

Calidad del Agua. Jairo Alberto Romero. Editorial Alfaomega. 1999. Pág.125.

IBNORCA: Instituto Boliviano de Normalización y Calidad

IBNORCA creado por Decreto Supremo Nº 23489 de fecha 1993-04-29 y ratificado como parte componente del Sistema Boliviano de la Calidad (SNMAC) por Decreto Supremo Nº 24498 de fecha 1997-02-17, es la Organización Nacional de Normalización responsable del estudio y la elaboración de Normas Bolivianas.

Representa a Bolivia ante los organismos Subregionales, Regionales e Internacionales de Normalización, siendo actualmente miembro activo del Comité Andino de Normalización CAN, del Comité Mercosur de Normalización CMN, miembro pleno de la Comisión Panamericana de Normas Técnicas COPANT, miembro de la International Electrotechnical Commission IEC y miembro correspondiente de la International Organization for Standardization ISO.

Revisión

Esta norma está sujeta a ser revisada permanentemente con el objeto de que responda en todo momento a las necesidades y exigencias actuales.

Características de aplicación de Normas Bolivianas

Como las normas técnicas se constituyen en instrumentos de ordenamiento tecnológico, orientadas a aplicar criterios de calidad, su utilización es un compromiso concienzudo y de responsabilidad del sector productivo y de exigencia del sector consumidor.

Información sobre Normas Técnicas

IBNORCA, cuenta con un Centro de Información y Documentación que pone a disposición de los interesados Normas Internacionales, Regionales, Nacionales y de otros países.

Derecho de Propiedad

IBNORCA tiene derecho de propiedad de todas sus publicaciones, en consecuencia la reproducción total o parcial de las Normas Bolivianas está completamente prohibida.