



## TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

### REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL

#### TEMA:

“IMPLEMENTAR EL MÉTODO DE LA NORMA NMX-AA-028-SCFI-2001 “DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES (DBO5) Y RESIDUALES TRATADAS” Y DE LA NMX-AA-030/2-SCFI-2012 “ANÁLISIS DE AGUA.MEDICIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS “

#### PRESENTA:

MILAGROS ALEJANDRA VELÁZQUEZ CONDE  
18270757

#### LUGAR DE REALIZACIÓN:

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA DE LA COMISIÓN NACIONAL  
DEL AGUA “CONAGUA”

#### ASESOR INTERNO:

ING. ROCIO FARRERA ALCAZAR

#### ASESOR EXTERNO:

ING. FRANCISCO DE LOS SANTOS TORRES

Ing. Francisco de los Santos Torres  
Jefe de Departamento de Calidad del  
Agua e Impacto Ambiental de la  
CONAGUA

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS

ENERO/2023



## 1 AGRADECIMIENTO

Primeramente, doy gracias a Dios por permitirme tener tan buena experiencia dentro de mi formación profesional en la carrera de ingeniería química, por todas las bendiciones que me ha brindado en mi vida y por permitirme este logro profesional.

Agradezco a mis padres por el tiempo, esfuerzo, dedicación, amor y apoyo incondicional que me han brindado todos estos años de vida. Sin duda todos sus consejos, correcciones y consuelos fueron de gran ayuda para no rendirme y esforzarme dando lo mejor de mí en todo aquello que realizaba.

Al Instituto Tecnológico de Nacional de México Campus Tuxtla Gutiérrez por haberme brindado excelentes maestros durante mi formación profesional que me enseñaron todos sus conocimientos con gran esmero y dedicación.

Agradezco a la empresa CONAGUA por la estancia y la oportunidad de realizar mi residencia profesional y a mi asesor externo el Ing. Francisco de los Santos Torres por haberme recibido de la mejor forma en el laboratorio de calidad del agua, permitirme desempeñar todos mis conocimientos adquiridos en la carrera y ofrecerme la mejor capacitación dentro del laboratorio. Agradezco el tiempo dedicado para asesorarme durante el proceso de realización del proyecto, por proporcionarme sus conocimientos para tener una mejor formación profesional.

A mi asesora interna la Ing. Rocio Farrera Alcázar por haberme apoyado y orientado con sus aportaciones y observaciones en cada asesoría de revisión de mi proyecto de residencia profesional proporcionándome sus conocimientos relacionados al proyecto y así lograr todos mis objetivos.



## 2 RESUMEN

Esta investigación se centra en implementar el método para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno  $DBO_5$  mediante la norma NMX-AA-028-SFCI-2001 que determina la cantidad de oxígeno consumida por una población microbiana para transformar la materia orgánica en un periodo de incubación de 5 días a  $20^{\circ}\text{C}$ , así mismo implementar el método para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno mediante la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2012 usando el método de tubo sellado para determinar la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar el material orgánico, donde ambos métodos son utilizados en el laboratorio de calidad del agua de las instalaciones de la Comisión Nacional del Agua “CONAGUA”.

### 2.1 Palabras Claves

Oxígeno disuelto, inóculo, materia orgánica, calidad del agua



### 3 ABSTRACT

This research focuses on implementing the method for determining the Biochemical Oxygen Demand BOD5 through the NMX-AA-028-SFCI-2001 standard, which determines the amount of oxygen consumed by a microbial population to transform organic matter in a period of time. incubation of 5 days at 20°C, likewise implement the method for the determination of the Chemical Oxygen Demand through the NMX-AA-030/2-SCFI-2012 standard using the sealed tube method to determine the amount of oxygen that it is required to oxidize the organic material, where both methods are used in the water quality laboratory of the facilities of the National Water Commission "CONAGUA".

#### 3.1 Keywords

Dissolved oxygen, inoculum, organic matter, water quality



## 4 INDICE

1	AGRADECIMIENTO .....	2
2	RESUMEN .....	3
2.1	Palabras Claves.....	3
3	ABSTRACT .....	4
3.1	Keywords .....	4
4	INDICE .....	5
5	INTRODUCCIÓN.....	12
6	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	13
6.1	Idea de investigación.....	13
6.2	Objeto motivo de estudio .....	13
7	JUSTIFICACIÓN .....	14
8	OBJETIVOS.....	16
8.1	Objetivo general:.....	16
8.2	Objetivos específicos:.....	16
9	MARCO TEÓRICO .....	17
9.1	Ciclo del agua .....	17
9.1.1	Necesidad de monitorear las fuentes de Agua .....	23
9.2	Calidad del agua .....	24
9.3	Substancias en el Agua.....	29
9.3.1	Aspectos Generales de los Análisis de Aguas .....	31
9.4	Oxígeno Disuelto, OD .....	31
9.4.1	NMX-AA-012-SCFI-2001 .....	31
9.4.2	Aspectos Teóricos .....	31
9.4.3	Degradación de la materia orgánica.....	33
9.4.4	Medición por el Método de Winkler .....	35
9.4.5	Reacciones Químicas Implícitas.....	36
9.5	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> ) .....	37
9.5.1	NMX-AA-028-SCFI-2001 .....	37
9.5.2	Aspectos Teóricos .....	37
9.5.3	Preservación y Almacenamiento de las Muestras .....	39
9.5.4	Interferencias y Limitaciones .....	40
9.6	Demanda Química de Oxígeno, DQO .....	41
9.6.1	NMX-AA-030/2-SCFI-2012.....	41
9.6.2	Aspectos Teóricos .....	41
9.6.3	Reactivos .....	43
9.6.4	Procedimiento.....	44
9.7	VALIDACIÓN .....	45



9.7.1	Selectividad .....	45
9.7.2	Linealidad .....	46
9.7.3	Límite de detección .....	46
9.7.4	Límite de cuantificación .....	46
9.7.5	Rango de aceptación .....	46
9.7.6	Exactitud .....	46
9.7.7	Precisión .....	47
9.7.8	Sensibilidad .....	47
9.7.9	Incertidumbre .....	47
10	PROCEDIMIENTO.....	48
10.1	Revisión documental de las normas, procedimientos y procesos del laboratorio .....	48
10.2	Capacitación en el manejo de equipos, materiales y reactivos a utilizar .....	48
10.3	Preparación de materiales establecimiento de métodos.....	49
10.3.1	Oxígeno Disuelto en aguas naturales y residuales .....	49
10.3.2	Demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO <sub>5</sub> ) y residuales tratadas	56
10.3.3	Demanda química de oxígeno (DQO) en aguas naturales y residuales (método de tubo sellado para concentraciones altas).....	67
10.4	Realización y estabilización de pruebas de laboratorio.....	74
10.4.1	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> ).....	74
10.4.2	Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	79
10.5	Realización de pruebas de desempeño .....	81
10.5.1	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).....	81
11	RESULTADOS .....	97
11.1	PARÁMETRO DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.....	97
11.2	PARÁMETRO DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO .....	104
12	CONCLUSIONES.....	108
13	RECOMENDACIONES.....	109
14	COMPETENCIAS DESARROLLADAS Y APLICADAS.....	110
15	BIBLIOGRAFÍA.....	111
16	ANEXOS.....	113

## INDICE DE ILUSTRACIÓN

Ilustración 1.	Fotosíntesis y respiración como parte del Ciclo del Agua .....	18
Ilustración 2.	Ciclo del Agua en una Zona Urbana .....	18



Ilustración 3 Sistema de Extracción con Soxhlet.....	19
Ilustración 4. Distribución porcentual de sitios de monitoreo en cuerpos de agua superficiales, indicadores de calidad de agua 2021.....	27
Ilustración 5. Caificación de sitios superficiales con el semáforo de calidad del agua.....	28
Ilustración 6. Escala de clasificación de la calidad de agua superficial, cuerpos de agua loticos (ríos, arroyos y corrientes), 2021.....	29
Ilustración 7. Medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensible.....	52
Ilustración 8. Preparación de la disolución de dicromato de potasio.....	53
Ilustración 9. Disoluciones de dicromato de potasio preparadas.....	53
Ilustración 10. Disoluciones para la preparación de la muestra a analizar.....	54
Ilustración 11. Muestras después de añadirles alcalina de yoduro-azida de sodio.....	54
Ilustración 12. Muestras después de añadirles ácido sulfúrico.....	55
Ilustración 13. Titulación de las muestras.....	56
Ilustración 14. Garrafa para el agua de dilución.....	59
Ilustración 15. Nutrientes para el agua de dilución.....	60
Ilustración 16. Bomba de aire.....	60
Ilustración 17. Checado de pH del agua de dilución con el potenciómetro.....	61
Ilustración 18. Inóculo comercial POLYSEED.....	62
Ilustración 19. Recipiente donde se deja enfriar el ácido glutámico y la glucosa.....	63
Ilustración 20. Horno donde se seca la glucosa y el ácido glutámico.....	63
Ilustración 21. Instrumentos y disoluciones que se utilizan en la preparación de los frascos winkler.....	64
Ilustración 22. Muestras del 5to día en incubación.....	66
Ilustración 23. Termómetro de la incubadora calibrado en 20°C.....	66
Ilustración 24. Pesaje de ftalato de potasio.....	68
Ilustración 25. Disoluciones estándar de altas concentraciones para determinación de DQO...	69



Ilustración 26. Etiquetado de tubos de digestión para altas y bajas concentraciones .....	70
Ilustración 27. Tubo de digestión .....	71
Ilustración 28. Digestor con tubos sellados de digestión a 150°C .....	71
Ilustración 29. Tubos sellados después de estar en 2 horas de digestión.....	72
Ilustración 30. Espectrofotómetro calibrado en cero con el blanco .....	73
Ilustración 31. Programa de DQO tubo sellado para curva de calibración .....	73
Ilustración 32. Agua de dilución oxigenándose con una bomba de aire .....	82
Ilustración 33. Materiales utilizados en el agua de dilución para las pruebas de desempeño .....	82
Ilustración 34. Materiales de laboratorio lavados y etiquetados para prueba de desempeño.....	83
Ilustración 35. pH del agua de dilución para la prueba de desempeño.....	84
Ilustración 36. Preparación del inóculo comercial POLYSEED para la prueba de desempeño..	85
Ilustración 37. Filtrado del agua de inóculo comercial POLYSEED .....	85
Ilustración 38. Secado de los reactivos para el estándar de las pruebas de desempeño .....	86
Ilustración 39. Pesaje de reactivos para el estándar utilizado en las pruebas de desempeño ...	87
Ilustración 40. Preparación de estándar de 198 mg/L y 20 mg/L para las pruebas de desempeño .....	88
Ilustración 41. Valoración del Tiosulfato de Sodio que se utiliza en las pruebas de desempeño	89
Ilustración 42. Estandar comercial HACH para muestra testigo.....	90
Ilustración 43. Preparación de las muestras para prueba de desempeño.....	91
Ilustración 44. Muestras para prueba de desempeño del quinto día en incubación.....	92
Ilustración 45. Muestras de la prueba de desempeño del día cero .....	93
Ilustración 46. Valoración del Tiosulfato de Sodio para el quinto día .....	94
Ilustración 47. Material utilizado y muestras a analizar del quinto día.....	94
Ilustración 48. Muestras del quinto día de la prueba de desempeño .....	95
Ilustración 49. Curva de calibración 30/11/2022.....	104



Ilustración 50. Curva de calibración 01/12/2022..... 105

Ilustración 51. Curva de calibración del 02/12/2022 ..... 106

Ilustración 52. Curva de calibración promedio de altas concentraciones ..... 107

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición Comparativa de Agua de Lluvia y Agua de Mar ..... 23

Tabla 2. Equipos y materiales utilizados para el método de Oxígeno Disuelto..... 49

Tabla 3. Reactivos utilizados para el método electrométrico y yodométrico ..... 50

Tabla 4. Equipos y materiales utilizados para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno ..... 57

Tabla 5. Reactivos que se utilizaron para el método de Demanda Bioquímica de Oxígeno ..... 57

Tabla 6. Equipos y materiales utilizados para el método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno ..... 67

Tabla 7. Reactivos que se utilizaron para el método de Demanda Química de Oxígeno..... 67

Tabla 8. Condicionantes para pruebas de demanda bioquímica de oxígeno..... 75

Tabla 9. Diseño experimental de las pruebas para demanda bioquímica de oxígeno ..... 76

Tabla 10. Diseño experimental para pruebas de demanda bioquímica de oxígeno ..... 77

Tabla 11. Diseño experimental para validación del método de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) ..... 78

Tabla 12. Diseño para determinación de demanda química de oxígeno (DQO) ..... 80

Tabla 13. Diseño experimental de la prueba de desempeño de DBO ..... 81

Tabla 14. Recopilación de datos de todas las pruebas de DBO<sub>5</sub> realizadas con estándar de 198 mg/L y 20 mg/L..... 101

Tabla 15. Datos de curva de calibración de alta concentración del 30/11/2022 ..... 104

Tabla 16. Datos de curva de calibración de alta concentración 01/12/2022 ..... 105

Tabla 17. Datos de curva de calibración altas concentraciones 02/12/2022 ..... 105

Tabla 18. Datos para curva de calibración promedio altas concentraciones..... 107



## INDICE DE ANEXO

Anexo 1 Cronograma de actividades del proyecto.....	113
Anexo 2. NMX-AA-012-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-012-1980)” .....	114
Anexo 3.NMX-AA-028-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES,RESIDUALES (DBO5) Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DEPRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-028-1981)” ..	125
Anexo 4. NMX-AA-030/2-SCFI-2012” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA - PARTE 2 - DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO – MÉTODO DE TUBO SELLADO A PEQUEÑA ESCALA” .....	140
Anexo 5.Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Oxígeno Disuelto. Método electrométrico.....	150
Anexo 6.Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Oxígeno Disuelto. Método yodométrico.....	150
Anexo 7.Procedimiento del método electrométrico (calibración del medidor de oxígeno disuelto para la determinación de oxígeno disuelto .....	152
Anexo 8.Procedimiento del método yodométrico para la determinación de oxígeno disuelto ..	153
Anexo 9.Procedimiento de la preparación de disoluciones para los nutrientes utilizados en el agua de dilución. Parámetro: Demanda Bioquímica de Oxígeno.....	154
Anexo 10.Procedimiento de la preparación del estándar para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno.....	155
Anexo 11. Procedimiento de la preparación del agua de dilución para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno.....	156
Anexo 12.Procedimiento de la preparación del inculo comercial para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno.....	157
Anexo 13. Procedimiento de la preparación de las muestras para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno .....	158
Anexo 14. Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Demanda Química de Oxígeno.....	159
Anexo 15. Procedimiento de la preparación de las muestras para el método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno .....	160



Anexo 16. Cronograma de actividades en el laboratorio ..... 161

Anexo 17. Descripción de actividades del cronograma del laboratorio ..... 161



## 5 INTRODUCCIÓN

La calidad de agua de los cuerpos hídricos garantiza un desarrollo sustentable de la vida acuática y del ser humano. Razón por la cuál es fundamental realizar un análisis para determinar los niveles de contaminación de materia orgánica contenida en el agua, por lo que en este proyecto se pretende hablar de dos parámetros importantes en el análisis de calidad del agua:

La Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) es uno de los parámetros de mayor importancia en el estudio y caracterización de las aguas no potables, debido a que además de indicarnos la presencia y biodegradabilidad del material orgánico presente, es una forma de estimar la cantidad de oxígeno que se requiere para estabilizar el carbono orgánico y de saber con qué rapidez este material va a ser metabolizado por las bacterias que normalmente se encuentran presentes en las aguas residuales.

Por otro lado, la Demanda Química de Oxígeno (DQO) es considerado el único método para medir cantidad de residuos industriales en el agua, que no puede ser medido por el parámetro de la Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ), siendo de esta manera un análisis indispensable en plantas de tratamiento de agua y efluentes. Además de ser un método muy utilizado para fines operativos debido a la rapidez de estas pruebas en cuestión de obtención de resultados, en comparación con el parámetro de la Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ).



## 6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El laboratorio de Calidad del Agua de la Comisión Nacional del Agua “CONAGUA” al ser un laboratorio acreditado le corresponde evaluar el cumplimiento de las Normas Oficiales Mexicanas y al estar actualizada la NOM-001-SEMARNAT- 1996 a NOM-001-SEMARNAT-2021, se debe evaluar de nuevo en base a los parámetros de Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) y Demanda Química de Oxígeno (DQO), los cuáles sus métodos se implementarán para dicha evaluación.

Además de que los parámetros de Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) y Demanda Química de Oxígeno (DQO) son importantes para evaluar los cuerpos de aguas residuales determinando el nivel de contaminación del agua y los efluentes de manera que se compruebe si cumplen con las normas establecidas.

### 6.1 Idea de investigación

Estabilizar la cantidad de inóculo comercial a usar en el método para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) de manera que se cumpla con un consumo de 0.5 – 1 mg/L de oxígeno disuelto (OD) en el blanco con inóculo (BC/I) y un 80 – 120% de recuperación. Así mismo implementar el método de tubo sellado para la determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

### 6.2 Objeto motivo de estudio

Implementar el método para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) y la Demanda Química de Oxígeno de manera que en el laboratorio de calidad del agua de la Comisión Nacional del Agua “CONAGUA” se evalúen los cuerpos



de aguas residuales y a su vez sea evaluado la NOM-001-SEMARNAT-2021 que ha sido actualizada.

## 7 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, las Normas Oficiales Mexicanas en materia de prevención y control de la contaminación del agua en México (NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-002-SEMARNAT-1996) y ahora actualizada (NOM-001-SEMARNAT-2021), establecen que las empresas deben realizar un muestreo compuesto de sus aguas residuales de acuerdo a las horas y caudal de operación y enviar a analizar las muestras a un laboratorio acreditado ante la Entidad Mexicana de Acreditación A.C., como lo es en este caso el laboratorio de calidad del agua de la Comisión Nacional del Agua “CONAGUA”, donde con base a sus resultados, es como se establece el cumplimiento de las Normas Oficiales Mexicanas por parte de las empresas.

Las NOM antes mencionada, regulan como contaminantes básicos: la temperatura, las grasas y aceites, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales (SST), demanda bioquímica de oxígeno ( $DBO_5$ ), nitrógeno total, fosforo total, pH y coliformes fecales, regulando como carga contaminante las descargas urbanas e industriales por su contenido de  $DBO_5$  y SST. Teniendo en cuenta con lo antes visto que las normas oficiales en México no regulan la Demanda Química de Oxígeno (DQO) que refleja la materia orgánica biodegradable y la no biodegradable en las descargas de aguas residuales industriales y urbanas.

La Ley Federal de Derechos, en su capítulo XIV, “Derecho por uso o aprovechamiento de bienes del dominio público de la nación como cuerpos receptores



de las descargas de aguas residuales”, establece como mecanismo para calcular los montos a pagar por metro cúbico descargado a cuerpo receptor, la medición y cálculo de los SST y la DQO y en función del tipo de cuerpo receptor y la actividad que generó la descarga, se establece el monto a pagar por dichas descargas. Esta ley obliga a la medición de ambos parámetros, que, en el caso de la DQO al no estar regulada, sólo se mide y reporta con fines de fijar el pago por dichas descargas. Lo anterior ha provocado, que al año 2016, casi el 32% de los sitios de la red de monitoreo de la calidad del agua de la CONAGUA en México, se consideren contaminados y fuertemente contaminados en función del parámetro DQO. Todo lo anterior, obliga a la actualización de las NOM 001 y 002, en donde debe considerarse la DQO y algunos otros parámetros como el color, como un elemento regulatorio en las descargas de agua residual industrial y urbana, así como considerar el caudal y la capacidad de asimilación y dilución del cuerpo de agua, tal como lo establece la Ley de Aguas Nacionales, con el objeto de mejorar la calidad de los cuerpos de agua superficiales en México.

El pasado 11 de marzo del año en curso, se publicó la nueva NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación. En esta nueva norma se adicionan los parámetros de DQO y COT para medir la materia orgánica en lugar de la  $DBO_5$ , así como los parámetros de Color y Unidades de Toxicidad y se modifican algunos valores de cumplimiento como el de pH, temperatura y Sólidos Suspendidos Totales, con el objeto de mejorar la calidad del agua y proteger a los ecosistemas de los cuerpos receptores en México. La entrada en vigor de esta nueva norma se dará en abril del 2023.



Adicionalmente, existe la problemática de que los resultados de los análisis de laboratorio se obtienen en el mejor de los casos, horas, si no es que días o hasta una semana después de realizada la toma de muestra, lo cual no permite usar dichos resultados para tomar decisiones de manera inmediata y tener el adecuado control de los procesos o de la operación de las plantas de tratamiento.

A nivel de laboratorio el método de determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ ) es necesario para la estabilización del inóculo comercial, debido a que, al ser nuevo producto a utilizar, es necesario saber la cantidad exacta a utilizar de inóculo de manera que cumpla con las condiciones de la norma, un consumo de oxígeno disuelto en el blanco menor de 0.5 – 1 mg/L de oxígeno disuelto (OD) en el blanco con inóculo (BC/I) y un 80 – 120% de recuperación. En el caso del método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO), se pretende implementar el método de manera adecuada para tener el mínimo valor de incertidumbre al momento de obtener resultados en la curva de calibración.

## 8 OBJETIVOS

### 8.1 Objetivo general:

Estabilizar el uso de inóculo comercial para la determinación de la  $DBO_5$  e implementar el método de DQO en tubo sellado para concentraciones altas.

### 8.2 Objetivos específicos:

- Implementar el método de la norma NMX-AA-028-SFCI-2001
- Implementar el método de la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2012



- Medir concentraciones altas de demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas utilizando el método de tubo sellado.

## 9 MARCO TEÓRICO

### 9.1 Ciclo del agua

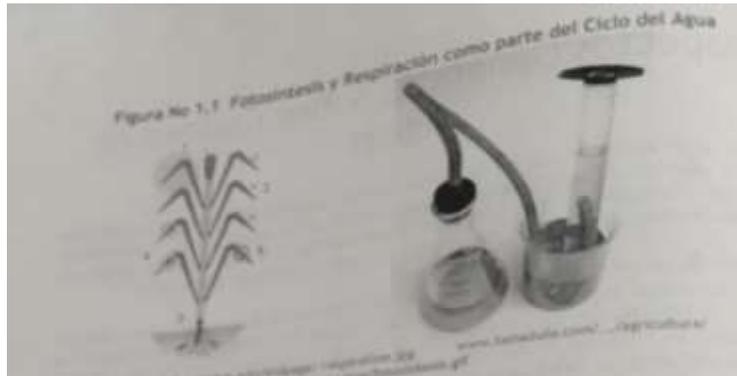
El agua es el origen de la vida y la sustancia esencial para su desarrollo. Regula la distribución y la densidad de la vegetación sobre la superficie de la tierra y con esto, ejerce un control sobre la vida misma. (León, Septiembre 2002)

El agua en la naturaleza es un ente dinámico; cambia constante de lugar de estado y de composición. Puede encontrarse en forma de agua salada en los océanos, en forma de agua dulce en algunas fuentes naturales o en forma químicamente muy pura, en las grandes masas nubosas continentales. Continuamente, una gran cantidad de agua se transforma en carbohidratos, mediante los procesos fotosintéticos que realizan las plantas y otra cantidad equivalente es generada mediante la respiración de los organismos aeróbicos. (León, Septiembre 2002)

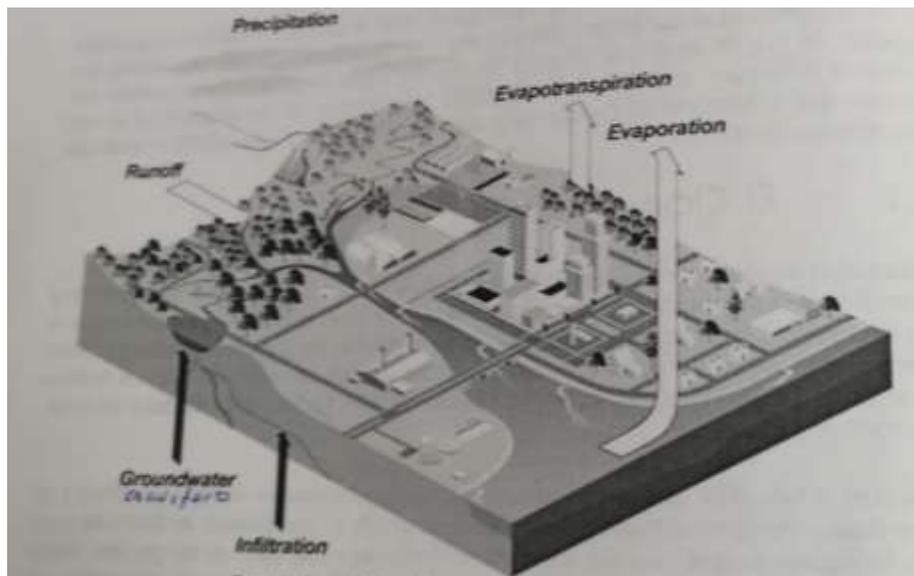
El ciclo hidrogeoquímico por medio del cual, el agua en su continuo movimiento, transporta y deposita en el mar, grandes cantidades de masa desde el interior de los continentes hasta el fondo del lecho oceánico. En efecto, el ciclo del agua realiza en su movimiento un proceso extractivo sobre los materiales de la superficie de la tierra, similar al que realiza un sistema Soxhlet sobre productos

vegetales, donde básicamente consiste en un equipo de laboratorio utilizado para obtener extractos productos naturales. (León, Septiembre 2002)

*Ilustración 1. Fotosíntesis y respiración como parte del Ciclo del Agua*



*Ilustración 2. Ciclo del Agua en una Zona Urbana*

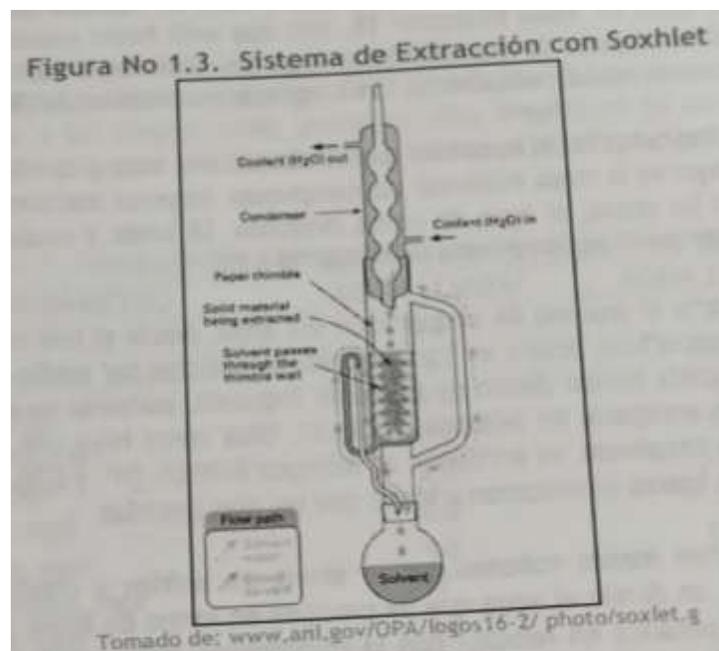


En este símil, los materiales terrestres actúan como el material extractable, el agua en su movimiento como el solvente extractante, el mar como el hervidor en donde se concentra el extracto y el sol como la manta de calentamiento que

provee la energía necesaria para mantener activo el proceso. Figura 2. (León, Septiembre 2002)

Cada sifoneo en el Soxhlet, representa un ciclo completo en la naturaleza, es decir una “lloviznita” equivalente al chapuzón que se recibiría, si toda el agua existente en los ríos, lagos y mares del mundo, lloviese de repente sobre los continentes, durante un solo evento de precipitación. Aunque en realidad los ciclos del agua en la naturaleza distan mucho de parecerse a los de un Soxhlet, el resultado en cuanto al transporte de materia si es muy semejante. Es en virtud de este transporte de masa que el agua del mar tiene su salinidad característica. (León, Septiembre 2002)

*Ilustración 3 Sistema de Extracción con Soxhlet*





Pero el agua al caer y transitar sobre la superficie de la tierra, no solamente transporta materiales hacia el mar, sino que también erosiona su superficie, moldea el paisaje y esculpe nuevas formas sobre la superficie de la tierra. A su paso por los continentes, el agua renueva la vegetación y activa los ciclos vitales de los ecosistemas. (León, Septiembre 2002)

Otro de ciclos paralelos al gran Ciclo hidrológico, lo constituye el fraccionamiento isotópico del agua, el cual es accionado por los procesos de evaporación y condensación. Para entender este fraccionamiento, es necesario partir del reconocimiento de la existencia de los tres isótopos del hidrogeno y los dos de oxígeno.

Oxígeno	Número Atómico 8	Masa Atómica 16
Oxígeno	Número Atómico 8	Masa Atómica 17
Hidrógeno	Número Atómico 1	Masa Atómica 1
Hidrógeno	Número Atómico 1	Masa Atómica 2
Hidrógeno	Número Atómico 1	Masa Atómica 3

Así las cosas, el agua, normalmente representada por  $H_2O$ , en realidad no está compuesta exclusivamente por agua de masa molecular 18, si no que está forma coexiste con todas las demás formas posibles, a partir de la combinación entre los diferentes isótopos de hidrógeno y oxígeno, esto es, agua de masa molecular 19, DHO, agua de masa molecular 20,  $D_2O$ , etc., etc. (León, Septiembre 2002)



Por otra parte, es bien conocido el hecho de que, dentro de una misma familia de compuestos químicos, cuanto mayor es la masa molecular del compuesto, mayores son sus puntos de fusión y de ebullición. Así las cosas, el agua de masa molecular 18 funde y ebulle a temperaturas ligeramente más bajas que el agua de masa molecular 19 o 20. (León, Septiembre 2002)

Es por esto que, durante el proceso de evaporación del agua, desde el mar o desde cualquier otro cuerpo de agua superficial, ocurre un fraccionamiento isotópico por medio del cual, el agua que permanece estado líquido dentro de la fuente expuesta, aumenta su concentración en isótopos pesados, tales como  $H^2$  y  $O^{18}$ , mientras que la masa de vapor que se desprende, se enriquece en isótopos livianos, tales como  $H^1$  y  $O^{16}$ . Esto se debe a que las moléculas más ligeras se evaporan primero que las más pesadas. (León, Septiembre 2002)

A su vez, cuando dichas masas nubosas ganan altura, se enfrían y condensan causando eventos de precipitación, en donde el agua se precipita en forma de lluvia, posee un mayor contenido de isótopos pesados en relación con la composición isotópica de la masa nubosa remanente. Esto, debido a que las moléculas más pesadas condensan más fácilmente que las más livianas. (León, Septiembre 2002)

El efecto global de los fenómenos de evaporación y condensación del agua consiste en que, de una manera muy aproximada, cada cuerpo de aguas puede caracterizarse por su proporción relativa de isótopos livianos y pesados, es decir, por su firma isotópica que le caracteriza y distingue de los demás cuerpos de agua.



Así, la isotopía constituye una herramienta natural sumamente útil en los estudios hidrológicos y ambientales. (León, Septiembre 2002)

Por otra parte, un inventario “instantáneo” de las fuentes hídricas terrestres, desde la atmosfera hasta la aproximada los 4.000 m de profundidad bajo el nivel del mar, arroja los siguientes resultados, Fetter, 1994:

Agua salada en los océanos:	97.20%
Agua en los glaciares y capas polares:	2.14%
Agua Subterránea:	0.61%
Agua superficial, (ríos, lagos, etc):	0.009%
Agua como humedad del suelo:	0.005%
Agua atmosférica, (vapor, nubes):	0.001%

Estos resultados hablan por sí solos de la importancia que tiene el agua subterránea como fuente potencial para el abastecimiento humano, Fetter, 1991., y de la escasa proporción del agua dulce en relación con el volumen de agua salada.

Las reservas de agua subterránea son aproximadamente 70 veces más grandes que las de agua superficial y como, las reservas de agua superficiales y subterráneas juntas, apenas constituyen el 0.6% del agua líquida total del planeta. Así, aun cuando las tres cuartas partes de la superficie terrestre se hallen cubiertas de agua, su volumen realmente disponible es muy bajo, máxime en nuestra época, cuando los fenómenos de contaminación son cada vez más frecuentes. (León, Septiembre 2002)



Las diferencias entre el agua dulce y el agua salada presente en los océanos, pueden apreciarse fácilmente mediante el análisis comparativo de su composición. Si bien estas diferencias pueden verse tan grandes o tan simples como queramos, ellas determinan su uso potencial para el abastecimiento humano y para muchos otros fines cotidianos. (León, Septiembre 2002)

*Tabla 1. Composición Comparativa de Agua de Lluvia y Agua de Mar*

PARÁMETRO	AGUA DE LLUVIA	AGUA DE MAR
PH	5.6	8.2
Conductividad, $\mu\text{S/cm}$	6	48300
Calcio, mg/l	0.3	418
Magnesio, mg/l	0.6	1330
Sodio, mg/l	1.2	11035
Potasio, mg/l	0.6	397
Cloruros, mg/l	< 5	19841
Bicarbonatos, mg/l	7	146
Sulfatos, mg/l	< 5	2769
Nitratos, mg/l (N)	No medido	< LD

### 9.1.1 Necesidad de monitorear las fuentes de Agua

Una inherente a la distribución del agua para el consumo de una población, la constituye la generación de grandes volúmenes de agua residual, que, por lo general, tienen como punto de descarga final, las mismas fuentes de abastecimiento. El procedimiento regular puede resumirse de la siguiente forma:

Mediante una operación simple, una comunidad ribereña coloca sobre el cauce, una bocatoma ubicada en posición “aguas arriba” del asentamiento, para abastecer mediante una red de suministro las necesidades de la población. Las aguas residuales que se van generando, se van evacuando constantemente mediante un sistema de alcantarillado, hasta un canal colector que las conduce nuevamente hacia el cauce, en



un punto ubicado en posición “aguas abajo” con respecto al asentamiento. (León, Septiembre 2002)

Como consecuencia de este procedimiento, el agua que llega a las comunidades ubicadas “aguas abajo” de las primeras, será siempre de menor calidad. Cuando este procedimiento se repite a lo largo de la trayectoria de un río, sus aguas se van deteriorando hasta que se llega un punto en el cual, el cauce pierde su capacidad natural de auto depuración. Las aguas se tornan incapaces de sostener la vida, se deteriora el ecosistema y ya no es posible que otra comunidad más, ubicada en condición “aguas abajo”, pueda servirse de este mismo cauce. (León, Septiembre 2002)

En las actuales circunstancias, el crecimiento de la población humana en muchos lugares del mundo, es tal, que prácticamente todas las comunidades se hallan ubicadas en condición “aguas abajo”. Ya que las aguas residuales contienen una amplia gama de contaminantes y agentes patógenos que afectan la salud pública, la vigilancia y el control sobre la “Calidad del Agua”, constituye uno de los factores ambientales más importantes, para cualquier comunidad. (León, Septiembre 2002)

## 9.2 Calidad del agua

La calidad del agua, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud y otros organismos internacionales, se puede resumir como las condiciones en que se encuentra el agua respecto a características físicas, químicas y biológicas, en su estado natural o después de ser alteradas por el accionar humano. La calidad del agua, en general, se determina comparando las características físicas y



químicas de una muestra agua con unas directrices de calidad del agua o estándares. (SEMARNAT, 2014)

El deterioro de la calidad del agua se ha convertido en motivo de preocupación mundial, debido al crecimiento de la población humana, la expansión de la actividad industrial y agrícola y la amenaza del cambio climático como causa de importantes alteraciones en el ciclo hidrológico. (Subdirección General Técnica. Gerencia de Calidad del Agua. Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua. Resultados del Agua a partir de 2012, 2012)

La mala calidad del agua se traduce en muchos costos económicos: la degradación de los servicios de los ecosistemas, los costos relacionados con la salud, los impactos en las actividades económicas, el aumento de los costos de tratamiento de agua y la reducción de los valores de propiedad, entre otros. Organismos internacionales como la OMS y las Naciones Unidas, entre otros. (Subdirección General Técnica. Gerencia de Calidad del Agua. Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua. Resultados del Agua a partir de 2012, 2012)

La descarga de aguas residuales domésticas e industriales sin un proceso de tratamiento que elimine los contaminantes que contienen afecta negativamente la calidad de las aguas superficiales que las reciben. La calidad del agua de un cuerpo depende de múltiples factores, entre los que destacan la calidad y cantidad de las descargas directas de agua o de residuos sólidos provenientes de las actividades domésticas, agropecuarias o industriales, así como la disposición inadecuada de residuos sólidos urbanos o peligrosos que pueden, a través de los

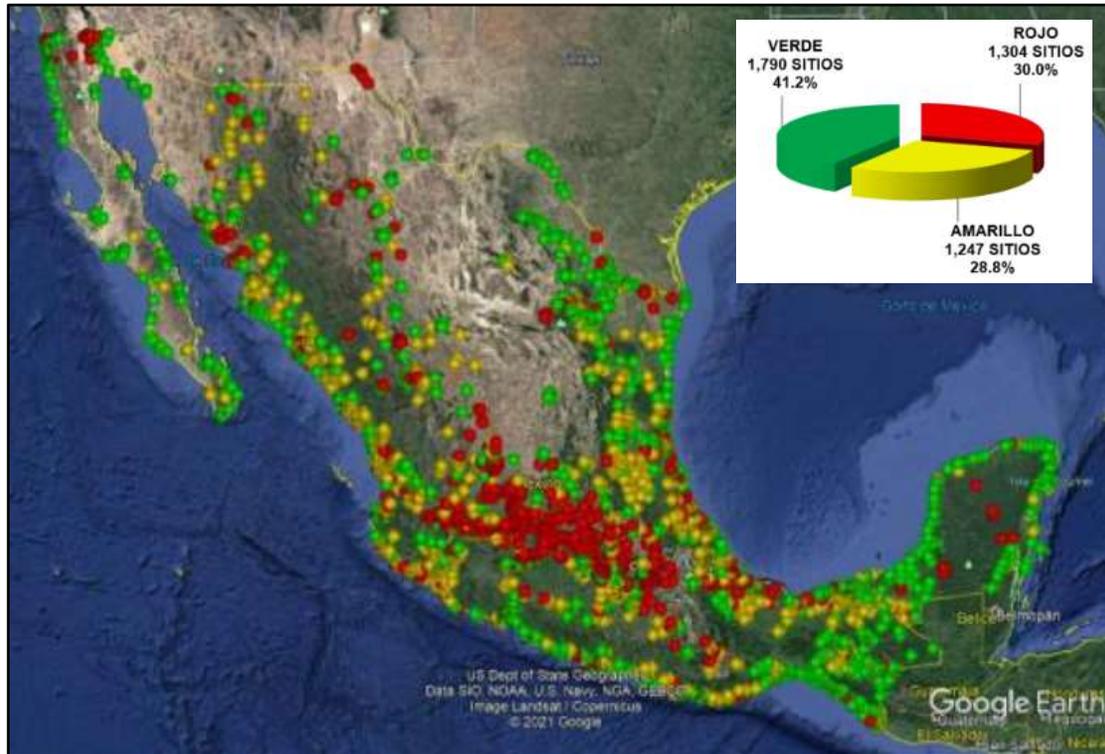


escurrimientos superficiales y lixiviados contaminar los cuerpos de agua, entre otros. Los contaminantes que llegan a los cuerpos superficiales dañan tanto a los ecosistemas acuáticos (en ríos, canales, lagos y mares) como a la salud humana. Aun cuando los ecosistemas acuáticos y terrestres son capaces de procesarlos y diluirlos hasta cierto grado, en altas concentraciones y sin tratamiento pueden, además de causar la desaparición de la vegetación y fauna, impedir el aprovechamiento de los recursos hídricos de los cuerpos afectados. (Subdirección General Técnica. Gerencia de Calidad del Agua. Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua. Resultados del Agua a partir de 2012, 2012)

En México, la calidad del recurso hídrico se mide sistemáticamente a través de la Red Nacional de Monitoreo (RNM) de la Comisión Nacional del Agua (Conagua). A partir de 2012 se inicia la operación de una nueva Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua, que se realiza el monitoreo sistemático en los cuerpos de agua nacionales más importantes del país. En 2021, la RNM contaba con 4,341 sitios de monitoreo en aguas superficiales (ríos, arroyos, lagos, lagunas, presas y zonas costeras), de los cuales 1,304 sitios que corresponde al 30% se encuentra en **rojo**, quiere decir que **no cumple** con DBO, DQO, Toxicidad y/o Enterococos; 1,247 sitios que corresponde al 28.8% se encuentra en **amarillo**, quiere decir que **no cumple** con Escherichia coli, Coliformes fecales, Sólidos suspendidos totales. A los anteriores hay que añadir 1,790 sitios pertenecientes al 41.2% que se encuentra en color **verde** y quiere decir, que son los sitios que **si cumplen** con todos los indicadores. (Subdirección General Técnica. Gerencia de

## Calidad del Agua. Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua. Resultados del Agua a partir de 2012, 2012)

*Ilustración 4. Distribución porcentual de sitios de monitoreo en cuerpos de agua superficiales, indicadores de calidad de agua 2021.*



La Conagua publica entre sus principales indicadores de calidad del agua, la demanda bioquímica de oxígeno a cinco días ( $DBO_5$ ), la demanda química de oxígeno (DQO) y la concentración de sólidos suspendidos totales (SST), Coliformes fecales (CF), Enterococos fecales (ENTEROC), Escherichia coli (E\_COLI), y porcentaje de saturación de oxígeno disuelto (OD%). La  $DBO_5$  es un indicador de la cantidad de materia orgánica presente en el agua. Su incremento provoca la disminución del contenido de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua, creando condiciones de “anoxia” que dañan a las comunidades biológicas de los

ecosistemas acuáticos. (Subdirección General Técnica. Gerencia de Calidad del Agua. Red Nacional de Monitoreo de la Calidad del Agua. Resultados del Agua a partir de 2012, 2012)

*Ilustración 5. Caificación de sitios superficiales con el semáforo de calidad del agua*

SEMÁFORO DE CALIDAD DEL AGUA			
	Indicador	No cumple	Cumple
Si los resultados de calidad del agua indican incumplimiento en uno o más de los indicadores, el sitio se pinta de rojo.	DBO	Rojo	Verde
	DQO	Rojo	Verde
	TOX	Rojo	Verde
	ENTEROC	Rojo	Verde
Si los resultados de calidad del agua indican incumplimiento en uno o más de los indicadores, el sitio se pinta de amarillo.	E COLI	Amarillo	Verde
	CF	Amarillo	Verde
	SST	Amarillo	Verde
	OD%	Amarillo	Verde

En 2021, el 30% de los 4,341 sitios de monitoreo examinados tuvo medidas de DBO<sub>5</sub> superiores a los 30 mg/L, valor que se clasifica como de una contaminada calidad del agua. Y en tuvo medidas de DQO superiores a los 40 mg/L, por lo que al estar contaminada el color del semáforo por incumplimiento de calidad del agua es rojo, como se puede observar en la ilustración 6.

*Ilustración 6. Escala de clasificación de la calidad de agua superficial, cuerpos de agua loticos (ríos, arroyos y corrientes), 2021*

CALIDAD DEL AGUA DE CUERPOS LÓTICOS									
INDICADORES DE CALIDAD DEL AGUA				CALIFICACIÓN, CÓDIGO DE COLORES Y ESCALA DE CALIDAD DEL AGUA DEL INDICADOR					SEMÁFORO
INDICADOR	CAMPOS DE LA BASE DE DATOS	ABREVIACIÓN	UNIDADES	CUMPLIMIENTO			INCUMPLIMIENTO		COLOR DEL SEMÁFORO EN CASO DE INCUMPLIMIENTO DEL INDICADOR
				EXCELENTE	BUENA CALIDAD	ACEPTABLE	CONTAMINADA	FUERTEMENTE CONTAMINADA	
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO, 5 DÍAS	DBO_TOT	DBO	mg/L	DBO<=3	3<DBO<=6	6<DBO<=30	30<DBO<=120	DBO>120	ROJO
DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO	DQO_TOT	DQO	mg/L	DQO<=10	10<DQO<=20	20<DQO<=40	40<DQO<=200	DQO>200	ROJO
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	SST	SST	mg/L	SST<=25	25<SST<=75	75<SST<=150	150<SST<=400	SST>400	AMARILLO
COLIFORMES FECALES	COLL_FEC	CF	NMP/100 mL	CF<=100	100<CF<=200	200<CF<=1000	1000<CF<=10000	CF>10000	AMARILLO
ESCHERICHIA COLI	E_COLI	EC	NMP/100 mL	EC<=250	250<EC<=500	500<EC<=1000	1000<EC<=10000	EC>10000	AMARILLO
PORCENTAJE DE SATURACIÓN DE OXÍGENO DISUELT	OD_%	OD	%	70<OD<=110	50<OD<=70 Y 110<OD<=120	30<OD<=50 Y 120<OD<=130	10<OD<=30 Y 130<OD<=150	OD<=10 Y OD>150	AMARILLO
INDICADOR	CAMPOS DE LA BASE DE DATOS	ABREVIACIÓN	UNIDADES	CUMPLIMIENTO			INCUMPLIMIENTO		COLOR DEL SEMÁFORO EN CASO DE INCUMPLIMIENTO DEL INDICADOR
				NO TÓXICO	TOXICIDAD BAJA	TOXICIDAD MODERADA	TOXICIDAD ALTA		
TOXICIDAD DAPHNIA MAGNA, 48 h	TOX_D_48_UT	TA	Unidades de Toxicidad	TA < 1	1<=TA<=1.33	1.33<TA < 5	TA >= 5		ROJO
TOXICIDAD VIBRIO FISCHERL, 15 min	TOX_V_15_UT	TA	Unidades de Toxicidad	TA < 1	1<=TA<=1.33	1.33<TA < 5	TA >= 5		ROJO
TODOS LOS INDICADORES				En caso de cumplimiento de todos los indicadores, el color del semáforo es verde					VERDE

### 9.3 Substancias en el Agua

Muchas sustancias provenientes de las diferentes actividades humanas, pueden incorporarse a las fuentes hídricas de donde se abastece una determinada población, ocasionando de esta forma, eventos de contaminación que ponen en riesgo la salud de sus habitantes. (León, Septiembre 2002)

Como regla general, las aguas superficiales son más susceptibles a la contaminación que las aguas subterráneas y su contaminación suele ser un proceso evidente y de efectos inmediatos. La contaminación de fuentes subterráneas es por en cambio, un proceso inicialmente inadvertido, pero de efectos mucho más persistentes, costosos y técnicamente difíciles de remediar. (León, Septiembre 2002)

Se han identificado una gran variedad de contaminantes en el agua que involucra prácticamente, a cualquier tipo de sustancia toxica. Desde el punto de vista exclusivo del



reservorio o fuente hídrica, tiene particular importancia la susceptibilidad natural o fragilidad del miso a la contaminación, (es decir, su vulnerabilidad intrínseca). (León, Septiembre 2002)

Desde el punto de vista del contaminante, es de particular importancia su naturaleza fisicoquímica, es decir, su persistencia o estabilidad química en diferentes ambientes, su facilidad para ser transportado por el agua (solubilidad) y su grado de toxicidad. (León, Septiembre 2002)

Conforme aumenta la variedad de contaminantes en el agua, aumenta también la complejidad para su detección. A esta dificultad se suma su alto grado de toxicidad de muchas sustancias, que aun estando en concentraciones muy bajas, la hacen inadecuada para el consumo humano. (León, Septiembre 2002)

Cuando se habla de “bajas concentraciones”, es preciso tener conciencia de la dificultad que involucran estas mediciones. Detectar y medir una sustancia en la escala porcentual o de las partes por mil, es una labor técnica relativamente fácil. Pero conforme disminuye la concentración que se requiere medir, aumenta la dificultad, el costo y la incertidumbre en la medición. (León, Septiembre 2002)

La toxicidad de la mayoría de los contaminantes que han sido detectados en el agua, (pesticidas, metales pesados, compuestos organoclorados, compuestos orgánicos sintéticos, etc.), exigen mediciones confiables en la escala de las partes por billón. Este es el reto que deben asumir los laboratorios de análisis de aguas, en cualquier parte del mundo. (León, Septiembre 2002)



### 9.3.1 Aspectos Generales de los Análisis de Aguas

Una muestra de agua puede contener una gran variedad de compuestos, disueltos o en suspensión, algunos de origen natural y otros de origen antrópico. Un análisis no puede estar orientado a la identificación y cuantificación de todos ellos. (Loma, Marzo, 2018)

## 9.4 Oxígeno Disuelto, OD

### 9.4.1 NMX-AA-012-SCFI-2001

#### **NMX-AA-012-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-012-1980)”**

Este método se guía de acuerdo a la norma NMX-AA-012-SCFI-2001, que se muestra en el anexo 2 (pag. 114). En la norma se explica detalladamente el procedimiento del método para la determinación de oxígeno disuelto. (DGN, NMX-AA-012-SCFI-2001-ANÁLISIS DE AGUA- DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS -MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-012-1980), 2001)

### 9.4.2 Aspectos Teóricos

El oxígeno disuelto proviene de la mezcla del agua con el aire ocasionado por el viento, y en la mayoría de los casos, principalmente del oxígeno que liberan las plantas acuáticas en sus procesos de fotosíntesis. La solubilidad del oxígeno como la de cualquier gas en el agua, depende de la presión imperante en cada punto, de la temperatura media del cuerpo de aguas y de su contenido en sales disueltas. En términos generales del O<sub>2</sub> es directamente proporcional a la presión e inversamente proporcional a la temperatura y a la salinidad del agua. (Loma, Marzo, 2018)



La dependencia de la temperatura en la solubilidad de un gas puede observarse en hechos cotidianos tales como el de hervir agua en un recipiente, mediante el burbujeo que se desprende conforme va subiendo la temperatura. La dependencia de la presión puede observarse en el simple hecho de destapar una bebida carbonatada, por la efervescencia que se produce cuando se equilibra la presión interna de la botella con la presión exterior. (Loma, Marzo, 2018)

Una consecuencia de la dependencia de la presión en la solubilidad de un gas la constituye el llamado mal de montaña, generado por el desprendimiento de oxígeno en la sangre cuando el cuerpo cambia bruscamente de presión. Esta dependencia se expresa matemáticamente mediante la Ley de Henry,  $C=kP$ , en donde  $C$  = es la concentración molar del oxígeno;  $k$  = constante de proporcionalidad =  $0.00035 \text{ mol/L} \cdot \text{Atmsf}$  y  $P$  = a la presión del agua en un determinado punto, dentro de un cuerpo de aguas. (Loma, Marzo, 2018)

Aun cuando no existe una concentración mínima de oxígeno que cause efectos fisiológicos adversos sobre la salud humana, si existe una limitante en cuanto a la cantidad de  $O_2$  que se requiere para sostener la vida de los peces en los cuerpos de aguas superficiales. En general se acepta que una concentración de  $5 \text{ mg/l}$  es adecuada para estos fines, en tanto que concentraciones menores a  $3 \text{ mg/l}$ , pueden ser letales para la fauna piscícola de un lago o reservorio. (Loma, Marzo, 2018)

Para muchos fines industriales el  $O_2$  en el agua suele ser inadecuado, debido a los problemas de corrosión asociados, que afectan las tuberías, calderas y demás partes metálicas. (Loma, Marzo, 2018)



Por ser el oxígeno un gas, las muestras para su análisis deben tomarse evitando al máximo la agitación y la introducción o escape de los gases contenidos en la muestra. Los recipientes más adecuados para estos fines, son las conocidas “Botellas Winkler”, aptas no solo para el muestreo sino también para el análisis de oxígeno. El análisis debe realizarse, preferiblemente, en el mismo sitio de muestreo. Cuando esto no es posible, se debe “fijar el O<sub>2</sub>” mediante la adición de los dos primeros reactivos de análisis y luego tapar herméticamente la botella, con un sello de agua, para su posterior titulación en el laboratorio. (Loma, Marzo, 2018)

### 9.4.3 Degradación de la materia orgánica

El mecanismo por el cual se biodegrada la materia orgánica y las reacciones bioquímicas y fisicoquímicas involucradas, han sido ampliamente estudiadas por diversos autores, (Baedecker, 1980, Farquhar, 1988). La existencia del agua como medio en donde ocurren dichos procesos, es el primer requisito. Una vez que se cuenta con materia orgánica y suficiente agua, se desencadena espontáneamente una serie de procesos que conduce a la descomposición de la materia orgánica y que en esencia es igual tanto para lagos, ríos, ARDs, lixiviados orgánicos, etc. (Loma, Marzo, 2018)

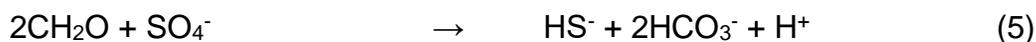
El agua, por si misma, constituye el medio en donde ocurren las reacciones químicas involucradas, el elemento esencial para la actividad bacteriana, el solvente de los materiales orgánicos e inorgánicos, el medio de transporte de la contaminación y el cuerpo que se contamina. (Loma, Marzo, 2018)

Cuando existe abundante cantidad de materia orgánica, el crecimiento bacteriano se ve favorecido enormemente y como consecuencia de ello, los niveles de oxígeno



disuelto dentro de la masa de acuosa se reducen rápidamente a cero; tanto el metabolismo bacteriano, como las consecuencias de un medio fuertemente reductor, son responsables de la acidificación progresiva del medio. (Loma, Marzo, 2018)

A continuación, se describe la secuencia de reacciones bioquímicas que pueden ocurrir en cualquier cuerpo de aguas con alto contenido de materia orgánica. (Ryan, C. 1995):



Estas Ecuaciones están escritas “secuencialmente”, en términos del Potencial Redox, de ambiente oxidante a ambiente reductor. Son “excluyentes” en el sentido de que la una no ocurre mientras la anterior no se haya agotado y todas ellas involucran la participación de microorganismos específicos. Así por ejemplos, la ecuación (1) representa la oxidación de la materia orgánica en medio aeróbico, fácilmente perceptible en los cuerpos de agua bien oxigenados. (Loma, Marzo, 2018)

La ecuación (2) representa los procesos de “desnitrificación” y la ecuación (3) y (4), la reducción de hierro y manganeso. La solubilización de hierro y manganeso en el agua, se halla estrechamente relacionada con la presencia de materia orgánica, capaz de crear y mantener un medio reductor, estas condiciones suelen encontrarse



naturalmente en las aguas subterráneas de algunas cuencas sedimentarias y en lo profundo de los grandes lagos y embalses. (Loma, Marzo, 2018)

La ecuación (5) representa la generación de sulfuros, muchas veces fácilmente perceptible por simple análisis organoléptico, en las aguas estancadas. La ecuación (6) representa el estado reductor más bajo posible y su ocurrencia está supeditada no solamente a la existencia de abundante materia orgánica, sino a que se hayan agotado las reservas de otros oxidantes disponibles: oxígeno, nitratos, manganeso IV, hierro III y Sulfatos. (Loma, Marzo, 2018)

#### 9.4.4 Medición por el Método de Winkler

A la muestra, cuidadosamente tomada en una botella Winkler, se le adiciona 1 ml de solución de sulfato manganoso y 1 ml de solución de “Alcali-yoduro-azida”, evitando al máximo el contacto de las muestras con las pipetas. Se tapan los frascos cuidadosamente evitando atrapar burbujas de aire en su interior y se agitan las botellas para homogenizar los reactivos. (Loma, Marzo, 2018)

Cuando las muestras contienen oxígeno, se formará dentro de la botella un precipitado marrón. Cuando las muestras están exentas de oxígeno se formará un precipitado blanco de  $Mn(OH)_2$ . Una vez que el precipitado marrón se ha sedimentado a menos de la mitad de la altura de la botella, se adiciona 1 ml de ácido sulfúrico concentrado., se tapa nuevamente y se homogeniza hasta disolución total del precipitado marrón. (Loma, Marzo, 2018)



La tonalidad de amarillo-quemado que se obtiene, se debe al yodo, que se ha formado, en cantidad equivalente al oxígeno contenido en la muestra. El último paso consiste en la titulación del yodo con una solución de tiosulfato de sodio. Para esto, se toma una alícuota de 100 ml de la botella Winkler y se titula con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,02 N hasta que la cloración amarilla se torne muy tenue. En este punto, se adiciona unas gotas de solución indicadora de almidón y se continúa titulando hasta la primera desaparición de la coloración azul. (Loma, Marzo, 2018)

Algunas sustancias como el nitrito y el ion férrico, revierten la reacción. Por ello es importante ser cuidadoso para detectar la primera desaparición del color azul durante el proceso de titulación. (Loma, Marzo, 2018)

#### 9.4.5 Reacciones Químicas Implícitas

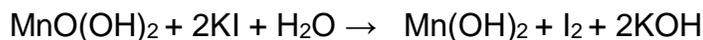
a). Fijación y/o preservación:



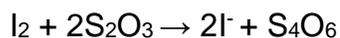
$\text{Mn(OH)}_2$  Flock blanco indicando ausencia de oxígeno

$2\text{MnO(OH)}_2$  Flock amarillo indicando presencia de oxígeno

b). Liberación de  $\text{I}_2$ :



c). Titulación y volumetría:



A partir de la titulación del  $\text{I}_2$ , se determina la concentración de oxígeno en la muestra, mediante la ecuación genérica  $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$ . Los resultados se expresan



en mg de oxígeno por litro de muestra, teniendo en cuenta que 1 mili equivalente-gramo de  $O_2$  corresponde a 8 mg de  $O_2$ .

## 9.5 Demanda Bioquímica de Oxígeno ( $DBO_5$ )

### 9.5.1 NMX-AA-028-SCFI-2001

#### **NMX-AA-028-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES ( $DBO_5$ ) Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-028-1981)”**

Esta norma rige el método de la determinación del parámetro Demanda Bioquímica de Oxígeno y se encuentra en el anexo 3 (pag. 125). (DGN, NMX-AA-028-SCFI-2001- Análisis de agua-Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales ( $DBO_5$ ) y Residuales Tratadas - Método de Prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981), 2001)

### 9.5.2 Aspectos Teóricos

Las pruebas de  $DBO$  constituyen una estimación “semi cuantitativa” de la cantidad de “materia orgánica fácilmente biodegradable” que contiene una muestra. Puesto que no existen formas directas para medir dicha cantidad de materia orgánica, la medición se realiza de forma indirecta, a través de “la cantidad de oxígeno disuelto consumido por la oxidación biológica de la materia orgánica presente”; dicho en otras palabras, la medición se fundamenta en el supuesto 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. (R., 4 de Junio del 2007)

La medición se basa en la comparación del oxígeno disuelto inicialmente en la muestra, con el existente en una muestra similar, después de haber sido incubada



durante cinco días. Estos cinco días, son el tiempo estándar destinado para que una población bacteriana digiera, si es que existe, la materia orgánica presente en la muestra.

(R., 4 de Junio del 2007)

Como la medición involucra la participación de organismos vivos, se requiere especial cuidado tanto en su realización como en su interpretación. Es necesario hacer las pruebas por triplicado, correr blancos paralelos, muestras de control y asegurarse de:

- ✚ Que se disponga de una población microbiana capaz de oxidar a la materia orgánica.
- ✚ Que dicha población bacteriana esté exenta de algas.
- ✚ Que la incubación se efectúe a una temperatura determinada y constante,  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ .
- ✚ Que exista un tiempo de incubación definido, 5 días para  $\text{DBO}_5$  y 7 días para  $\text{DBO}_7$ .
- ✚ Que el oxígeno consumido al finalizar el tiempo de incubación este comprendido entre el rango 20-80% con respecto al oxígeno inicial.

Las pruebas de DBO constituyen un índice general cualitativo del contenido de materia orgánica presente en la muestra, “que es susceptible de sufrir oxidación biológica” en un corto período de tiempo. Si vienen un sentido amplio cualquier tipo de materia orgánica es biodegradable, (solo es cuestión de tiempo), en lo que respecta a los procesos de tratamiento de aguas residuales domésticas, es de particular importancia



la materia orgánica que es rápidamente biodegradable; eso es lo que se intenta medir con la DBO. (R., 4 de Junio del 2007)

La importancia de las pruebas de DBO, radica en que permiten calcular o predecir, cuando menos aproximadamente, el efecto que causaría una determinada descarga de aguas residuales, sobre la concentración de oxígeno disuelto de un cuerpo de aguas receptor; expresado en otra forma, las pruebas de DBO, permiten evaluar la capacidad de un cuerpo de aguas receptor para asimilar descargas. (R., 4 de Junio del 2007)

### **9.5.3 Preservación y Almacenamiento de las Muestras**

Las muestras estériles de alto DBO, (muestras con pHs extremos o provenientes de altas temperaturas), pueden almacenarse durante 8 días. Sin embargo, las muestras no estériles, provenientes de industrias papeleras, de alimentos, vinícolas o cerveceras, así como los afluentes domésticos, deben preservarse por refrigeración y analizarse inmediatamente o dentro de las siguientes 24 horas posteriores al muestreo. (R., 4 de Junio del 2007)

Cuando esto no es posible, las muestras se preservan por refrigeración y se analizan dentro de las 48 horas siguientes al muestreo, reportando junto al resultado, el tiempo transcurrido desde el momento del muestreo hasta la iniciación de la incubación.

Puesto que las pruebas de DBO exigen la realización de réplicas y diluciones, es aconsejable tomar por lo menos 1.0 l de muestra para muestreos puntuales y 0.5 l cuando se desea hacer composiciones de muestras. (R., 4 de Junio del 2007)



## 9.5.4 Interferencias y Limitaciones

Son muchos los inconvenientes que presentan las pruebas de DBO, para que sus resultados puedan ser reproducibles, en comparación con las mediciones frecuentes de cloruros, dureza, oxígeno disuelto e incluso DQO. A continuación, se mencionan algunos que, por su naturaleza aleatoria, escapan del control del operario, o bien aquellos que están intrínsecamente ligados al método. (R., 4 de Junio del 2007)

### Obtención de un inóculo Apropriado:

Para obtener datos reproducibles, es necesario sembrar en cada muestra una misma cantidad y clase de microorganismos. Aunque muchos textos recomiendan obtener el inóculo a partir de muestras de aguas domésticas, en la División de Química Ambiental de INGEOMINAS, se han obtenido mejores resultados con inóculos producidos a partir de cultivos puros de Escherichia Coli. (R., 4 de Junio del 2007)

### Presencia de Algas en la Muestra o en el inóculo:

Cuando existe un considerable número de algas bien sea en la muestra o en el inóculo, se producen cambios significativos en los resultados de la DBO. Esto se debe a que las algas bajo la influencia de la luz, liberan oxígeno merced a la fotosíntesis que realizan, (mientras que en la oscuridad lo utilizan en su respiración). Por esta razón, se debe tomar la precaución de incubar las muestras en frascos o sitios oscuros. (R., 4 de Junio del 2007)



## Presencia de Tóxicos en la muestra:

Las muestras que contienen sustancias altamente tóxicas tales como pesticidas, herbicidas, metales pesados, etc., presentan dificultades para las pruebas de DBO, debido a que dichos contaminantes inhiben el crecimiento bacteriano y dificultan por tanto el consumo de la materia orgánica. (R., 4 de Junio del 2007)

Las pruebas de DBO representan una medida de la cantidad de materia orgánica biodegradable y no de la cantidad de contaminantes en la muestra, entendiendo por tales, las sustancias tóxicas para los seres vivos. (R., 4 de Junio del 2007)

## **9.6 Demanda Química de Oxígeno, DQO**

### **9.6.1 NMX-AA-030/2-SCFI-2012**

#### **NMX-AA-030/2-SCFI-2012” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA - PARTE 2 - DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO – MÉTODO DE TUBO SELLADO A PEQUEÑA ESCALA**

Esta norma rige el método de la determinación del parámetro Demanda Química de Oxígeno y se encuentra en el anexo 4 (pag. 140). (ECONOMÍA, 2011)

### **9.6.2 Aspectos Teóricos**

La DQO es una medida del contenido de materia orgánica presente en una muestra de agua. En condiciones naturales, dicha materia orgánica puede ser biodegradada lentamente, (oxidada), a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , mediante un proceso lento que puede tardar, desde unas pocas semanas hasta unas cuantas décadas de años, dependiendo del tipo de materia orgánica presente. (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)



En las pruebas de DQO se acelera artificialmente la biodegradación que realizan los microorganismos, mediante un proceso de oxidación forzada, utilizando oxidantes químicos y métodos debidamente estandarizados, para que los resultados analíticos sean comparables. Estas condiciones oxidantes pueden ser la ebullición de una alícuota de muestra con mezcla sulfocrómica 0.25 N en un sistema abierto, (reflujo), o 0.1 N en sistema cerrado, (dos horas a 150°C). (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)

La DQO así determinada, se expresa como “el oxígeno equivalente al contenido de materia orgánica”, en miligramos por litro.

Aunque las condiciones de oxidación son bastante enérgicas, la DQO no representa una medida exacta del contenido total de materia orgánica en la muestra, ciertos compuestos orgánicos tales como los alcanos, la piridina y ciertas ligninas, son particularmente resistentes a esta oxidación. No obstante, puede asumirse que, para efectos prácticos, en la mayoría de las muestras la oxidación de la materia orgánica bajo estas condiciones alcanza una extensión de por lo menos el 95% con respecto al valor total o teóricamente esperado. (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)

El método utiliza sulfato de plata como catalizador para la oxidación de los compuestos alifáticos lineales y sulfato mercúrico como inhibidor de haluros, que, de estar presentes en la muestra, sufrirían oxidación al halógeno respectivo y alterarían las mediciones. Interfieren en la determinación de DQO, los haluros, nitritos, ion ferroso y en general cualquier sustancia inorgánica oxidable bajo las condiciones de trabajo. (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)



Cuando se emplea el método de digestión en sistema cerrado, (semimicro), los tubos de reacción y sus tapas deben estar perfectamente limpios ya que pequeñas cantidades de materia orgánica pueden ocasionar grandes errores. (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)

### 9.6.3 Reactivos

#### **Solución Patrón de Dicromato de Potasio 0.1N (solución digestora)**

167 ml de  $H_2SO_4$  concentrado

4.913 g. de  $K_2Cr_2O_7$  R.A. → 1.0 L

33.3 g. de  $HgSO_4$

#### **Solución catalizadora**

2.75 g. de  $Ag_2SO_4$  en

275 ml de  $H_2SO_4$  concentrado

#### **Solución titulante o FAS, aprox 0.05 N**

19.6 g. de  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$

20.0 ml. de  $H_2SO_4$  concentrado → 1.0 L

#### **Solución control de Biftalato ácido de potasio**

850 mg de  $C_8H_5O_4K$  → 1.0 L

100 ml de solución A → 500 ml Solución B

El DQO teórico de la solución B es de 200 mg  $O_2/L$

#### **Solución indicadora de Ferroina**

1.485 g. de ortofenantrolina

695 mg de FAS → 100 ml



NOTA: El valor exacto de la normalidad del FAS, se mide junto con el DQO en cada set de muestras, en referencia a la normalidad de la Solución Patrón de dicromato de potasio. Cuando se utilizan digestores de 16 espacios, como los mostrados en la Figura, se sugiere la siguiente distribución de blancos y patrones.:

- ✚ 2 blancos de agua dismeneralizada
- ✚ 2 controles de biftalato, Solución B
- ✚ 4 muestras por triplicado cada una

#### 9.6.4 Procedimiento

Pongan en un tubo de reacción del digestor, “EXACTAMENTE”, las siguientes medidas:

	5.0 ml de agua desmineralizada
Para blancos:	3.0 ml de solución digestora
	5.0 ml de solución catalizadora
	5.0 ml de solución B
Para el control:	3.0 ml de solución digestora
	5.0 ml de solución catalizadora
	5.0 ml de muestra homogenizada
Para las muestras:	3.0 ml de solución digestora
	5.0 ml de solución catalizadora



Tapé herméticamente y homogenicé los tubos de reacción y colóquelos dentro del reactor. Prenda el equipo y contabilice dos horas a partir del momento en que la temperatura llegue a 150°C. Transcurrido este tiempo, transfiera cuantitativamente la mezcla de reacción a un Erlenmeyer de 50 ml, adicione 0.5 ml de indicador Ferroina y titule en caliente con solución FAS hasta viraje a pardo/ladrillo; justo antes de llegar a este punto, la mezcla titulante pasa por una coloración azul característica, que facilita la ubicación del punto final de la titulación. (PAEZ, 28 de Diciembre del 2007)

## 9.7 VALIDACIÓN

La validación de un método consiste en una fase de comprobación de resultados, mediante el estudio y experimentación de cada una de las etapas donde el o los parámetros seleccionados son evaluados de acuerdo al requerimiento del método. Esto debido a que se realizan análisis en diversas áreas, con la finalidad de obtener resultados con alto grado de confiabilidad, capaces de generar decisiones y respuestas ante una problemática. (Bilanz Qualitat, 2022)

Para empezar a validar un método es necesario establecer parámetros de validación: selectividad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango de aceptación, exactitud, precisión, sensibilidad e incertidumbre. (Bilanz Qualitat, 2022)

### 9.7.1 Selectividad

Es cuantificar el analito deseado en presencia de interferencias agregadas intencionalmente. (Bilanz Qualitat, 2022)



## 9.7.2 Linealidad

Es la aproximación de una curva de calibración a una línea recta determinada, como resultado de realizar diversas mediciones en un intervalo de concentraciones. La ausencia de linealidad en un procedimiento depende netamente del equipo con el que se esté trabajando. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.3 Límite de detección

Es también conocido como valor mínimo detectable, es decir el nivel más bajo de concentración medible del método que proporcione un nivel de confianza. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.4 Límite de cuantificación

Se define como la magnitud mínima que puede cuantificarse con un criterio de exactitud aceptable. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.5 Rango de aceptación

Es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.6 Exactitud

La exactitud es el resultado expresado en porcentaje, obtenido de la diferencia entre un valor experimental y un valor teórico, el cual está determinado por un material de referencia certificado o MRC. (Bilanz Qualitat, 2022)



## 9.7.7 Precisión

Mide el nivel de concordancia entre los resultados obtenidos de una secuencia de mediciones repetidas de un analito específico, desarrolladas de acuerdo a las exigencias del método. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.8 Sensibilidad

La sensibilidad es la variabilidad de la respuesta del instrumento que corresponde a una variación de la concentración del analito con el uso de curvas de calibración. (Bilanz Qualitat, 2022)

## 9.7.9 Incertidumbre

La incertidumbre es un parámetro indicador comparativo de la calidad de medición y dispersión de los valores que pudieran ser asociados a la concentración de un analito. (Bilanz Qualitat, 2022)



## 10 PROCEDIMIENTO

En esta parte del trabajo se presenta la descripción de las actividades realizadas en el proyecto de acuerdo al cronograma planteado en el inicio del semestre, donde se puede encontrar en anexos 1 (pag. 113)

### **10.1 Revisión documental de las normas, procedimientos y procesos del laboratorio**

Al inicio de este proceso es indispensable comprender todos aquellos conceptos relacionados con el proyecto, así mismo tener conocimiento de las normas con que rigen estos parámetros donde se menciona el proceso, las condiciones con las que hay que trabajar, entre otras cosas indispensables de las normas y también aprender todos los procedimientos con los que trabaja el laboratorio de CONAGUA, debido a que en este laboratorio se tiene su propio método que solamente es guiado por la norma, pero no es realizado tal cual.

### **10.2 Capacitación en el manejo de equipos, materiales y reactivos a utilizar**

Después de obtener los conocimientos necesarios sobre la parte teórica, es indispensable que el capacitar al residente en la parte técnica del laboratorio, de manera que se aprenda a utilizar y calibrar los equipos como: la balanza analítica, el potenciómetro, el medidor de oxígeno disuelto, el horno, la parrilla agitadora, el digestor, el espectrofotómetro, entre otros equipos.

También es necesario practicar la precisión al momento de mis medidas de peso y de volumen, ya que es muy necesario la precisión en este tipo de métodos analíticos



porque de eso depende que al realizar el análisis y los cálculos se obtenga resultados con un valor mínimo de incertidumbre.

### 10.3 Preparación de materiales establecimiento de métodos

#### 10.3.1 Oxígeno Disuelto en aguas naturales y residuales

##### Materiales y equipos

Para validación de este método se utiliza material volumétrico que se encuentra verificada su calibración, en la siguiente tabla se mencionan los equipos y materiales que se utiliza en este método analítico.

*Tabla 2. Equipos y materiales utilizados para el método de Oxígeno Disuelto*

MATERIALES O INSTRUMENTOS	EQUIPO
Frasco de Winkler de 300 ml	Medidor de Oxígeno Disuelto con electrodo de membrana sensible
Barras de agitación magnética	Parrilla de agitación
Bureta de 10 ml	
Matraces de Erlenmeyer de 300 ml	
Probeta de 100 ml	
Pipeta graduada de 10 ml	
Pipeta volumétrica de 100 ml	
Matraz volumétrico de 1000 ml	

##### Reactivos y patrones

Los reactivos que se utilizan para la elaboración de las diferentes disoluciones que se utilizan en el método de oxígeno disuelto para ambos tipos de métodos (electrométrico y yodométrico) es de grado reactivo analítico.

Tabla 3. Reactivos utilizados para el método electrométrico y yodométrico

REACTIVOS	
<b>Agua – Características</b>	Resistividad: megohm – cm a 25°C: 0.2 máxima Conductividad: $\mu\text{s}/\text{cm}$ a 25°C: 5.0 máxima PH: 5.0 A 8.0
<b>Método electrométrico</b>	Cloruro de Cobalto $[\text{CoCl}_2]$
	Sulfito de Sodio $[\text{Na}_2\text{SO}_3]$
<b>Método yodo métrico</b>	Sulfato manganoso $[\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ o $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$
	Hidróxido de Potasio $[\text{KOH}]$
	Yoduro de Potasio $[\text{KI}]$ o Yoduro de Sodio $[\text{NaI}]$
	Azida de Sodio $[\text{NaN}_3]$
	Almidón soluble
	Tiosulfato de Sodio $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$
	Ácido Sulfúrico Concentrado $[\text{H}_2\text{SO}_4]$
	Dicromato de Potasio $[\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7]$
	Biyodato de Potasio $[\text{KH}(\text{IO}_3)_2]$
	Hidróxido de sodio $[\text{NaOH}]$ o Hidróxido de Potasio $[\text{KOH}]$
	Ácido Salicílico $[\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ o $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})(\text{COOH})]$

Para la determinación de oxígeno disuelto se realiza por medio de dos métodos distintos que a su vez van de la mano, por lo que, se debe preparar las disoluciones que se utilizan en cada método.

En la parte del método electrométrico que se encuentra en el *anexo 5 (pag. 150)*, se menciona la disolución saturada de cloruro de cobalto y la disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto (sulfito de sodio), que son necesarias para la calibración en cero del medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensible, que consiste en la inmersión del electrodo en la solución estándar de concentración nula de oxígeno, por lo que, la lectura del aparato debe estar en cero mg/L de OD.

Para el método yodométrico que se encuentra en el *anexo 6 (pag. 150)*, se presentan varias disoluciones que se utilizan en la titulación, donde, la disolución de sulfato manganoso, alcalina de yoduro-azida de sodio y la disolución indicadora de almidón son utilizadas para la preparación de las muestras antes de ser tituladas. La



disolución de tiosulfato de sodio (0.025 M) es utilizada para titular cada muestra. Por último, la disolución de dicromato de potasio se utiliza para la valoración de nuestra disolución titulante que es el tiosulfato de sodio, debido a que es necesario el saber la molaridad del tiosulfato con el que se está trabajando porque es un valor indispensable al momento de realizar los cálculos y determinar el oxígeno disuelto de cada muestra.

## **Método**

### **Electrométrico**

En este método se trabaja con el equipo medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensible que se muestra en la ilustración 6. Para trabajar con este equipo era necesario calibrarlo dos veces como se muestra en el anexo 5 (pag. 150), donde se expone el procedimiento de los dos tipos de calibración que se debe realizar.

Primero se debe encender el equipo y auto calibrarlo, para después comenzar con la primera calibración “CALIBRACIÓN EN CERO”, donde esta calibración se realiza para mediciones con alta precisión y a su vez compensaba el sensor en uso. Por lo que es necesario un método estándar para crear un ambiente anoxico disolviendo un exceso de la disolución de sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) junto con unas gotas de la disolución de cloruro de cobalto ( $\text{CoCl}_2$ ) en agua, donde las preparaciones de dichas disoluciones se encuentran en el anexo 5 (pag. 150). Básicamente estos químicos remueven todo el oxígeno de la muestra.

Una vez calibrado en cero, se procede a realizar la segunda calibración que se llevaba a cabo con una muestra conocida. Por lo que en esta parte del método se involucra el método yodométrico, puesto que es necesario preparar la muestra como se explica en el anexo 7 (pag. 152), para poder saber la cantidad de oxígeno disuelto que contiene dicha muestra, para después poder calibrar el oxímetro con ese valor conocido. Es importante decir que de preferencia se oxigena la muestra por bastante tiempo para que pudiera tener un valor alto de oxígeno disuelto y así tener un rango alto de calibración al momento de leer las lecturas de las muestras a analizar.

*Ilustración 7. Medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensible*



## Yodométrico

Para el método yodométrico es necesario valorar primero el tiosulfato de sodio con la disolución de dicromato de potasio (anexo 6, pag. 150) como se muestra en la ilustración 7 y 8. Esta parte del método es una parte muy importante o la parte principal

del método, debido a que, es importante el saber con qué molaridad de tiosulfato de sodio se está trabajando, ya que este valor es necesario conocerlo para el momento de realizar los cálculos al final de la concentración de oxígeno disuelto de la muestra. Por ello si la valoración del tiosulfato de sodio está mal, los resultados de la concentración de oxígeno disuelto serán erróneos. Así de importante es este paso del método.

*Ilustración 8. Preparación de la disolución de dicromato de potasio*



*Ilustración 9. Disoluciones de dicromato de potasio preparadas*



Al tener el valor de la molaridad del tiosulfato de sodio conocido, se procede a preparar las muestras como se indica en el anexo 8 (pag. 153), ósea, las botellas winkler con la disolución de sulfato manganoso, la disolución de alcalina yoduro-azida de sodio, la solución de ácido sulfúrico concentrado y la disolución indicadora de almidón, como se muestra en la ilustración 9.

### *Ilustración 10. Disoluciones para la preparación de la muestra a analizar*



Las muestras se preparan primero con 2 ml de la disolución de sulfato manganoso, luego se le agrega 2ml de la disolución de alcalina de yoduro-azida de sodio, para después agitarlo y la muestra obtiene un color amarillo oscuro opaco como se muestra en la ilustración 10, eso indica que si hay presencia de oxígeno disuelto y es fijado, después de que sedimente la muestra se le agrega 2ml de ácido sulfúrico concentrado e inmediatamente al ser agitado cambia a un color amarillo miel claro, como se muestra en la ilustración 11, en ese momento las muestras están preparadas para la titulación con la disolución de tiosulfato de sodio.

### *Ilustración 11. Muestras después de añadirles alcalina de yoduro-azida de sodio*



*Ilustración 12. Muestras después de añadirles ácido sulfúrico*



Al tener las muestras preparadas, se toma una alícuota de 100 ml con una bureta y se vacía en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, para poder titularlo. Al momento de la titulación con el tiosulfato de sodio, se le agrega 3 gotas de solución indicadora de almidón al momento que la muestra tomará un color amarillo pálido e inmediatamente se torna de un color azul. Por último, se sigue titulando tiosulfato de sodio hasta la desaparición de color, como se muestra en la ilustración

## Ilustración 13. Titulación de las muestras



Al momento de la titulación se procede a anotar los mililitros gastados de tiosulfato de sodio en la bitácora para al final realizar los cálculos necesarios para poder saber la concentración de oxígeno disuelto de cada muestra.

### 10.3.2 Demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO<sub>5</sub>) y residuales tratadas

#### Materiales y equipos

Para validación de este método se utilizó material volumétrico que se encuentra verificada su calibración, en la siguiente tabla se mencionan los equipos y materiales que se utiliza en este método analítico.

*Tabla 4. Equipos y materiales utilizados para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno*

MATERIALES O INSTRUMENTOS	EQUIPO
Frasco de Winkler de 300 ml	Bomba de vacío
Barras de agitación magnética	Parrilla de agitación
Matraces volumétricos de 1000 ml	Potenciómetro
Matraz kizato o filtración de 2000 ml y 500 ml	
Pipeta graduada de 8 ml	
Embudo para buchner	

## Reactivos y patrones

Los reactivos que se utiliza para la elaboración de las diferentes disoluciones que se utiliza en el método para la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>).

*Tabla 5. Reactivos que se utilizaron para el método de Demanda Bioquímica de Oxígeno*

REACTIVOS	
<b>Agua – Características</b>	Resistividad: megohm – cm a 25°C: 0.2 máxima Conductividad: μs/cm a 25°C: 5.0 máxima PH: 5.0 A 8.0
<b>Preparación de agua de dilución</b>	Sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O)
	Cloruro férrico hexahidratado (FeCl <sub>3</sub> *6H <sub>2</sub> O)
	Cloruro de calcio anhidro (CaCl <sub>2</sub> )
	Fosfato de potasio monobásico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )
	Fosfato de potasio dibásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )
	Cloruro de amonio (NH <sub>4</sub> Cl)
	Sulfato de magnesio sodio heptahidratado (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O)
<b>Preparación de estándar</b>	Glucosa grado patrón primario (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )
	Acido glutámico grado patrón primario (C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub> )
<b>Preparación de inóculo</b>	Inóculo de comercial
<b>Preparación de disoluciones ácida y básica</b>	Hidróxido de sodio (NaOH)
	Ácido sulfúrico concentrado (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )

En el procedimiento para la determinación de Demanda Bioquímica de oxígeno es necesario dividir el proceso en 4 partes:



Primero se debe preparar disoluciones que son necesarias para el agua de dilución, se encuentra en el anexo 9 (pag. 154), donde contiene básicamente todos los nutrientes para el inóculo comercial a utilizar, esas soluciones son: la disolución amortiguadora de fosfatos, la disolución de sulfato de magnesio, la disolución de cloruro férrico y la disolución de cloruro de calcio. Todas estas disoluciones ayudan a que el agua de dilución se encuentre con un pH entre 6.5 y 7.5, que es el adecuado para que la población de microorganismos sea capaz de sobrevivir.

Después seguimos con la preparación del estándar de 198 mg/L y 20 mg/L de DBO, que se encuentra en el anexo 10 (pag. 155), esta disolución es preparada con la glucosa y el ácido glutámico. Donde primero se realiza la preparación del estándar de 198 mg/L y a partir de esa disolución se prepara el estándar de 20 mg/L.

A continuación, es realizado la preparación del agua de inóculo, donde se encuentra en el anexo 12 (pag. 157), esto se prepara con el inóculo comercial y el agua de dilución, por eso es importante que el agua de dilución este en las condiciones requeridas de acuerdo al método.

Por último, se encuentran las disoluciones ácida y básica 0.1N, que sirven para la neutralización del agua de dilución y para las muestras residuales causticas y ácidas, en este procedimiento es utilizado el hidróxido de sodio y el ácido sulfúrico. Debido a lo que se mencionó anteriormente, que las condiciones óptimas para los microorganismos es un ambiente que se encuentre en un pH que este entre los 6.5 y 7.5 de pH. Esto se puede encontrar en el anexo 13 (pag. 158).

## Método

### Agua de dilución

Primero se comienza preparando el agua de dilución como se muestra en el anexo 11 (pag. 156), que es necesario para la muestra control: blanco sin inóculo (B S/I), blanco con inóculo (B C/I) y el estándar (STD 198 mg/L, 20 mg/L). Para la preparación del agua de dilución primero se debe colocar el volumen deseado de agua desionizada en una garrafa limpia como se muestra en la imagen 13.

*Ilustración 14. Garrafa para el agua de dilución*



Después de llenar la garrafa con el volumen deseado de agua desionizada, se añade 1 ml de cada nutriente que son las disoluciones siguientes: disolución de sulfato manganoso, disolución amortiguadora de fosfatos, disolución de cloruro calcio y disolución de cloruro férrico, por cada litro de agua desionizada, como se puede observar en la ilustración 14.

*Ilustración 15. Nutrientes para el agua de dilución*



Luego se procede a saturar de oxígeno el agua de dilución de la garrafa con una bomba de aire como se muestra en la ilustración 15 por 1 hora. Por último, el agua de dilución se debe poner a una temperatura de aproximadamente 20°C.

*Ilustración 16. Bomba de aire*



Es importante que el agua de dilución este en muy buena calidad y a las condiciones que se solicita en las normas para que la disminución de oxígeno disuelto del agua (B S/l) no exceda de los 0.2 mg/L. Por lo que se pide que el agua se encuentre en una temperatura de 20°C y con un pH entre 6.5 y 7.5.

Por lo mencionado anteriormente el paso siguiente es el checar el pH del agua de dilución con el potenciómetro calibrado tomando una alícuota de 100 ml del agua de dilución como se muestra en la ilustración 16, de esta manera se interactúa con una pequeña cantidad y se evita el contaminar el restante del agua de dilución. En dado caso que el agua de dilución no se encontrará en el rango de pH que se indica, es necesario neutralizarla con la disolución de ácido sulfúrico o la disolución de hidróxido de sodio que se muestra en el anexo 10 (pag. 155).

*Ilustración 17. Checado de pH del agua de dilución con el potenciómetro*



## Inóculo

Al tener el agua de dilución preparada se procede a preparar el inóculo comercial que se muestra en la ilustración 17, donde, primero se deposita 500 ml de agua de dilución en un matraz kizato o de filtración de 2 L, para después agitarlo en la parrilla de

agitación magnética mientras que a la vez se le adiciona el contenido de la capsula de inóculo comercial, esto es agitado durante 1 hora.

*Ilustración 18. Inóculo comercial POLYSEED*



Al pasar la hora de agitación del inóculo, se procede a apagar el agitador magnético y se deja reposar hasta que el material inerte de la capsula se sedimente en el fondo del vaso precipitado. Por último, se filtra el sobrenadante apoyado con un papel filtro, embudo y un matraz.

### **Estándar 198 mg/L y 20 mg/L de DBO<sub>5</sub>**

Para la preparación del estándar primero se debe colocar el ácido glutámico y la glucosa en el horno y se debe secar a 103°C durante 1 hora, como se muestra en la ilustración 18. Después de sacarlo del horno y dejarlo enfriar, como se muestra en la ilustración de 19, se pesa 150 mg (0.15 g) de ácido glutámico y 150 mg (0.15 g) de glucosa.

*Ilustración 20. Horno donde se seca la glucosa y el ácido glutámico*



*Ilustración 19. Recipiente donde se deja enfriar el ácido glutámico y la glucosa*



Una vez que ha pesado la glucosa y el ácido glutámico se procede a diluirlos en un matraz volumétrico de 1000 mL con agua destilada hasta aforarlo. Después es necesario agitarse en el agitador magnético durante media hora, para que pueda diluirse completamente. Hasta este paso se tiene preparado el estándar de 198 mg/L.

A partir del estándar de 198 mg/L se prepara el estándar de 20 mg/L tomando una alícuota de 101 mL, eso es depositado en un matraz volumétrico de 1000 mL y se le agrega agua destilada hasta aforarlo, para finalmente agitarlo nuevamente y así lograr que se diluya completamente.

## Preparación de muestras

Al tener preparado el agua de dilución, el inóculo comercial y el estándar, se procede a preparar las muestras en los frascos winkler, como se muestra en el anexo 13 (pag. 158).

Es necesario tener todo ordenado los instrumentos y disoluciones a utilizar, para que el llenado de cada frasco winkler se facilite, como se muestra en la ilustración 20.

*Ilustración 21. Instrumentos y disoluciones que se utilizan en la preparación de los frascos winkler*



Para la preparación de los frascos winkler se toma en cuenta las muestras de control de calidad:

- Blanco sin inóculo (B S/I)
- Blanco con inóculo (B C/I)
- Estándar de 198 mg/L
- Estándar de 20 mg/L
- 1 duplicado de cada estándar



Antes de realizar el llenado los frascos winkler, es importante realizar el adecuado etiquetado de botellas, por ellos se debe realizar un plan de las muestras a realizar al inicio para saber cuánta agua de dilución se preparará y para saber cómo se etiquetará las botellas, de esta forma se trabaja de manera organizada, se facilita el reconocer la muestra y se evita confusiones al momento de guardarlo en la incubadora, debido a que en la semana se pueden meter hasta 3 corridas diferentes.

Para el llenado de las muestras Blanco sin Inóculo (B S/I) se realiza con el agua de dilución, debido a que no se realizó pruebas con muestras de aguas reales. Es muy importante que los frascos sean rellenos inclinándolo para que se llene tocando las paredes y así se evite formar burbujas. También es muy importante llenarlo completamente y taparlo sellándolo bien el frasco winkler sin ninguna formación de burbujas.

Después se procede a llenar las muestras Blanco con Inóculo (B C/I), esto se realiza con el agua de dilución y 8 mL de inóculo comercial. Luego se llenan los frascos con estándar, para las muestras con estándar de 198 mg/L se le agrega 6 mL del estándar, luego los 8 mL de inóculo comercial y por último el agua de dilución. Por último, para el llenado de las muestras con estándar de 20 mg/L se le agrega 60 mL del estándar, luego los 8 mL de inóculo comercial y por último el agua de dilución.

Para cada muestra que se preparé se le debe hacer su duplicado para la lectura del 1er día y del 5to día, siempre y cuando se realice por el método yodométrico. Al momento de las lecturas de oxígeno disuelto, se debe realizar 3 lecturas y se anota en la bitácora.

Para la incubación de las muestras se deja durante 5 días en la incubadora con una temperatura de 20°C, como se muestra en la ilustración 21 y 22, y se revisa diariamente el sello de agua de las tapas, si era necesario, se le agrega encima de las tapas de los frascos winkler.

*Ilustración 22. Muestras del 5to día en incubación*



*Ilustración 23. Termómetro de la incubadora calibrado en 20°C*



Al 5to día se realiza la lectura de oxígeno disuelto con el oxímetro en dado caso que se realice por el método electrométrico o se realiza la lectura por medio de la titulación en dado caso que se realice por el método yodométrico, para finalmente realizar los cálculos con la siguiente formula:

$$DBO_5 = \frac{(Odis_{1\ día} - Odis_{5\ día}) - (Odis_{inoc\ 1\ día} - Odis_{inoc\ 5\ día})(1-D)}{D}$$

### 10.3.3 Demanda química de oxígeno (DQO) en aguas naturales y residuales (método de tubo sellado para concentraciones altas)

#### Materiales y equipos

Para validación de este método se utiliza material volumétrico que se encuentra verificada su calibración, en la siguiente tabla se mencionan los equipos y materiales que se utiliza en este método analítico.

Tabla 6. Equipos y materiales utilizados para el método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno

MATERIALES O INSTRUMENTOS	EQUIPO
Pipeta graduada de 2 ml	Agitador de tubos de digestión
Matraz volumétrico de 500 ml	Digestor
Matraces volumétricos de 100 ml	Espectrofotómetro

#### Reactivos y patrones

Los reactivos que se utilizan para la elaboración de las diferentes disoluciones que se utilizan en el método para la determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Tabla 7. Reactivos que se utilizaron para el método de Demanda Química de Oxígeno

REACTIVOS	
<b>Agua – Características</b>	Resistividad: megohm – cm a 25°C: 0.2 máxima Conductividad: $\mu\text{s/cm}$ a 25°C: 5.0 máxima PH: 5.0 A 8.0
<b>Reactivos para la detección espectrofotométrica</b>	Ftalato ácido de potasio (KPH) $[\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOH})(\text{COOK})]$
Tubos de digestión sellados marca HACH – LOTE A2098A – CADUCIDAD: ABRIL, 2027	

Para el método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO), solo se realiza una disolución principal que es nombrado “disolución madre de referencia”, el cual su procedimiento se muestra en el anexo 14 (pag. 159), que es

utilizado para las disoluciones estándar de 200, 400, 600, 800, 1000 mg/L, son consideradas concentraciones altas que servirán para la detección espectrofotométrica. Esta disolución madre es preparada con ftalato de potasio y es preparada a una concentración de 1000 mg/L. Dichas disoluciones se encuentran en el anexo 14 (pag. 159).

A partir de la disolución madre de referencia se puede preparar las disoluciones estándar de **altas concentraciones** (200, 400, 600, 800 y 1000) mg/L.

## Método

Para la preparación de la disolución madre de referencia de concentración de 1000 mg/L, primero se pesa 0.4251 g de ftalato de potasio en una balanza analítica como se muestra en la ilustración 23.

*Ilustración 24. Pesaje de ftalato de potasio*



Después de pesar el ftalato de potasio, se procede a disolverlo en un matraz volumétrico de 500 mL con agua destilada hasta aforarlo, para después agitarlo hasta diluirse por completo.

A partir de la disolución madre de referencia de concentración de 100 mg/L se prepara las disoluciones estándar de **altas concentraciones**, en matraces volumétricos de 100 mL hasta aforarlo con agua destilada como se muestra en la ilustración 24, estas disoluciones son guardadas en recipientes pequeños de plástico de 100 mL, para después dejarlo en refrigeración a temperatura de 2°C a 8°C.

La cantidad de alícuota que se toma a partir de la disolución madre de referencia para las disoluciones estándar se calcula con la siguiente expresión matemática:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Donde:

$C_1$  = Concentración molar de la disolución

$V_1$  = Volumen de la alícuota por tomar de la disolución

$C_2$  = Concentración molar de la disolución diluida

$V_2$  = Volumen de la disolución diluida

*Ilustración 25. Disoluciones estándar de altas concentraciones para determinación de DQO*



Al tener las disoluciones **altas concentraciones** se procede a sacar los tubos de digestión comercial para concentraciones altas y se colocan en una gradilla, para poder etiquetarlos con un plumón. Se etiquetan 2 tubos como blancos y un tubo para la concentración de 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L y 1000 mg/L. Dicho procedimiento de la preparación de las muestras de encuentra en el anexo 15 (pag. 160).

*Ilustración 26. Etiquetado de tubos de digestión para altas y bajas concentraciones*



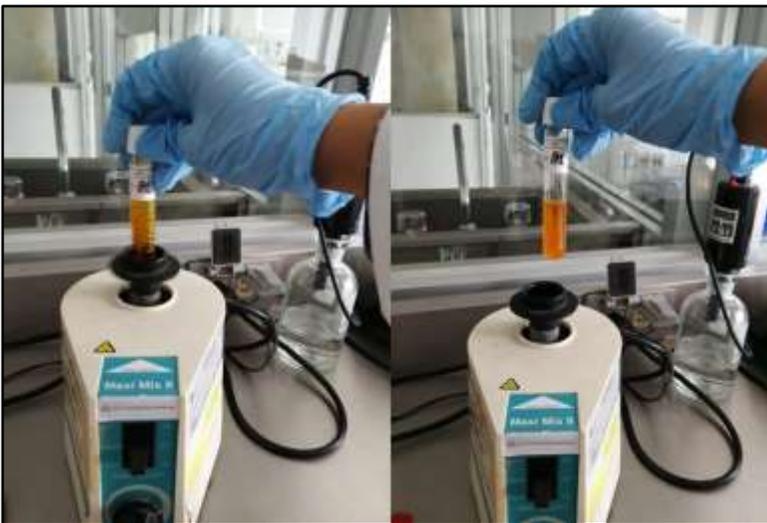
Al tener etiquetado y acomodado cada tubito de digestión en la gradilla, se comienza a agregar con una pipeta volumétrica, 2 ml de agua destilada a los blancos y 2 luego ml de cada concentración a su tubo correspondiente. Es necesario mencionar que es muy importante el lavado y secado correcto de las pipetas graduadas, así como

el pipetear de la misma forma y colocando la pipeta en frente de nuestra vista, debido a que, al trabajar con pequeñas cantidades de alícuota, se debe tener mayor precisión para que el error sea mínimo al momento de las lecturas en el espectrofotómetro.

Al tener los tubitos listos se debe agitar en un agitador magnético y se logra sentir como el tubo de digestión se calienta, este paso es necesario antes de ser colocado en el digestor, como se muestra en la ilustración 29.

Previamente el digestor ya se ha encendido y se había programado para calentarse A 150°C, cada tubo de digestión se limpia con una sanita antes de ser colocado en digestor. Después de haber acomodado los tubos de digestión en el digestor se procede a dejarse allí durante 2 horas.

*Ilustración 27. Tubo de digestión sellado en agitador magnético*



*Ilustración 28. Digestor con tubos sellados de digestión a 150°C*



Al terminar las 2 horas de digestión de los tubos sellados, es necesario sacarlos, colocarlos en la gradilla y dejarlo enfriar durante 1 hora, debido a que las lecturas deben tomarse cuando se los tubos sellados se encuentren a temperatura ambiente.

*Ilustración 29. Tubos sellados después de estar en 2 horas de digestión*



Como se puede observar en la ilustración 30, esos son tubos sellados de digestión de **altas concentraciones** y después de la digestión cada tubo cambia notoriamente su color debido a la diferente concentración de la solución madre de referencia que contiene.

Al momento de tomar la lectura de los tubos sellados de digestión en el espectrofotómetro se selecciona la lectura de DQO RA que es para concentraciones altas y ya está programado con una longitud de onda de 620 nm, esto debido a la

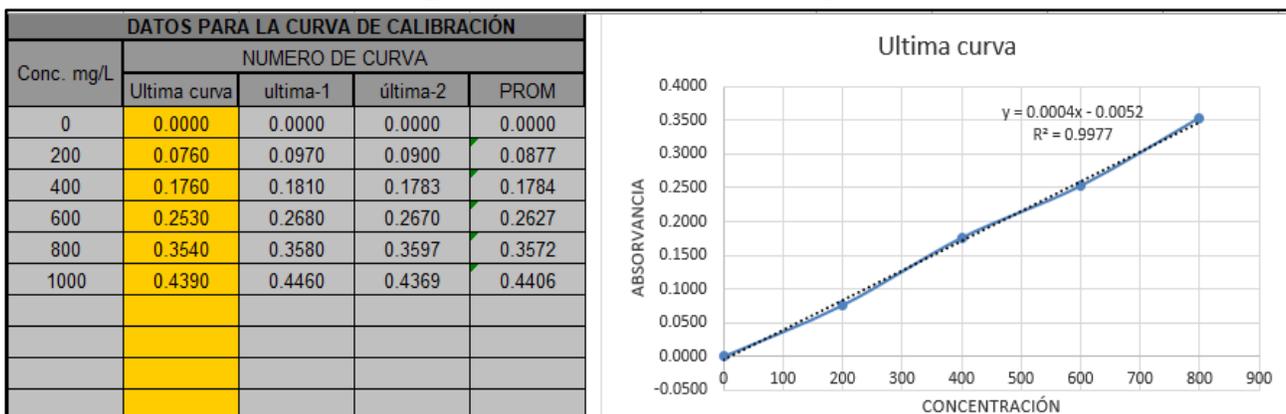
coloración de las muestras. Al momento de la lectura se coloca uno de los blancos y se calibra en cero, luego se comienza a leer los demás tubos sellados y al leer por último el segundo blanco se aprecia la exactitud que se tuvo.

*Ilustración 30. Espectrofotómetro calibrado en cero con el blanco*



Para cada tubo sellado de digestión se toma 3 lecturas y esos valores se anotan en la bitácora, para sacarle la media y por último se meten los datos en el programa de Excel para graficar la curva de calibración, dicha curva de calibración su valor de R cuadrado en el grafico debe ser mínimo 0.995.

*Ilustración 31. Programa de DQO tubo sellado para curva de calibración*





## 10.4 Realización y estabilización de pruebas de laboratorio

En este proyecto es necesario la implementación de 3 métodos: la norma NMX-AA-012-SCFI-2001 “Determinación del oxígeno disuelto (OD)”, la norma NMX-AA-028-SCFI-2001 “Determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)” y la norma NMX-AA-030/1-SCFI-2012 “Determinación de demanda química de oxígeno (DQO)”.

### 10.4.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

Para estabilizar la cantidad de inóculo comercial a usar en el método para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) de manera que se cumpla con un consumo de 0.5 – 1 mg/L de oxígeno disuelto (OD) en el blanco con inóculo (BC/I) y un 80 – 120% de recuperación, es necesario realizar muchas pruebas con diferentes cantidades de inóculo comercial. Por ello en esta parte, se implementa dos métodos, el método de la norma NMX-AA-012-SCFI-2001 y el método de la norma NMX-AA-028-SCFI-2001.

Previamente se debe de aprender a realizar el método de determinación de oxígeno disuelto (OD) y determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) y se elabora un cronograma semanal de actividades debido a que este método es muy extenso y laborioso, por lo que es necesario tener muy bien organizado todas las actividades para que se alcance a terminar a tiempo en las 6 horas de labores en el laboratorio, como se muestra en el anexo 16 y 17 (pag. 158 y 159).

Además de tener un cronograma de actividades para este método, también es necesario la realización del diseño experimental, ya que se tiene que realizar muchas



pruebas para estabilizar la cantidad de inóculo comercial a utilizar de manera que cumpla con las condiciones antes mencionadas a la hora de preparar las muestras y al analizarlas.

Por ello es necesario enfocarse en cumplir con la primera condición: **consumo de 0.5 – 1 mg/L de oxígeno disuelto (OD) en el blanco con inóculo (BC/I).**

Por lo que se realiza duplicado de blancos con inóculo (B C/I) agregando: 2, 4, 6, 8 y 10 mL. Para que al momento de tener un rango de la cantidad de inóculo comercial a utilizar estando en ese rango de consumo de oxígeno disuelto al quinto día, se comience con la selección de acuerdo al siguiente condicionante.

De acuerdo a lo que se muestra en la parte de resultados, se puede apreciar que se realizó pruebas con 6, 8 y 10 mL. Por lo que es momento de enfocarse en la segunda condición: **tener un 80 – 120% de recuperación al momento de obtener valores de concentración de DBO.** Debido a esto en las pruebas se comienzan a realizar muestras de blanco con inóculo (B C/I) y muestras con estándar de 198 y 20 mg/L. En la tabla 9 se puede apreciar el diseño experimental elaborado. El diseño experimental también es necesario para tener calculado el agua de dilución a preparar.

Tabla 8. Condicionantes para pruebas de demanda bioquímica de oxígeno

Condicionantes:		
Blanco S/I:	< 0.2 mg/L	
Blanco C/I:	4 ml	0.5 - 1 mg/L O.D.
	6 ml	
	8 ml	
Estándar	198 mg/L	80 - 120 % de recuperación
	20 mg/L	

Tabla 9. Diseño experimental de las pruebas para demanda bioquímica de oxígeno

Frascos que se titulan el primer día	Frascos que se titulan al quinto día	6 ml de inóculo	8 ml de inóculo	10 ml de inóculo	Total de ml de agua de dilución
Día cero	Blanco S/I	600	600	600	1800
300	300				
Día cero	Blanco C/I	600	600	600	1800
300	300				
Día cero	Estándar 198 mg/L	900	900	900	2700
	Estándar 198 mg/L				
300	600				
Día cero	Estándar 20 mg/L	900	900	900	2700
	Estándar 20 mg/L				
300	600				
Preparación de inóculo		500			500
Muestra para checar PH		100			100
<b>Litros de agua de dilución necesario</b>					<b>9600</b>

Como se puede observar en la tabla 9, las pruebas de blanco con inóculo se realizan en duplicados, ya que, al trabajar con 3 cantidades diferentes de inóculo comercial a utilizar, si se genera un gran gasto de agua destilada a utilizar para el agua de dilución.

Después de estas pruebas se selecciona dos cantidades de inóculo comercial a utilizar de acuerdo a los resultados obtenidos, de manera que hayan cumplido con las dos condiciones y se procede a realizar otro diseño experimental para hacer pruebas con ambas cantidades seleccionadas, como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Diseño experimental para pruebas de demanda bioquímica de oxígeno

Frascos que se titulan el primer día	Frascos que se titulan al quinto día	8 ml de inóculo	10 ml de inóculo	Total de ml de agua de dilución
Día cero	Blanco S/I	600	600	1200
300	300			
Día cero	Blanco C/I	600	600	1200
300	300			
Día cero	Estándar 198 mg/L	1200	1200	2400
	Estándar 198 mg/L			
	Estándar 198 mg/L			
300	900			
Día cero	Estándar 20 mg/L	1200	1200	2400
	Estándar 20 mg/L			
	Estándar 20 mg/L			
300	900			
Preparación de inóculo		500		500
Muestra para checar PH				100
<b>Litros de agua de dilución necesario</b>				<b>7800</b>

En la tabla 10 se logra apreciar que al realizar pruebas con solo 2 cantidades diferente inóculo comercial a utilizar, se procede a hacer pruebas de triplicado puesto que se gasta menos agua destilada en esta ocasión y habrá mayor comparativo de valores, debido a que en este diseño el objetivo es apreciar quien tenía mejor porcentaje de recuperación (de preferencia que se encontrara en el 100%) para ser elegida como la cantidad exacta a utilizar de inóculo comercial.

De esta manera es posible validar el método de determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) con la cantidad exacta de inóculo comercial que cumpla con ambas condicionantes del método. Por lo que el último diseño experimental de las pruebas de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) para validar el método, es el siguiente:

Tabla 11. Diseño experimental para validación del método de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

Frascos que se titulan el primer día	Frascos que se titulan al quinto día	8 ml de inóculo	Total de ml de agua de dilución	Frascos que se titulan el primer día	Frascos que se titulan al quinto día	8 ml de inóculo	Total de ml de agua de dilución
Día cero	Blanco S/I 2 BOTELLAS	600	600	Día cero	Blanco S/I 2 BOTELLAS	600	600
300	300			300	300		
Día cero	Blanco C/I 2 BOTELLAS	900	900	Día cero	Blanco C/I 2 BOTELLAS	900	900
300	600			300	600		
Día cero	Estándar 198 mg/L 10 BOTELLAS	3300	3300	Día cero	Estándar 198 mg/L 3 BOTELLAS	1200	1200
300	3000			300	900		
Día cero	Estándar 20 mg/L 3 BOTELLAS	1200	1200	Día cero	Estándar 20 mg/L 10 BOTELLAS	3300	3300
300	900			300	3000		
Preparación de inóculo		500	500	Preparación de inóculo		500	500
Muestra para checar PH				Muestra para checar PH			
<b>Litros de agua de dilución necesario</b>			<b>6500</b>	<b>Litros de agua de dilución necesario</b>			<b>6500</b>



Como se puede observar en la tabla 11 el diseño se divide en 2, ya que para validar el método se debe tener varias muestras para que al final se observe la repetibilidad en los resultados obtenidos y así mismo calcula la desviación estándar y la incertidumbre, pero como debe realizarse para ambos estándares se decide dividir en 2 partes, por lo que es realizado en 2 días distintos la preparación y análisis cada lote de muestras, en el primer lote se mete 10 muestras con estándar de 198 mg/L y 3 muestras con estándar de 20 mg/L; y en el segundo lote se meten 3 muestras con estándar de 198 mg/L Y 10 muestras con estándar de 20 mg/L.

#### 10.4.2 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

En este parámetro lo importante es el implementar el método de la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2012 que es utilizado para determinar demanda química de oxígeno mediante el método de tubo sellado.

En este caso se tiene que realizar un diseño y aplicarlo para las **concentraciones altas**. Lo beneficioso de este método es que es más sencillo que el método anterior que se aplica para la determinación de demanda bioquímica de oxígeno.

Para este método es necesario iniciar elaborando la curva de calibración, graficando la absorbancia contra la concentración y para ello se debe realizar 3 corridas, por lo que se el diseño queda así:

Tabla 12. Diseño para determinación de demanda química de oxígeno (DQO)

CONCENTRACIONES ALTAS		
Tubos sellados del primer día	Tubos sellados del segundo día	Tubos sellados del tercer día
Blanco 1	Blanco 1	Blanco 1
2 ml	2 ml	2ml
Blanco 2	Blanco 2	Blanco 2
2 ml	2 ml	2 ml
200 mg/L	200 mg/L	200 mg/L
2 ml	2 ml	2 ml
400 mg/L	400 mg/L	400 mg/L
2 ml	2 ml	2 ml
600 mg/L	600 mg/L	600 mg/L
2 ml	2 ml	2 ml
800 mg/L	800 mg/L	800 mg/L
2 ml	2 ml	2 ml
1000 mg/L	1000 mg/L	1000 mg/L
2 ml	2 ml	2 ml

Al ser un método más fácil de realizar, es posible meter dos corridas en un día, también es posible meter un triplicado para tener las tres corridas en un día, pero de acuerdo a los resultados, se obtiene mejor curva de calibración al realizar el diseño poco a poco de manera que se realice correctamente el llenado de los tubos sellados y se tenga más exactitud, de acuerdo a las lecturas del espectrofotómetro.

## 10.5 Realización de pruebas de desempeño

### 10.5.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Al tener las pruebas necesarias realizadas para la estabilización del inóculo comercial marca POLYSEED a utilizar para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de acuerdo al método de la norma NMX-AA-028-SCFI-2001, se realiza la siguiente prueba de desempeño utilizando un estándar comercial marca HACH nombrándolas “muestra testigo” y también agregando las muestras de “control de calidad” que se ha hecho mención anteriormente en este trabajo.

Tabla 13. Diseño experimental de la prueba de desempeño de DBO

	Frascos que se titulan el primer día	Frascos que se titulan al quinto día	8 ml de inóculo POLYSEED	Total de ml de agua de dilución
Muestra de Control de calidad	Día cero	Blanco S/I 2 BOTELLAS	600	600
	300	300		
	Día cero	Blanco C/I 2 BOTELLAS	600	600
	300	600		
	Día cero	Estandar 198 mg/L 3 BOTELLAS	900	900
	300	900		
	Día cero	Estandar 20 mg/L 3 BOTELLAS	900	900
	300	3000		
Muestra testigo	Día cero	Estandar 15.84 mg/L MARCA HACH 3 BOTELLAS	900	900
	300	900		
	Día cero	Estandar 396 mg/L MARCA HACH 3 BOTELLAS	900	900
	300	900		
Preparación de inóculo			500	500
Muestra para checar PH			200	200
<b>Litros de agua de dilución necesario</b>				<b>5500</b>

Al tener el diseño experimental, se lleva a cabo la prueba de desempeño iniciando con la preparación del agua de dilución utilizando 6 L de agua destilada de la garrafa lote #G09/22, pipetas volumétricas de 6 mL, una garrada de 6 L y los siguientes nutrientes: Cloruro de Calcio, Cloruro Férrico, Amortiguadora de Fosfatos y Sulfato Magnesio. El agua de dilución se mantiene oxigenándose durante 1 hora.

*Ilustración 33. Materiales utilizados en el agua de dilución para las pruebas de desempeño*



*Ilustración 32. Agua de dilución oxigenándose con una bomba de aire*



Todo el material a utilizar se debe lavar y escurrir completamente de manera que no se contamine las muestras y se tenga una mayor precisión, también se debe etiquetar los matraces que se utilizan para los estándares y las botellas winkler de acuerdo al diseño experimental que se realiza previamente, se deja todo acomodado, debido a que las pruebas de DBO es muy laborioso, de esta manera se trabaja con mayor orden y eficacia.

*Ilustración 34. Materiales de laboratorio lavados y etiquetados para prueba de desempeño*



Al tener el agua de dilución preparado, es importante checar el pH, debido a que debe estar en el rango de 6.5 a 7.5 de pH, porque es una de las condiciones que se toma en cuenta para que sobrevivan los microorganismos, la otra condición es que este a una temperatura de 20°C. En esta prueba de desempeño se obtiene un pH de 7.3 en el agua de dilución preparada.

*Ilustración 35. pH del agua de dilución para la prueba de desempeño*



Después de comprobar de que el agua de dilución que se utiliza en las muestras de control de calidad y en la preparación del inóculo comercial cumple con las dos condiciones primordiales, se procede a sacar una capsula del inóculo comercial POLYSEED, se deposita en 500 ml de agua de dilución mientras es agitado lentamente en un agitador magnético, de manera que se diluya durante 1 hora.

*Ilustración 36. Preparación del inóculo comercial POLYSEED para la prueba de desempeño*



Al pasar la hora de agitación del inóculo comercial POLYSEED, se procede a dejar reposar durante 30 minutos, para que se realice el proceso de filtrado con ayuda de la bomba de vacío.

*Ilustración 37. Filtrado del agua de inóculo comercial POLYSEED*



Para la preparación del estándar de 198 mg/L y 20 mg/L que es utilizado para las muestras de control de calidad, se puso a secar la glucosa y el ácido glutámico en el horno durante 1 hora a na temperatura de 104°C, al sacarlo es importante utilizar guantes y es necesario dejar enfriando ambos reactivos por 20 minutos antes de ser pesado.

*Ilustración 38. Secado de los reactivos para el estándar de las pruebas de desempeño*



Se calibra la balanza analítica para tener datos del pesaje con mayor precisión. Por lo que de glucosa se tiene un pesaje de 0.1506 g y de ácido glutámico 0.1503 g.

Además, se realiza el pesaje del yoduro de potasio que es utilizado para la valoración del Tiosulfato de Sodio. Tanto los valores de la calibración como la anotación del horario y reactivos que se pesaron son anotados en la bitácora de la balanza analítica marca Denver.

*Ilustración 39. Pesaje de reactivos para el estándar utilizado en las pruebas de desempeño*



Se procede a realizar la preparación del estándar de 198 mg/L en un matraz volumétrico de 1000 mL y con una agitación de 30 minutos de manera que se diluya completamente, para que después se preparé el estándar de 20 mg/L en un matraz

volumétrico de 1000 mL a partir del estándar preparado anteriormente. Se hace mención de que ambos estándares son utilizados para las muestras de control de calidad.

*Ilustración 40. Preparación de estándar de 198 mg/L y 20 mg/L para las pruebas de desempeño*



Se realiza la valoración del Tiosulfato de Sodio y para ello se prepara la disolución de yoduro de potasio, con dicromato de potasio, ácido sulfúrico y agua destilada. Esto se realiza en 3 matraces Erlenmeyer, para que, al titularlo con el Tiosulfato de sodio y el indicador de almidón, se obtenga 3 resultados obtenidos de los cálculos de la fórmula de la molaridad, se saque la media y se obtenga la molaridad del Tiosulfato de Sodio a utilizar en las pruebas de desempeño.

## Ilustración 41. Valoración del Tiosulfato de Sodio que se utiliza en las pruebas de desempeño



Lo último que falta es el estándar comercial marca HACH que es utilizado para la muestra testigo de la prueba de desempeño como se muestra en el diseño experimental, para ello se coloca 3 frascos de estándar comercial en un vaso de precipitado de manera de que se diluya completamente, este estándar marca HACH tiene una concentración de 396 mg/L de DBO y cada frasco contiene 12 mL de solución. Para el primer diseño de la muestra testigo se toma una alícuota de 20 mL del estándar comercial y es diluido en un matraz volumétrico hasta aforarlo, obteniendo un estándar de concentración de 15.84 mg/L de DBO, esto puede ser demostrado en el siguiente cálculo:

$$C_1 = 396 \text{ mg/L} \quad V_1 = 20 \text{ mL}$$

$$C_2 = ? \quad V_2 = 500 \text{ mL}$$

$$C_2 = \frac{396 \cdot 20}{500} = 15.84 \text{ mg/L}$$

*Ilustración 42. Estandar comercial HACH para muestra testigo*



Para el otro diseño de la muestra testigo, se toma 3 mL directo del estándar comercial marca HACH con un matraz volumétrico al momento de realizar la siembra en las muestras en las botellas winkler, de manera que tendrá la concentración de 396 mg/L de DBO. Por lo que este paso se pospone.

Al tener los estándares para muestra control y muestra testigo preparados, así mismo el inóculo comercial POLYSEED y el agua de dilución, se procede a preparar las muestras, comenzando con los blancos sin inóculo (B S/I), luego siguen los blancos con inóculo (B C/I), después se procede con el llenado del estándar para muestra control (198 mg/L, 20 mg/L) y por último el llenado de las muestras testigo marca HACH (15.84 mg/L y 396 mg/L). Es importante la mención de que el llenado de las botellas winkler se realiza de manera que se incline la botella y el agua de dilución caiga en la pared de la botella para evitar formación de burbujas.

*Ilustración 43. Preparación de las muestras para prueba de desempeño*



Al terminar el llenado de las botellas winkler de todas las muestras de control de calidad y muestras testigo, se separan las botellas del día cero que serán tituladas para saber la concentración de oxígeno disuelto que contienen y las botellas del quinto día se colocan en una charola que se guardan en la incubadora a una temperatura de 20°C.

*Ilustración 44. Muestras para prueba de desempeño del quinto día en incubación*



Se prepara las muestras del día cero con Sulfato Manganeso, Alcalina de Yoduro y Ácido Sulfúrico, de acuerdo al procedimiento que se muestra en el anexo 8, para poder titularlo con Tiosulfato de Sodio y la indicadora de almidón, de manera que se tenga registrado en la bitácora y eso sea de utilidad para los cálculos del quinto día.

*Ilustración 45. Muestras de la prueba de desempeño del día cero*



Para el quinto día de incubación de las muestras, se vuelve a pesar 1 gramo de yoduro de potasio, esto para cada uno de los 3 tres matraces Erlenmeyer, de manera de que se diluya con el dicromato de potasio, el ácido sulfúrico y el agua destilada, debido a que es importante la valoración del Tiosulfato de Sodio tanto del primer como del quinto día, puesto que esta la posibilidad de que la molaridad del Tiosulfato de Sodio cambie y eso provoque cambio en los resultados al momento de realizar los cálculos.

*Ilustración 46. Valoración del Tiosulfato de Sodio para el quinto día*



Se procede a sacar las muestras del quinto día que estaban en incubación, los reactivos con los que se preparan las muestras y los matraces que se utilizarán para cada botella winkler a titular.

*Ilustración 47. Material utilizado y muestras a analizar del quinto día*



Se preparan las muestras del quinto día con Sulfato Manganeso, Alcalina de Yoduro y Ácido Sulfúrico, de acuerdo al procedimiento que se muestra en el anexo 8, para poder titularlo con Tiosulfato de Sodio y la indicadora de almidón, de manera que se tenga registrado en la bitácora y eso sea de utilidad para los cálculos.

*Ilustración 48. Muestras del quinto día de la prueba de desempeño*



En la ilustración 49 se logra apreciar la diferencia de color en las muestras del quinto día, debido a que cada botella winkler tiene diferente concentración de oxígeno disuelto, esto debido a la característica inicial de cada muestra. Las botellas winkler más oscuras son las muestras de blanco sin inóculo (BS/I) y las de blanco con inóculo (B C/I) porque son las que gastaron menos oxígeno disuelto. En cambio, los que tienen estándar



de control de calidad o estándar comercial utilizado para muestra testigo, fueron las muestras que más oxígeno disuelto gastaron debido al comportamiento del inóculo en un ambiente con estándar, por lo que la botella del winkler es más clara e indica que hay poca concentración de oxígeno disuelto en la botella.

Los resultados obtenidos de las muestras de control de calidad y de las muestras testigo se presentan en la parte de resultados de este trabajo.



## 11 RESULTADOS

### 11.1 PARÁMETRO DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

Los resultados que se presentan a continuación son los datos obtenidos con la cantidad de inóculo comercial seleccionado, donde la cantidad exacta fue: 8 mL de inóculo comercial. Por lo que se expone los resultados de todas las pruebas realizadas a partir de tener la cantidad exacta a utilizar en el método.

Para el parámetro de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en el laboratorio se trabaja con el siguiente formato en Excel (es el mismo formato que se utiliza en la bitácora), en donde se presenta resultados obtenidos de cada estándar, del blanco sin inóculo (B S/I) y del blanco con inóculo (B C/I), del día cero y del 5to día, con sus respectivas fechas de realización. En la parte de las tres lecturas del oxígeno disuelto, los recuadros que tienen un punto representan los mL gastos de Tiosulfato de Sodio y los recuadros con 2 puntos representa la concentración de oxígeno disuelto (mg/L). También se indica la molaridad del Tiosulfato de Sodio que se utilizó. Por último, se muestra en la tabla la incertidumbre del resultado obtenido y el porcentaje de recuperación de acuerdo a la concentración de DBO que se haya obtenido de cada muestra con estándar.

Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.026		NÚMERO DE FOLIO:										Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.03		0.025								
No. DE CONTROL	pH		% DE DILUCIÓN EN DECIMALES	OXÍGENO DISUELTOS INICIAL					OXÍGENO DISUELTOS 5 <sup>o</sup> DIA					OD - OD <sub>5</sub> (mg/L)	DBO (mg/l)	RESULTADO (mg/L)	INCERTIDUMBRE	% Recuperación				
	INICIAL	AJUSTADO		No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.				No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.									Inc			
					(mg/l) (OD <sub>1</sub> )					(mg/l) (OD <sub>5</sub> )												
			lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>1</sub> )	lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>5</sub> )												
21/10/2022 al 26/10/2022	STD 20 mg/L	7	7	0.20	6	*	3.85	3.8	3.8	8.04	17	*	2	2	2	4.05	0.00	3.99	16.31	16.31	0.15	81.53
				**	8.11	8.01	8.01	**	4.05	4.05	4.05	4.05										
				*	3.85	3.8	3.8	*	1.3	1.3	1.35	2.67	0.14									
	0.20	6	**	8.11	8.01	8.01	8.04	230	**	2.63	2.63	2.74	2.67	0.14	5.38	23.23	23.23	0.52	116.14			
	*	3.85	3.8	3.8	*	2	2	2	4.05	0.00												
	**	8.11	8.01	8.01	**	4.05	4.05	4.05	4.05	0.00												
STD 198 mg/L	7	7	0.02	6	*	3.75	3.8	3.8	7.97	325	**	1.8	1.85	1.8	3.68	0.14	3.99	16.31	16.31	0.15	81.53	
			**	7.90	8.01	8.01	**	3.65	3.75	3.65	3.68	0.14										
			*	3.75	3.8	3.8	*	1.8	1.8	1.8	3.65	0.00										
			**	7.90	8.01	8.01	**	3.65	3.65	3.65	3.65	0.00	4.33	171.60	171.60	0.15	86.67					
			*	3.75	3.8	3.8	*	1.3	1.35	1.3	2.67	0.14										
			**	7.90	8.01	8.01	**	2.63	2.74	2.63	2.67	0.14	5.30	220.57	220.57	0.52	111.40					
b			1.00	BCI	*	3.8	3.85	3.8	8.04	2	**	3.55	3.55	3.55	7.19	0.00	0.85					
	**	8.01	8.11	8.01	**	7.19	7.19	7.19	7.19	0.00												
	*	3.85	3.85	3.85	*	3.9	3.9	3.9	7.90	0.00												
1.00	BSI	**	8.11	8.11	8.11	8.11	6	**	7.90	7.90	7.90	7.90	7.90	7.90	0.21							

Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.026		NÚMERO DE FOLIO:										Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.03		0.026								
No. DE CONTROL	pH		% DE DILUCIÓN EN DECIMALES	OXÍGENO DISUELTOS INICIAL					OXÍGENO DISUELTOS 5 <sup>o</sup> DIA					OD - OD <sub>5</sub> (mg/L)	DBO (mg/l)	RESULTADO (mg/L)	INCERTIDUMBRE	% Recuperación				
	INICIAL	AJUSTADO		No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.				No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.									Inc			
					(mg/l) (OD <sub>1</sub> )					(mg/l) (OD <sub>5</sub> )												
			lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>1</sub> )	lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>5</sub> )												
20/10/2022 al 25/10/2022	STD 20 mg/L	7	7	0.20	220	*	3.85	3.8	3.8	8.04	14	**	1.6	1.6	1.6	3.37	0.00	4.67	21.11	21.11	0.15	105.55
				**	8.11	8.01	8.01	**	3.37	3.37	3.37	3.37										
				*	3.85	3.8	3.8	*	1.8	1.7	1.8	3.72	0.20									
	0.20	220	**	8.11	8.01	8.01	8.04	23	**	3.79	3.58	3.79	3.72	0.20	4.32	19.35	19.35	0.60	96.76			
	*	3.85	3.8	3.8	*	1.9	1.8	1.8	3.86	0.20												
	**	8.11	8.01	8.01	**	4.00	3.79	3.79	3.86	0.20	4.18	18.65	18.65	0.60	93.25							
STD 198 mg/L	7	7	0.02	53	*	3.85	3.85	3.85	8.11	16	**	1.9	1.9	1.85	3.97	0.14	4.14	179.69	179.69	0.53	90.75	
			**	8.11	8.11	8.11	**	4.00	4.00	3.90	4.14	0.14										
			*	3.85	3.85	3.85	*	2	2	1.95	4.18	0.14										
			**	8.11	8.11	8.11	**	4.21	4.21	4.11	4.18	0.14	3.93	169.15	169.15	0.53	85.43					
			*	3.85	3.85	3.85	*	1.95	1.9	1.9	4.04	0.14										
			**	8.11	8.11	8.11	**	4.11	4.00	4.00	4.04	0.14	4.07	176.18	176.18	0.53	88.98					
b			1.00	BCI	*	3.85	3.85	3.9	8.15	2	**	3.6	3.6	3.6	7.59	0.00	0.56					
	**	8.11	8.11	8.22	**	7.59	7.59	7.59	7.59	0.00												
	*	3.85	3.9	3.9	*	3.85	3.85	3.9	8.15	0.14												
1.00	BSI	**	8.11	8.22	8.22	8.18	6	**	8.11	8.11	8.22	8.15	0.14	0.04								



Molaridad del Tiosulfato de sodio: **0.025**



Molaridad del Tiosulfato de sodio: **0.03** **0.025**

NÚMERO DE FOLIO:

No. DE CONTROL	pH		% DE DILUCION EF. DECIMALES	OXIGENO DISUELTTO INICIAL					OXIGENO DISUELTTO 5 <sup>o</sup> DIA					No. DE BOTELLA	OD - OD <sub>5</sub> (mg/L)	DBO ( mg/L )	RESULTADO ( mg/L )	INCERTIDUMBRE	% Recuperación		
	INICIAL	AJUSTADO		No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.				No. DE BOTELLA	mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.											
					( mg/l ) ( OD <sub>t</sub> )			PROMEDIO(OD <sub>t</sub> )		( mg/l ) ( OD <sub>5</sub> )			PROMEDIO(OD <sub>5</sub> )							Inc	
			lec. ( 1 )	lec. ( 2 )	lec. ( 3 )		lec. ( 1 )		lec. ( 2 )	lec. ( 3 )											
STD 198 mg/L			0.02	555	*	3.65	3.65	3.65	7.40	100	**	1.3	1.25	1.3	2.60		4.80	191.79	191.79	0.15	96.87
			0.02	555	**	7.40	7.40	7.40	7.40	16	**	2.63	2.53	2.63	2.16	0.43	5.23	213.75	213.75	0.81	107.95
STD 20 mg/L			0.20	23	*	3.7	3.65	3.7	7.46	90	**	1.1	1.15	1.1	2.26	0.14	5.20	22.09	22.09	0.52	110.435664
			0.20	23	**	7.50	7.40	7.50	7.46	322	**	2.23	2.33	2.23	2.57	0.14	4.90	20.57	20.57	0.52	102.836879
STD 20 mg/L			0.20	23	*	3.7	3.65	3.7	7.46	8	**	1.25	1.3	1.25	2.43	0.00	5.03	20.26	20.26	0.15	101.317123
			0.20	23	**	7.50	7.40	7.50	7.46	60	**	2.43	2.43	2.43	4.19	0.20	3.28	12.46	12.46	0.59	62.3100304
STD 20 mg/L			0.20	23	*	3.7	3.65	3.7	7.46	150	**	2.1	2.1	2	2.36	0.44	5.10	21.58	21.58	0.81	107.902736
			0.20	23	**	7.50	7.40	7.50	7.46	196	**	4.26	4.26	4.05	2.63	0.00	4.83	19.25	19.25	0.15	96.2512665
STD 20 mg/L			0.20	23	*	3.7	3.65	3.7	7.46	24	**	1.3	1.3	1.3	2.60	0.14	4.86	20.40	20.40	0.52	101.99257
			0.20	23	**	7.50	7.40	7.50	7.46	32	**	2.53	2.63	2.63	2.23	0.00	5.23	22.26	22.26	0.15	111.279973
STD 20 mg/L			0.20	23	*	3.7	3.65	3.7	7.46	69	**	1.1	1.1	1.1	2.03	0.00	5.44	22.29	22.29	0.15	111.448835
			0.20	23	**	7.50	7.40	7.50	7.46	54	**	2.23	2.23	2.23	2.23	0.00	5.23	22.26	22.26	0.15	111.279973
b			1.00	BCI	*	3.65	3.65	3.7	7.43	2	**	1.1	1.1	1.1	6.45	0.14	0.98				
			1.00	BSI	**	7.40	7.40	7.50	7.36	6	**	6.48	6.38	6.48	7.13	0.14	0.24				

28/10/2022 al 03/11/2022



Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.025		NÚMERO DE FOLIO:										Molaridad del Tiosulfato de sodio: 0.03		0.025							
No. DE CONTROL	pH		% DE DILUCIÓN EN DECIMALES	No. DE BOTELLA	OXIGENO DISUELTO INICIAL				OXIGENO DISUELTO 5º. DÍA					OD - OD <sub>5</sub> (mg/L)	DBO (mg/l)	RESULTADO (mg/l)	INCERTIDUMBRE	% Recuperación			
	INICIAL	AJUSTADO			mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.				mL gastados de Tiosulfato de Sodio 0,025 M.												
	(mg/l) (OD <sub>1</sub> )				(mg/l) (OD <sub>5</sub> )																
				lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>1</sub> )	No. DE BOTELLA		lec. (1)	lec. (2)	lec. (3)	PROMEDIO (OD <sub>5</sub> )	Inc							
27/10/2022 al 01/11/2022	STD 20 mg/L		0.20	148	*	3.8	3.8	3.8	7.70	100	**	1.9	1.8	1.8	3.71		3.99	16.28	16.28	0.15	81.39
	STD 198 mg/L		0.02	24	*	3.8	3.8	3.8	7.70	142	**	1.3	1.35	1.3	2.67	0.14	5.03	206.92	206.92	0.52	104.51
					**	7.70	7.70	7.70	**		2.63	2.74	2.63								
					*	3.8	3.8	3.8	*		2	2	2	4.05	0.00	3.65	137.69	137.69	0.15	69.54	
					**	7.70	7.70	7.70	**		4.05	4.05	4.05	1.96	0.20	5.74	242.38	242.38	0.59	122.42	
	STD 198 mg/L		0.02	24	*	3.8	3.8	3.8	7.70	20	**	1.4	1.4	1.4	2.84	0.00	4.86	198.48	198.48	0.15	100.24
					**	7.70	7.70	7.70	**		2.84	2.84	2.84								
					*	3.8	3.8	3.8	*		2	1.9	1.9	3.92	0.20	3.78	144.44	144.44	0.59	72.95	
					**	7.70	7.70	7.70	**		4.05	3.85	3.85	2.53	0.00	5.17	213.68	213.68	0.15	107.92	
	STD 198 mg/L		0.02	24	*	3.8	3.8	3.8	7.70	21	**	1.6	1.55	1.6	3.21	0.14	4.49	179.91	179.91	0.52	90.86
					**	7.70	7.70	7.70	**		3.24	3.14	3.24								
					*	3.8	3.8	3.8	*		1.4	1.4	1.4	2.84	0.00	4.86	198.48	198.48	0.15	100.24	
**					7.70	7.70	7.70	**	2.84		2.84	2.84	2.70	0.14	5.00	205.23	205.23	0.52	103.65		
STD 198 mg/L		0.02	24	*	3.8	3.8	3.8	7.70	15	**	1.35	1.35	1.3	2.70	0.14	5.00	205.23	205.23	0.52	103.65	
				**	7.70	7.70	7.70	**		2.74	2.74	2.63									
				*	3.8	3.8	3.8	*		2	1.9	1.9	3.92	0.20	3.78	144.44	144.44	0.59	72.95		
				**	7.70	7.70	7.70	**		4.05	3.85	3.85	0.00	0.00	0.00						
b		1.00	BCI	*	3.8	3.75	3.75	7.63	2	**	3.3	3.35	3.3	6.72	0.14	0.91					
				**	7.70	7.60	7.60	**		6.69	6.79	6.69									
				*	3.8	3.8	3.8	*		3.75	3.75	3.75	7.60	0.00	0.10						
				**	7.70	7.70	7.70	**		7.60	7.60	7.60									

De todos los resultados obtenidos de las pruebas con 8 mL de inóculo comercial para tener registrado la reproducibilidad y la repetibilidad se realizó la siguiente tabla donde se calculó la media, la desviación estándar y la incertidumbre de los resultados del estándar de 198 mg/L y los resultados del estándar de 20 mg/L.

*Tabla 14. Recopilación de datos de todas las pruebas de DBO<sub>5</sub> realizadas con estándar de 198 mg/L y 20 mg/L*

Pruebas con 8 ml de inóculo								
FECHAS	OD <sub>1</sub> -OD <sub>5</sub>	ESTANDAR mg/L	DBO	% RECUPERACIÓN	MEDIA	% RECUPERACIÓN	DESVIACIÓN ESTANDAR	INCERTIDUMBRE
B S/I	0.04							
B C/I	0.56							
2022/10/20 - 2022/10/25	1	198	179.69 169.15 176.18	90.75 85.43 88.98	175.01	88.39	5.37	1.34
B S/I	0.21							
B C/I	0.85							
2022/10/21 - 2022/10/26	2	198	169.91 171.60 220.57	97.6 107.7 107.7	187.36	94.63	28.77	3.10
B S/I	0.10							
B C/I	0.91							
2022/10/27 - 2022/11/01	3	198	206.92 137.69 242.38 198.48 144.44 213.68 179.91 198.48 205.23 144.44	104.51 69.54 122.42 100.24 72.95 107.92 90.86 100.24 103.65 72.95	187.1665	94.53	34.76	1.86
B S/I	0.04							
B C/I	0.56							
2022/10/20 - 2022/10/25	1	20	21.11 19.35 18.65	105.55 96.76 93.25	19.70415	98.52	1.27	0.65
B S/I	0.21							
B C/I	0.85							
2022/10/21 - 2022/10/26	2	20	16.31 23.23 16.31	81.53 116.14 81.53	18.61308	93.07	4.00	1.15
B S/I	0.24							
B C/I	0.98							
2022/10/28 - 2022/11/03	3	20	22.09 20.57 20.26 12.46 21.58 19.25 20.40 22.26 22.29 22.26	113.3 105.8 108.3 62.6 118.3 103.3 103.3 113.3 118.3 113.3	20.34	101.71	2.964	0.54





En los siguientes resultados de las pruebas de desempeño realizado en el mes de enero se logra reconfirmar que al utilizar 8 ml de inóculo comercial marca POLYSEED, se cumplen las condiciones que se mencionan al inicio de este trabajo, el blanco sin inóculo (B S/I) tiene un consumo de oxígeno disuelto  $< 0.2$ , en el blanco con inóculo (B C/I) se tiene un consumo de oxígeno disuelto que se encuentra en el rango de 0.5 a 1. Además de los estándares de control de calidad que tienen un porcentaje de recuperación dentro del rango del 80 al 120%.

Así mismo en las muestras testigo que fueron preparadas con estándar comercial marca HACH que se indican en los recuadros celestes, también presentan resultados favorables que entran dentro del rango del porcentaje de recuperación, aunque se logra observar que las muestras testigo donde el estándar fue diluido tuvo menor porcentaje de recuperación que en las muestras testigo donde se colocó el estándar comercial marca HACH directo.

La única observación es que la concentración del oxígeno disuelto inicial fue algo bajo y quizás sea mejor oxigenar en agua por más de 1 hora, para tener un rango más amplio.

## 11.2 PARÁMETRO DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

Los resultados presentados a continuación son las curvas de calibración de la prueba de concentraciones altas, al principio se muestra una tabla general con los datos de las tres lecturas tomadas para la curva de calibración que se realiza cada día, tomando en cuenta que se realizan 3 curvas de calibración donde se gráfica la relación lineal entre la absorbancia y la concentración. Estas curvas de calibración deben tener un R cuadrado mayor 0.995 para que pueda aceptarse.

Tabla 15. Datos de curva de calibración de alta concentración del 30/11/2022

1	DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN ALTA CONCENTRACIÓN				
	CONCENTRACIÓN mg/L	LECTURA (ABSORVANCIA)			PROMEDIO ABS
		1	2	3	
	0	0	0	0	0
	200	0.080	0.076	0.075	0.077
	400	0.187	0.187	0.186	0.187
	600	0.262	0.262	0.262	0.262
	800	0.362	0.361	0.362	0.362
	1000	0.444	0.444	0.444	0.444

Ilustración 49. Curva de calibración 30/11/2022

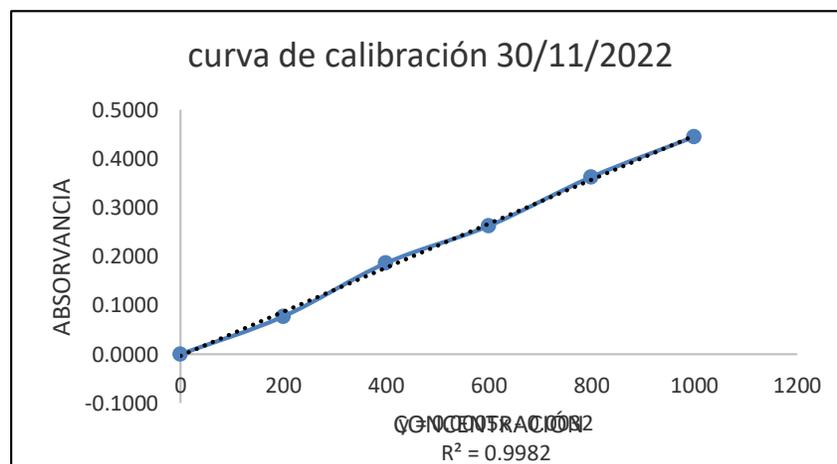


Tabla 16. Datos de curva de calibración de alta concentración 01/12/2022

2	DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN ALTA CONCENTRACIÓN				
	CONCENTRACIÓN mg/L	LECTURA (ABSORVANCIA)			PROMEDIO ABS
		1	2	3	
	0	0	0	0	0
	200	0.071	0.072	0.071	0.071
	400	0.154	0.152	0.152	0.153
	600	0.215	0.214	0.215	0.215
	800	0.277	0.278	0.278	0.278
	1000	0.322	0.334	0.333	0.330

Ilustración 50. Curva de calibración 01/12/2022

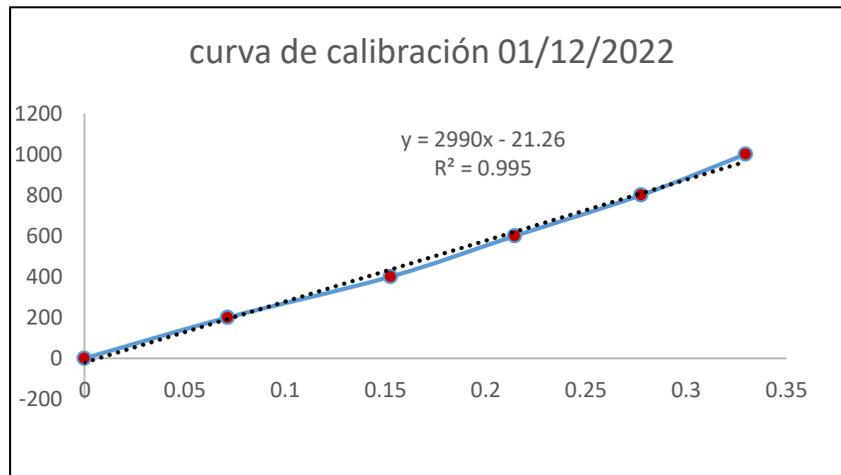
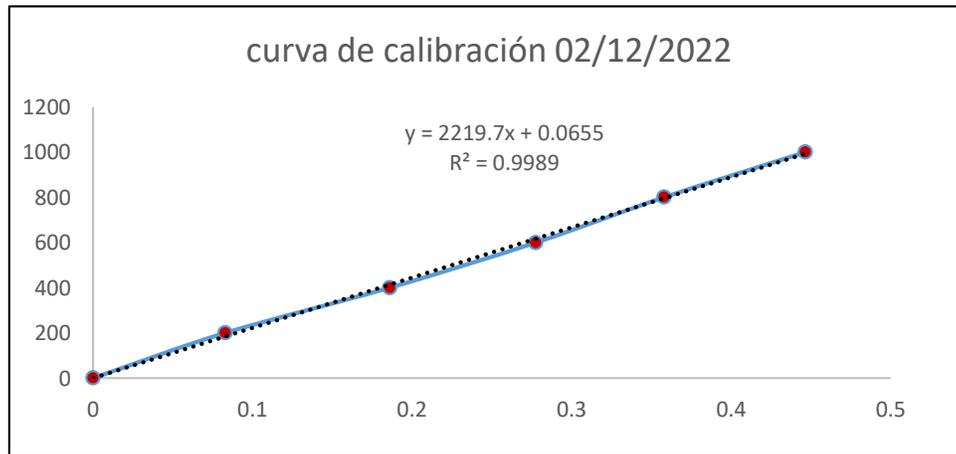


Tabla 17. Datos de curva de calibración altas concentraciones 02/12/2022

3	DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN ALTA CONCENTRACIÓN				
	CONCENTRACIÓN mg/L	LECTURA (ABSORVANCIA)			PROMEDIO ABS
		1	2	3	
	0	0	0	0	0
	200	0.083	0.083	0.083	0.083
	400	0.186	0.186	0.186	0.186
	600	0.278	0.277	0.278	0.278
	800	0.358	0.358	0.358	0.358
	1000	0.447	0.447	0.446	0.447

*Ilustración 51. Curva de calibración del 02/12/2022*



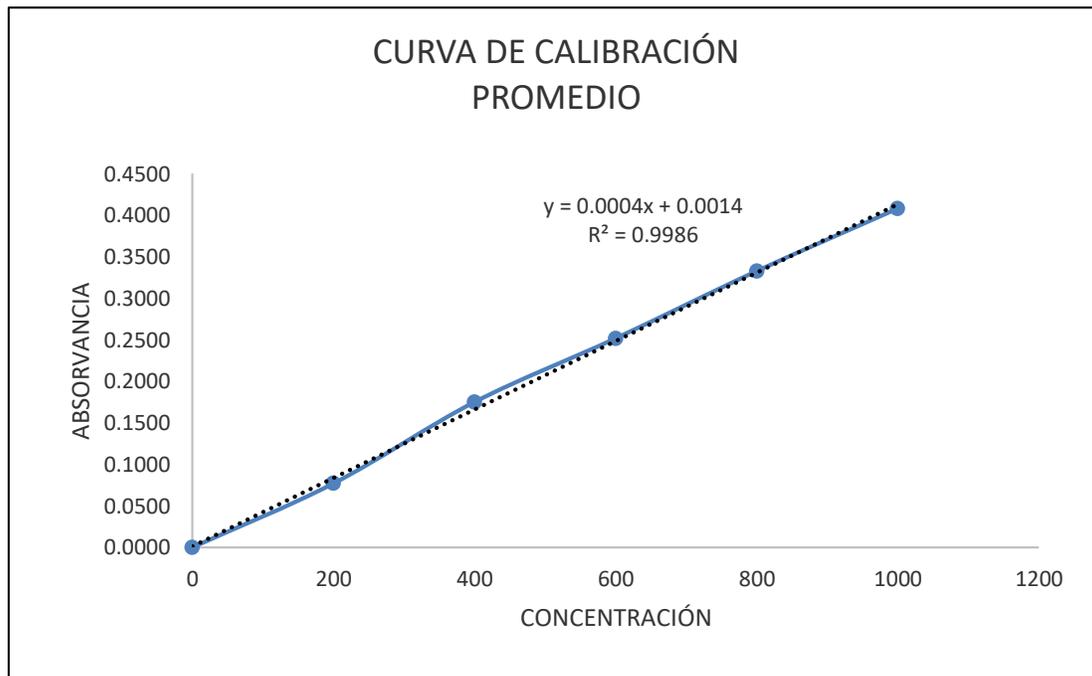
En las tablas y graficas anteriores se logra observar que el día 02/12/2022, se obtuvo una curva de calibración más exacta, por lo que se realizó de manera adecuada el método. Los resultados del día 01/12/2022 se obtuvo una gráfica menos exacta que las anteriores, pero aun logra cumplir con el valor mínimo del R cuadrado, por lo que si se acepta.

Después de tener la curva de calibración de cada día se realiza una gráfica de una curva de calibración promedio donde se incluyen los datos promedio obtenido de cada curva realizada, para que se logre apreciar que exactitud se tuvo en esa prueba y en base a ello se decida si se puede aceptar para los cálculos de los análisis próximos a realizar.

Tabla 18. Datos para curva de calibración promedio altas concentraciones

DATOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN PROMEDIO				
Conc. mg/L	NUMERO DE CURVA			
	02/12/2022	01/12/2022	30/11/2022	PROM
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
200	0.0830	0.0710	0.0770	0.0770
400	0.1860	0.1530	0.1860	0.1750
600	0.2780	0.2150	0.2620	0.2517
800	0.3580	0.2780	0.3620	0.3327
1000	0.4470	0.3330	0.4440	0.4080

Ilustración 52. Curva de calibración promedio de altas concentraciones





## 12 CONCLUSIONES

Con base a la información recaudada y de acuerdo a los resultados obtenidos en cada método implementado como lo fue el de la norma NMX-AA-028-SCFI-2001 “Determinación de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)” y la norma NMX-AA-030/1-SCFI-2012 “Determinación de demanda química de oxígeno (DQO)” se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se cumplió con el objetivo general debido a que la cantidad exacta para estabilizar el uso de inóculo fue de **8 mL** de inóculo comercial POLYSEED a utilizar en las pruebas de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) que cumplió con las 2 condiciones: **consumo de 0.5 – 1 mg/L de oxígeno disuelto (OD) en el blanco con inóculo (BC/I) y tener un 80 – 120% de recuperación al momento de obtener valores de concentración de DBO.**
- En las pruebas de desempeño del parámetro de Demanda Bioquímica de Oxígeno se obtuvo el 86.5 % de recuperación en la muestra de control de calidad del estándar de 198 mg/L y se obtuvo el 82.92% de recuperación en la muestra testigo del estándar comercial HACH con concentración de 396 mg/L, por lo que con esto se comprueba que el primer objetivo específico se cumplió de manera exitosa, al haber logrado implementar el método de la norma NMX-AA-028-SCFI-2001.
- En la curva de promedio de concentraciones altas obtuvo un R cuadrado de 0.9986, con este resultado se demuestra que se cumplió el segundo objetivo específico, implementando el método de la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2012.



- El método para la determinación de Demanda Química de Oxígeno a pesar de ser más corto, resultó ser más complejo que el método para la determinación del parámetro de Demanda Química de Oxígeno.

## 13 RECOMENDACIONES

- Portar con el equipo de protección (bata y guantes) durante la realización de actividades en el laboratorio.
- Practicar mucho la precisión mediante ejercicios de volumen y masa (practicando el pipeteo de líquidos y el pesaje de sólidos)
- Realizar diagramas de flujo de los métodos a realizar para entender mejor el procedimiento.
- Seguir al pie de la letra el procedimiento del laboratorio y no de la norma. Las normas solo sirven como guía e introducción de cada parámetro.
- Lavar y ordenar los materiales a utilizar en el análisis un día antes, esto ayuda a trabajar de manera eficaz y ordenada en el laboratorio, sobre todo en métodos tan laboriosos como lo es el método de norma NMX-AA-028-CSFI-2001 que determina la demanda bioquímica de oxígeno ( $DBO_5$ ).
- Realizar etiquetas de las muestras para la determinación de demanda bioquímica de oxígeno ( $DBO_5$ ) mediante papeles forrados con cinta adhesiva y sujetos con ligas de colores, cada color de la liga es para cada tipo de muestra a analizar. De esta manera se evita confusiones al momento de preparar las muestras y se trabaja de manera más ordenada al momento de analizar las muestras.
- Conseguir un trapito más suave para limpiar los tubos de digestión sellados



- Evitar el movimiento brusco de los tubos de digestión sellados al momento de transportarlos de un lugar a otro, sobre todo en el momento que salga del digestor y cuando se tomen las lecturas en el espectrofotómetro.
- Realice con anticipación el diseño experimental de las pruebas a realizar para realizar cambios a tiempo.

## 14 COMPETENCIAS DESARROLLADAS Y APLICADAS

En este proyecto es de utilidad las materias de **química orgánica I y II** para comprender todas aquellas reacciones que se llevaron a cabo, **química analítica** al momento de realizar todas aquellas disoluciones indicadas en el método y las disoluciones del estándar para la prueba de desempeño. La materia de **Análisis de datos experimentales** es de gran utilidad para la parte de los resultados obtenidos en los análisis de ambos parámetros. La materia de **Análisis Instrumental** se aprecia al momento de utilizar el espectrómetro y tomar lectura de la absorbancia de las muestras de acuerdo a la onda de longitud seleccionada. No pudo faltar la materia de **Ingeniería Ambiental y Tratamiento de efluentes individuales** al estar realizando análisis de los métodos de las normas ambientales de dos parámetros que son contaminantes de la calidad del agua. En la materia de **Gestión de Calidad** se aprende la importancia del uso de las normas. Las materias de **Taller de Investigación I y II** fue parte fundamental en este proyecto para la realización del reporte de residencia puesto que el formato es algo similar a los protocolos que se trabajaron con anterioridad en ambas materias. Por lo que se en este proyecto se debe recordar algunos temas de las materias antes mencionada para la realización de este trabajo.



## 15 BIBLIOGRAFÍA

- Bilanz Qualitat*. (2 de 06 de 2022). Obtenido de <https://bilanzqualitat.es/importancia-medicion-materia-organica-mexico.html>
- DGN, S. D. (2001). *NMX-AA-012-SCFI-2001-ANÁLISIS DE AGUA- DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTUO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS -MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-012-1980)*. México.
- DGN, S. D. (2001). *NMX-AA-028-SCFI-2001- Análisis de agua-Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales (DBO5) y Residuales Tratadas - Método de Prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981)*. México.
- ECONOMÍA, S. D. (2011). *NMX-AA-030/2-SCFI-2011-Análisis de agua- Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales y Residuales Tratadas-Método de Prueba- Parte 2-Método de Tubo Sellado a Pequeña Escala*. México.
- Edrochac. (19 de 10 de 2022). *OoCities*. Obtenido de Caracterización de aguas residuales por dbo y dqo: <https://www.oocities.org/edrochac/residuales/dboydqo2.pdf>
- HACH. (2000). *MANUAL DE ANALISIS DE AGUA* . Colorado, EE.UU.: HACH COMPANY.
- Kiely, G. (s.f.). *Ingeniería Ambiental. Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión*. Mc Graw Hill.
- León, J. A. (Septiembre 2002). *CALIDAD DE AGUAS PARA ESTUDIANTES DE CIENCIAS AMBIENTALES. Facultad de medio ambiente y recursos naturales*. Bogotá: Camilo Andrés Perdomo Ramírez.
- Loma, S. I. (Marzo, 2018). *Validación del método respirométrico para determinar DBO5 en aguas residuales y naturales en el distrito metropolitano de quito*. Escuela Politecnica Nacional.
- PAEZ, C. M. (28 de Diciembre del 2007). *Informes de Prevalidación de la Demanda Química de Oxígeno, Técnica Volumétrica-Método de Reflujo Cerrado*. Santafé de Bogotá: IDEAM.
- Peters, E. J. (2009). *Comprehensive Monitoring Program. Publicación especial del Instituto Nacional de Ecología*. México: Cienega de Santa Clara.
- Quintana, F. A. (Febrero, 2010). *Análisis estadístico de los parámetros DQO, DBO5 y SS de las aguas residuales urbanas en el ensuciamiento de las membranas de ósmosis inversa*. Las Palmas de Gran Canaria: Universidad de las Palmas de Gran Canaria.
- R., M. O. (4 de Junio del 2007). *Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 días, INCUBACIÓN Y ELETROMETRÍA*. En M. y. IDEAM (Instituto de Hidrología, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (págs. 1-13). Republica de Colombia: IDEAM.
- Sawyer, C. a. (1978). *Chemistry for Environmental Engineering*. New York: McGraw-Hill Book Company.
- SEMARNAT, C. (2014). *Estadísticas del Agua en México*. México: Edición 2013.



UNDP, U. W. (2000). *TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. LA DBO EN EL ONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DE LAS EDARS*. Obtenido de World Resources:  
<http://www.infohoreco.es/html/files/pdf/amb/iq/358/05articulo.pdf>



## 16 ANEXOS

### Anexo 1 Cronograma de actividades del proyecto

Actividad	1-3 SEMANA	4-6 SEMANA	7-9 SEMANA	10-12 SEMANA	13-15 SEMANA
Revisión documental de las normas, procedimientos y procesos del laboratorio.					
Capacitación en el manejo de equipos, materiales y reactivos a utilizar.					
Preparación de materiales y establecimiento de los métodos.					
Realización y estabilización de pruebas de laboratorio.					
Realización de pruebas de desempeño.					
Análisis de muestras de agua y estándares.					



## *Anexo 2. NMX-AA-012-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-012-1980)”*

### **Principio del método**

1.- En el método electrométrico los electrodos de membrana sensible al oxígeno, ya sean galvánicos o polarizados están constituidos por dos electrodos de metal en contacto con un electrolito soporte, separado de la disolución de muestra por medio de una membrana selectiva.

En el cátodo, que usualmente es oro o platino, ocurre la reducción del oxígeno mientras que en el ánodo ocurre la oxidación del metal (plata o plomo). La diferencia básica entre el sistema galvánico y el polarizado es que en el primero la reacción en el electrodo ocurre espontáneamente, mientras que en el segundo es necesario aplicar un potencial externo para polarizar el electrodo indicador.

Generalmente se utilizan membranas de polietileno y fluorocarbón que son permeables al oxígeno molecular y relativamente rugosas.

2.- En el método En el método de la azida de sodio se adiciona una disolución de manganeso divalente y una disolución alcalina yoduro-azida de sodio a una muestra de agua contenida en un frasco de vidrio que debe permanecer cerrado. El oxígeno disuelto, OD, oxida al hidróxido de manganeso disuelto, en cantidad equivalente, para producir un precipitado de manganeso con valencia más alta. Se acidifica la muestra y los iones yoduro reducen al manganeso a su estado divalente produciéndose yodo equivalente al contenido de OD original. El yodo se titula con una disolución normalizada de tiosulfato



de sodio. El punto final de la valoración se detecta visualmente con un indicador de almidón.

## Definiciones

**Aguas naturales:** Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, tormenta residual y superficial.

**Aguas residuales:** Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarios, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.

**Bitácora:** Cuaderno de laboratorio debidamente foliado e identificado, en el cual los analistas anotan todos los datos de los procedimientos que siguen en el análisis de una muestra, así como todas las informaciones pertinentes y relevantes a su trabajo en el laboratorio. Es a partir de dichas bitácoras que los inspectores pueden reconstruir el proceso de análisis de una muestra tiempo después de que se lleva a cabo.

**Blanco analítico o de reactivos:** Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.

**Calibración:** Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una



corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

**Descarga:** Acción de verter, infiltrar o depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando éste es un bien del dominio público de la Nación.

**Desviación estándar experimental:** Para una serie de  $n$  mediciones del mismo 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  $i$ -ésima medición y  $\bar{x}$  es la media aritmética de los  $n$  resultados considerados.

**Disolución estándar:** Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.

**Disolución madre:** Corresponde a la disolución de máxima concentración en un análisis. Es a partir de esta disolución que se preparan las disoluciones de trabajo.

**Material de referencia:** Material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneas y bien definidas, para ser utilizadas para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición, o para asignar valores a los materiales.



**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.

**Muestra compuesta:** La que resulta de mezclar un número de muestras simples. Para conformar la muestra compuesta, el volumen de cada una de las muestras simples debe ser proporcional al caudal de la descarga en el momento de su toma.

**Muestra simple:** La que se tome en el punto de descarga, de manera continua, en día normal de operación que refleje cuantitativa y cualitativamente él o los procesos más representativos de las actividades que generan la descarga, durante el tiempo necesario para completar cuando menos, un volumen suficiente para que se lleven a cabo los análisis necesarios para conocer su composición.

**Parámetro:** Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad del agua.

**Patrón (de medición):** Material de referencia, instrumento de medición, medida materializada o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o más valores de una magnitud para utilizarse como referencia.

**Patrón de referencia:** Patrón, en general de la más alta calidad metrológica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada del cual se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.



**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 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.

**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.

**Verificación de calibración:** Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

## Reactivos y patrones

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

**Agua:** Debe tenerse agua que cumpla con las siguientes características:



- a) Resistividad: megohm-cm a 25°C: 0,2 min;
- b) Conductividad:  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°C 5,0 máx., y
- c) pH: 5,0 a 8,0.

## Método electrométrico

- Cloruro de cobalto ( $\text{CoCl}_2$ )
  - Sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ )
- Disolución saturada de cloruro de cobalto. Pesar aproximadamente y con precisión 4,5 g de cloruro de cobalto y disolver en 10 mL de agua.
- Disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto (OD). Pesar aproximadamente y con precisión 5,0 g de sulfito de sodio, aforar a 100 mL de agua y añadir 2 gotas de la disolución saturada de cloruro de cobalto.

## Método yodométri

- Sulfato manganoso ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  o  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  o  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )
- Hidróxido de potasio (KOH)
- Yoduro de potasio (KI) o yoduro de sodio (NaI)
- Azida De sodio ( $\text{NaN}_3$ )
- Almidón soluble
- Tiosulfato de sodio pentahidratado ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
- Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- Dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{CrO}_7$ )
- Biyodato de potasio ( $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ )
- Hidróxido de sodio de sodio (NaOH) o hidróxido de potasio (KOH)
- Ácido salicílico ( $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COOH}$ )



- Disolución de sulfato manganoso. Disolver en agua 480 g de sulfato manganoso, filtrar y diluir a 1 L. Esta disolución debe usarse siempre y cuando no de color al adicionarle una disolución ácida de yoduro de potasio en presencia de almidón.
- Disolución alcalina de yoduro-azida de sodio. Disolver en agua 500 g de hidróxido de sodio, 700 g de hidróxido de potasio y 150 g de yoduro de potasio, diluir a 1 L con agua destilada. A esta disolución agregar 10 g de azida de sodio disueltos en 40 mL de agua. Esta disolución no debe dar color con la disolución de almidón cuando se diluya y acidifique.
- Disolución indicadora de almidón. Disolver en 1 L de agua destilada caliente, 20 g de almidón soluble y 2 g de ácido salicílico como conservador. Mantener en refrigeración siempre que no esté en uso.
- Disolución estándar de tiosulfato de sodio (aprox. 0.025M). Pesar aproximadamente 6,205 g de tiosulfato de sodio y disolver en agua destilada y diluir a un litro; agregar un gramo de hidróxido de sodio en lentejas. Se debe calcular la concentración de esta disolución con una disolución de biyodato de potasio 0,002 1 M o con una disolución de dicromato de potasio 0,025 N, usando la disolución de almidón como indicador (1 mL de la disolución valorada de tiosulfato 0,025 M es equivalente a 1mg de oxígeno disuelto).
- Disolución de biyodato de potasio (0.0021 M). Pesar aproximadamente y con precisión 812,4 mg de biyodato de potasio y aforar a 1 L con agua destilada.



- Disolución de dicromato de potasio (0.025 N). Pesar aproximadamente y con precisión 1,226 g de dicromato de potasio previamente secado a 105°C durante 2 h y aforar a 1 L con agua destilada.
- Valoración de la disolución de tiosulfato de sodio. En un matraz Erlenmeyer, disolver 1 g de yoduro de potasio (ver inciso 4.2.3) exento de yodato en 60 mL de agua. Agregar 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 10 mL de la disolución de dicromato de potasio o biyodato de potasio, diluir a 100 mL con agua y valorar el yodo con la disolución de tiosulfato, agregar el almidón hasta el final de la determinación, cuando se alcance un color amarillo pálido.

$$N \text{ de tiosulfato} = \frac{V(\text{KH}(\text{IO}_3)_2) \times N(\text{KH}(\text{IO}_3))}{\text{mL gastados de tiosulfato}}$$

Donde:

N es la normalidad

V es el volumen

- Disolución de ácido sulfúrico 0.10 N. Lentamente y mientras se agita, agregar 2,8 mL de ácido sulfúrico concentrado a un volumen aproximado de 500 mL de agua destilada, mezclar bien y diluir a 1 L de agua destilada.
- Disolución de hidróxido de sodio 0.1N. Pesar aproximadamente y con precisión 4 g de lentejas de hidróxido de sodio y diluir a 1 L.

## Equipo y materiales

### Equipo

#### Método electrométrico

- Medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensitiva al oxígeno, de tipo galvánico o polarizado;



- Parrilla de agitación magnética, y
- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

### Método yodométrico

- Balanza analítica con precisión de 0.1 mg

### **Materiales**

Todo el material volumétrico utilizado en este procedimiento debe ser clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado.

### Método electrométrico

- Barras de agitación magnética de PTFE

### Método yodométrico

- Matraces volumétricos de 500 ml y 1000 ml;
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml y 1000 ml; y
- Bureta de 25 ml con soporte

### **Control de calidad**

Cada laboratorio que utilice este método debe operar un programa de control de calidad (CC) formal.

El laboratorio debe mantener los siguientes registros:

Los nombres y títulos de los analistas que ejecutan los análisis y el encargado de control de calidad que verifica los análisis, y las bitácoras manuscritas del analista y del equipo en los que se contengan los siguientes datos:



- a) Identificación de la muestra;
- b) Fecha del análisis;
- c) Procedimiento cronológico utilizado;
- d) Cantidad de muestra utilizada;
- e) Número de muestras de control de calidad analizadas;
- f) Trazabilidad de las calibraciones de los instrumentos de medición;
- g) Evidencia de la aceptación o rechazo de los resultados, y
- h) Además el laboratorio debe mantener la información original reportada por los equipos en disquetes o en otros respaldos de información.

De tal forma que permita a un evaluador externo reconstruir cada determinación mediante el seguimiento de la información desde la recepción de la muestra hasta el resultado final.

## **Calibración**

Se debe contar con un registro de verificación de la calibración de los equipos y materiales siguientes:

Material volumétrico

Balanza analítica.

Si se utiliza el método electrométrico calibrar el medidor de oxígeno disuelto de acuerdo con las especificaciones del fabricante.



La estandarización cero de OD consiste en la inmersión del electrodo en la disolución estándar de concentración nula de oxígeno. La lectura debe estar en cero mg/L de OD, de no ser así, ajustar el instrumento a cero.

Ajustar el instrumento a la presión barométrica.

## Procedimiento

### Método electrométrico

Posterior a la calibración del instrumento proceder a hacer la medición de la(s) muestra(s) siguiendo el procedimiento descrito a continuación.

- Introducir el electrodo previamente lavado con agua a la muestra.
- Agitar uniformemente y leer directamente del instrumento la concentración de oxígeno.

### Método yodométrico

#### Determinación de OD

- Para fijar el oxígeno, adicionar a la botella tipo Winkler que contiene la muestra (300 mL), 2 mL de sulfato manganoso.
- Agregar 2 mL de la disolución alcalina de yoduro-azida.
- Tapar la botella tipo Winkler, agitar vigorosamente y dejar sedimentar el precipitado.
- Añadir 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, volver a tapar y mezclar por inversión hasta completa disolución del precipitado.



- Titular 100 mL de la muestra con la disolución estándar de tiosulfato de sodio 0,025 M agregando el almidón hasta el final de la titulación, cuando se alcance un color amarillo pálido. Continuar hasta la primera desaparición del color azul.

## Cálculos

### Método electrométrico

Las concentraciones de OD se toman directamente de la lectura del instrumento.

### Método yodométrico

$$\text{OD mg/L} = (\text{M} \times \text{mL de Tiosulfato} \times 8 \times 1\,000) / 98,7$$

Donde:

- M es la molaridad de tiosulfato
- 8 son los gramos/ equivalente de oxígeno, y
- 98.7 es el volumen corregido por el desplazamiento de los reactivos agregados a la botella tipo winkler.

*Anexo 3. NMX-AA-028-SCFI-2001” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES (DBO5) Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-028-1981)”*

### Principio del método

El método se basa en medir la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20°C.

Para la determinación de oxígeno disuelto (OD) se puede emplear cualquiera de los dos métodos establecidos en la norma mexicana NMX-AA-012-SCFI.



## Reactivos y patrones

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:

- a) Resistividad, megohm-cm a 25°C: 0,2 min.;
  - b) Conductividad,  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°C: 5,0 máx., y
  - c) pH: 5,0 a 8,0.
- 
- 1) Fosfato monobásico de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
  - 2) Fosfato dibásico de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )
  - 3) Fosfato dibásico de sodio heptahidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
  - 4) Cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )
  - 5) Sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
  - 6) Cloruro de calcio anhidro ( $\text{CaCl}_2$ )
  - 7) Cloruro férrico hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )
  - 8) Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
  - 9) Hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ )
  - 10) Sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ )
  - 11) 2-cloro-6 (triclorometil) piridina
  - 12) Glucosa grado patrón primario ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ )
  - 13) Ácido glutámico grado patrón primario ( $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ )
  - 14) Ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ )
  - 15) Ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ )



- Disolución amortiguadora de fosfato. Pesar aproximadamente 8,5 g de fosfato monobásico de potasio (ver inciso 1), 21,75 g de fosfato dibásico de potasio (ver inciso 2), 33,4 g de fosfato dibásico de sodio heptahidratado (ver inciso 3) y 1,7 g de cloruro de amonio (ver inciso 4), disolver en 500 mL de agua y aforar a 1 L. El pH de la disolución debe ser de 7,2. Desechar el reactivo (o cualquiera de los siguientes reactivos) si hay algún signo de crecimiento biológico en el frasco de almacenamiento.
- Disolución de sulfato de magnesio. Pesar aproximadamente 22,5 g de sulfato de magnesio heptahidratado (ver inciso 5), disolver en agua y diluir a 1 L.
- Disolución de cloruro de calcio. Pesar aproximadamente 27,5 g de cloruro de calcio anhidro (ver inciso 6), disolver en agua y diluir a 1 L.
- Disolución de cloruro férrico. Pesar aproximadamente 0,25 g de cloruro férrico hexahidratado (ver inciso 7), disolver en agua y diluir a 1 L.
- Disolución de ácido sulfúrico (0,1N). Agregar aproximadamente 2,8 mL de ácido sulfúrico concentrado (ver inciso 8) a 500 mL de agua, mezclar bien y diluir hasta 1 L.
- Disolución de hidróxido de sodio (0,1N). Pesar aproximadamente 4,0 g de hidróxido de sodio (ver inciso 9), disolver en agua y diluir a 1 L.
- Disolución de sulfito de sodio. Pesar aproximadamente 1,575 g de sulfito de sodio (ver inciso 10), disolver en agua y diluir a 1 L. Esta disolución no es estable; por lo que debe prepararse diariamente.



- Disolución patrón de glucosa-ácido glutámico. Secar glucosa y ácido glutámico a 103°C durante una hora. Pesar aproximadamente y con precisión 150,0 mg de glucosa (ver inciso 12) y 150,0 mg de ácido glutámico (ver inciso 13), diluir en agua y aforar a 1 L. Preparar inmediatamente antes de usarla. Esta disolución tiene una DBO5 de 198 mg/L.
- Disolución de cloruro de amonio. Pesar aproximadamente 1,15 g de cloruro de amonio (ver inciso 4) y disolver en 500 mL de agua, ajustar el pH a 7,2 con disolución de hidróxido de sodio y aforar a 1 L. La disolución contiene 0,3 mg N/mL.

## Equipo y materiales

### Equipos:

- Equipo de aireación con difusor
- Incubador: Controlado por termostato a  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Eliminar toda la luz para evitar la posibilidad de producción fotosintética de oxígeno disuelto.
- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg
- Medidor de oxígeno disuelto

### Materiales:

#### *Limpieza de material.*

- Todo el material usado en la determinación debe ser exclusivo para este procedimiento. Para el lavado del material remojar durante 1 h en una disolución de ácido sulfúrico al 10 % y enjuagar con agua. Los detergentes con base de amoníaco no deben usarse para la limpieza del material.



- Los contenedores de las muestras deben lavarse con disolución de detergente no iónico, libre de metales, enjuagarse con agua, remojar en ácido toda la noche y volver a enjuagarse con agua libre de metales.
- Para el material de cuarzo, politetrafluoroetileno o material de vidrio debe dejarse remojando de 12 h a 24 h con HNO<sub>3</sub> (1:1), HCl (1:1) o con agua regia (3 partes de HCl concentrado + 1 parte de HNO<sub>3</sub> concentrado) a 70°C solo en los casos que presente material adherido, después debe ser enjuagado con agua libre de metales.
- En los casos de que el material presente grasas, enjuagar con acetona y/o hexano.
- Botellas Winkler de vidrio para incubación con capacidad de 300 mL de aforo total y con boca estrecha, reborde y tapón de vidrio esmerilado, de forma cónica.
- Contratapa de politetrafluoroetileno u otro material plástico para botella Winkler.
- Bureta

## **Recolección, preservación y almacenamiento de muestras**

- En el caso de aguas naturales debe tomarse un mínimo de 1 L de muestra en un envase de polietileno o vidrio. En el caso de aguas residuales (DBO<sub>5</sub> mayores a 50 mg/L) deben tomarse mínimo 100 mL. Pueden utilizarse muestras simples o compuestas.



- No se debe agregar ningún preservador a las muestras. Solo deben conservarse a 4°C hasta su análisis.
- El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 24 h.

## Control de calidad

- Cada laboratorio que utilice este método debe operar un programa de control de calidad (CC) formal.
- El laboratorio debe mantener los siguientes registros:

Los nombres y títulos de los analistas que ejecutaron los análisis y el encargado de control de calidad que verifica los análisis, y las bitácoras manuscritas del analista y del equipo en los que se contengan los siguientes datos:

- a) Identificación de la muestra;
- b) Fecha del análisis;
- c) Procedimiento cronológico utilizado;
- d) Cantidad de muestra utilizada;
- e) Número de muestras de control de calidad analizadas;
- f) Trazabilidad de las calibraciones de los instrumentos de medición;
- g) Evidencia de la aceptación o rechazo de los resultados, y
- h) Además el laboratorio debe mantener la información original reportada por los equipos en disquetes o en otros respaldos de información.



De tal forma que permita a un evaluador externo reconstruir cada determinación mediante el seguimiento de la información desde la recepción de la muestra hasta el resultado final.

## Calibración

Se debe contar con la calibración de los equipos y materiales siguientes:

- Material volumétrico
- Balanza analítica
- Medidor de oxígeno disuelto

## Procedimiento

- Preparación de agua de dilución

Colocar el volumen requerido de agua en un frasco y añadir por cada litro de agua 1 mL de cada una de las siguientes disoluciones: disolución de sulfato de magnesio, disolución de cloruro de calcio, disolución de cloruro férrico y disolución amortiguadora de fosfatos. Preparar el agua de dilución diariamente.

Analizar y almacenar el agua de dilución de tal forma que siempre tenga a mano agua de calidad garantizada. Antes de usar el agua de dilución debe ponerse a una temperatura aproximada de 20°C. Saturar con oxígeno aireando con aire filtrado, libre de materia orgánica durante 1 h por lo menos.

- Control del agua de dilución



Utilizar este procedimiento como una comprobación aproximada de la calidad del agua de dilución. Si la disminución de oxígeno disuelto del agua excede de 0,2 mg/L, obtener agua de mejor calidad mejorando la purificación o usar agua de otra fuente. Alternativamente si se requiere inhibir la nitrificación, almacenar el agua de dilución sembrada en una habitación oscura a temperatura ambiente hasta que la captación de oxígeno disuelto se haya reducido lo suficiente para cumplir los criterios de comprobación del agua de dilución. No se recomienda su almacenamiento cuando la DBO se va a determinar sin inhibir la nitrificación ya que pueden desarrollarse microorganismos nitrificantes durante ese tiempo. Si el agua de dilución no ha sido almacenada para mejorar su calidad, añadir suficiente inóculo como para un consumo de OD de 0,05 mg/L a 0,1 mg/L en cinco días a 20°C. Al Incubar en un frasco Winkler lleno de agua de dilución durante cinco días a 20°C, el consumo no debe ser mayor a 0,2 mg/L y preferiblemente no menor a 0,1 mg/L.

### **Control de la glucosa-ácido glutámico**

Utilizar la disolución de glucosa-ácido glutámico como disolución madre. La glucosa tiene una tasa excepcional alta y variable de oxidación, pero cuando se utiliza con ácido glutámico, dicha tasa se estabiliza y es similar a la obtenida en muchas aguas residuales municipales. Alternativamente, si un agua residual particular contiene un componente principal identificable que contribuya a la DBO<sub>5</sub>, utilizar este compuesto en lugar de la glucosa-ácido glutámico. Determinar la DBO<sub>5</sub> de una disolución al 2% de la disolución control patrón de glucosa-ácido glutámico utilizando las siguientes técnicas:



## Inóculo

### Fuente de la siembra

Es necesario contar con una población de microorganismos capaces de oxidar la materia orgánica biodegradable de la muestra. El agua residual doméstica, los efluentes no clorados o sin desinfección, los efluentes de las plantas de tratamiento de desechos biológicos y las aguas superficiales que reciben las descargas de aguas residuales que contienen poblaciones microbianas satisfactorias. Algunas muestras no contienen una población microbiana suficiente.

Para tales residuos, sembrar el agua de dilución añadiendo una población de microorganismos. La mejor siembra es la que proviene del efluente de un sistema de tratamiento biológico de aguas residuales. Cuando se usa como siembra el efluente de tratamiento biológico de sistema de aguas residuales se recomienda la inhibición de la nitrificación. Cuando no se disponga de ésta, utilizar el sobrenadante del agua residual doméstica después de dejarlo reposar a temperatura ambiente durante al menos 1h, pero no más de 36 h. Determinar si la población existente es satisfactoria haciendo la prueba de la siembra en una muestra para  $DBO_5$ . El incremento del valor de la  $DBO_5$  indica una siembra exitosa.

## Control del inóculo

Determinar la  $DBO_5$  del material de siembra como para cualquier otra muestra. Esto es una siembra control. A partir de este valor y de uno conocido de la dilución del material de siembra (en el agua de dilución) determinar el consumo



de OD de la siembra. Lo ideal es hacer disoluciones tales de la siembra que la mayor cantidad de los resultados presenten una disminución de al menos el 50% del OD. La representación de la disminución del OD (mg/L) con respecto a los mililitros de siembra, tiene que ser una línea recta cuya pendiente corresponde a la disminución de OD por mililitro del inóculo. La intersección del eje de las abscisas (OD) representa el consumo del oxígeno causado por el agua de dilución y debe ser inferior a 0.1 mg/L. Para determinar el consumo de OD de una muestra, se resta el consumo de OD de la siembra, del consumo de OD total. La captación de OD total del agua de dilución sembrada debe oscilar entre 0.6 mg/L y 1 mg/L.

## **Pretratamiento de la muestra**

### Muestras con ph ácidos o básicos

Neutralizar las muestras a un ph entre 6.5 y 7.5 con ácido sulfúrico o hidróxido de sodio de concentraciones talque la cantidad de reactivo no diluya la muestra en más del 0.5%. El ph del agua de dilución sembrada no debe verse afectado por la dilución de la muestra.

### Muestras que contienen cloro residual

Si es posible, evitar las muestras que contengan cloro residual, tomándolas antes del proceso de cloración. Si la muestra ha sido clorada pero no hay residuo detectable, sembrar el agua de dilución. Si hay cloro residual, eliminar el cloro de la muestra y sembrar con inóculo. No se deben analizar las muestras cloradas sin sembrar el agua de dilución. En algunas muestras, el cloro desaparece en el lapso de 1 h a 2 h 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 disipe en un tiempo razonable corto, eliminar el cloro residual añadiendo disolución de sulfito de sodio.

### Muestras sobresaturadas con OD

En aguas frías o en aguas donde se produce la fotosíntesis (aguad de embalses), es posible encontrar muestras que contienen más de 9,0 mg OD/L a 20°C. Para evitar la pérdida de oxígeno durante la incubación de tales muestras, reducir el OD por saturación, calentando la muestra aproximadamente a 20°C en frascos parcialmente llenos mientras se agitan con fuerza o se airean con aire limpio, filtrado y comprimido.

### Inhibición de la nitrificación

Si se requiere inhibir la nitrificación adicionar 3,0 mg de 2-cloro-6 (triclorometil) piridina a cada uno de los frascos antes de recolectar o bien adicionar la cantidad suficiente de agua para tener una concentración de 10 mg/L aproximadamente.

Entre las muestras que requieren inhibición de la nitrificación se incluyen, los efluentes tratados biológicamente, las muestras sembradas con efluentes tratados biológicamente y las aguas superficiales entre otras. Debe hacerse la observación del uso de inhibición del nitrógeno cuando se presente el informe de los resultados.

### Técnica de dilución

Las diluciones que dan lugar a un OD residual mayor a 1 mg/L y una captación de OD de al menos 2 mg/L después de 5 días de incubación, producen los resultados más confiables. Hacer varias diluciones (al menos 3) por duplicado



de la muestra preparada para obtener una captación de OD en dicho intervalo. La experimentación con una muestra concreta permite el uso de un número menor de diluciones. Un análisis más rápido tal como la DQO, presenta una correlación aproximada con la DBO y sirve como una guía para seleccionar las diluciones. En ausencia de datos previos, utilizar las siguientes diluciones: de 0 % a 1 % para los residuos industriales fuertes, de 1 % a 5 % para las aguas residuales sedimentadas y crudas, del 5 % al 25 % para el efluente tratado biológicamente y del 25 % al 100 % para las aguas superficiales contaminadas.

Diluciones preparadas directamente en frascos tipo Winkler. Utilizando una pipeta volumétrica, añadir el volumen de muestra deseado a frascos Winkler individuales de 300 mL. Añadir cantidades adecuadas del material de siembra a los frascos tipo Winkler o al agua de dilución. Llenar 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. No realizar diluciones mayores de 1:300 (1 mL de la muestra en un frasco). Determinar el OD inicial en uno de los frascos de cada una de las diferentes diluciones. En los frascos de los duplicados de cada una de las diluciones, Ajustar herméticamente el tapón, poner un sello hidráulico y la contratapa e incubar durante 5 días a 20°C.

## **Determinación del OD inicial**

### Método yodométrico

La determinación del OD inicial se realiza por medio del método yodométrico de azida modificado, de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-AA-012-SCFI.



## Método electrométrico

La determinación del OD inicial se realiza por medio del método electrométrico con electrodo de membrana, de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-AA-012-SFCI. Los aceites, grasas o cualquier sustancia que se adhiera a la membrana puede ser causa de baja respuesta en el electrodo.

## Blanco del agua de dilución

Emplear un 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, incubar un frasco de agua de dilución no sembrada. Determinar el OD inicial y final. El consumo de OD no debe ser mayor de 0.2 mg/L y preferentemente no menor a 0.1 mg/L.

## Incubación

Incubar a  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  las botellas de  $\text{DBO}_5$  que contengan las muestras con las diluciones deseadas, los controles de siembra, los blancos de agua de dilución y el control de glucosa-ácido glutámico. En caso de no contar con contratapas, diariamente se debe verificar que el sello hidráulico esté intacto en cada botella incubada, agregar agua si es necesario.

## Determinación de OD final

Después de 5 días determinar el OD en las diluciones de la muestra, en los controles y en los blancos. La medición del OD debe ser realizada inmediatamente después de destapar la botella de winkler, para evitar la adsorción de oxígeno del aire por la muestra.



## Cálculos

Calcular la  $DBO_5$

- Cuando no se utilice inóculo ni disoluciones:

$$DBO_5 \text{ (mg/L)} = OD_i \text{ mg/L} - OD_5 \text{ mg/L}$$

Donde:

$OD_i$  mg/L es el oxígeno disuelto inicial, y

$OD_5$  mg/L es el oxígeno disuelto al quinto día

- Cuando se emplea una dilución:

$$DBO_5 \text{ (mg/L)} = \frac{OD_i \text{ mg/L} - OD_5 \text{ mg/L}}{\% \text{ de dilución expresado en decimales}}$$

- Cuando se utiliza inóculo:

Si dilución:

$$DBO_5 \text{ (mg/L)} = (OD_i \text{ mg/L} - OD_5 \text{ mg/L}) - \frac{C_1(B_1 - B_2)(V_t)}{C_2(V_m)}$$

Con dilución:

$$DBO_5 \text{ (mg/L)} = (OD_i \text{ mg/L} - OD_5 \text{ mg/L}) - \frac{C_1(B_1 - B_2)(V_t)}{C_2(V_m)} \Big|_p$$

Donde:

$B_1$  es el OD del inóculo antes de la incubación, en mg/L;

$B_2$  es el OD del inóculo después de la incubación, en mg/L;

$C_1$  es el volumen de inóculo en la muestra;

$C_2$  es el volumen de inóculo en el inóculo control;

$V_t$  es el volumen total del frasco winkler, y

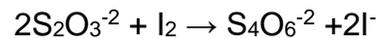
$V_m$  es el volumen de muestra sembrada



## Fundamentos del Tiosulfato de sodio

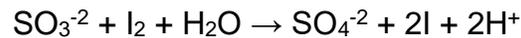
### 1.- Fundamento

El ion tiosulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) reacciona en medio neutro o alcalino con yodo, formando tetrionato (sal del ácido tetra iónico) y decolorando dicha solución.



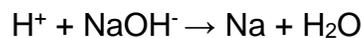
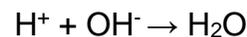
La reacción Del yodo con el tiosulfato es cuantitativamente como indicador del punto final, se emplea en engrudo de almidón.

Los iones sulfito también reaccionan con el yodo reduciéndolo a yoduro.



En este caso la solución adquiere reacción ácida, los iones tiosulfato  $S_2O_3^{2-}$  no forman ácido durante la reducción del yodo.

De esta forma, el ion sulfito se puede valorar como el ácido con una solución de un hidróxido (generalmente hidróxido de sodio) utilizando como indicador anaranjado de metilo.





## *Anexo 4. NMX-AA-030/2-SCFI-2012” ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA - PARTE 2 - DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO – MÉTODO DE TUBO SELLADO A PEQUEÑA ESCALA”*

### **Principio**

Las muestras se oxidan mediante digestión con ácido sulfúrico y dicromato de potasio en presencia de sulfato de plata y sulfato de mercurio (II). La plata actúa como catalizador para oxidar la materia orgánica más resistente. El mercurio reduce la interferencia causada por la presencia de iones cloruro. La cantidad de dicromato utilizada en la oxidación de la muestra se determina midiendo la absorbancia del Cromo (III) formado a una longitud de onda de  $(600 \pm 20)$  nm para un intervalo hasta de 1 000 mg/L. Las mediciones de la absorbancia se efectúan en el tubo de digestión, que hace las veces de celda, y son convertidas a un valor de DQO-TS.

Se puede utilizar una longitud de onda alternativa de  $(440 \pm 20)$  nm para un intervalo de calibración de hasta una concentración de masa de 150 mg/L (véase Apéndices informativos D y E). Para un intervalo de calibración menor, de hasta 50 mg/L, se puede utilizar una longitud de onda alternativa de  $(348 \pm 15)$  nm. A 348 nm y 440 nm, se mide la absorbancia del Cromo (IV) remanente.

Para muestras digeridas turbias y de color atípico, se usa la titulación con sulfato de amonio y hierro (II) estandarizado.

### **Reactivos**

- Agua, con las siguientes características: Conductividad máxima 5,0  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25 °C y pH de 5,0 a 8,0.



- Tubos sellados DQO-TS

Siempre que sea posible se recomienda adquirir tubos sellados DQO-TS listos para su uso. Esto minimiza el manejo de productos químicos tóxicos por personal del laboratorio. Los tubos de tipo comercial se pueden comprar para cubrir diferentes intervalos de análisis, (por ejemplo, hasta 50 mg/L, 160 mg/L, 1 000 mg/L ó 1 500 mg/L).

Si los tubos no se pueden adquirir ya preparados, entonces prepárelos en el laboratorio como se describe en 6.7, para un intervalo de análisis de hasta 1 000 mg/L. En este caso, el usuario determinará la reproducibilidad de la transmisión óptica de los tubos o transferirá el contenido después de la digestión a una celda de vidrio con una longitud de paso óptico de 10 mm.

El intervalo de concentración DQO-TS de tubos comerciales será especificado por el fabricante y no deberá excederse. Si esto llegara a ocurrir, la muestra deberá diluirse convenientemente dentro del intervalo de concentración de masa especificado.

Es esencial que los tubos sellados adquiridos contengan sulfato de mercurio(II) para eliminar interferencias debido a cloruros.

- Dicromato de potasio, disolución de referencia certificada (donde aplique),  $c(K_2Cr_2O_7) = 0.10 \text{ mol/L}$  (intervalo de hasta 1000 mg/L de DQO-TS).

Disolver  $(29,418 \pm 0,005)$  g de dicromato de potasio (secado a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  por  $2 \text{ h} \pm 10 \text{ min}$ ) en aproximadamente 600 mL de agua en un vaso de precipitado.



Agregar cuidadosamente 160 mL de ácido sulfúrico concentrado con agitación.

Dejar enfriar y diluir a 1 000 mL en un matraz volumétrico. La disolución es estable al menos por seis meses.

- Ácido sulfúrico
- Ácido sulfúrico concentrado,  $\gamma$  ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) = 1.84 g/mL
- Ácido sulfúrico diluido,  $c$  ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) = 4 mol/L

A un vaso que contenga aproximadamente 500 mL de agua, añadir cuidadosamente con agitación, (220  $\pm$  10) mL de ácido sulfúrico concentrado. Dejar enfriar y diluir a (1 000  $\pm$  10) mL en una probeta. Almacenar en un frasco de vidrio.

- Ácido sulfúrico diluido,  $c$  ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) = 1.8 mol/L
- Disolución de sulfato de mercurio (II),  $c$  ( $\text{HgSO}_4$ ) = 1.35 mol/L

## Equipo y materiales

### Aparatos para la etapa de digestión

- Placas de calentamiento, capaz de mantener una temperatura de (150  $\pm$  5) °C sin causar sobrecalentamiento local a los contenidos de los tubos que estén siendo probados.

La placa de calentamiento debe tener capacidad para sostener al menos 10 tubos. Los orificios en la placa de calentamiento deben ser de un diámetro tal que la pared del tubo de vidrio esté en contacto estrecho con la placa de metal. La



profundidad en los orificios debe ser tal que pueda ocurrir el calentamiento adecuado de los contenidos.

- Tubos de digestión, fabricados de vidrio resistente al ácido, capaces de resistir una presión de 600 kPa a 150 °C (e.g. longitud de 185 mm, diámetro externo de 14 mm y grosor de pared de 1 mm) o los disponibles comercialmente.

Los tubos de vidrio se acoplarán a la placa de calentamiento de manera tal que la pared esté en contacto estrecho con la placa de metal. Antes de usarse deberán ser inspeccionados para asegurar que no están dañados o rotos de alguna manera, y serán descartados si es detectado cualquier defecto ligero. Los tubos de vidrio se proveerán con tapas adecuadas.

Si los tubos de vidrio son para ser usados como celdas para medir la absorbancia, es esencial que la parte externa de los tubos esté escrupulosamente limpia antes de ser colocados en el espectrofotómetro.

- Pipeta, capaz de dispensar (2,00 ± 0,02) mL.
- Aparatos para la medición de la etapa final
- Aparato de detección espectrofotométrica
- Espectrofotómetro, con capacidad de medición a (600 ± 20) nm.
- Instalaciones de almacenaje adecuadas, para los tubos sellados de digestión usados. Los tubos sellados de digestión usados y sus contenidos deberán desecharse de acuerdo con los requerimientos nacionales.



- Centrífuga, adecuada para soportar los tubos de digestión
- Aparato para la detección por titulación
- Bureta, por ejemplo, de 10 mL con graduaciones de 0,02 mL, o titulador digital, por ejemplo, con una resolución de 0,02 mL o mejor (para titular muestras digeridas turbias de los tubos sellados).
- Agitador magnético para titulación
- Barra de agitación y recuperador de barra de agitación

## **Preparación de los tubos y arranque del instrumento**

- Verificación de los tubos para su desempeño óptico (cuando la absorbancia se mide directamente en el tubo de digestión).

Tomar una muestra aleatoria de 5 tubos a 10 tubos vacíos de un lote previo a su preparación. Agregar 5 mL de agua a cada tubo.

Colocar las tapas y asegurar que no haya burbujas de aire visibles (golpear gentilmente para eliminar cualquier burbuja de aire). Utilizando el espectrofotómetro, medir los valores de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm. Dichos valores no habrán de diferir entre ellos por más de 0,005 unidades de absorbancia.

- Calibración del instrumento/ verificación de sensibilidad.

Registrar estos resultados y verificar que no haya deterioro de la sensibilidad del instrumento y que se obtiene una respuesta lineal de la



absorbancia vs. la concentración de masa  $\gamma$  (DQO-TS) al graficar una curva de calibración manual usando una medida de  $\alpha$  (absorbancia), en unidades dependientes del sistema, de las disoluciones de referencia de calibración de ftalato ácido de potasio contra la demanda química de oxígeno nominal en concentración de masa,  $\gamma$  (DQO-TS).

Si la calibración del instrumento sale de los valores tolerados de laboratorio, lleve a cabo mediciones manuales de la absorbancia de las disoluciones referencia de calibración e introduzca un nuevo valor de calibración de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

## Procedimiento analítico para medición de muestras

### Etapas de digestión

- Inspeccione con cuidado todos los tubos nuevos sellados de digestión para ver si tienen algún defecto. Verificar si la disolución en el tubo muestra alguna traza de color verde; si es así, rechace el tubo.
- El método es adecuado para concentraciones de masa de cloruro de hasta 1 000 mg/L. En el Apéndice informativo F se proporciona un método para verificar la concentración de masa de cloruro. Se recomienda a los usuarios verificar la máxima concentración de masa de cloruro aceptable para su sistema, por ejemplo, fortificando con ión cloruro (NaCl) una disolución de referencia certificada (donde aplique) de una concentración de masa  $\gamma$  (DQOTS) de 20 mg/L (ftalato ácido de potasio).



- Encender la placa de calentamiento y precalentar a 150 °C.
- Quitar la tapa del tubo de digestión
- Agitar vigorosamente y homogenizar la muestra e inmediatamente pipetear 2,00 mL de la muestra en el tubo de digestión. Para cualquier muestra que se prevé que tenga un valor de DQO-TS mayor a 1 000 mg/L, pipetear en el tubo de digestión 2,00 mL de una porción de la muestra diluida apropiadamente. Llevar a cabo una determinación de blanco utilizando agua con cada lote de análisis.
- Colocar la tapa firmemente y mezclar el contenido invirtiendo suavemente el tubo varias veces.
- Limpiar el exterior del tubo con un papel suave.
- Colocar el tubo en la placa de calentamiento. Refluja el contenido a 150 °C durante 2 h  $\pm$  10 min.
- Retirar los tubos de la placa de calentamiento y dejar enfriar a 60 °C o menos. Mezclar el contenido invirtiendo cuidadosamente cada tubo varias veces mientras permanezcan calientes. Después, dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente antes de medir la absorbancia.

### Detección Espectrofotométrica

- Si las muestras digeridas enfriadas son claras (por ejemplo, ausencia de cualquier turbiedad visible), medir la absorbancia a 600 nm utilizando el



espectrofotómetro. Los resultados obtenidos mediante lectura directa del instrumento o por comparación contra la gráfica de calibración.

- Si alguna de las muestras digeridas enfriadas se muestran turbias, centrifugar a  $(4\ 000 \pm 200)$  g durante  $(5,0 \pm 0,5)$  min. Si la disolución de digestión ya no es turbia, medir la absorbancia a 600 nm utilizando el espectrofotómetro. Tener precaución al momento de centrifugar los tubos sellados.
- Si la disolución después de la etapa de digestión y el tratamiento centrífugo continúa turbia o si la muestra digerida presenta un color atípico

#### Determinación mediante titulación

- Retirar cuidadosamente la tapa del tubo que contenga la muestra digerida. Enjuagar las paredes internas con menos de 1 mL de agua o, en vez de ello, transfírela cuantitativamente a un recipiente adecuado
- Mientras agita, agregar una gota de la disolución indicadora de ferroina. Si el color de la disolución inmediatamente cambia de azul-verde a naranja-café, el valor de concentración de masa de DQO-TS de la muestra original estará por arriba del intervalo del método. La muestra deberá entonces ser diluida y la digestión, repetida.
- Si el color permanece verde lima, titular la muestra con FAS mientras agita hasta que el color de la muestra cambie drásticamente de azul verdoso a naranja-café. Registrar el volumen de FAS gastado ( $V_2$  mL). Después,



titular un blanco digerido utilizando agua en vez de una muestra de prueba y registrar el volumen de FAS gastado ( $V_1$  mL).

Transferir la muestra al tubo de digestión. Volver a tapar el tubo y desechar en concordancia con las regulaciones nacionales o locales.

## Cálculo de resultados

### Procedimiento Espectrofotométrico

Obtener los resultados de las mediciones a través de la lectura directa del espectrofotómetro o partir de la curva de calibración. Registrar estos resultados. Si algún resultado está fuera del intervalo de trabajo, repetir el análisis mediante dilución de la muestra original.

Calcular el valor de la  $\gamma$  (DQO-TS), en miligramos de oxígeno por litro, hasta tres cifras significativas, como pueden ser leídas de la curva de calibración, dependiendo de la concentración encontrada.

### Procedimiento de titulación

Calcule la demanda química de oxígeno,  $\gamma$  (DQO-TS), en miligramos de oxígeno por litro, usando la siguiente ecuación:

$$\gamma(DQO - TS) = \frac{8000 * c(FAS) * (V_1 - V_2)}{V_o}$$

Donde:

$\gamma(DQO - TS)$  es la concentración de masa de DQO, expresado en mg/L



$c(FAS)$  es la concentración de cantidad de sulfato de amonio y hierro (II) utilizada en la medición, expresada en mol/L

$V_0$  es el volumen de la porción de prueba antes de dilución, expresado en mililitros (ml)

$V_1$  es el volumen del sulfato de amonio y hierro (II) (FAS) usado en la titulación contra el blanco, expresado en mililitros (ml).

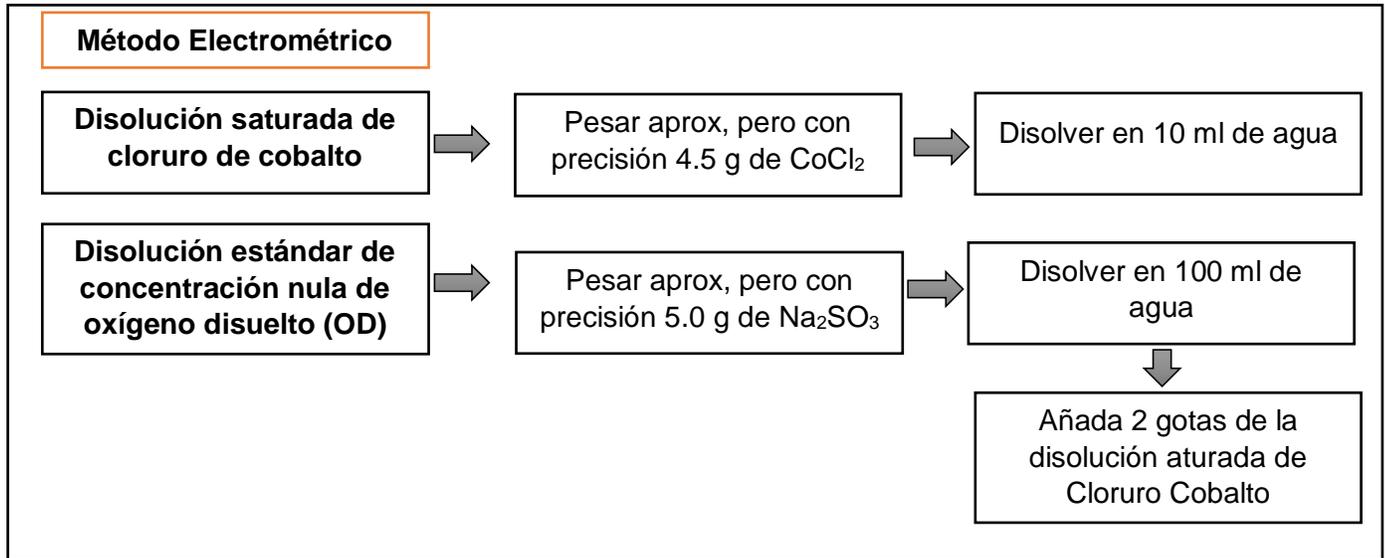
$V_2$  es el volumen del sulfato de amonio y hierro (II)(FAS) usado en la titulación contra la porción de prueba, expresado en mililitros (ml).

8000 es la masa molar de  $\frac{1}{2} O_2$ , expresada en mg/mol.

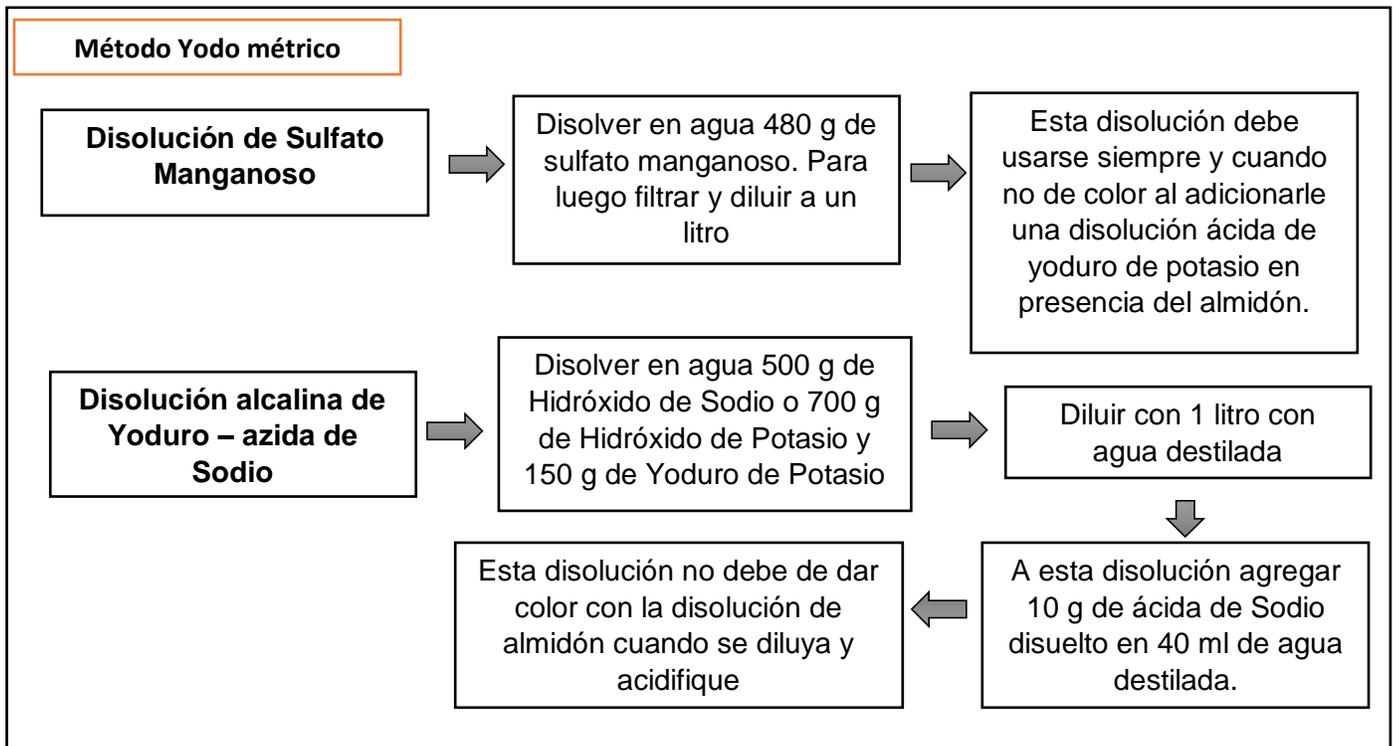
## Expresión de los resultados

Informe los resultados de  $\gamma$  (DQO-TS) hasta tres cifras significativas, en función de la concentración encontrada y la validación de los datos del método.

### Anexo 5. Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Oxígeno Disuelto. Método electrométrico



### Anexo 6. Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Oxígeno Disuelto. Método yodométrico



**Disolución indicadora de almidón**

Disolver en 1L de agua destilada caliente 20 g de almidón soluble y 2 g de ácido salicílico como conservador.

Mantener en refrigeración siempre que no esté en uso

**Disolución de Tiosulfato de Sodio 0.025 M**

Pesar aprox 6.205 g de Tiosulfato de Sodio, disolver en agua destilada a 1L, agregar 1 gr de Hidróxido de Sodio en lentejas

Se debe calcular la concentración de esta disolución con una disolución de biyodato de Potasio 0.0021 M o con una disolución de dicromato de potasio 0.025 N, usando la disolución de almidón como indicador (1 ml de la disolución valorada de Tiosulfato 0.0025 es equivalente a 1 mg de OD)

**Disolución de biyodato de Potasio (0.002 M)**

Pesa aprox y con precisión 812.4 mg biyodato de Potasio y aforar a 1 L con agua destilada

**Disolución de Dicromato de Potasio (0.025 N)**

Pesar aprox y con precisión 1.226 g de Dicromato de Potasio previamente secado a 105°C durante 2 horas y diluir 1 L con agua destilada

a) Estandarización de la disolución de Tiosulfato de Sodio. En un matraz Erlenmeyer, disolver 1 g de Yoduro de Potasio exento de yodato en 60 ml de agua destilada. Agregar 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado y 10 ml de la disolución de Dicromato de Potasio o biyodato de Potasio. Diluir a 100 ml con agua destilada y valorar el Yodo liberado con la disolución del Tiosulfato de Sodio. Agregar el almidón hacia la final de la titulación, cuando se alcance un color amarillo pálido. Continuar hasta la primera desaparición del color azul.

**Disolución de biyodato de potasio 0.0021 M**

Pesar aprox y con precisión 812.4 mg biyodato de Potasio y aforar 1 L con agua destilada

**Disolución de Dicromato de Potasio 0.025 N**

Pesar aprox y con precisión 1.226 g de Dicromato de Potasio previamente secado a 105°C durante 2 horas y diluir 1 L con agua destilada.

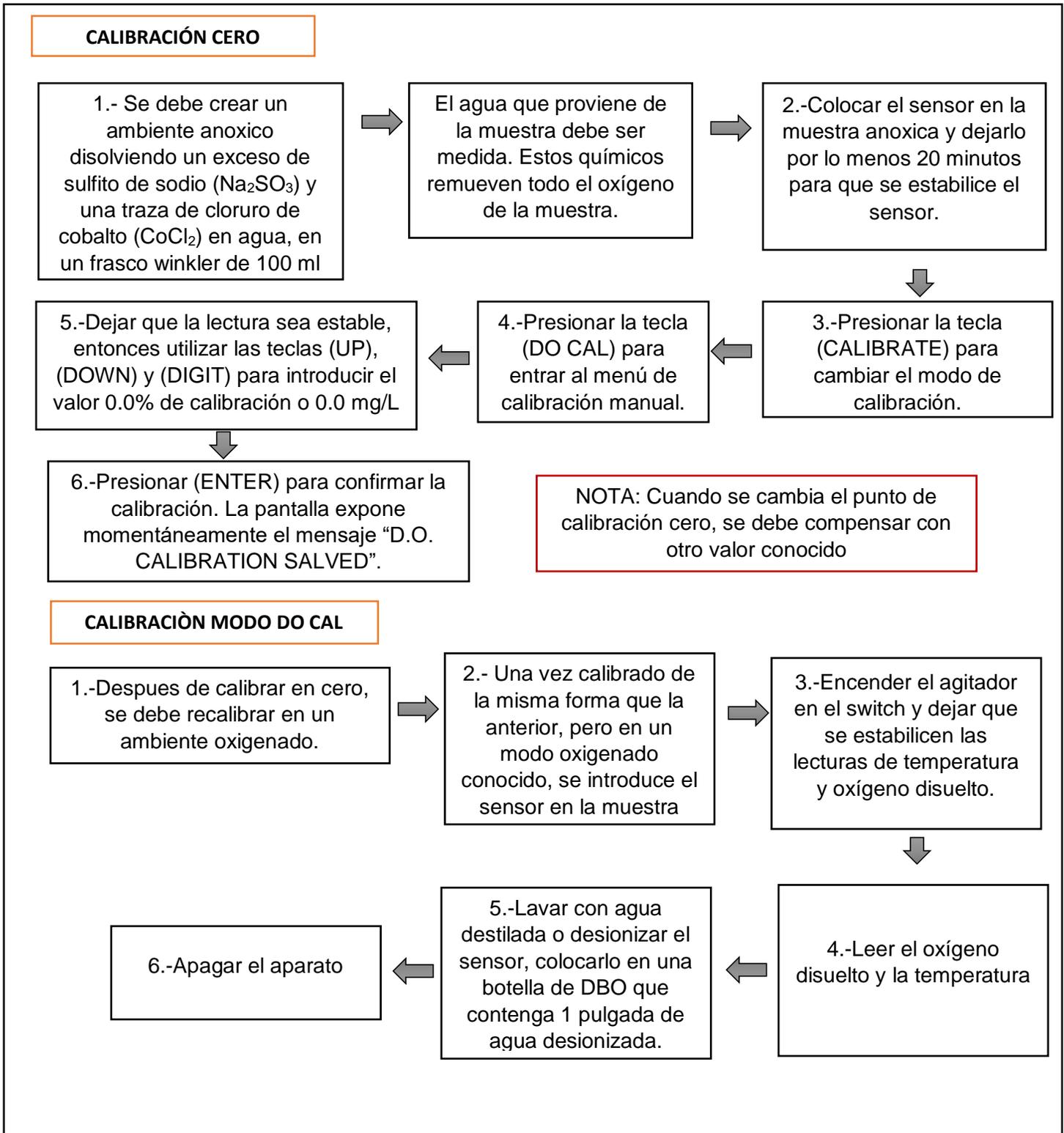
**Disolución de Ácido Sulfúrico 0.1 N**

Lentamente y mientras se agita agregar 2.8 ml de ácido sulfúrico concentrado a un volumen aprox de 500 ml de agua destilada, mezclar y diluir a 1 L con agua destilada.

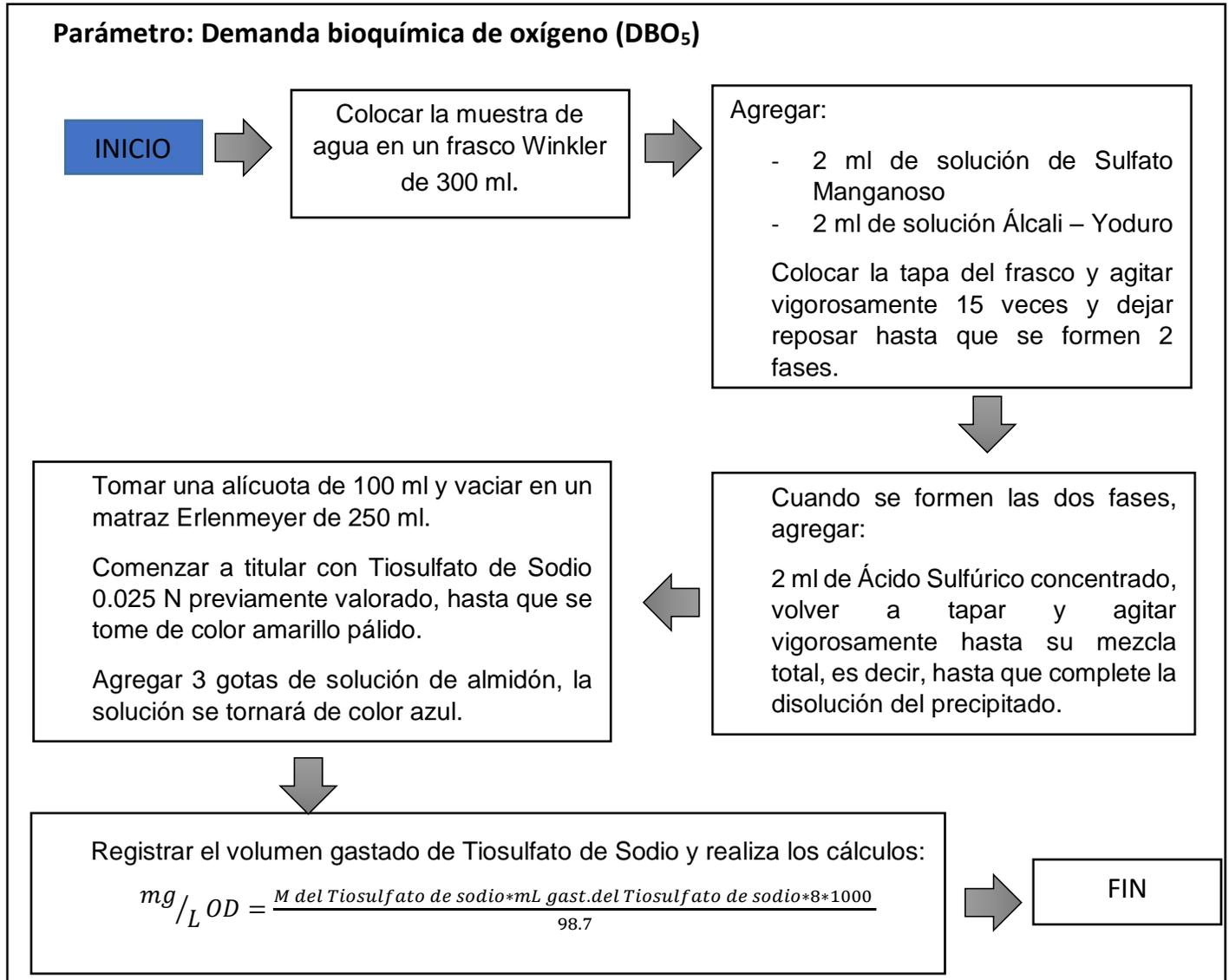
**Disolución de Hidróxido de Sodio 0.1 N**

Pesar aprox y con precisión 4 gr de Hidróxido de Sodio y diluir a 1 L.

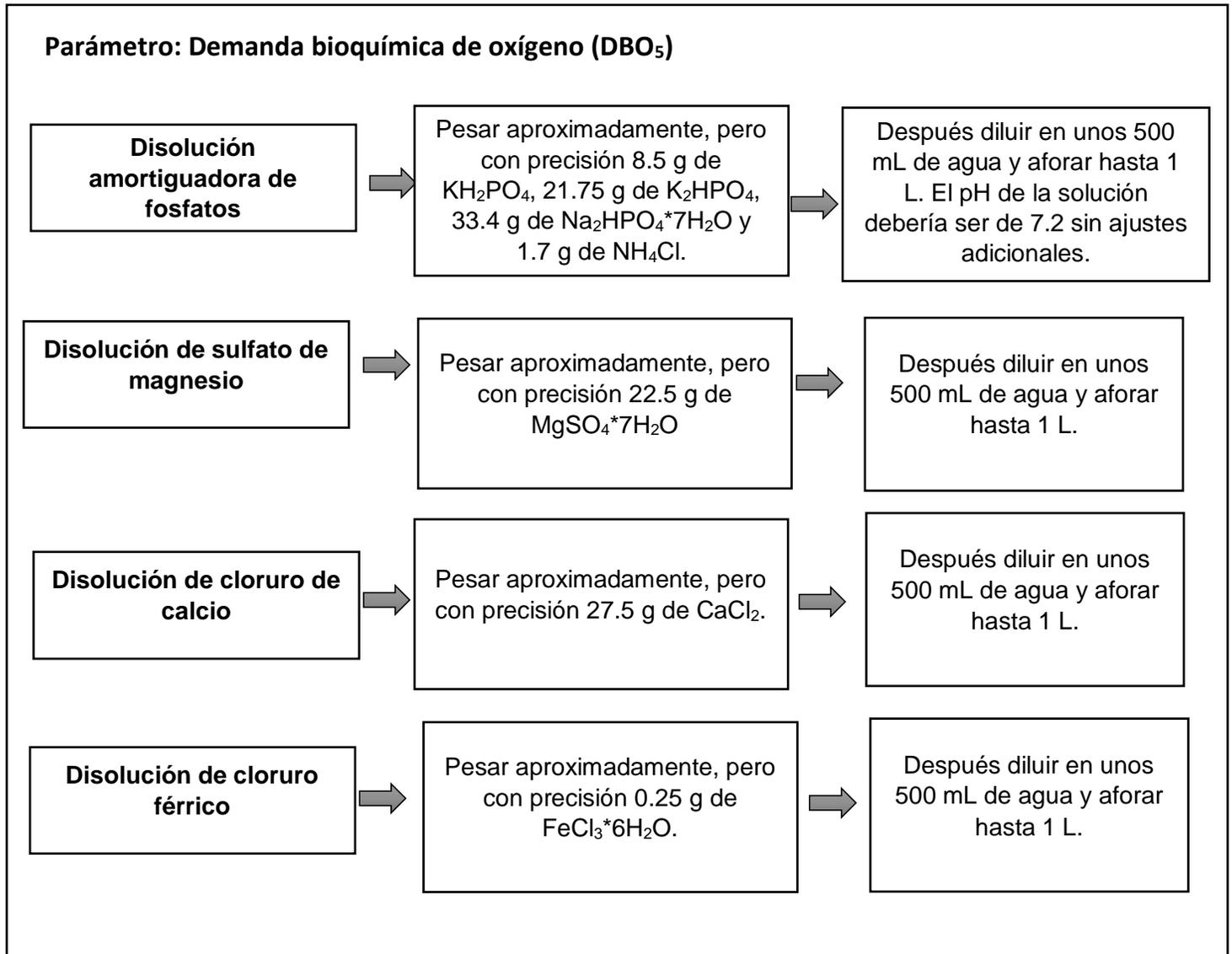
## Anexo 7. Procedimiento del método electrométrico (calibración del medidor de oxígeno disuelto para la determinación de oxígeno disuelto)



## Anexo 8. Procedimiento del método yodométrico para la determinación de oxígeno disuelto



## Anexo 9. Procedimiento de la preparación de disoluciones para los nutrientes utilizados en el agua de dilución. Parámetro: Demanda Bioquímica de Oxígeno



## Anexo 10. Procedimiento de la preparación del estándar para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno

### Parámetro: Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

INICIO

Primero debe secarse a 103°C en el horno el ácido glutámico y la glucosa, durante 1 hora. Al sacarlo se debe dejar enfriar.

Después se procede a pesar con precisión 150 mg (0.15 g) de ácido glutámico y 150 mg (0.15g) de glucosa.

Luego la glucosa y el ácido glutámico se diluye en un matraz volumétrico de 1000 mL con agua destilada hasta aforarlo. Se deja agitándose por media hora en el agitador magnético para que se diluya completamente la solución.

Con eso se tiene preparado el estándar de 198 mg/L

Para la preparación del estándar de 20 mg/L, se debe tomar un alícuota de 101 mL de la solución estándar de 198 mg/L, y se agrega en un matraz volumétrico de 1000 mL.

Por último, se afora con agua destilada, se agita y se tapan ambos matraces volumétricos.

FIN

## Anexo 11. Procedimiento de la preparación del agua de dilución para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno

### Parámetro: Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

INICIO

Depositar el AGUA DESIONIZADA en una garrafa limpia con una capacidad de acuerdo al volumen de agua de dilución a utilizar.

Adicionar 1 mL por cada litro de AGUA DESIONIZADA las siguientes soluciones

- Solución de Sulfato de Magnesio
- Solución amortiguadora de Fosfato
- Solución de Cloruro de Calcio
- Solución de Cloruro Férrico

Saturar de Oxígeno con bomba de aire por 1 hora

El agua está lista para usarse

FIN

## Anexo 12. Procedimiento de la preparación del inóculo comercial para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno

### Parámetro: Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

INICIO

Depositar 500 ml del AGUA DE DILUCIÓN en un matraz kizato o de filtración de 2L, y agitar en una parrilla de agitación magnética

Adicionar el contenido de una capsula de inóculo comercial, el agua de dilución

Agitar por 1 hora

Apagar el agitador y dejar reposar hasta que el material inerte de la capsula se sedimente en el fondo del matraz.

Filtrar el sobrenadante apoyado con papel filtro, embudo y un matraz

El inóculo está listo para utilizarse.

FIN

## Anexo 13. Procedimiento de la preparación de las muestras para el método de la determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno

### Parámetro: Demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

INICIO

Tomar en un vaso precipitado de 2 L, aproximadamente 1 litro de muestra

Ajustar PH entre 6.5 – 7.5, adicionando Ácido Sulfúrico 0.1 N e Hidróxido de Sodio 0.1 N

Agregar el volumen de muestra correspondiente a los frascos winkler y realizar al menos 3 diluciones, según la procedencia de la muestra.

Control de calidad:

- 1 Blanco con inóculo
- 1 Blanco sin inóculo
- 1 Glucosa-Ac. Glutámico 198 mg/L
- 1 Glucosa-Ac. Glutámico 20 mg/L
- 1 Duplicado

Llenar los frascos winkler con el agua de dilución excepto el blanco sin inóculo

Leer el Oxígeno Disuelto con el Oxímetro. Realizar 3 lecturas y anotarlas en la bitácora

Incubar por 5 días a 20°C todas las muestras, revisar diariamente el sello de agua de las tapas, si es necesario, agregar agua

Al 5to día realizar la lectura de oxígeno disuelto con el oxímetro y realizar cálculos:

$$DBO_5 = \frac{(OD_{1 \text{ día}} - OD_{5 \text{ día}}) - (ODB_{1 \text{ día}} - ODB_{5 \text{ día}})(1 - D)}{D}$$

## Anexo 14. Procedimiento de la preparación de disoluciones para determinación de Demanda Química de Oxígeno.

### Parámetro: Demanda Química de oxígeno (DQO)

**Disolución madre de referencia (1000 mg/L)**

Disolver 0.4251 de ftalato ácido de potasio previamente secado a 105°C durante 2 horas  $\pm$  10 minutos en aproximadamente 350 mL de agua destilada.

Diluir con agua destilada en un matraz volumétrico de 500 mL hasta aforarlo.

Almacenar la disolución en refrigeración de 2°C a 8°C y preparar nuevas disoluciones cada mes

**Disolución para estándar de 200, 400, 600, 800, 1000 mg/L**

Diluir por separado 20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL y 100 mL de la disolución madre de referencia de concentración de masa de (1000 mg/L)

Diluirlo en matraz volumétrico de 100 ml con agua destilada hasta aforarlo.

**Disoluciones para estándar de 20, 40, 60, 80, 100 mg/L**

Diluir por separado de la disolución del estándar de 200 mg/L

Diluirlo en matraz volumétrico de 100 ml con agua destilada hasta aforarlo.

## Anexo 15. Procedimiento de la preparación de las muestras para el método de la determinación de Demanda Química de Oxígeno

### Parámetro: Demanda Química de Oxígeno (DQO)

INICIO

Seleccionar e inspeccionar los tubos sellados a utilizar para descartar si tiene algún defecto

Encender el reactor de calentamiento y precalentar a 150°C

Mezclar vigorosamente el frasco de la muestra para homogenizarla

Transferir 2 ml de la muestra (diluir si se requiere) al tubo de digestión, colocar y cerrar firmemente la tapa y mezclar invirtiendo suavemente el tubo varias veces.

Colocar el tubo en el reactor y reflujar a 150°C durante 2 horas  $\pm$  10 minutos.

Apagar el reactor y retirar los tubos colocarlos en una gradilla y mezclar el contenido invirtiendo el tubo varias veces mientras estén calientes, dejar enfriar a temperatura ambiente mínimo 30 minutos.

Leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm

Realizar cálculos y registrar en bitácora



## Anexo 16. Cronograma de actividades en el laboratorio

Actividad	09:10	09:30	09:40	10:00	10:20	10:30	10:50	11:30	11:35	11:40	12:10	12:20	12:30	12:40	12:50	13:10	13:15	13:45	13:50	13:55	14:00	14:15	14:30	15:00	
1 MEDIR DE OXÍGENO DISUELTO (MÉTODO YODOMETRICO)		■	■	■	■	■	■	■																	
2 PREPARAR LOS ESTANDARES										■	■	■													
3 PREPARAR AGUA DE DILUCIÓN	■	■	■	■	■	■	■																		
4 PREPARAR INÓCULO									■	■	■	■	■	■	■	■									
5 ETIQUETAR BOTELLAS WINKLER											■	■	■												
6 AGREGAR ESTANDAR, INÓCULO Y AGUA DE DILUCIÓN A LAS BOTELLAS																	■	■							
7 ENCUBAR BOTELLAS																		■	■						
8 TITULAR BOTELLA DEL DÍA CERO																				■	■	■			
9 AGREGAR DATOS EN BITACORA Y HACER CÁLCULOS														■	■								■		
10 LAVAR INSTRUMENTOS, GARRAFA Y PONER H2SO4 AL 10% A LAS BOTELLAS																							■	■	

## Anexo 17. Descripción de actividades del cronograma del laboratorio

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE LA DBO						
No. De la actividad	Actividad	Tiempo a realizar				Descripción de la actividad con tiempos aproximados
		INICIO	DURACIÓN		FINAL	
1	MEDIR DE OXÍGENO DISUELTO (MÉTODO YODOMETRICO)	09:30	02:00	hrs(12 botellas)	11:30	5 minutos sacando las muestra de la incubación y ordenandoló en la mesa, 15 minutos agregando los reactivos a cada botella winkler (Sulfato Manganeso, Alcalina Yoduro y Ácido Sulfúrico) y 1:40 horas titulando los tres matraces para cada botella winkler (10 minutos aproximadamente titulando cada botella winkler)
2	PREPARAR LOS ESTANDARES	11:40	00:40	hrs	12:20	1 hora de secado de la glucosa y ácido glutámico un día antes, 5 minutos de enfriamiento a temperatura ambiente, 30 minutos de pesaje de ambos reactivos y 5 minutos de dilución con agua destilada
3	PREPARAR AGUA DE DILUCIÓN	09:10	01:40	hrs	10:50	20 minutos preparando la agua de dilución con nutrientes (llenar de garrafa con agua destilada, sacar reactivos e instrumentos a utilizar, agrgar reactivos a la garrafa), 1 hora de oxigenación y 20 minutos de medición de Ph con el equipo ya calibrado anteriormente.
4	PREPARAR INÓCULO	11:35	01:35	hrs	13:10	5 minutos agregando agua de dilución y la capsula de inóculo comercial al matraz, 1 hora en agitación, 20 minutos de reposo en lo que sedimenta el inóculo, 10 minutos en filtrar la solución co una bomba de vacío
5	ETIQUETAR BOTELLAS WINKLER	12:25	00:15	min	12:40	15 minutos acomodando los frascos en la mesa, escribiendo las etiquetas (cantidades de inóculo y fecha de incubación) y pegandolas en los frascos winkler
6	AGREGAR ESTANDAR, INÓCULO Y AGUA DE DILUCIÓN A LAS BOTTELLAS	13:15	00:35	min	13:50	3 minutos sacando las pipetas volumétricas, 12 minutos agregando los mililitros de inóculo, 5 minutos agregando los mililitros de estandar, 10 minutos agregando la agua de dilución.
7	ENCUBAR BOTTELLAS	13:40				5 minutos acomodando las botellas en la bandeja y guardandolas en incubación.
8	TITULAR BOTELLA DEL DÍA CERO	13:55	00:20	min	14:15	5 minutos agregando los reactivos a la botella winkler que contiene el agua de dilución del día cero (Sulfato Manganeso, Alcalina Yoduro y Ácido Sulfúrico) y 15 minutos titulando.
9	AGREGAR DATOS EN BITACORA Y HACER CÁLCULOS	12:40	00:10	min	12:50	10 minutos llenando la bitacora con los datos correspondientes
			07:15	hrs		



# EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®



Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez