



PROYECTO DE NORMA MEXICANA

PROY-NMX-AA-028/1-SCFI-2008

**ANÁLISIS DE AGUA.-DETERMINACIÓN DE DEMANDA
BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES,
RESIDUALES (DBON) Y RESIDUALES TRATADAS.-
MÉTODO DE PRUEBA-(AMBAS PARTES DE ESTA NMX
CANCELAN LA NMX-AA-028-SCFI-2001)**

WATER ANALYSIS - DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
OXYGEN DEMAND IN NATURAL, WASTEWATERS (DBON) AND
WASTEWATERS TREATED - TEST METHOD

PARTE 1

**DILUCIÓN Y MÉTODO DE SIEMBRA MEDIANTE ADICIÓN
DE ALILTIOUREA**

DILUTION AND SEEDING METHOD WITH ALLYLTHIOUREA
ADDITION



P R E F A C I O

En la elaboración de la presente norma mexicana, participaron las siguientes empresas e instituciones:

- ANÁLISIS DE AGUA, S.A. DE C.V.
- ARVA, LABORATORIO DE ANÁLISIS INDUSTRIALES, S.A. DE C.V.
- ATLATEC, S.A. DE C.V.
- CIATEC, A.C.
- CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO TECNOLÓGICO EN ELECTROQUÍMICA, S.C.
- COMISIÓN DEL AGUA DEL ESTADO DE MÉXICO
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA.
- CONTROL QUÍMICO NOVAMANN INTERNACIONAL, S.A. DE C.V.
- ECCACIV, S. A. DE C. V.
- ENTIDAD MEXICANA DE ACREDITACIÓN, A.C.
- FASIQ INTERNACIONAL, S.A. DE C.V.
- GRUPO ECOTEC, S.A. DE C.V.
- HACH COMPANY
- INDEX-LAB, Q.F.B. MARTHA ELENA IZAGUIRRE VILLANUEVA
- INTEMA, S.A. DE C.V.
- INSTITUTO DE ESTUDIOS SUPERIORES DE TAMAULIPAS, A.C.
Centro de Investigación y Tecnología en Saneamiento Ambiental (CITSA)
- INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA



CENICA

- INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
- INSTITUTO MEXICANO DEL PETRÓLEO
- INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA
- LABORATORIO DE CALIDAD QUÍMICA VERACRUZANA, S.C.
- LABORATORIO DE QUÍMICA DEL MEDIO E INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO IDECA, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO FERMI, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO QUÍMICO INDUSTRIAL.
- LABORATORIOS ABC QUÍMICA, INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS, S.A. DE C.V.
- MERCURY LAB, S.A. DE C.V.
- MÓNICA OROZCO MÁRQUEZ
- PEKÍN ELMER DE MÉXICO, S.A.
- PEMEX PETROQUÍMICA COMPLEJO PETROQUÍMICO CANGREJERA
- PEMEX PETROQUÍMICA COMPLEJO PETROQUÍMICO MORELOS
- PEMEX PETROQUÍMICA COMPLEJO PETROQUÍMICO PAJARITOS
- PROTECCIÓN AMBIENTAL Y ECOLOGÍA, S.A. DE C.V.
- PROYECTOS Y ESTUDIOS SOBRE CONTAMINACIÓN INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- CÉSAR CLEMENTE ALVARADO GARCÍA / SERVICIOS AMBIENTALES
- SERVICIOS DE AGUA Y DRENAJE DE MONTERREY, S.A. DE C.V.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

- SERVICIOS DE INGENIERÍA Y CONSULTORÍA AMBIENTAL
- SISTEMA DE AGUAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO DEL GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
- UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 - Facultad de Química
 - Instituto de Biología
 - Instituto de Ingeniería



ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del capítulo	Página
0 INTRODUCCIÓN	1
1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN	3
2 REFERENCIAS	4
3 DEFINICIONES	4
4 PRINCIPIO	5
5 REACTIVOS	5
6 EQUIPOS Y MATERIALES	8
7 ALMACENAJE DE LA MUESTRA	9
8 PROCEDIMIENTO	9
9 CÁLCULO Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS	14
10 CASOS ESPECIALES	15
11 REPORTE DE PRUEBAS	15
12 VIGENCIA	16
13 BIBLIOGRAFÍA	16
14 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES	17
APÉNDICES INFORMATIVOS	17
Anexo A	17
Anexo B	20
Anexo C	21



PROYECTO DE NORMA MEXICANA

PROY-NMX-AA-028/1-SCFI-2008

ANÁLISIS DE AGUA.-DETERMINACIÓN DE DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES (DBON) Y RESIDUALES TRATADAS.- MÉTODO DE PRUEBA-(AMBAS PARTES DE ESTA NMX CANCELAN LA NMX-AA-028-SCFI-2001)

WATER ANALYSIS - DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
OXYGEN DEMAND IN NATURAL, WASTEWATERS (DBON) AND
WASTEWATERS TREATED - TEST METHOD

PARTE 1

DILUCIÓN Y MÉTODO DE SIEMBRA MEDIANTE ADICIÓN DE ALILTIOUREA

DILUTION AND SEEDING METHOD WITH ALLYLTHIOUREA
ADDITION

0 INTRODUCCIÓN

Los tiempos de incubación especificados en esta norma mexicana son 5 días, como en ISO 5815:1989 y según lo aplicado en muchos países europeos, o 7 días, según lo aplicado en varios países nórdicos durante muchos años. La incubación de siete días da típicamente resultados más altos del DBO que el tiempo de incubación de 5 días.

Con un período de incubación de 5 días, el trabajo del fin de semana puede ser evitado solamente si las muestras se recogen miércoles, jueves o viernes. Con



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

un período de incubación de 7 días, las muestras recogidas en los primeros cinco días laborables pueden ser analizadas sin la implicación del trabajo del fin de semana. Por esta razón, un período de incubación de siete días se puede considerar más conveniente que la incubación de cinco días convencional.

Un nuevo período modificado de incubación de siete días se describe en el anexo A. Las primeras investigaciones indican que los resultados del DBO obtenidos por este método modificado son idénticos a los resultados obtenidos por el método de cinco días descrito en el texto principal de esta norma mexicana. Se espera que más datos comparativos sobre estos dos métodos de incubación serán obtenidos durante los siguientes años, a fin de que la modificación del método de incubación de 7 días pueda ser incluido completamente en el momento de la revisión de esta norma mexicana.

Para la determinación de DBO de las muestras de agua, el método respirométrico descrito en ISO 9408 también puede ser utilizado.

En esta norma mexicana el límite de detección (cuantificación), LD, se define como:

$$LD = t_{0,95}(f)2s_B\sqrt{1+\frac{1}{n}} \quad (1)$$

Donde

S_B Son las series dentro de la desviación estándar

$t_{0,95}(f)$ es el valor en tablas t de Student;

f es el grado de libertad para la determinación de S_B

n es el número de análisis para la determinación del blanco en una serie analítica.

S_B se calcula de determinaciones de muestras con un contenido de DBO cerca del LD estimado.

En los casos en que el método analítico no requiera ninguna corrección en blanco el término:

$$\sqrt{1+\frac{1}{n}} \quad (2)$$

se omite.



Calidad del agua - determinación de la demanda bioquímica de oxígeno después de los n días (DBOn)

ADVERTENCIA - Las personas que utilizan esta norma mexicana deben estar familiarizados con la práctica normal de laboratorio. Esta parte de la norma no pretende abordar todos los problemas de seguridad, si los hubiere, relacionados con su uso. Es responsabilidad del usuario establecer prácticas de seguridad y salud y garantizar el cumplimiento de cualquier condición reguladora nacional.

La norma mexicana NMX-AA-028-SCFI-2008 está formada por dos partes.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana especifica una determinación de la demanda bioquímica de oxígeno de aguas por dilución y siembra con supresión de la nitrificación.

Esta norma mexicana es aplicable a todas las aguas que tengan demanda bioquímica de oxígeno superior o igual a 3 mg/L de oxígeno (el límite de detección) y no excedan a 6 000 mg/L de oxígeno. Para demandas bioquímicas de oxígeno mayores que 6 000 mg/L, el método sigue siendo aplicable, pero los errores causados por la diluciones necesarias, pueden influir en la calidad analítica del método de prueba y los resultados se deben interpretar con cautela.

Los resultados son el producto de una combinación de reacciones bioquímicas y químicas. No tienen el carácter riguroso e inequívoco de éstos que resultan de, por ejemplo, un solo y bien definido, proceso químico. Sin embargo, proporcionan una estimación de la calidad del agua.

La prueba puede ser influenciada por la presencia de diversas sustancias. Los que son tóxicos para los microorganismos, por ejemplo, bactericidas, metales tóxicos o libres de cloro, inhiben la oxidación bioquímica. La presencia de algas o microorganismos de la nitrificación puede producir resultados artificiales altos (falsos positivos).

El Anexo A describe períodos de incubación alternativos.

El Anexo B describe multipruebas, que se pueden utilizar para obtener una mayor repetibilidad y reproducibilidad o para demostrar la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos.



El Anexo C proporciona datos de exactitud y repetibilidad y reproducibilidad.

2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de la presente norma mexicana, se deben consultar las siguientes normas vigentes:

ISO 3696:1987, Water for analytical laboratory use — Specification and test methods , o la NMX que la adopte.

ISO 5813:1983, Water quality — Determination of dissolved oxygen — Iodometric method, o la NMX que la adopte.

ISO 5814:1990, Water quality — Determination of dissolved oxygen — Electrochemical probe method, o la NMX que la adopte.

ISO 6060:1989, Water quality — Determination of chemical oxygen demand, o la NMX que la adopte.

ISO 8245:1999, Water quality — Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) , o la NMX que la adopte.

ISO 8467:1993, Water quality — Determination of permanganate index, o la NMX que la adopte.

NMX-AA-012-SCFI-2001. Análisis de agua-Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y tratadas-Método de prueba, o la NMX que la adopte.

NMX-AA-100-1987. Calidad del Agua-Determinación del cloro total- Método iodométrico, o la NMX que la adopte.

3 DEFINICIONES

Para los propósitos de este documento, aplican los siguientes términos y definiciones.

3.1 Demanda bioquímica de oxígeno después de n días DBO_n



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Concentración total de oxígeno disuelto consumido bajo condiciones específicas por la oxidación bioquímica de materia orgánica y/o inorgánica en agua, donde n es el tiempo de incubación igual a 5 días ó a 7 días.

Nota 1. Adaptado de ISO 6107-2.

Nota 2. Para los propósitos de esta norma mexicana, "oxidación bioquímica" se entenderá por "oxidación biológica".

4 PRINCIPIO

Es absolutamente esencial que los ensayos realizados de acuerdo con esta norma mexicana sean realizadas por personal debidamente calificado.

La muestra de agua que se analizará es pretratada y se diluye con cantidades variables de una dilución de agua rica en oxígeno disuelto y que contenga una semilla de microorganismos aerobios (inóculo), con la supresión de la nitrificación.

La muestra se incuba a 20 ± 2 °C durante un período definido, 5 días o 7 días, en la obscuridad, en una botella totalmente llena y tapada. La concentración de oxígeno disuelto se determina antes y después de la incubación, y se calcula la masa del oxígeno consumido por litro de la muestra.

5 REACTIVOS

Utilizar exclusivamente reactivos de calidad analítica reconocida.

5.1 Agua, agua que cumpla con las siguientes características:

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

El agua no deberá contener más de 0,01 mg/l de cobre, ni de cloro o cloraminas.

5.2 Si la muestra no contiene suficientes microorganismos adaptados;

El agua de dilución se obtendrá de una de las siguientes maneras:

- a) Aguas residuales urbanas de máximo de 300 mg/l de DQO (demanda química de oxígeno medido de acuerdo con NMX-AA-030-SCFI-2008,



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

parte 1 y 2), o COT 100 mg/l (carbono orgánico total, medido de conformidad con la norma ISO 8245), colectados de la red principal de alcantarillado o de un alcantarillado de una zona residencial libre de contaminación industrial importante. Decantar o filtrar el agua a través de un filtro grueso

- b) Río o lago de agua que contiene las aguas residuales urbanas;
- c) Efluente ubicado en una planta de tratamiento de aguas residuales;
- d) Agua tomada aguas abajo de la descarga del agua que se analizará o agua conteniendo microorganismos adaptados al agua que se analizará y cultivada en el laboratorio (en el caso de los efluentes industriales que contienen las sustancias que se degradan con dificultad);
- e) Material de siembra (inóculo) disponible comercialmente.

5.3 Disoluciones de sal, almacenados en botellas de vidrio de (0 a 4) °C en la oscuridad

Las siguientes disoluciones son estables durante 6 meses. Serán descartadas en la primera señal de precipitación o crecimiento biológico.

5.3.1 Disolución amortiguadora de fosfato, pH 7,2

Disolver 8,5 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4), 21,75 g de fosfato dibásico de potasio (K_2HPO_4), 33,4 g de fosfato dibásico de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y 1,7 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) en 500 ml de agua. Diluir a 1 000 ml y mezclar.

El pH de esta disolución amortiguadora debe ser 7,2 sin el ajuste adicional.

5.3.2 Disolución de sulfato de magnesio

Disuelva 22,5 g de sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en agua. Diluir en 1 000 ml y mezclar.

5.3.3 Disolución de Cloruro de calcio

Disolver 27,5 g de cloruro de calcio anhidro (CaCl_2) o equivalente (por ejemplo, si se usa cloruro de calcio hidratado: 36,4 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en agua. Diluir en 1 000 ml y mezclar.

5.3.4 Disolución de cloruro férrico (III)

Disuelva 0,25 g de cloruro férrico (III) ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en agua. Diluir en 1 000 ml y mezclar.



5.4 Agua de dilución

Añadir a unos 500 ml de agua, 1 ml de cada una de las disoluciones de sal (5.3.1, 5.3.2, 5.3.3 y 5.3.4). Diluir a 1000 ml y mezclar. Llevar la disolución así obtenida, a una temperatura de $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ y mantener a esta temperatura; aerear por lo menos 1 h utilizando un equipo adecuado. Tome todas las precauciones para no contaminarla (6,8), en particular, por la adición de materia orgánica, metales, oxidantes o la reducción de las sustancias, a fin de garantizar que la concentración de oxígeno disuelto es por lo menos 8 mg/l.

El agua no será sobresaturada con oxígeno: dejar reposar 1 hora en un contenedor destapado antes de su uso. Utilice esta disolución dentro de las 24 h de la preparación y deseche cualquier disolución restante, a menos que la experiencia del laboratorio y/o los valores del control demuestren que el agua es aceptable por un plazo más largo.

5.5 Agua de dilución inoculada (inoculada)

Agregue, dependiendo de su fuente, de 5 ml a 20 ml del agua inoculada (inoculada) (5.2) por litro del agua de dilución (5.4). Almacene el agua de dilución obtenida en aproximadamente $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Preparar inmediatamente antes de su uso y desechar cualquier resto de disolución al final de la jornada de trabajo, a menos que la experiencia del laboratorio y/o los valores del control (8.5) demuestren que el agua inoculada de dilución es aceptable por un plazo más largo.

La concentración total de oxígeno consumido durante n días, a $20 \pm 2\text{ °C}$ por el agua de dilución, que es el valor blanco (8.3), no excederá 1,5 mg/l.

5.6 Disolución de ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico (H_2SO_4), $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 0,25\text{ mol/L}$, $c(\text{HCl}) \approx 0,50\text{ mol/l}$, o como sea apropiado.

5.7 Disolución de hidróxido de sodio (NaOH) $\rho \approx 20\text{ g/l}$ o como sea apropiado.

5.8 Disolución de sulfito de sodio (Na_2SO_3) $\rho \approx 50\text{ g/l}$ o como sea apropiado.

5.9 Disolución de control de glucosa-ácido glutámico.

Secar D-glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) y L-ácido glutámico ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$) a $(105 \pm 5)\text{ °C}$ durante 1 h. Pesar $(150 \pm 1)\text{ mg}$ de cada uno, disolver en agua, diluir a 1000 ml y mezclar. La demanda teórica de oxígeno de esta disolución es 307 mg/l



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

de oxígeno [la DBO_5 empírica es (210 ± 20) mg/l de oxígeno y la DBO_7 es (225 ± 20) mg/l de oxígeno].

Preparar la disolución inmediatamente antes de su uso y desechar cualquier resto de disolución al final de la jornada de trabajo. La disolución también puede ser congelada en pequeñas cantidades. La disolución descongelada se utilizará inmediatamente después de la descongelación.

5.10 Disolución de alitiourea (ATU), $\rho = 1,0$ g/l

Disolver 200 mg de alitiourea ($C_4H_8N_2S$) en agua, diluir a 200 ml y mezclar. Guarde la disolución a 4 °C. La disolución es estable durante al menos dos semanas. Este compuesto es tóxico y por lo tanto debe manejarse con cuidado.

6 EQUIPOS Y MATERIALES

La cristalería usada será limpia, es decir libre de compuestos tóxicos o biodegradables fijados por adsorción, y será protegida contra la contaminación.

6.1 Botellas de incubación

Botellas de DBO, con tapones, preferiblemente de la capacidad de 250 ml a 300 ml o 100 ml a 125 ml y, preferentemente, con los hombros rectos, o cualquier botella equivalente.

Es importante que las botellas estén limpias antes de su uso. Si se utiliza el método iodométrico para la determinación de oxígeno disuelto, normalmente es suficiente enjuagar el frasco varias veces con agua del grifo, a continuación, agua desionizada. Si se utiliza el método de electrodos, se requiere, un procedimiento de limpieza más riguroso, por ejemplo, el siguiente. Añadir a la botella vacía 5 ml a 10 ml de una disolución de lavado (por ejemplo, 2,5 g de yodo más 12,5 g de yoduro potásico por litro del 1% (fracción en volumen) de ácido sulfúrico, agitando bien para cubrir las paredes de la botella). Deje reposar durante 15 minutos, vierta la disolución y enjuague con agua desionizada y, por último, agua. Puede utilizarse cualquier otro método que garantice su limpieza.

6.2 Recipiente, de vidrio o plástico con agua de dilución



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Deberán tomarse medidas para garantizar que el recipiente se mantiene limpio y libre de crecimiento de microorganismos. Compruebe que los recipientes de plástico no causan valores de blanco elevados (8,3).

6.3 Incubadora capaz de mantenerse a (20 ± 2) °C.

6.4 Equipo para la determinación de concentración de oxígeno disuelto.

6.5 Medios de refrigeración de 0 °C a 4 °C, para el transporte y el almacenamiento de la muestra

6.6 Recipiente de dilución, un frasco de vidrio con tapón de una capacidad que depende del volumen de la muestra diluida utilizada, con graduaciones de entre 2,5 ml y 10 ml, o cualquier recipiente apropiado para la dilución.

6.7 Equipo de aereación, por ejemplo, botella de aire comprimido o un compresor.

La calidad del aire será tal que la aereación no dará lugar a cualquier tipo de contaminación, especialmente mediante la adición de materia orgánica, oxidación de los materiales de reducción, o metales. Si se sospecha la contaminación, el aire será filtrado y lavado.

7 ALMACENAJE DE LA MUESTRA

Almacene la muestra de (0 a 4) °C en una botella llena y tapada herméticamente inmediatamente después de la colección de la muestra y hasta que se realice el análisis. Comience la determinación del DBO_n tan pronto como sea posible y dentro de 24 h de la terminación de la colección de la muestra. En relación con la congelación de muestras, vea los casos especiales en el numeral 10.

Asegúrese de que las botellas de la muestra no den lugar a valores de blanco elevados.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 Pretratamiento

8.1.1 Neutralización de la muestra



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Si el pH de la muestra después de la dilución no está entre 6 y 8, neutralizarlo, después de haber realizado la predilución necesaria y después de haber determinado, por una prueba separada, el volumen de disolución de ácido clorhídrico (5.6) o de disolución de hidróxido sódico (5.7) necesario para ser añadido. No haga caso de cualquier precipitado que se forme.

8.1.2 Presencia de cloro libre y/o combinado

Quite cualquier cloro libre y combinado de la muestra mediante la adición del volumen necesario de disolución de sulfito de sodio (5.8). Tenga cuidado de evitar la adición en exceso.

8.1.3 Homogenización

La homogenización con un mezclador del laboratorio no se recomienda, pero se considera su uso al probar una muestra que contiene partículas grandes y que requiere un factor de dilución alto.

Cuando las muestras se han congelado (véase numeral 10), homogenizar después de la descongelación de las muestras.

8.1.4 Presencia de algas

Considere filtrar las muestras que contienen algas para evitar producir resultados inusualmente altos, mediante un filtro de tamaño de poro apropiado. La filtración puede cambiar resultados del DBO radicalmente y sólo se realizará si se considera necesaria en la evaluación de la calidad del agua. Si la filtración fue realizada, el tamaño del poro del filtro será registrado en el informe de la prueba.

Tabla 1 – Diluciones típicas para la determinación de DBO_n

DBO _n Esperado mg/L de oxígeno	Factor de dilución ^a	Ejemplos de aguas ^b
3 a 6	Entre 1,1 y 2	R
4 a 12	2	R, E
10 a 30	5	R, E
20 a 60	10	E
40 a 120	20	S
100 a 300	50	S, C
200 a 600	100	S, C
400 a 1200	200	L, C
1000 a 3000	500	L



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

2000 a 6000	1000	L
^a Volumen de la muestra diluida / volumen de la porción de prueba. ^b R: Agua de río; E: agua residual municipal Biológicamente purificada; S: agua residual municipal clarificada o efluente industrial ligeramente contaminado; C: agua residual municipal cruda; L: efluente industrial muy contaminado.		

8.2 Preparación de las disoluciones de prueba

Llevar la muestra (o la muestra pretratada) a una temperatura de $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$ y si es necesario (dependiendo del origen de la muestra) agitar en un recipiente medio lleno para eliminar cualquier sobresaturación posible con oxígeno.

Coloque un volumen conocido de la muestra (o muestra pretratada), la porción de ensayo, en el recipiente de dilución (6.6), agregue 2 ml de disolución de alitiourea (5.10) por litro de muestra diluida y llenar hasta la marca con agua de dilución inoculada (5.5). Si el factor de dilución que debe utilizarse es superior a 100, llevar a cabo diluciones seriadas en dos o más pasos.

Mezclar suavemente para evitar el atrapamiento de burbujas de aire.

El consumo de oxígeno debe ser de al menos 2 mg/l y la concentración de oxígeno después de la incubación por lo menos 2 mg/l del grado de dilución debe ser tal que, después de la incubación, la concentración del oxígeno disuelto residual estará entre un tercio y dos tercios de la concentración inicial.

Debido a la dificultad de seleccionar el grado de dilución correcto, se recomiendan diferentes diluciones, variando según el factor de la dilución y abarcando la dilución que corresponde al DBO_n previsto (ver tabla 1).

Determinaciones del carbono orgánico total (COT), el índice de permanganato, o la demanda química de oxígeno (DQO) puede dar información útil a este respecto.

La tabla 2 presenta intervalos típicos para R, relación de DBO_n con COT, índice de permanganato o DQO, dependiendo del tipo de muestra.

Tabla 2 – Valores típicos de la relación R

	carbono orgánico	índice de	demanda química
--	------------------	-----------	-----------------

SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

	total DBO/COT	permanganato	de oxígeno
Agua residual no tratada	1,2 a 2,8	1,2 a 1,5	0,35 a 0,65
Agua residual tratada biológicamente	0,3 a 1,0	0,5 a 1,2	0,20 a 0,35

Un adecuado valor de R debe ser seleccionado de la tabla 2, para calcular el valor esperado DBO_n:

$$DBO_n = R \cdot y$$

donde *y* es la demanda química de oxígeno, índice de permanganato o el valor de COT.

Se debe tener cuidado de que las muestras sean representativas.

Si se sospecha de la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos, se deben hacer varias diluciones de la muestra. Si el resultado de DBO depende de la dilución, los resultados sólo pueden presentarse si no hay dependencia de la dilución. Multipruebas (ver Anexo B) pueden aplicarse en esta situación.

NOTA 1. En algunas muestras puede presentarse inhibición por cloro incluso después de la supuesta eliminación, debido a productos del cloro que no son eliminados.

NOTA 2. La desnitrificación no es factible en todos los casos. Un incremento significativo de la adición de ATU por encima de 2 mg/l puede afectar a la valoración Winkler.

8.3 Prueba de blanco

Llevar a cabo un ensayo en blanco en paralelo con la determinación, usando el agua de dilución inoculada (5,5) incluyendo 2 mg de disolución de ATU (5.10) por litro.

8.4 Procedimiento

8.4.1 Medición del oxígeno disuelto usando el método yodométrico.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Usando cada dilución (8.2), llene dos botellas de incubación (6.1), permitiendo que desborden levemente. Durante el llenado, se tomarán precauciones para evitar el cambio del contenido de oxígeno del medio.

Permitir que cualquier burbuja de aire adherida a las paredes se escape. Tapar las botellas, teniendo cuidado para evitar la captura de burbujas de aire.

Dividir las botellas en dos series, cada botella con una dilución y por lo menos una botella de disolución de blanco.

Ponga la primera serie de botellas con las disoluciones de prueba diluida (8.2) en la incubadora (6.4) y dejar en la oscuridad por n días \pm 4h.

En la segunda serie de botellas con las disoluciones diluidas de la prueba, mida la concentración de oxígeno disuelto en el tiempo cero, usando el método de la adición de azida.

Después de la incubación, determine la concentración de oxígeno disuelto en cada una de las botellas.

8.4.2 Medición de oxígeno disuelto utilizando la sonda electroquímica.

Usando cada dilución (8.2), llenar las botellas de incubación (6.2), permitiendo que desborden levemente. Se tomarán precauciones para evitar el cambio del contenido de oxígeno del medio.

Permitir que cualquier burbuja de aire adherida a las paredes se escape.

Mida la concentración de oxígeno disuelto en cada una de las botellas en el tiempo cero.

Tapar las botellas, teniendo cuidado para evitar la captura de burbujas de aire.

Poner las botellas con las disoluciones de prueba diluida (8.2) en la incubadora (6.3) y dejar en la oscuridad por n días \pm 4h.

Después de la incubación, determine la concentración de oxígeno disuelto en cada uno de las botellas.

8.5 Análisis del control

Para comprobar el agua de dilución inoculada, el agua inoculada y la técnica del analista, realizar un control por cada lote de muestras poniendo 20 ml de la disolución de control glucosa- ácido glutámico (5.9) en el recipiente de



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

dilución, agregando 2 ml de la disolución de ATU (5.10) seguidos por la dilución a 1 000 ml con el agua inoculada de dilución (5.5) y proceder según lo descrito en 8.4.

El DBO_n obtenido debe estar dentro del intervalo (210 ± 40) mg/l de oxígeno para el DBO₅ y dentro del intervalo (225 ± 40) mg/l de oxígeno para el DBO₇, correspondiendo al intervalo del valor medio ± 2 del valor medio que determina la desviación estándar de los datos de interlaboratorios (ver cláusula 10). Los límites de control exactos para cada laboratorio serán establecidos realizando un mínimo de 25 determinaciones durante varias semanas. La media y la desviación estándar pueden ser utilizadas para el cálculo de límites de control para controles de calidad. Si no es así, comprobar el agua inoculada y, en caso necesario, la técnica del analista

La prueba en blanco (8.3) no excederá 1,5 mg/l de oxígeno; si es así compruebe las fuentes posibles de contaminación.

9 CÁLCULO Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

9.1 Medición del consumo de oxígeno válido durante la prueba

DBO_n se calcula para las disoluciones de prueba, cuando se cumpla la condición siguiente:

$$\frac{\rho_1}{3} \leq (\rho_1 - \rho_2) \leq \frac{2\rho_1}{3}$$

Donde:

ρ_1 es la concentración de oxígeno disuelto de una de las disoluciones de la prueba en el tiempo cero, en miligramos por litro;

ρ_2 es la concentración de oxígeno disuelto de esta misma disolución de la prueba después de n días, en miligramos por litro.

9.2 Cálculo de la demanda bioquímica de oxígeno después de n días (DBO_n)

Calculo de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_n), expresada en miligramos por litro de oxígeno, usando la ecuación:

$$\text{BOD}_n = \left[(\rho_1 - \rho_2) - \frac{V_t - V_s}{V_t} \cdot (\rho_3 - \rho_4) \right] \cdot \frac{V_t}{V_{\text{sam}}}$$



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Donde:

ρ_1 y ρ_2 ver 9.1.

ρ_3 es la concentración de oxígeno disuelto de la disolución de blanco en el tiempo cero, en miligramos por litro.

ρ_4 es la concentración de oxígeno disuelto de la disolución de blanco después de n días, en miligramos por litro.

V_{sam} es el volumen de muestra utilizada para la preparación de la disolución de ensayo en cuestión, en mililitros;

V_t es el volumen total, en mililitros, de esta disolución de ensayo.

Si varias diluciones caen dentro del intervalo requerido, calcular la media de los resultados obtenidos para estas diluciones.

Los resultados se expresarán en miligramos de oxígeno por litro y siempre en números enteros. Resultados de menos de 10 mg/l de oxígeno se informaran al valor más cercano en mg/l. Resultados entre 10 mg/l de oxígeno y 1000 mg/l de oxígeno se informaran con dos cifras significativas.

Resultados por encima de 1000 mg/l deberán ser comunicados a tres cifras significativas, por ejemplo, 1240 mg/l de oxígeno.

Los resultados de los ensayos interlaboratorios sobre la exactitud y repetibilidad y reproducibilidad de los resultados se indican en el Anexo C.

10 CASOS ESPECIALES

Si el tiempo transcurrido entre la toma de muestras y el inicio del análisis no puede limitarse a menos de 24 h, debido al tiempo de transporte, como resultado de circunstancias geográficas, se permite la congelación de las muestras. Muestras congeladas serán homogeneizadas después de la descongelación, y el agua de inóculo se utilizará en todos los casos. Se recomienda que, siempre que sea posible, las instalaciones de laboratorio se encuentren en donde se pueda limitar el tiempo de transporte.

11 REPORTE DE PRUEBAS



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

El reporte de pruebas incluirá la siguiente información:

- a) Referencia a esta norma mexicana
- b) especificación que la prueba fue realizada con la desnitrificación;
- c) el número de días de incubación (n);
- d) el resultado, en miligramos por litro de oxígeno (reportado como se describe en el numeral 9.2);
- e) para los resultados debajo del intervalo de trabajo, una documentación para un adecuado límite de detección;
- f) cualquier detalle especial que se pudo haber observado durante la prueba;

- g) los detalles de cualquier operación no especificada en esta norma mexicana, o considerada como opcional, por ejemplo la filtración (8.1.4), la congelación y la homogeneización (ver cláusula 10), incubación alternativa (DBO_{2+5}) (ver Anexo A), y multipruebas (ver Anexo B)

12 VIGENCIA

La presente Norma Mexicana entrará en vigor 60 días naturales después de la publicación de la declaratoria de vigencia en el **Diario Oficial de la Federación**.

13 BIBLIOGRAFÍA

13.1 ISO 5815-1: 2003.- Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n days (DBOn) — Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition

13.2 ISO 6107-2:1997, Water quality — Vocabulary — Part 2

13.3 ISO 7393-1:1985, Water quality — Determination of free chlorine and total chlorine — Part 1: Titrimetric method using N,N-diethyl-1,4-phenylenediamine

13.4 ISO 7393-2:1985, Water quality — Determination of free chlorine and total chlorine — Part 2: Colorimetric method using N,N-diethyl-1,4-phenylenediamine, for routine control purposes

13.5 ISO 9408:1999, Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium by determination of oxygen demand in a closed respirometer



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

13.6 R.G. TYERS and R. SHAW, *J. IWEM*, 3, 1989, pp. 366-374

14 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma mexicana coincide totalmente con la norma internacional ISO 5815-1: 2003.- Water quality — Determination of biochemical oxygen demand after n days (DBOn) — Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition.

México D. F., a

**DR. FRANCISCO RAMOS GÓMEZ
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS**

APÉNDICES INFORMATIVOS

Anexo A

Métodos alternativos de incubación (informativo)

El índice de oxidación de carbono durante la primera etapa de la prueba de DBO se expresa por la ley de Phelps:

$$\log_{10} \frac{L}{L-x} = kt$$

Donde:



L es el último DBO en tiempo infinito, en miligramos por litro de oxígeno;
X es el DBO en tiempo t, en miligramos por litro de oxígeno;
t es el tiempo en días;
k es la constante de proporción, expresada como el recíproco del día.

Para un determinado tipo de materia orgánica y de semilla microbiana (inóculo), el efecto de la temperatura sobre la constante de proporción k y sobre el valor de L se pueden predecir para una primera aproximación. Esto puede ser útil cuando se considera el uso de la prueba de DBO en los climas calurosos, o en los estudios de ríos largos que atraviesan un número de regiones climáticas. Es esencial que esas relaciones sean, sin embargo, utilizadas con precaución.

El resultado normal del DBO se obtiene después de una incubación de cinco días o de siete días a (20 ± 2) °C.

Se han obtenido resultados por incubación durante 2 días de $(0^{\circ}\text{a } 4)$ °C seguido por 5 días a (20 ± 2) °C, de una DBO_{2+5} . Se ha observado [3] que no hay diferencia significativa entre una muestra de dilución DBO_5 y DBO_{2+5} .

Esta también fue investigada en una comparación interlaboratorios europea realizada en 1992 con 95 participantes de 11 países. La correlación entre las determinaciones DBO_5 y DBO_7 y las determinaciones DBO_5 y DBO_{2+5} fueron medidas. Los resultados de estos últimos se presentan en la tabla A.1.



Tabla A.1 – Comparación interlaboratorios de DBO₅ y DBO₂₊₅

	Tipo de muestra	Glucosa/disolución ácido glutámico		Agua residual tratada mecánicamente		Agua residual tratada biológicamente	
		A	B	C	D	E	F
DBO ₅	Valor de la mediana mg/l de oxígeno	203	184	58	46	18,2	17,2
DBO ₂₊₅	Valor de la mediana mg/l de oxígeno	201	180	58	46	18,1	17,2
	Diferencia significativa de DBO ₅ ^a	No	No	No	No	No	No
	Número de laboratorios	91	85	89	86	89	87

^a nivel de significancia $\alpha = 0,05$

En la práctica no hay diferencia entre los resultados de DBO₅ y DBO₂₊₅.

Al determinar DBO₂₊₅, agregar 8.4.1 con la modificación del párrafo 4 de la manera siguiente:

"Poner la primera serie de botellas con las disoluciones diluidas de la prueba (8.2) en la oscuridad a (0 a 4) °C durante 2 días ± 2 h) y, a continuación, ponerlos en la incubadora (6.4) y dejar en la oscuridad con la temperatura de la dilución equilibrada a (20 ± 2) °C durante 5 días ± 4 h)".

y agregue el numeral 8.4.2 con la alteración del párrafo 5 como sigue:

"Poner las botellas con las disoluciones diluidas de la prueba (8.2) en la oscuridad a (0 a 4) °C para 2.d ± 4 h) y a continuación póngalas en la incubadora (6.4) y déjelas en la oscuridad con la temperatura de las diluciones equilibrada en (20 ± 2) °C por 5 d ± 4 h)."

Cuando las determinaciones DBO₅ son substituidas por las determinaciones DBO₂₊₅, es necesario que el laboratorio verifique que su procedimiento para las determinaciones DBO₂₊₅ de resultados equivalentes a las determinaciones DBO₅.



Anexo B

Multiprueba (informativo)

Multiprueba es el análisis de una muestra en dos o más diluciones diferentes. Este procedimiento se puede utilizar si se desea una mayor repetibilidad y reproducibilidad, o si hay sospechas de la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos.

La muestra se analiza como en 8.4, con la excepción de que una botella extra se llena para cada una de las muestras de dilución, y que dos botellas de DBO se incuban.

El consumo de oxígeno durante la incubación se determina para cada botella de DBO y se traza contra el volumen de la muestra en cada dilución.

El consumo de oxígeno de la prueba en blanco se representa como el valor de volumen cero.

Si el consumo de oxígeno en contra del volumen de la muestra es lineal, el DBO_n no contiene componentes que inhiben a los microorganismos.

Si el consumo de oxígeno en contra del volumen de la muestra es lineal sólo para concentraciones bajas de la muestra, sólo las diluciones de la muestra en el rango lineal se pueden utilizar para determinar DBO_n

El DBO_n se calcula como en la cláusula 9, y es el valor medio de todas las determinaciones en el rango lineal.



Anexo C

Exactitud y repetibilidad y reproducibilidad (informativo)

La exactitud y la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad del análisis de la DBO₅ se determinaron por una comparación interlaboratorios en 1992. En este ejercicio, tres pares de muestras fueron analizadas por 95 laboratorios en 11 países. Los resultados se muestran en el cuadro C.1.

Tabla C.1 – Resultados de la comparación de interlaboratorios

	Muestra	Calculado Valor/diferencia mg/l de oxígeno	Mediana mg/l de oxígeno	Reproducibilidad Desviación estándar mg/l de oxígeno	Promedio de diferencias mg/l de oxígeno	Repetibilidad Desviación estándar de diferencia mg/l de oxígeno	Número de resultados	Aislados
DBO₅	Glucosa/disolución A ácido glutámico	199 } 180 } ↕ 19	203	22	18	11	91	5
	Glucosa/disolución B ácido glutámico		184	19				
	Agua residual tratada C mecánicamente	58,3	7,7					
	Agua residual tratada D mecánicamente	46,0	5,0	95				5
	Agua residual tratada E biológicamente	18,2	4,5					
	Agua residual tratada F biológicamente	17,2	3,7	95				5



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

DBO₂ +5 ^a	Glucosa/disolución A ácido glutámico	199 } ↑↓19 180 }	201	24	-17	11	88	2
	Glucosa/disolución B ácido glutámico		180	24				
	Agua residual tratada C mecánicamente	58,0	8,9					
	Agua residual tratada D mecánicamente	45,5	6,0					
	Agua residual tratada E biológicamente	18,1	4,9					
	Agua residual tratada F biológicamente	17,2	4,2					
DBO₇	Glucosa/disolución A ácido glutámico	199 } ↑↓19 180 }	210	22	19	13	88	3
	Glucosa/disolución B ácido glutámico		190	19				
	Agua residual tratada C mecánicamente	64,4	8,6					
	Agua residual tratada D mecánicamente	51,6	6,7					
	Agua residual tratada E biológicamente	19,3	5,0					
	Agua residual tratada F biológicamente	17,8	4,3					
^a Ver anexo A								

Es posible establecer factores de conversión entre datos de DBO₅ y DBO₇ dentro de un mismo tipo de agua. El valor de los factores de conversión pueden ser obtenidos a partir de análisis paralelos de DBO₅ y las mediciones de DBO₇ de las mismas muestras. Si un factor no está disponible la correlación entre DBO₅ y DBO₇ se puede estimar a partir de los resultados de la mencionada comparación interlaboratorios Europea. Los resultados se muestran en el cuadro C.2.

La repetibilidad y reproducibilidad del análisis de DBO_n se puede mejorar, si es necesario, por multipruebas (véase el Anexo B).



Tabla C.2 – Comparación interlaboratorios de DBO₅ y DBO₇

Tipo de muestra		DBO ₅ mg/L oxígeno	de	DBO ₇ mg/L oxígeno	de	Diferencia significante ^a	Número de laboratorios	DBO ₇ /DBO ₅
Glucosa/disolución B ácido glutámico	A	203		210		Si	90	1,04
	B	184		190		Si	87	1,03
Agua residual tratada Mecánicamente	C	58		64		Si	88	1,10
	D	46		52		Si	88	1,12
Agua residual tratada biológicamente	E	18,2		19,3		Si	87	1,06
	F	17,2		17,8		Si	89	1,03

^a nivel de significancia $\alpha = 0,05$