



DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA

TÍTULO: **DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO 5 días, INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA**

CÓDIGO: **TP0087**

VERSIÓN: **02**

COPIA N°: _____

ELABORADO POR: _____

MARIA OLGA NAVARRO R.
Bacterióloga

REVISADO Y

ACTUALIZADO POR: _____

MARIA STELLA GAITAN
Ingeniera de Alimentos

APROBADO POR: _____

MARTA ELENA DUQUE S.
Coordinadora GLCA

* Este documento debe ser revisado por lo menos cada **dos** años.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días EN AGUAS

1. INTRODUCCIÓN

La oxidación microbiana o mineralización de la materia orgánica es una de las principales reacciones que ocurren en los cuerpos naturales de agua y constituye una de las demandas de oxígeno, ejercida por los microorganismos heterotróficos, que hay que cuantificar.

Uno de los ensayos más importantes para determinar la concentración de la materia orgánica de aguas residuales es el ensayo de DBO a cinco días. Esencialmente, la DBO es una medida de la cantidad de oxígeno utilizado por los microorganismos en la estabilización de la materia orgánica biodegradable, en condiciones aeróbicas, en un periodo de cinco días a 20 °C. En aguas residuales domésticas, el valor de la DBO a cinco días representa en promedio un 65 a 70% del total de la materia orgánica oxidable. La DBO, como todo ensayo biológico, requiere cuidado especial en su realización, así como conocimiento de las características esenciales que deben cumplirse, con el fin de obtener valores representativos confiables. El ensayo supone la medida de la cantidad de oxígeno consumido por organismos vivos en la utilización de la materia orgánica presente en un residuo; por tanto, es necesario garantizar que durante todo el periodo de ensayo exista suficiente oxígeno disuelto para ser utilizado por los organismos. Además, debe garantizarse que se suministran las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo y trabajo de los microorganismos, así que hay que proporcionar los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, tales como N y P y eliminar cualquier sustancia tóxica de la muestra. Es también necesario que exista una población de organismos suficiente en cantidad y en variedad de especies, llamada “Cepa” o “semilla”, durante la realización del ensayo, para la degradación de la materia orgánica.

El método se aplica en este laboratorio para la matriz aguas naturales superficiales y residuales industriales. Es empleado para el intervalo de 2 a 5000 mg/L. Es un método electrométrico, en el que se determina el oxígeno disuelto consumido, en sus procesos metabólicos, por los microorganismos, en la degradación de la materia orgánica, incubando la muestra en la oscuridad a $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$, por cinco días.

2. Definiciones

OD = Oxígeno disuelto

OD_i = Oxígeno disuelto inicial

OD_r = Oxígeno disuelto residual

DBO₅ = Demanda Bioquímica de Oxígeno

V = volumen

Cepa o semilla = Cultivo heterogéneo de microorganismos aeróbicos que transforman la materia orgánica en CO₂ y H₂O.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

3. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Revise antes de iniciar la práctica las Hojas de Seguridad que reposan en los AZ I y II TC0180, en el mueble de la entrada en el área de recepción de muestras. Estas hojas de seguridad también puede encontrarlas, en el PSO en el puesto de trabajo.

Utilice los implementos de seguridad, de acuerdo con lo señalado en el instructivo IS0174 (Bata, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, máscara con filtro mixto de vapores ácidos y orgánicos, guantes de caucho).

Los residuos de la determinación, se tratan de acuerdo al procedimiento para disposición de muestras y residuos de análisis TP0121.

4. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

4.1 Existen numerosos factores que afectan la prueba de la DBO, entre ellos la relación de la materia orgánica soluble a la materia orgánica suspendida, los sólidos sedimentables, los flotables, la presencia de hierro en su forma oxidada o reducida, la presencia de compuestos azufrados, peróxido, cloro y las aguas no bien mezcladas. Al momento no existe una forma de corregir o ajustar los efectos de estos factores.

4.2 Los resultados se reportan como DBO_5 debido a que no se adiciona inhibidor de nitrificación.

4.3. *Requerimientos de dilución.* Si el agua de dilución es de baja calidad, su DBO aparecerá como DBO de la muestra, efecto que será amplificado por el factor de dilución, y el resultado tendrá una desviación positiva. El método de análisis debe incluir agua de dilución de verificación y agua de dilución como blanco para establecer su calidad, mediante la medición del consumo de oxígeno con una mezcla orgánica conocida, generalmente glucosa y ácido glutámico. La fuente del agua de dilución es destilada a partir del agua de grifo.



DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA

5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

NOMBRE DEL METODO:	DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.		
CÓDIGO DEL PSO:	TP0087		
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:	-		
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCIÓN	2	mgO/ mL	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE %CV	1.60	%	Para estándar 2.0 mgO/L
	2.43	%	Para estándar 5000 mgO/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-1.36	%	Para estándar 2.0 mgO/L
	8.04	%	Para estándar 5000 mgO/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	N-A		Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	2 - 5000	mgO/L	Con la mayor dilución posible o aceptable.
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	103	%	Para M ₁ Ab 200 mgO/L
	104	%	Para M ₁ Aa 600 mgO/L

6. TOMA Y PRESERVACIÓN DE MUESTRA

Tome la muestra de tal manera que sea representativa del vertimiento en estudio. Utilice frascos plásticos de polipropileno de 2000 mL de capacidad. Refrigere la muestra a 4°C hasta el momento del análisis. Lleve las muestras a temperatura ambiente. Efectúe el análisis dentro de las 24 horas siguientes a la toma de la muestra

7. APARATOS, REACTIVOS, MATERIALES Y VIDRIERIA

7.1 EQUIPOS

- Medidor de oxígeno marca YSI, modelo 52.
- Balanza analítica de cuatro cifras decimales (Mettler Toledo AG 204)
- Incubadora (Sargent - Welch. Frigidaire).



DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA

7.2 REACTIVOS

- Agua destilada y Ultrapura.
- *Solución tampón de fosfato*: Disuelva 8,5 g de KH_2PO_4 , 21,75 g de K_2HPO_4 , 33,4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, y 1,7 g de NH_4Cl en aproximadamente 500 mL de agua ultrapura y diluya a 1 L. El pH del buffer preparado debe ser 7,2 sin posteriores ajuste, permitiendo un intervalo entre 7.1 – 7.3 y verificar el pH de cada preparación. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- *Solución de sulfato de magnesio*: Disuelva 22,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua ultrapura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- *Solución de cloruro de calcio*: Disuelva 27,5 g de CaCl_2 en agua ultrapura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- *Solución de cloruro de hierro (III)*: Disuelva 0,25g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua ultrapura, diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- *Acido Sulfúrico 1 M*. En un vaso de precipitados coloque alrededor de 300 mL de agua ultrapura y agregue muy lentamente y mientras agita, 28 mL de ácido sulfúrico concentrado; diluya a 1 L.
- *Hidróxido de Sodio 1M*. Disuelva 40 g de hidróxido de sodio en agua ultrapura y diluya a 1 L..
- *Solución de glucosa - ácido glutámico*: Seque a 103 °C por 1 h glucosa (grado analítico) y ácido glutámico (grado analítico). Disuelva 150 mg de glucosa y 150 mg de ácido glutámico en agua ultrapura y diluya a 1 L., almacenarlo en un frasco de tapa de rosca, estéril, refrigerado y se puede usar por una semana.

Cepa o Semilla: Agua superficial contaminada, tomada en el Río Fucha entrada a Abastos, se toma los martes y los viernes, se alimenta en la tarde después de haber realizado los análisis del día porque de lo contrario queda muy concentrada. Antes de alimentar la cepa, agitar para homogenizar el contenido del erlenmeyer que la contiene, se encuentra en el cuarto de maquinas en aireación continua, desechar el 50% de la almacenada allí, agregar la misma cantidad que se elimino y mezclar. Al día siguiente ya puede ser utilizada, mezclar antes de transferir a un vaso de precipitados el volumen necesario de acuerdo al número de muestras, dejar decantar en el vaso y tomar el sobrenadante, adicionar 2 mL a cada botella Winkler.

7.3 MATERIALES Y VIDRIERIA

- Botellas de Polipropileno de 2000 mL.
- Botellas Winkler de aproximadamente 300 mL de capacidad
- Garrafa con llave de 20 L de capacidad y con dispensador o mangueras.
- Microespátula metálica.
- Balón aforado de 1L Clase A
- Balones aforados de 100 mL Clase A o Clase B
- Pipetas graduadas de 10 mL. Clase B
- Pipetas graduadas de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100 mL boca ancha.
- Probetas de 250, 500ml.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

8. LIMPIEZA DE VIDRERIA

Use el material disponible, con control de calidad, que ha sido lavado con detergente biodegradable (material sumergido durante 30 min.), abundante agua de la llave y agua destilada, respectivamente. Ver procedimiento referente al lavado de material de vidrio TP0125.

La garrafa donde se prepara el agua de dilución debe lavarse antes y después de su uso con agua caliente, varias veces y enjuagar varias veces con agua destilada, recoger el agua para el análisis. No aplicar jabón para el lavado.

9. PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES DE CONTROL

Para mejores resultados seque una pequeña cantidad de los reactivos cada vez que se va a preparar esta solución.

- En un vaso de precipitados coloque alrededor de 0.2 g de ácido glutámico y en otro 0.2g de glucosa y séquelo a 102 – 104 °C durante una hora en el horno binder.
- Deje enfriar dentro del desecador, hasta temperatura ambiente.
- En un vaso de precipitado pese 0,1500 gramos de ácido glutámico y en otro 0,1500 gramos de glucosa.
- Coloque 200 mL de agua ultrapura en un balón aforado de 1litro, transfiera cuantitativamente los 0,1500 g de ácido glutámico, enjuague varias veces el vaso que lo contiene, agite hasta disolución completa.(No se disuelve fácilmente)
- Transfiera cuantitativamente los 0,1500 g de glucosa, enjuague varias veces el vaso que lo contiene, agite hasta disolución completa se agrega éste en el mismo balón del ácido glutámico.
- Complete a volumen y homogenice invirtiendo el balón varias veces.

Nota : Este estándar se puede utilizar por una semana, manteniéndolo tapado y refrigerado. Cuando se vaya a utilizar debe estar a temperatura ambiente.

10. PROCEDIMIENTO

10.1. Preparación del agua de dilución.

- Llene la garrafa con agua destilada, la necesaria para el análisis, teniendo en cuenta que el gasto aproximado es de 300 mL por botella winkler y van a utilizar, 3 botellas para blanco, 3 botellas para cepa más agua de dilución, 3 botellas para estándar, 4 botellas para muestras y 1,5 L adicionales.
- Reserve el volumen de agua destilada desde el día anterior.
- Airee el agua por dos horas mínimo, utilizando la bomba de los acuarios, que se encuentra disponible en el lugar de trabajo.
- Verifique que la temperatura del agua de dilución sea de $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUIMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

- Controle la temperatura, midiéndola con el oxímetro a una muestra que se toma en una botella Winkler, repita el proceso hasta llegar a 19 °C
- Agregue 1 mL de cada una de las siguientes soluciones, por cada litro de agua de dilución a preparar: Solución tampón de fosfatos, Solución de sulfato de magnesio, Solución de cloruro de calcio, Solución de cloruro de hierro (III).

10.2. Criterios para determinar la dilución aproximada de la muestra.

Tipo de muestra	mililitros de muestra
Residuales domésticas crudas fuertes	0,3 – 0,6 – 1,0
Residuales domesticas crudas normales	0,5 – 1,0 – 1,5
Residuales domesticas(estructuras intermedias)	1,0 – 2,0 – 3,0
Residuales domesticas tratadas (funcionamiento regular)	2,0 – 5,0 - 10
Residuales domesticas tratadas (funcionamiento normal)	5 – 10 – 20
Residuales domesticas tratadas (excelente funcionamiento)	10 – 20 - 50
Residuales lácteas, licores, cervecerías, gaseosas.	Aplicar la fórmula
Aguas superficiales parcialmente contaminadas	5,050
Aguas superficiales no contaminadas	50 – 70 – 90 - 100

El porcentaje se refiere al volumen adicionado por cada 100 mL de la botella winkler.

10.3. Alistamiento general

- Aliste 3 botellas por cada muestra, blanco, blanco con cepa y estándar a procesar.
- Diligencie el formato y registre el valor de 293 mL que corresponden al valor promedio de las botellas del laboratorio (293+/-4 mL), registre también el volumen de la alícuota que se tomará de la muestra y la dilución previa realizada en balón aforado si esta fuera necesaria de acuerdo a los criterios dados en 10.2.
- Adicione 2 mL de la Cepa o Semilla tomando las precauciones citadas en el numeral 7.2 Reactivos . cepa o Semilla...

10.4. Lectura de Blanco

- Aliste tres botellas Winkler
- Rotule las botellas como “Blanco” y la fecha de análisis.
- Adicione agua de dilución hasta la mitad del cuello de la botella.
- calibre el equipo de acuerdo a TM0230 Manual del Oxímetro YSI 52 con la primera botella de blanco a 73% de saturación de oxígeno. (2577m.s.n.m.)

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

- Lea el oxígeno inicial de los blancos, llene totalmente dejando el sello hidráulico(pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente)
- Lea las otras dos botellas de blancos como muestras y registre los datos en el formato TF 0025 e incube a 20+/- 3°C por cinco días.
- Utilice una de las botellas del blanco para calibrar el oxímetro al quinto día y lea el Oxígeno disuelto residual de los blancos, blanco con cepa, estándares y muestras.

10.5. Lectura de blanco con adición de cepa

- Aliste tres botellas Winkler
- Rotule las botellas como “Blanco + cepa” y la fecha de análisis.
- Adicione 2 mL de cepa o semilla.
- Adicione agua de dilución solamente hasta la mitad del cuello de la botella., para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.
- Lea el oxígeno inicial de los blancos con adición de cepa, llene totalmente dejando el sello hidráulico(pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente)
- Registre los datos en el formato TF 0025 e incube a 20 +/-3°C por cinco días.
- Al quinto día lea el Oxígeno disuelto residual

10.5. Lectura de estándar

- Aliste tres botellas Winkler
- Rotule tres de las botellas como “Estándar 198 mg/L” (“Estándar 19,8 mg/L este estándar no se procesa como control hasta que se autorice su utilización) y la fecha de análisis.
- Adicione 2 mL de cepa o semilla.
- Adicione 6 mL del estándar correspondiente.
- Adicione agua de dilución solamente hasta la mitad del cuello de la botella., para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.
- Lea el oxígeno inicial de los estándares, llene totalmente dejando el sello hidráulico(pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente)
- Registre los datos en el formato TF 0025 e incube a 20+/- 3°C por cinco días.
- Lea el Oxígeno disuelto residual a los 5 días de incubación.

10.6. Procesamiento de la muestra

- Después de establecer la cantidad de muestra que necesita de acuerdo a las diluciones a realizar, agite la muestra para homogenización completa y sirva en un vaso de precipitados la muestra, ajuste el pH de la muestra entre 6,5 y 7,5 con ácido sulfúrico 1 M o hidróxido de sodio 1 M, según sea el caso, dosificando estos reactivos con una pipeta Pasteur que dosifique gotas muy pequeñas.(Punta en buen estado)
- Aliste cuatro botellas Winkler
- Rotule las botellas con el número de muestra, la dilución correspondiente y la fecha de análisis. Para determinar la dilución aproximada siga los criterios de dilución de muestras.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

- Registre en el formato TF 0025 el volumen real de la botella Winkler impreso en la botella usada.
- Adicione a cada botella la cantidad de muestra que se ha establecido, si se requiere hacer dilución realícela en un balón aforado clase A ó B agite y sirva en la botella la cantidad requerida.
- Adicione 2 mL de cepa.
- Adicione agua solamente hasta la mitad del cuello de la botella, para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.
- Lea el oxígeno inicial de las cuatro botellas de muestra, llene totalmente dejando el sello hidráulico(pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente)
- Si al medir el oxígeno disuelto inicial, ha descendido a menor de 6, preparar otra botella utilizando un volumen de muestra menor.
- Registre los datos en el formato TF 0025 e incube a 20° +/- 3 °C por cinco días.
- Al quinto día lea el Oxígeno disuelto residual
- Calcule la DBO₅ con los resultados obtenidos (ver ecuación en el numeral 10).

11. Procesamiento de datos y cálculo de resultados

Efectúe los cálculos por medio de la ecuación:

Donde:

$$DBO_5, mgO_2 / L = \frac{(OD_{Consumido} - OD_{Consumo\text{ cepa}}) * V}{V_m}$$

OD consumido: OD i – OD r

OD consumo cepa: OD i (agua de dilución + cepa) – OD r (agua de dilución + cepa)

V = Volumen de la botella Winkler, que el valor promediado es de 293 ml.

V_m = Volumen de alícuota de la muestra afectado por el factor de dilución

12. Sección de control de calidad (CC) y Aseguramiento de la calidad

En forma paralela, con cada grupo o lote de muestras, es necesario procesar en un mismo día, un estándar por triplicado. Registre los resultados en la CARTA DE CONTROL del método.

Una vez hechos los cálculos y registrados los resultados en el formato TF0025, entréguelo al líder del grupo de análisis fisicoquímico.

Tome en cuenta los siguientes aspectos a la hora de reportar los análisis:

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

- El consumo de oxígeno en los cinco días para los blancos sin cepa debe ser < 0.2 mg/L
- El consumo de oxígeno para agua de dilución más cepa en buenas condiciones debe estar entre 0,6 – 1,0 mg/L, teniendo en cuenta que este límite no es tan estricto debido a que se resta al consumo de oxígeno del estándar y las muestras.
- Para promediar el valor de la DBO de las diferentes diluciones de cada muestra debe cumplir con los siguientes criterios de verificación: El consumo de OD de las muestras debe ser mayor o igual a 2 mg/L y el OD residual debe ser mayor o igual a 1.0 mg/L.
- El estándar debe encontrarse en 198 ± 22 mg/L

13 - Muestras con Cloro residual.

Evitar las muestras que contengan cloro residual; tomarlas antes del proceso de cloración; En algunas muestras, el Cloro se elimina si se dejan 1 o 2 horas a la luz, lo cual puede suceder durante el transporte y manejo de la muestra. Para muestras en las cuales el Cloro residual no se disipa en un tiempo razonablemente corto, eliminar éste por adición de solución de Na_2SO_3 .

Determinación Colorimétrica del Cloro

Fundamento:

El Cloro libre reacciona en solución débilmente ácida con dietil-p-fenilendiamina (DPD) dando una coloración violeta rojizo. El Cloro combinado reacciona tan solo después de la adición de iones yoduro. Esto permite la diferenciación entre Cloro libre y Cloro combinado. La concentración de Cloro se determina en cada caso semi-cuantitativamente por comparación visual de la solución de medición con la zona de color de la probeta.

Reactivos:

- Reactivo Cl_2^{-1}
- Reactivo Cl_2^{-2}
- Reactivo Cl_2^{-3}

Materiales:

- Jeringa de plástico graduada de 10 ml
- Probeta
- Placa de plástico blanca.

Determinación de Cloro Total.

Enjuagar varias veces la probeta con la muestra

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0087	Fecha de elaboración: 04/06/2007	Versión: 02
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA			

Adicionar 7 gotas de reactivo Cl_2^{-1} en la probeta.

Agregar 1 gota de reactivo Cl_2^{-2} .

Añadir con la jeringa 10 ml de muestra, cerrar la probeta con el tapón y mezclar.

Añadir a la medición del Cloro total 3 gotas de reactivo Cl_2^{-3} Cerrar la probeta con el tapón y mezclar.

Dejar en reposo 1 minuto. Mantener la placa blanca de plástico detrás de la probeta y hacer coincidir de la mejor manera posible el color de la solución de medición con una zona de la escala de Cloro de la probeta.

Leer la medición en mg/L de Cl_2 en la probeta o estimular un valor promedio: Cloro total.

El contenido de Cloro total no debe superar a 1.0 mg/L. Si el color de la solución de medición corresponde a la tonalidad más oscura de la escala en la probeta repetir la medición con nuevas muestras diluidas, hasta que se obtenga un valor inferior a 1.5 mg/L de Cl_2 . Este debe luego multiplicarse por el correspondiente factor de dilución.

Teniendo el valor del Cloro en una muestra de agua potable, tomar 120 ml de esta agregar 0.1 ml de tiosulfato de sodio a una concentración de 3% para neutralizar 5 mg de Cloro residual.

Se agrega el volumen relativo de la solución de tiosulfato de sodio determinado, se mezcla bien y se deja en reposo cerca de 10 a 20 minutos. Esta muestra ya no tiene Cloro se le determina la DBO.

NOTA: Un exceso de tiosulfato de sodio en la muestra, consume oxígeno y reacciona con ciertas cloraminas orgánicas que pueden estar presentes en muestras tratadas.

Si la muestra es agua residual a 120 ml de esta agregar 0.1 ml de tiosulfato de sodio al 10 % con el cual se neutraliza 15 mg de Cloro residual.

Se agrega el volumen relativo de la solución de tiosulfato de sodio determinado, se mezcla bien y se deja en reposo cerca de 10 a 20 minutos. Realizar la determinación para DBO.

14. Referencias.

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 20ed., New York, 1998
- Instructivo IS0174. Documentación de la Calidad. Sistema de Calidad del Laboratorio del IDEAM.
- Carpeta de Validación del Método (Código TC0259), Documentación de la Calidad. Sistema de Calidad del Laboratorio del IDEAM.
- JAIRO ALBERTO ROMERO ROJAS. (2002). Calidad del Agua. 1ª. Edición.

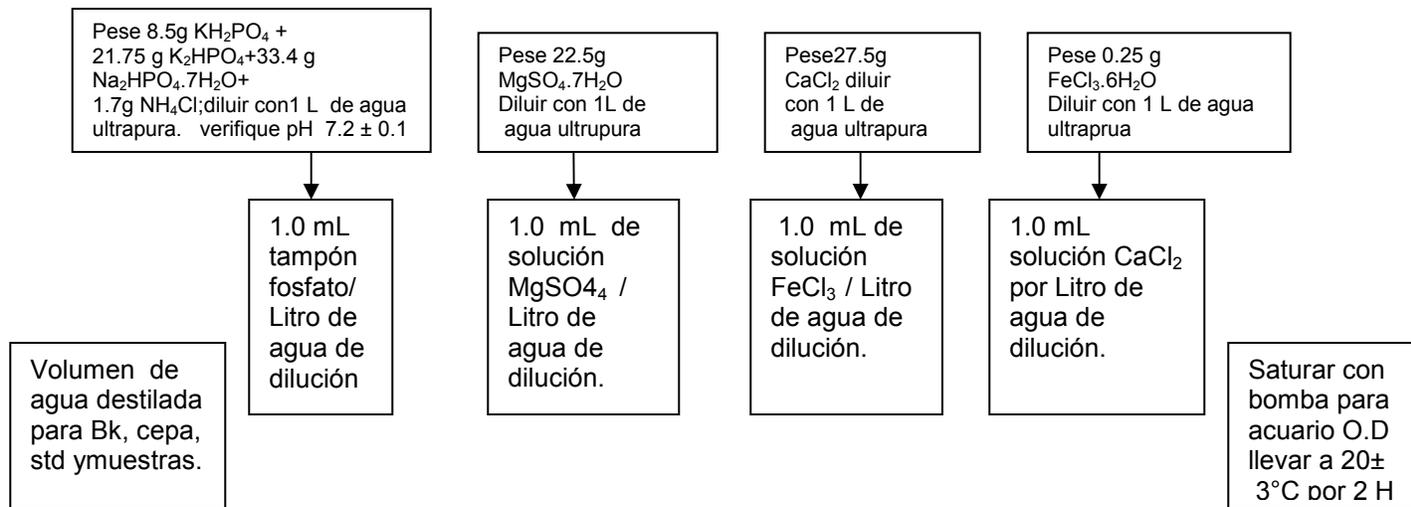


DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA

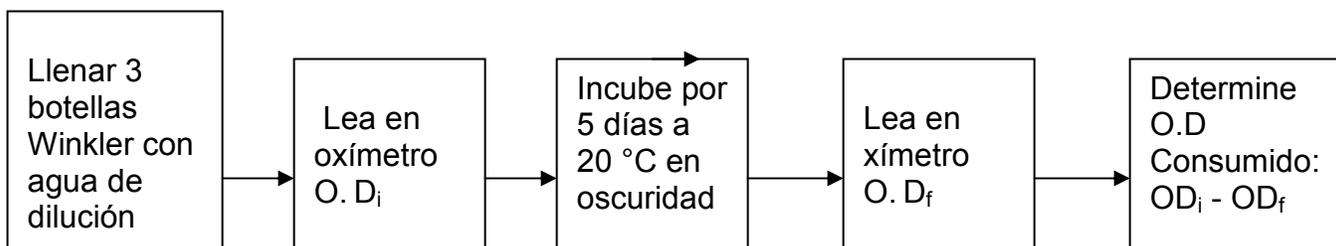
DETERMINACION BIOQUIMICA DE OXIGENO

DIAGRAMA DE FLUJO

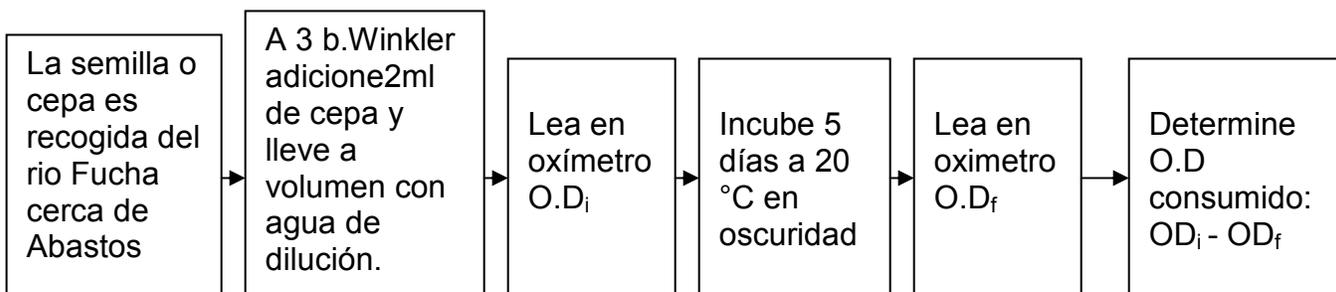
1. PREPARACION DEL AGUA DE DILUCION



2. VERIFICACIÓN DEL AGUA DE DILUCION Y BLANCO



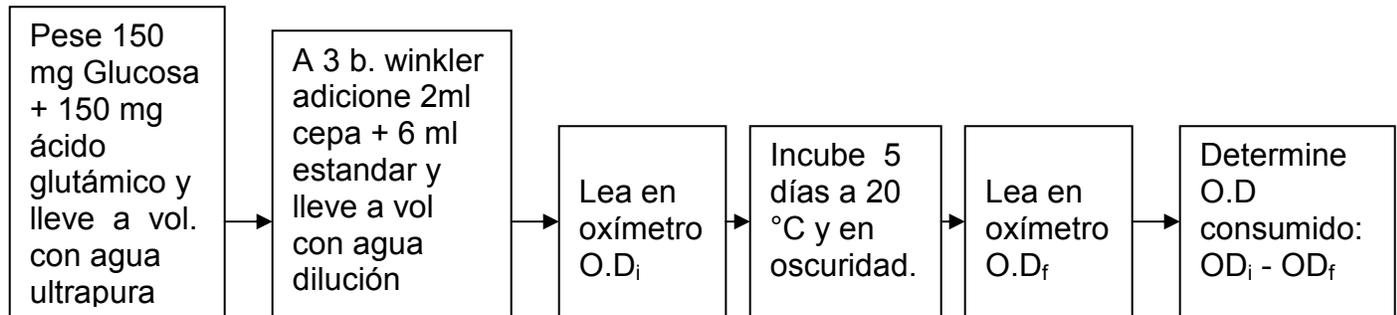
3. PREPARACION DE LA SEMILLA O CEPAS



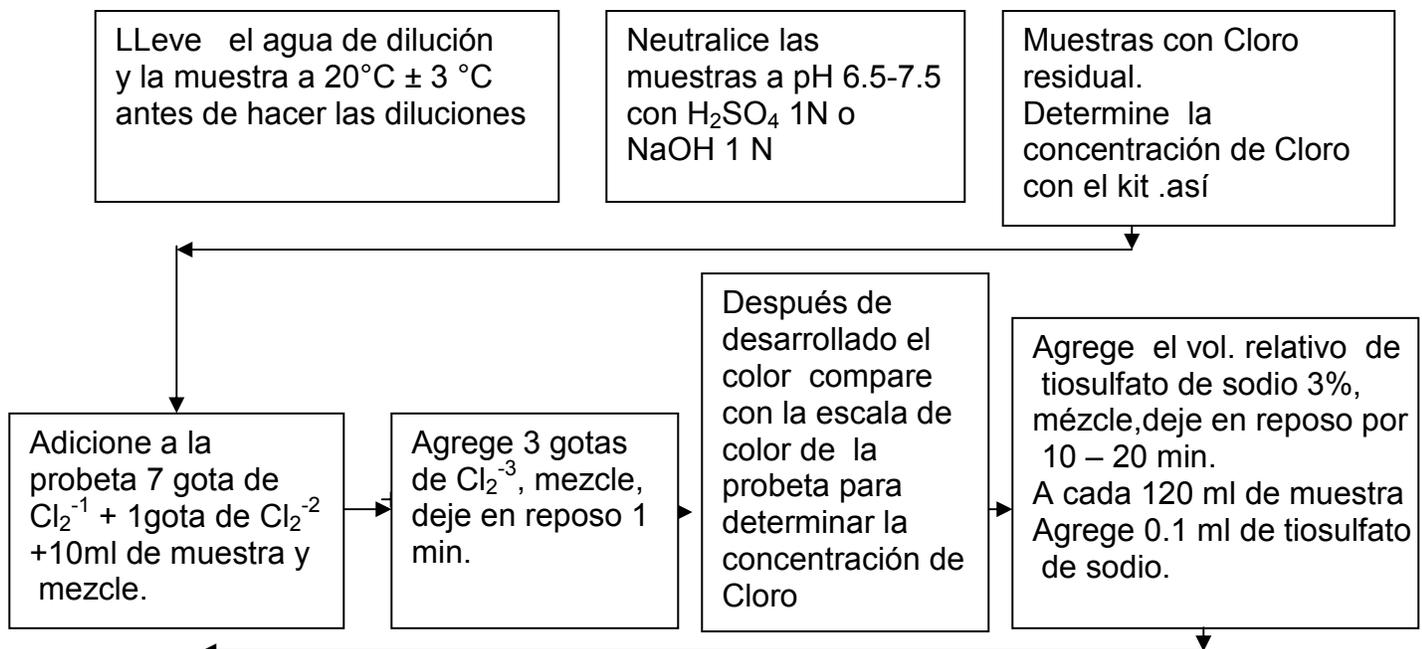


DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO – 5 días. INCUBACIÓN Y ELECTROMETRÍA

4. ESTANDAR DE GLUCOSA Y ACIDO GLUTAMICO 198 ± 22 mg/L



PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA



PROCEDIMIENTO DEL ANALISIS A LA MUESTRA.

