



**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)**

**WATER ANALYSIS - DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
OXYGEN DEMAND IN NATURAL, WASTEWATERS (BOD₅) AND
WASTEWATERS TREATED - TEST METHOD**

0 INTRODUCCIÓN

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

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece el método de análisis para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

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

2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de esta norma se deben consultar las siguientes normas mexicanas vigentes o las que las sustituyan:

NMX-AA-012 SCFI-2001	Análisis de agua - Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
NMX-AA-100-1987	Calidad del agua – Determinación de cloro total – Método iodométrico. Declaratoria de vigencia publicada en el Diairo Oficial de la Federación del 22 de junio de 1987.

3 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 (ver 2 Referencias).

4 DEFINICIONES

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

4.1 Aguas naturales

El agua cruda, subterránea y pluvial.

4.2 Aguas residuales

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos y en general de cualquier otro uso.

4.3 Biota

Es un conjunto de organismos vivos tanto de origen vegetal como animal.

4.4 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.

4.5 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.

4.6 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.

4.7 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅)

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

4.8 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.

4.9 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 la i -ésima medición y $\bar{x}$ es la media aritmética de los n resultados considerados.

4.10 Disolución estándar

Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.

4.11 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.

4.12 Inóculo

Es una suspensión de microorganismos vivos que se han adaptado para reproducirse en un medio específico.

4.13 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.

4.14 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.

4.15 Medición

Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.

4.16 Medio aerobio

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

4.17 Medio anaerobio

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

4.18 Mensurando

Magnitud particular sujeta a medición.

4.19 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 deberá ser proporcional

al caudal de la descarga en el momento de su toma.

4.20 Muestra simple

La que se tome en el punto de descarga, de manera continua, en día normal de operación que refleje cuantitativa y cualitativamente el 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, aforando el caudal descargado en el sitio y en el momento de muestreo.

4.21 Parámetro

Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad física, química y biológica del agua.

4.22 Patrón (de medición)

Medida materializada, aparato de medición o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o varios valores conocidos de una magnitud para transmitirlos por comparación a otros instrumentos de medición.

4.23 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.

4.24 Patrón de trabajo

Patrón que es usado rutinariamente para calibrar o controlar las medidas materializadas, instrumentos de medición o los materiales de referencia.

4.25 Patrón nacional

El patrón autorizado para obtener, fijar o contrastar el valor de otros patrones de la misma magnitud, que sirve de base para la fijación de los valores de todos los patrones de la magnitud dada.

4.26 Patrón primario

Patrón que es designado o reconocido ampliamente como un patrón que tiene las más altas cualidades metrológicas y cuyo valor es aceptado sin referencia a otros patrones de la misma magnitud.

4.27 Patrón secundario

Patrón cuyo valor es establecido por comparación con un patrón primario de la misma magnitud.

4.28 Precisión

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

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

donde:

$\bar{x}$ es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t_{\alpha/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia del 95 %;

s es la desviación estándar de la muestra;

n es el número de réplicas, y

x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

4.29 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.

4.30 Verificación de la calibración

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

5 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, $\mu\text{S/cm}$ a 25°C: 5,0 máx., y
- c) pH: 5,0 a 8,0.

- 5.1 Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4)
- 5.2 Fosfato dibásico de potasio (K_2HPO_4)
- 5.3 Fosfato dibásico de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 5.4 Cloruro de amonio (NH_4Cl)
- 5.5 Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 5.6 Cloruro de calcio anhidro (CaCl_2)
- 5.7 Cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- 5.8 Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- 5.9 Hidróxido de sodio (NaOH)
- 5.10 Sulfito de sodio (Na_2SO_3)
- 5.11 2-cloro-6 (triclorometil) piridina
- 5.12 Glucosa grado patrón primario ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
- 5.13 Ácido glutámico grado patrón primario ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$)
- 5.14 Ácido clorhídrico (HCl)
- 5.15 Ácido nítrico (HNO_3)

- 5.16 Disolución amortiguadora de fosfato. Pesar aproximadamente 8,5 g de fosfato monobásico de potasio (ver inciso 5.1), 21,75 g de fosfato dibásico de potasio (ver inciso 5.2), 33,4 g de fosfato dibásico de sodio heptahidratado (ver inciso 5.3) y 1,7 g de cloruro de amonio (ver inciso 5.4), 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.

- 5.17 Disolución de sulfato de magnesio. Pesar aproximadamente 22,5 g de

sulfato de magnesio heptahidratado (ver inciso 5.5), disolver en agua y diluir a 1 L.

- 5.18 Disolución de cloruro de calcio. Pesar aproximadamente 27,5 g de cloruro de calcio anhidro (ver inciso 5.6), disolver en agua y diluir a 1 L.
- 5.19 Disolución de cloruro férrico. Pesar aproximadamente 0,25 g de cloruro férrico hexahidratado (ver inciso 5.7), disolver en agua y diluir a 1 L.
- 5.20 Disolución de ácido sulfúrico (0,1N). Agregar aproximadamente 2,8 mL de ácido sulfúrico concentrado (ver inciso 5.8) a 500 mL de agua, mezclar bien y diluir hasta 1 L.
- 5.21 Disolución de hidróxido de sodio (0,1N). Pesar aproximadamente 4,0 g de hidróxido de sodio (ver inciso 5.9), disolver en agua y diluir a 1 L.
- 5.22 Disolución de sulfito de sodio. Pesar aproximadamente 1,575 g de sulfito de sodio (ver inciso 5.10), disolver en agua y diluir a 1 L. Esta disolución no es estable; por lo que debe prepararse diariamente.
- 5.23 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 5.12) y 150,0 mg de ácido glutámico (ver inciso 5.13), diluir en agua y aforar a 1 L. Preparar inmediatamente antes de usarla. Esta disolución tiene una DBO₅ de 198 mg/L.
- 5.24 Disolución de cloruro de amonio. Pesar aproximadamente 1,15 g de cloruro de amonio (ver inciso 5.4) y disolver en 500 mL de agua, ajustar el pH a 7,2 con disolución de hidróxido de sodio (ver inciso 5.21) y aforar a 1 L. La disolución contiene 0,3 mg N/mL.

6 EQUIPO Y MATERIALES

- 6.1 Equipo
 - 6.1.1 Equipo de aireación con difusor
 - 6.1.2 Incubador: Controlado por termostato a 20°C ± 1°C. Eliminar toda la luz para evitar la posibilidad de producción fotosintética de oxígeno disuelto.
 - 6.1.3 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg
 - 6.1.4 Medidor de oxígeno disuelto

6.2 Material

Limpieza del material.

- 6.2.1 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.
- 6.2.2 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.
- 6.2.3 Para el material de cuarzo, politetrafluoroetileno o material de vidrio debe dejarse remojando de 12 h a 24 h con HNO_3 (1:1), HCl (1:1) o con agua regia (3 partes de HCl concentrado + 1 parte de HNO_3 concentrado) a 70°C solo en los casos que presente material adherido, después debe ser enjuagado con agua libre de metales.
- 6.2.4 En los casos de que el material presente grasas, enjuagar con acetona y/o hexano.
- 6.2.5 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.
- 6.2.6 Contratapa de politetrafluoroetileno u otro material plástico para botella Winkler
- 6.2.7 Bureta

7 RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- 7.1 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_5 mayores a 50 mg/L) deben tomarse mínimo 100 mL. Pueden utilizarse muestras simples o compuestas.
- 7.2 No se debe agregar ningún preservador a las muestras. Solo deben conservarse a 4°C hasta su análisis.
- 7.3 El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 24 h.

8 CONTROL DE CALIDAD

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

8.2 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.

9 CALIBRACIÓN

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

9.1 Material volumétrico

9.2 Balanza analítica

9.3 Medidor de oxígeno disuelto

10 PROCEDIMIENTO

10.1 Preparación de agua para 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 (ver inciso 5.17), disolución de cloruro de calcio (ver inciso 5.18), disolución de cloruro férrico (ver inciso 5.19) y disolución amortiguadora de fosfatos (ver inciso 5.16). Preparar el agua de dilución diariamente.

Analizar y almacenar el agua de dilución como se describe en los incisos 10.2 y 10.3, 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.

Si la muestra presenta alto contenido de biocidas como cloro o se sabe de su bajo contenido de materia orgánica, es necesario inocular la muestra.

Si se requiere, sembrar el agua de dilución como se indica en el inciso 10.4.1.

10.2 Control del agua de dilución

10.2.1 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_5 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.

10.3 Control de la glucosa-ácido glutámico

Comprobar en cada lote analítico la calidad del agua de dilución, la efectividad del inóculo y la técnica analítica mediante determinaciones de la DBO_5 en muestras estándar de concentración conocida. Utilizar la disolución de glucosa-ácido glutámico (ver inciso 5.23) como disolución madre de control. La glucosa tiene una tasa excepcionalmente alta y variable de oxidación, pero cuando se utiliza con ácido glutámico, dicha tasa se estabiliza y es similar a la obtenida en muchas aguas residuales municipales. Alternativamente, si un agua residual particular contiene un componente principal identificable que contribuya a la DBO_5 , utilizar este compuesto en lugar de la glucosa-ácido glutámico. Determinar la DBO_5 de una disolución al 2 % de la disolución de control patrón de glucosa-ácido glutámico utilizando las técnicas expuestas en los incisos 10.4 a 10.10.

10.4 Inóculo

10.4.1 Fuente de la siembra

10.4.1.1 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 (por ejemplo, algunos residuos industriales no tratados, residuos desinfectados, residuos de alta temperatura o con valores de pH extremos).

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 1 h, 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.

10.5 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 (ver inciso 10.8). 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 1,0 mg/L.

10.6 Pretratamiento de la muestra

10.6.1 Muestras con pH ácidos o básicos

10.6.1.1 Neutralizar las muestras a un pH entre 6,5 y 7,5 con ácido sulfúrico o hidróxido de sodio de concentración tal que 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.

10.6.2 Muestras que contienen cloro residual

10.6.2.1 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 de cloro, sembrar el agua de dilución. Si hay cloro residual, eliminar el cloro de la muestra y sembrar con inóculo (ver inciso 10.4). 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 razonablemente corto, eliminar el cloro residual añadiendo disolución de sulfito de sodio.

Determinar el volumen requerido de disolución de sulfito de sodio cuantificando el cloro residual total. Añadir a la muestra neutralizada el volumen relativo de la disolución de sulfito de sodio determinada por la prueba anterior, mezclar y después de 10 min a 20 min, comprobar el cloro residual de la muestra.

10.6.2.2 La determinación de cloro residual se realiza de acuerdo a lo establecido en la norma mexicana NMX-AA-100 (ver 2 Referencias).

10.6.3 Muestras sobresaturadas con OD

10.6.3.1 En aguas frías o en aguas donde se produce la fotosíntesis (aguas 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.

10.6.4 Ajustar la temperatura de la muestra a 20°C $\pm$ 1°C antes de hacer diluciones.

10.6.5 Inhibición de la nitrificación

10.6.5.1 Si se requiere inhibir la nitrificación adicionar 3,0 mg de 2-cloro-6 (triclorometil) piridina (ver inciso 5.11) 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.

- 10.6.5.2 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.

10.7 Técnica de dilución

- 10.7.1 Las diluciones que dan lugar a un OD residual mayor de 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 DBO₅ 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.

- 10.7.2 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.

10.8 Determinación del OD inicial

10.8.1 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 (ver 2 Referencias).

10.8.2 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-SCFI (ver 2 Referencias). Los aceites, grasas o cualquier sustancia que se adhiera a la membrana puede ser causa de baja respuesta en el electrodo.

10.9 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 como se especifica en los incisos 10.7 y 10.10. El consumo de OD no debe ser mayor de 0,2 mg/L y preferentemente no menor a 0,1 mg/L.

10.10 Incubación

Incubar a $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ las botellas de 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.

10.11 Determinación del OD final

Después de 5 días de incubación 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 absorción de oxígeno del aire por la muestra.

11 CÁLCULOS

11.1 Calcular la DBO_5

11.1.1 Cuando no se utilice inóculo ni diluciones:

$$\text{DBO}_5 \text{ (mg/L)} = \text{ODi mg/L} - \text{OD}_5 \text{ mg/L}$$

donde:

ODi mg/L es el oxígeno disuelto inicial, y
OD₅ mg/L es el oxígeno disuelto al quinto día.

11.1.2 Cuando se emplea una dilución:

$$\text{DBO}_5 \text{ (mg/L)} = \frac{\text{ODi mg/L} - \text{OD}_5 \text{ mg/L}}{\text{Dilución}}$$

% de dilución expresado en decimales

11.2 Cuando se utiliza inóculo

11.2.1 Sin dilución:

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

11.2.2 Con dilución:

$$DBO_5 \text{ (m/L)} = \left[(OD_i \text{ mg/L} - OD_5 \text{ mg/L}) - \frac{C_1 (B_1 - B_2) (V_t)}{C_2 (V_m)} \right] \quad \bigg| \quad P$$

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.

11.3 Expresar los resultados como CDBO₅ si se inhibe la nitrificación.

11.4 Reportar los resultados en mg/L de DBO₅ con dos cifras significativas con la precisión (media, desviación estándar) correspondiente.

12 INTERFERENCIAS

12.1 El pH ácido o alcalino

12.2 Cloro residual

12.3 Nitritos: Es la interferencia más común en las muestras de DBO₅ incubadas. Para eliminarla ver inciso 10.6.5.

- 12.4 Sustancias inorgánicas y orgánicas reductoras.

13 SEGURIDAD

- 13.1 No ha sido determinada la carcinogenicidad de todos los reactivos, por lo que cada sustancia química debe tratarse como peligro potencial a la salud. La exposición a estas sustancias debe reducirse al menor nivel posible. Se sugiere que el laboratorio realice inspecciones de higiene ocupacional de cada reactivo a los que pueda estar expuesto el analista y que dichos resultados estén a su disposición.
- 13.2 Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en éste método. Debe tenerse un archivo de referencia de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.
- 13.3 Cuando se trabaje con cualquiera de los compuestos químicos descritos en este método, debe usar todo el tiempo equipo de seguridad, tal como: batas, guantes de látex y lentes de seguridad.
- 13.4 La preparación de todos los reactivos usados en este método debe efectuarse bajo una campana de extracción. Consulte las hojas de seguridad sobre manipulación y disposición de éstos.
- 13.5 El ácido sulfúrico es un compuesto químico debe manejarse con extremo cuidado. El adicionar ácido sulfúrico concentrado al agua produce una fuerte reacción exotérmica por lo cual esto debe realizarse muy lentamente con agitación y enfriamiento externo.

14 MANEJO DE RESIDUOS

Es responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

- 14.1 Cada laboratorio debe contemplar dentro de su programa de control de calidad el destino final de los residuos generados durante la determinación.
- 14.2 Los desechos ácidos se deben neutralizar para su posterior desecho.
- 14.3 Todas las muestras que cumplan con la norma de descarga al alcantarillado pueden ser descargadas en el mismo.

15 BIBLIOGRAFÍA

- NOM-001-ECOL-1996 Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997.
- NOM-008-SCFI-1993 Sistema General de Unidades de Medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de octubre de 1993.
- NMX-AA-003-1980 Aguas residuales - Muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de marzo de 1980.
- NMX-AA-014-1980 Cuerpos receptores - Muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de septiembre de 1980.
- NMX-AA-089/1-1986 Protección al ambiente - Calidad del agua - Vocabulario - Parte 1. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 15 de julio de 1986.
- NMX-AA-089/2-1992 Protección al ambiente - Calidad del agua - Vocabulario. Parte 2. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 24 de marzo de 1992.
- NMX-AA-108-1992 Calidad del agua - Determinación de cloro libre y cloro total - Método volumétrico de la DPD ferrosa. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario

Oficial de la Federación el 24 de marzo de 1992.

- PROY-NMX-AA-115-SCFI-2001 Análisis de agua - Criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos. Aviso de consulta pública publicado en el Diario Oficial de la Federación el 2 de noviembre de 1999.
- PROY-NMX-AA-116-SCFI-2001 Análisis de agua - Guía de solicitud para la presentación de métodos alternos. Aviso de consulta pública publicado en el Diario Oficial de la Federación el 2 de noviembre de 1999.
- AWWA Método-5210 B "Biochemical Oxygen Demand (BOD)", Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), 19a Ed.
- Criterios Ecológicos de Calidad del Agua, publicados en el Diario Oficial de la Federación el 13 de diciembre de 1989.
- Sawyer, C.N. y P.L. McCarty, "Chemistry for Environmental Engineering", McGraw-Hill Tokio, 1978.

16 **CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**

Esta norma mexicana no es equivalente a ninguna norma internacional por no existir referencia alguna al momento de su elaboración.

**MÉXICO D.F., A
EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS.**



NMX-AA-028-SCFI-2001
20/20

MIGUEL AGUILAR ROMO

JADS/AFO/DLR/MRG.

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)**

**WATER ANALISYS - DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL
OXYGEN DEMAND IN NATURAL, WASTEWATERS (BOD₅) AND
WASTEWATERS TREATED - TEST METHOD**



P R E F A C I O

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

- CASA ROCAS, S.A. DE C.V.
- CENTRO DE SERVICIOS QUÍMICOS DE AGUASCALIENTES
- CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA
- COMISIÓN ESTATAL DE AGUA Y SANEAMIENTO
- COMISIÓN FEDERAL DE ELECTRICIDAD
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE
- CORPORACIÓN MEXICANA DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES
- FISHER SCIENTIFIC MEXICANA, S.A. DE C.V.
- GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL
Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica;
Dirección General de Normatividad y Apoyo Técnico.
- INSTITUTO MEXICANO DEL PETRÓLEO
- INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA



- INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES
Campus Monterrey.
- LABORATORIO DE ECOLOGÍA INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO DE PEMEX PERFORACIÓN Y MANTENIMIENTO DE
POZOS
- LABORATORIO DE QUÍMICA DEL MEDIO E INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO IDECA, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO QUÍMICO INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIOS ABC QUÍMICA, INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS, S.A. DE
C.V.
- MERCK- MÉXICO, S.A. DE C.V.
- NOVAMANN, S.A. DE C.V.
Laboratorio Control Químico.
- PERKIN ELMER DE MÉXICO, S.A. DE C.V.
- PETROQUÍMICA CANGREJERA, S.A. DE C.V.
- PETROQUÍMICA MORELOS, S.A. DE C.V.
- PETROQUÍMICA PAJARITOS, S.A. DE C.V.
- PROTECCIÓN AMBIENTAL Y ECOLOGÍA, S.A. DE C.V.



- SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES
Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- SECRETARÍA DE SALUD
- SERVICIOS AMBIENTALES MULTIPLES E INGENIERÍA, S.A. DE C.V.
- SERVICIOS DE INGENIERÍA Y CONSULTORÍA AMBIENTAL, S.A. DE C.V.
- SISTEMA INTERMUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Azcapotzalco.
- UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Química;
Instituto de Geofísica;
Instituto de Ingeniería.
- VARIAN, S.A. DE C.V.



Número del capítulo		Página
0	Introducción	1
1	Objetivo y campo de aplicación	1
2	Referencias	2
3	Principio del método	2
4	Definiciones	2
5	Reactivos y patrones	7
6	Equipo y materiales	9
7	Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	10
8	Control de calidad	10
9	Calibración	11
10	Procedimiento	11
11	Cálculos	16
12	Interferencias	17
13	Seguridad	17
14	Manejo de residuos	18
15	Bibliografía	19
16	Concordancia con normas internacionales	20