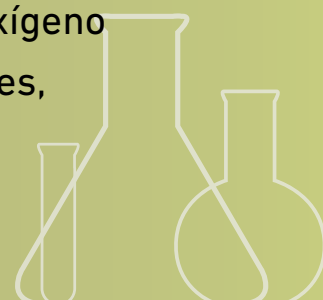


2008UY

Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno en efluentes líquidos domésticos e industriales, aguas contaminadas y naturales.



Método electrométrico

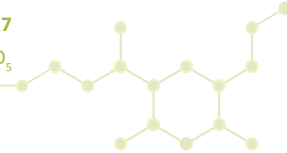
Elaborado - F. Lauber

Modificado - G. Pistone

Revisado - G. Pistone, Jefe Sección Microbiología y Ecotoxicidad

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental





1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de demanda bioquímica de oxígeno en efluentes líquidos domésticos e industriales, aguas contaminadas y naturales en el rango entre 1,3 mg O₂/L y 6.000 mg O₂/L. El límite de detección es de 0,42 mg O₂/L.

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad– Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad– Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.5. Ruta de análisis (RFQ 06)
- 2.6. Registro de Preparación de Reactivos y Estándares (RPR 02)
- 2.7. Registro de Preparación de Soluciones Control (RPS 09)
- 2.8. Registro de control de equipo (RCE 57 / 112)
- 2.9. Registro de patrones calibrados y equipos controlados (RGC 32)
- 2.10. Instructivo de equipos desionizador Thermo Scientific (INE 82)
- 2.11. Instructivo de uso analizador de iones Orion (INE 08)
- 2.12. Instructivo de uso analizador de iones WTW (INE 63)
- 2.13. Instructivo de uso desionizador Mili Q (INE 28)
- 2.14. Instructivo de uso balanza plato abierto (INE 16A)
- 2.15. Instructivo de uso balanza analítica (INE 94)

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) corresponde a la cantidad de oxígeno consumido para la degradación bioquímica de la materia orgánica contenida en la muestra (demanda carbonosa), durante un intervalo de tiempo específico y a una temperatura determinada. La muestra o diluciones adecuadas de la misma en un frasco sin cámara de aire, se incuban a 20 °C ± 1 °C durante 5 días. El Oxígeno Disuelto (OD) se mide antes y después de los 5 días de incubación y la DBO₅ se determina por la diferencia entre el OD inicial y final.
- 3.2. Además de la degradación de materia orgánica (demanda carbonosa), el ensayo mide también la cantidad de oxígeno utilizado para oxidar material inorgánico como sulfuros e ión ferroso, y formas reducidas de nitrógeno como amonio y nitrógeno orgánico (demanda nitrogenada), a menos que se emplee un inhibidor de nitrificación para prevenir su oxidación.

Por lo tanto, si no se emplea un inhibidor, la demanda de oxígeno medida es la suma de las demandas de carbono y de nitrógeno.

Factores como la presencia de materia orgánica soluble y particulada, sólidos flotables y sedimentables, oxidación de sulfuros e ión ferroso, o falta de agitación, afectan la precisión y exactitud de la medida de DBO. Actualmente no existe manera de corregir los efectos de dichos factores.

4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Utilizar guantes, lentes de seguridad y túnica para el tratamiento de las muestras y el uso del inóculo bacteriano.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Muestras que contienen cloro residual, metales tóxicos o compuestos orgánicos tóxicos no permiten el desarrollo de bacterias que degradan la materia orgánica.
- 5.2. Alto contenido de peróxido de hidrógeno (que pueden encontrarse en efluentes con procesos industriales de blanqueo; papeleras y plantas textiles), puede causar niveles de oxígeno iniciales supersaturados, e interferir con el valor obtenido de DBO.
- 5.3. Muestras de agua provenientes de lugares fríos o con alta producción de fotosíntesis pueden causar niveles de oxígeno iniciales supersaturados, e interferir con el valor obtenido de DBO.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico (polietileno o similar). Tomar la muestra y llenar el frasco evitando airear. Llenar el recipiente hasta el borde superior sin cámara de aire. El volumen de muestra típica es de 500 mL.
- 6.2. Realizar el análisis inmediatamente, si no es posible refrigerar la muestra a $\leq 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$) y comenzar el análisis antes de las 24 horas de recolección.

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

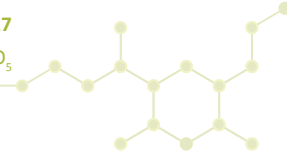
- 7.1. Incubadora controlada termostáticamente a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Excluir toda luz para prevenir la posibilidad de producción de oxígeno por fotosíntesis.
- 7.2. Botellas de incubación de 300 mL de capacidad, preferentemente con sello de agua y tapón de plástico
- 7.3. Electrodo de membrana selectiva al oxígeno, con compensación automática de temperatura y barra agitadora incorporada (WTW Inolab o similar). (Pilas V357 de preferencia o similar, de forma que aseguren buena diferencia de potencial)
- 7.4. Analizador de iones (WTW Inolab o similar)
- 7.5. Agitador magnético
- 7.6. Pipetas automáticas de volumen variable (rango de 1 mL a 10 mL y 200 μL a 1000 μL).
- 7.7. Balanza de resolución 0,01 g
- 7.8. Balanza de resolución 0,0001 g
- 7.9. Matraces
- 7.10. Probetas graduadas de 100 mL
- 7.11. Recipiente para el agua de dilución (Nalgene de 20 L de capacidad o similar)
- 7.12. Canastas para transporte de botellas de incubación.
- 7.13. Vasos de Bohemia

8. REACTIVOS

- 8.1. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente) para la preparación de las soluciones. Debe cumplir de los controles de calidad del método, establecidos en el punto 13.
- 8.2. **Soluciones para ajuste de pH:** soluciones ácida (H_2SO_4 Nro. CAS 7664 -93-9) y alcalina (NaOH Nro. CAS 1310-73-2) de concentración 1 N para neutralización de muestras cáusticas o ácidas.
 - a) Solución ácida: diluir 28 mL de ácido sulfúrico H_2SO_4 (cc) lentamente con agua desionizada a 1 L, enfriando en baño de agua.
 - b) Solución alcalina: disolver 40 g de hidróxido de sodio (NaOH) en agua desionizada y diluir a 1 L.

Nota 1: La cantidad de reactivo adicionado para la neutralización, no debe superar el 0,5 % del volumen a neutralizar. Si no se logra esto con las soluciones anteriores, realizarlos con otras más concentradas.

- 8.3. **Soluciones de nutrientes:** almacenar refrigerada a $\leq 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($> 0^{\circ}\text{C}$) hasta un máximo de 6 meses. Descartar en caso de apreciable crecimiento biológico o precipitación. Dejar registro de su pre-paración. Las soluciones de nutrientes pueden ser esterilizadas en autoclave para proveer una mayor duración de las mismas (pág. 5 - 5, APHA, 22 ed.)
 - a) Solución buffer fosfato: disolver 4,25 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4 Nro. CAS 7778-77-0), 10,875 g de fosfato de potasio dibásico (K_2HPO_4 Nro. CAS 7758-11-4), 16,7 g de fosfato de sodio dibásico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Nro. CAS 7782-85-6) y 0,85 g de cloruro de amonio (NH_4Cl Nro. CAS 12125-02-9) en 250 mL de agua desionizada y diluir a 500 mL. El pH debe ser 7,2 sin ajustar. De lo contrario pesar 21,25 g de KH_2PO_4 y 0,85 g de NH_4Cl y agregar 350 mL de agua desionizada. Ajustar pH a 7,2 con NaOH. Completar a 500 mL con agua desionizada.
 - b) Solución de sulfato de magnesio: disolver 11,25 g de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Nro. CAS 10034-99-8) en agua desionizada y diluir a 500 mL.
 - c) Solución de cloruro de calcio: disolver 13,75 g de cloruro de calcio (CaCl_2 Nro. CAS 10043-52-4) en agua desionizada y diluir a 500 mL.



c) Solución de cloruro férrico: disolver 0,125 g de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Nro. CAS 10025-77-1) y diluir a 500 mL con agua desionizada.

8.4. Inóculo

Para efluentes industriales se puede usar como inóculo una de las siguientes opciones:

- Muestra de un efluente no clorado proveniente del mismo ramo de industria (500 μL de efluente por botella de incubación).
- Inóculo bacteriano comercial (Polyseed® o similar): Suspender el contenido de una cápsula en 500 mL de agua de dilución durante 1 hora con agitación constante. Dejar decantar el sobrenadante (aserrín que actúa como carrier para los microorganismos), y transvasar la solución a un matraz adecuado. La toma para inocular las botellas de DBO debe realizarse manteniendo agitación continua. De preferencia utilizar en el mismo día de preparada, luego descartar. En todos los casos, mantener refrigerada a $\leq 6\text{ }^\circ\text{C}$ ($> 0\text{ }^\circ\text{C}$) y no utilizar más allá de las 24 h de preparada.

8.5. Reactivos para muestras cloradas

- Solución de sulfito de sodio 0,025 N: disolver 0,1575 g de sulfito de sodio (Na_2SO_3 Nro. CAS 7757-83-7) en 100 mL de agua destilada. Esta solución no es estable. Prepararla en forma diaria.
- Solución de yoduro de potasio (KI Nro. CAS 7681-11-0): disolver 10,00 g de KI en 100 mL de agua desionizada.
- Solución indicadora de almidón: 5 g de almidón [$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ Nro. CAS 9005-25-8] en 1 L de agua desionizada. Prepararla en forma diaria.
- Solución de ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ Nro. CAS 64-19-7 1+1, o de ácido sulfúrico (H_2SO_4 Nro. CAS 7664-93-9) 1+50.

8.6. **Solución control de ácido glutámico - glucosa:** Preparar la solución de control conteniendo: 150,0 mg de glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ Nro. CAS 50-99-7) + 150,0 mg de ácido glutámico ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ Nro. CAS 56-86-0), en 1000 mL de agua desionizada. Previo a la pesada, secar la glucosa y el ácido glutámico de grado reactivo a $103\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora. Dejar registro. De preferencia prepararla en forma diaria. Puede almacenarse refrigerada a $\leq 6\text{ }^\circ\text{C}$ ($> 0\text{ }^\circ\text{C}$) por un máximo de 24 horas.

Nota 1: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.

9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

9.1. No aplica.

10. CALIBRACIÓN DEL METODO

10.1. No aplica.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Operaciones previas

11.1. Preparación del agua de dilución (prepararla el mismo día de su uso):

En el recipiente de agua de dilución, tomar el volumen necesario de agua desionizada dejando como mínimo una cámara de aire que corresponda al 20 % del volumen total del recipiente, para permitir una adecuada agitación. Agregar 1 mL por litro de agua de las siguientes soluciones de nutrientes: buffer fosfato, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, y cloruro férrico. Agitar vigorosamente el recipiente para permitir la oxigenación del agua de dilución. Termostatar a $20\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ el agua de dilución previo a su uso. El contenido de oxígeno debe ser de al menos 7,5 mg O_2/L , y es recomendable que se sitúe entre 8,0 y 9,0 mg O_2/L .

11.2. Ajuste de pH de la muestra (si corresponde):

Si el pH de la muestra se encuentra fuera del rango de pH 6,0 – 8,0, neutralizar la fracción de la muestra a incubar empleando H_2SO_4 o NaOH de forma que su pH final se encuentre entre 7,0 -7,2. Debe quedar registro que se realizó corrección de pH. La cantidad de reactivo no debe diluir la muestra en más de 0,5 %.

11.3. Neutralización del cloro residual (si corresponde):

Para muestras cloradas se debe neutralizar el cloro previamente a la inoculación de la muestra. El registro de la existencia original de cloro en la muestra se encuentra establecido en el registro de ingreso correspondiente a la misma, la cual es consultada previo a la realización del análisis. Las muestras que contienen cloro residual se deben dejar por una o dos horas a la luz para disiparlo. En las que persiste, proceder como sigue:

- a) Tomar 100 mL de la muestra a analizar en un Erlenmeyer de 250 mL.
- b) Adicionar 1,0 mL de ácido acético 1 + 1, o 1,0 mL de ácido sulfúrico 1 + 50.
- c) Adicionar 1,0 mL de solución de KI.
- d) Titular con solución de Na₂SO₃ hasta que casi desaparezca el color amarillo de la solución.
Añadir a continuación 1 mL de solución de almidón (5 g de almidón por litro de agua) y continuar la titulación hasta su punto final, indicado por la desaparición del color azul.
- e) Registrar el gasto total de solución de Na₂SO₃.
- f) Al poner la porción de la muestra a analizar en la botella de DBO, adicionar a la misma la cantidad de Na₂SO₃ necesaria para neutralizar el cloro residual, de acuerdo a la valoración arriba descrita. Para lograr esto, prepararla en un matraz y luego repartir en las botellas de DBO. El volumen a adicionar de solución de Na₂SO₃ se calcula de la siguiente manera:

$$V_{\text{Na}_2\text{SO}_3} = (G_{\text{Na}_2\text{SO}_3} \times V_{\text{muestra}}) / 100$$

Se mezcla y se deja en reposo 20 min. Chequear la presencia de cloro residual.

Nota 2: el agregado de exceso de solución de Na₂SO₃ produce consumo de oxígeno, por lo tanto debe ser agregado solamente en la cantidad necesaria.

11.4. Remoción de peróxido de hidrógeno (si corresponde):

Agitar las muestras vigorosamente en un recipiente abierto durante aprox. 1-2 horas para permitir la disipación del peróxido de hidrógeno. Chequear la remoción del mismo observando la concentración de oxígeno disuelto en el tiempo, o usando tiras reactivas específicas para peróxido. Se considera completa la reacción de remoción cuando durante un intervalo de 30 minutos en reposo, no se observa incremento del oxígeno en la muestra. Si a pesar del tratamiento, el peróxido persiste, trabajar con muestra diluida.

11.5. Muestras supersaturadas en OD (si corresponde):

En muestras con niveles de oxígeno disuelto por encima del punto de saturación a 20 °C y 760 mmHg de presión, 9,2 mg O₂/L (aguas muy frías o con alta producción de fotosíntesis), reducir el oxígeno dejándola en recipiente abierto, completo hasta la mitad, y agitando vigorosamente de vez en cuando, antes de su análisis.

Análisis de la muestra

Muestras que no contienen cantidad suficiente de población microbiana (por ejemplo efluentes industriales):

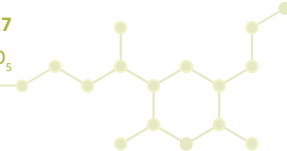
11.6. Estimación de las diluciones:

Realizar al menos 4 diluciones de la muestra. La estimación de la DBO₅ puede realizarse en base a alguna de las siguientes maneras:

- a) Valor de DQO de la muestra. Tomando en cuenta el promedio de las relaciones históricas DQO/DBO₅ y el valor de DQO actual, estimar el valor de DBO₅ de la muestra. Con dicho valor, en la Tabla "DBO estimada/Toma" (ver punto 13. Anexo), realizar las diluciones con aquellos volúmenes correspondientes al valor inmediatamente anterior y posterior al valor estimado, y el tercer o cuarto volumen anterior y posterior a la DBO estimada en un principio. Para casos de DBO estimada menor a 15 mg O₂/L, se aconseja tomar los siguientes volúmenes: 50, 100, 150, y 200 mL.
- b) Si no se cuenta con un valor estimado de DBO₅, realizar diluciones en los siguientes rangos:
 - 0,01 - 1 % para desechos industriales cargados.
 - 1 a 5 % para efluentes industriales no tratados.
 - 5 - 25 % para efluentes tratados biológicamente.
 - 25 - 100 % para aguas naturales contaminadas.

11.7. Preparación de las diluciones e incubación:

Termostatar la muestra a 20 °C ± 3 °C. Realizar al menos 4 diluciones por muestra. Homogeneizarla y realizar la toma para las diluciones vertiendo directamente por las paredes internas de las botellas de DBO, empleando pipeta automática de volumen variable. Para los casos que se requiera realizar una dilución intermedia (10:100) por peso antes de realizar la dilución final en la botella. Dejar registro en la ruta de análisis.



Completar 2/3 de la botella de DBO con agua de dilución evitando airear.

Agregar a cada botella de incubación 3 mL de solución de inóculo (según instrucciones del fabricante), agitando continuamente para asegurar que la misma cantidad de microorganismos se agregue a cada botella.

Completar las botellas con el agua de dilución evitando airear, golpear las botellas suavemente de forma que al cerrarlas se hayan desplazado todas las burbujas de aire.

Medir el oxígeno disuelto inicial dentro de los 30 minutos de realizada la dilución.

Dejar sello de agua al tapar la botella, y colocar tapón de plástico para evitar evaporación del agua durante la incubación.

Incubar las botellas de DBO a 20 °C ± 1 °C, durante 5 días ± 6 horas.

Luego de finalizado el período de incubación medir el oxígeno disuelto final de todas las botellas incubadas. Seguir las instrucciones de uso del electrodo que figuran junto al equipo.

11.8. Control de calidad. Junto con las diluciones de las muestras incubar los siguientes controles:

- una botella con el blanco de dilución: conteniendo solamente agua de dilución.
- cuatro botellas para el control de siembra (o según instrucciones del fabricante del inóculo comercial): agregar a cada botella un volumen adecuado de la solución de inóculo comercial (Polyseed® o similar) preparada según el punto 8.4.b. Completar con agua de dilución. Con estas botellas se calcula el Factor de Control de Siembra (SFC) que se utiliza para calcular la DBO de las muestras.

Nota 3: Se sugiere el empleo de 5, 7, 10 y 12 mL de siembra de forma tal que se produzca una reducción del OD de al menos 2,0 mg O₂/L, y que contengan una cantidad de OD residual de al menos 1,0 mg O₂/L, después de 5 días de incubación. En caso que los volúmenes no cumplan con el requisito anterior, ajustar los mismos.

- tres botellas con solución control: conteniendo 6 mL de la solución control de ácido glutámico - glucosa (GGA), 3 mL de la solución de inóculo, y agua de dilución.

Al igual que el resto de las muestras, leer el oxígeno disuelto inicial previo a la incubación y luego de los 5 días ± 6 horas.

Realizar al menos una muestra por duplicado (para cada dilución), por día de análisis.

Muestras que contienen cantidad suficiente de población microbiana (ej: aguas naturales):

11.9. Procedimiento:

Colocar parte de la muestra en una botella de DBO. Agregar 0,3 mL de las soluciones de nutrientes. Luego completar la botella con la muestra, evitando airear.

Medir el oxígeno disuelto inicial de la muestra en la botella de incubación, con el electrodo de oxígeno, y dejar registro en ruta de análisis.

Dejar sello de agua al tapar la botella, y colocar tapón de goma para evitar evaporación del agua durante la incubación.

Incubar las botellas de DBO a 20 °C ± 1 °C, durante 5 días ± 6 horas.

Realizar las lecturas del oxígeno disuelto al cabo de ese tiempo.

11.10. Control de calidad. Para el caso de aguas naturales debe ser incubado un duplicado por cada día de análisis.

Realizar control de blanco, al igual que 11.8. No requiere controles de siembra, ni solución control (GGA).

12. ANÁLISIS DE DATOS

Solamente se consideran como válidas aquellas botellas en las cuales se produjo una reducción del OD de al menos 2,0 mg O₂/L, y que contengan una cantidad de OD residual de al menos 1,0 mg O₂/L, después de 5 días de incubación.

2,0 mg O₂/L es la mínima cantidad que se requiere para producir una medida válida de OD, y se necesita al menos 1,0 mg O₂/L remanente para asegurar que la tasa de oxidación de la materia orgánica no se vea afectada por falta de oxígeno.

12.1. Para muestras de efluentes industriales (punto 11.6):

$$DBO_5 \text{ (mg O}_2\text{/L)} = [(OD_{\text{inicial}} - OD_{\text{final}}) - \text{prom SCF}] \times (300 / V_m)$$

donde:

OD_{inicial}: Oxígeno disuelto inicial (mg/L) de la muestra diluida

OD_{final}: Oxígeno disuelto final (mg/L), al cabo de 5 días de incubación de la muestra diluida

Volumen total botellas: 300mL

V_m: volumen de la muestra en la dilución

Prom SCF: Factor de Control de Siembra promedio. Ver punto 13.2

Se promedia el valor de DBO₅ de todas las botellas que cumplen con el criterio de validez indicado arriba. Se deben tener como válidos al menos 2 valores de forma tal de poder realizar el promedio y el cálculo del rango normalizado. En caso contrario, repetir el análisis informando el valor obtenido en forma estimada.

Si todas las botellas presentan un OD residual menor a 1,0 mg O₂/L, se selecciona la botella con la mayor dilución (la que presenta menor concentración de OD), y se calcula con ésta la DBO₅ estimada (se expresa como DBO > a dicho valor). Repetir el análisis a efectos de poder informar un valor más certero.

12.2. Para muestras de aguas naturales (punto 11.9):

En este caso no se agrega siembra, por lo que:

$$DBO_5, \text{ mg O}_2\text{/L} = (OD_{\text{inicial}} - OD_{\text{final}})$$

donde:

OD_{inicial}: concentración de oxígeno de la muestra antes de la incubación

OD_{final}: concentración de oxígeno de la muestra luego de los 5 días de incubación

Para estas muestras no es necesario tener una depleción de OD de al menos 2,0 mg O₂/L.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

13.1. **Blanco:** El consumo de oxígeno en el blanco de dilución sin siembra al cabo de los 5 días de incubación debe ser menor o igual al LD del método. Este blanco sirve, fundamentalmente, para chequear la calidad del agua de dilución y la limpieza de los materiales utilizados en el procedimiento, como ser las botellas de incubación.

13.2. **Control de siembra:** El Factor de Control de Siembra (SFC) promedio, calculado a partir de las cuatro botellas conteniendo distintas diluciones de la solución de inóculo comercial y agua de dilución, debe tener un coeficiente de variación (C.V.) menor a 30 %. En caso que el fabricante establezca límites de consumo de oxígeno para la siembra, como en el caso de Polyseed, chequear cumplimiento respecto a dichos límites.

El SFC se calcula según la siguiente ecuación:

$$SCF = (B1 - B2) \times F$$

donde:

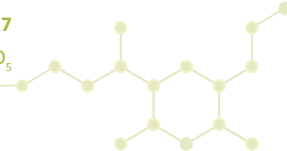
B1: OD del control de siembra antes de la incubación (mg/L)

B2: OD del control de siembra después de la incubación (mg/L)

F: volumen de siembra que se colocan en las botellas conteniendo las muestras (3 mL)/ volumen de siembra colocado en cada botella de control de siembra.

13.3. **Control de la exactitud:** El valor promedio de DBO de las 3 soluciones control incubadas junto a cada serie de muestras, debe dar entre 198 mg O₂/L ± 30,5 mg O₂/L; en caso contrario repetir el batch de análisis e informar valores estimados por control de calidad. En el caso que al repetir el análisis se obtenga un valor de DBO de la muestra dentro del rango de incertidumbre aceptado para la metodología comparado con el primer valor obtenido, informar el valor resultante en primera instancia, sin necesidad de que sea informado como estimado.

- Valores de DBO mayores al rango de aceptación, indican el uso de mayor cantidad de inóculo, agua de dilución contaminada, o la presencia de microorganismos nitrificadores



- Valores de DBO menores al rango de aceptación pueden indicar mala calidad del inóculo o menor cantidad del mismo, o la presencia de tóxicos.

$$DBO_5 \text{ (mg O}_2\text{/L)} = [(OD_{\text{inicial}} - OD_{\text{final}}) - \text{prom SCF}] \times (300 / 6)$$

donde:

OD_{inicial}: corresponde a Oxígeno disuelto inicial (mg/L) de la solución control

OD_{final}: corresponde a Oxígeno disuelto final (mg/L), al cabo de 5 días de incubación de la solución control

Volumen total botellas: 300 mL

Vm: corresponde al volumen de la solución control: 6mL.

Prom SCF: corresponde al Factor de Control de Siembra promedio. Ver punto 13.2

Registrar el valor de DBO obtenido con la solución control, en el gráfico de control de exactitud.

- 13.4. **Control de la precisión:** El rango normalizado de los distintos valores de DBO5 pertenecientes a una misma serie de diluciones de una muestra tomados en cuenta para el cálculo, no debe ser mayor al 30 %. Dejar registro en el gráfico de control de precisión, construido según el manual de Control de Calidad Analítico.

14. BIBLIOGRAFÍA

- 14.1. American Public Health Association (APHA) (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition. APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. Método 5210 B Biochemical oxygen demand (BOD) 5-Day BOD Test pp. 5-5 a 5-10.
- 14.2. Instrucciones de uso del inóculo bacteriano (Polyseed® o similar).

Anexo: Tabla "DBO estimada/Toma"

DBO estimada	Dilución	Toma (mL)
10	-----	120
20	-----	60
30	-----	45
40	-----	30
50	-----	27
60	-----	24
70	-----	21
80	-----	18
90	-----	15
100	-----	12
130	-----	10
150	-----	9
180	-----	8
200	-----	6
250	-----	5,5
275	-----	5
300	-----	4
350	-----	3,5
400	-----	3
500	-----	2,5
600	-----	2
800	10/100	18
900	10/100	15
1000	10/100	12
1100	10/100	11,5
1200	10/100	10,5
1300	10/100	10
1400	10/100	9,5
1500	10/100	9
1800	10/100	8
1900	10/100	7
2000	10/100	6
2500	10/100	5,5
3000	10/100	4
3500	10/100	3,5
4000	10/100	3
5000	10/100	2,5
6000	10/100	2