



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN  
LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL  
PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ**

**José Fernando García Chinchilla**

Asesorado por el Ing. Jorge Mario Estrada Asturias

Guatemala, febrero de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN  
LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL  
PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**JOSÉ FERNANDO GARCÍA CHINCHILLA**

ASESORADO POR EL ING. JORGE MARIO ESTRADA ASTURIAS

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, FEBRERO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
EXAMINADOR	Ing. Jorge Emilio Godínez Lemus
EXAMINADORA	Inga. Hilda Piedad Palma Ramos
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 24 de octubre de 2013.

  
**José Fernando García Chinchilla**



Guatemala, 23 de septiembre de 2014

Ingeniero  
Víctor Manuel Monzón  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Su Despacho

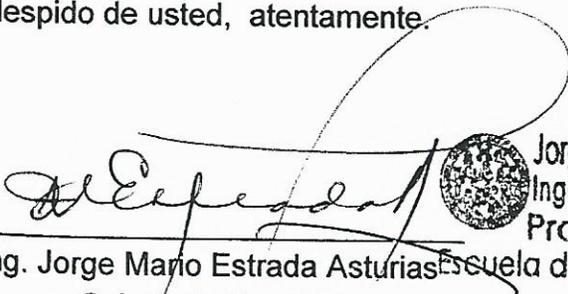
Estimado Ing. Monzón:

De manera atenta me dirijo a usted, deseándole éxitos en sus labores cotidianas.

El motivo de la presente es para hacer de su conocimiento que el estudiante José Fernando García Chinchilla, con carné 201020167 ha desarrollado el trabajo de graduación titulado "APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ". Personalmente le he orientado y corregido en el desarrollo del mismo y por esta razón extiendo la presente; manifestándole que ha aprobado satisfactoriamente el Informe Final del Trabajo de Graduación.

Sin otro particular me despido de usted, atentamente.

F.

  
Ing. Jorge Mario Estrada Asturias  
Colegiado No. 685



Jorge Mario Estrada Asturias  
Ingeniero Químico Col. 685  
Profesor Titular  
Escuela de Ing. Química USAC

Guatemala, 03 de noviembre de 2014  
Ref. EIQ.TG-IF.055.2014

Ingeniero  
**Víctor Manuel Monzón Valdez**  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **0157-2013** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

### INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por el estudiante universitario: **José Fernando García Chinchilla**  
Identificado con número de carné: **2010-20167**.  
Previo a optar al título de **INGENIERO QUÍMICO**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

### APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **Jorge Mario Estrada Asturias**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ing. Pablo Enrique Morales Paniagua  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



AACA





Ref.EIQ.TG.022.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **JOSÉ FERNANDO GARCÍA CHINCHILLA** titulado: **“APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ”**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

*“Id y Enseñad a Todos”*

  
Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química



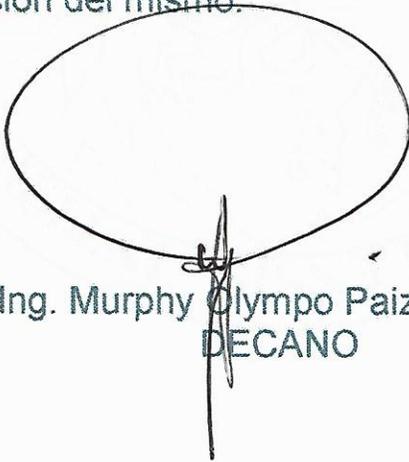
Guatemala, febrero 2015

Cc: Archivo  
VMMV/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **APLICACIÓN DEL MÉTODO WINKLER COMO SUSTITUCIÓN DE LA RESPIROMETRÍA EN LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN EFLUENTES DEL PROCESO DE BENEFICIADO HÚMEDO DE CAFÉ**, presentado por el estudiante universitario: **José Fernando García Chinchilla**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.

  
Ing. Murphy Olympo Paiz  
DECANO



Guatemala, febrero de 2015

/cc

## **ACTO QUE DEDICO A:**

- Dios** Por darme la vida y por estar presente en cada uno de los momentos que me han llevado hasta ahora.
- Mis padres** Amilcar García y Alba de García, por apoyarme a lo largo de toda mi vida y darme la oportunidad de superarme y alcanzar la meta que el día de hoy estoy cumpliendo.
- Mis hermanos** Iván y Héctor García, por darme ánimos para seguir adelante siempre.
- Enma Estrada** Por ser siempre mi apoyo, cuidarme a lo largo de toda mi vida y ser como una segunda madre para mí.
- Mi compañera** Francia Castillo, por ser parte importante en mi vida y estar siempre a mi lado, por darme siempre su apoyo y cariño y por alentarme a nunca bajar la guardia y luchar por lo que uno quiere. Te quiero mucho.
- Mis abuelas** Apolinaria Chavarría y Sara Aguirre, por ser mis guías desde el cielo. Este logro es también para ustedes.

**Mis amigos**

Por hacerme pasar buenos momentos y por formar parte en mi vida.

**Mi familia**

Primos, tíos, sobrinos y demás familiares, por todas sus muestras de afecto y cariño hacia mi persona, así como el apoyo a lo largo de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

**Universidad de San  
Carlos de Guatemala**

Por abrirme las puertas en mi camino de superación personal y profesional y darme la oportunidad de culminar ésta carrera.

**Facultad de Ingeniería**

Por brindarme los conocimientos necesarios para poder enfrentar los retos que me esperan.

**Laboratorio de Suelos,  
Aguas y Plantas de  
ANACAFÉ**

En especial al ingeniero Humberto Jiménez, ingeniera Doris Vega e ingeniero Roberto Soto, por permitirme la oportunidad de adquirir mi primera experiencia laboral y por su apoyo en mi etapa final de la carrera.

**Laboratorio de aguas  
del INFOM**

En especial al ingeniero Jorge Mario Estrada e ingeniero William Xill, por su apoyo y capacitación para la elaboración de los análisis.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	III
LISTA DE SÍMBOLOS .....	V
GLOSARIO .....	VII
RESUMEN.....	IX
OBJETIVOS.....	XI
Hipótesis .....	XII
INTRODUCCIÓN .....	XIII
1. ANTECEDENTES .....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Descripción del fruto de café .....	5
2.2. Procesamiento del fruto de café .....	6
2.3. Aguas residuales del café.....	10
2.3.1. Composición del agua residual del café .....	10
2.3.2. Toxicidad del agua residual del café.....	12
2.4. Oxígeno Disuelto (OD) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) .....	13
2.5. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).....	13
2.5.1. Fuentes de DBO .....	16
2.6. Método Respirométrico.....	17
2.6.1. Fundamentos.....	18
2.6.2. Absorción de CO <sub>2</sub> .....	18

3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	21
3.1.	Variables .....	21
3.2.	Delimitación de campo de estudio .....	22
3.3.	Recursos humanos disponibles .....	22
3.4.	Recursos materiales disponibles.....	23
3.5.	Técnica cuantitativa.....	24
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información .....	26
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	28
3.8.	Análisis estadístico.....	29
4.	RESULTADOS.....	33
4.1.	Tablas de datos obtenidos .....	33
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	39
	CONCLUSIONES.....	43
	RECOMENDACIONES .....	45
	BIBLIOGRAFÍA.....	47
	APÉNDICE .....	49
	ANEXOS.....	57

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Corte longitudinal de una cereza de café.....	6
2.	Procesamiento del grano de café y sus subproductos.....	7
3.	Utilización de agua en algunos beneficios de café de Centroamérica.....	9
4.	Procedimiento experimental de la investigación .....	25
5.	Resultados de DBO obtenidos con ambos métodos.....	37

### TABLAS

I.	Contaminación generada en un cafetal de Nicaragua. ....	10
II.	Composición química de la fracción hidrosoluble de un extracto de pulpa de café (1 parte de pulpa de café: 660 partes de agua).....	11
III.	Relación C2: C4 (calculado como DQO) del agua residual de pulpa de café acidificada en condiciones de pH ácido y neutro.....	12
IV.	Toxicidad metano génica de la cafeína.....	13
V.	Tipos de DBO.....	14
VI.	Demanda Bioquímica de Oxígeno de una selección de arroyos.....	17
VII.	Variables de estudio en el análisis de la Demanda Bioquímica de Oxígeno. ....	21
VIII.	Recursos humanos disponibles .....	22
IX.	Recolección de datos para Método Respirométrico.....	27
X.	Recolección de datos para Método Winkler .....	27

XI.	Procesamiento de información Método Respirométrico .....	28
XII.	Procesamiento de información Método Winkler.....	28
XIII.	Análisis ANOVA.....	29
XIV.	Análisis de varianza ANOVA .....	31
XV.	Datos obtenidos por Método Respirométrico.....	33
XVI.	Datos obtenidos con Método Winkler .....	35
XVII.	Análisis de varianza ANOVA .....	37

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
°C	Grados Celsius
FD	Factor de Dilución
FO	Factor Oxitop
mL	Mililitro
mg	Miligramo
L	Litro
pH	Potencial de Hidrógeno



## GLOSARIO

<b>Anaeróbico</b>	Término utilizado en procesos que se realizan bajo la ausencia de oxígeno.
<b>Beneficiado</b>	Lugar destinado a la transformación del fruto de café maduro a café pergamino seco de punto comercial.
<b>Biodegradable</b>	Producto o sustancia que puede descomponerse en los elementos químicos que lo conforman, debido a la acción de agentes biológicos bajo condiciones ambientales naturales.
<b>Buffer</b>	Es un sistema constituido por un ácido débil y su base conjugada o por una base y su ácido conjugado que tienen capacidad de oponerse a grandes cambios de pH.
<b>Compost</b>	Es el producto que se obtiene de compuestos que forman o formaron parte de seres vivos en un conjunto de productos de origen animal y vegetal, que es utilizado como abono orgánico para la tierra.
<b>DQO</b>	(Demanda Química de Oxígeno). Es un parámetro que mide la cantidad de sustancias perceptibles a ser oxidadas por medios químicos que hay disueltas o en suspensión en una muestra líquida.

<b>DBO</b>	(Demanda Bioquímica de Oxígeno). Es un parámetro que mide la cantidad de sustancias perceptibles a ser oxidadas por medios biológicos que contiene una muestra líquida.
<b>Efluente</b>	Término empleado para nombrar a las aguas como productos de desecho emitidos por una vivienda y/o industria.
<b>Metanogénesis</b>	Es la formación de metano por medios microbiológicos.
<b>Oxidación</b>	Reacción química en la cual un átomo, ión o molécula cede electrones, por lo tanto aumenta su estado de oxidación.
<b>pH</b>	Es una medida de la acidez o alcalinidad de una disolución, indica la concentración de iones hidronio.
<b>REDOX</b>	Reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación.
<b>Respirómetro</b>	Dispositivo que tiene como objetivo realizar medidas directas y continuas de las tasas de consumo de oxígeno de distintas reacciones biológicas.

## RESUMEN

El presente diseño de investigación trata acerca del estudio de factibilidad de sustitución de un método de laboratorio. El parámetro estudiado es la demanda bioquímica de oxígeno, específicamente en efluentes de la industria del café. Actualmente, en el laboratorio en donde se realizarán dichas pruebas se utiliza el Método Respirométrico, el cual es un método que requiere una gran inversión. Se interesó en la sustitución del mismo por otro método llamado Winkler, el cual requiere de menor capital para su adquisición.

Las muestras fueron tomadas de un beneficiado húmedo de café específico ubicado en Santa Rosa en lapsos de 15 días durante un tiempo de 5 meses. En total se tomaron 100 muestras, particionadas en grupos de 10 por cada visita.

En el estudio se comprobó si ambos métodos presentaron o no diferencias significativas en sus mediciones respecto de las mismas muestras; realizando para ello un análisis de varianza a los resultados. Se concluye que el Método Winkler no es aplicable para sustituir al Método Respirométrico en su aplicación en aguas residuales de efluentes del beneficiado húmedo de café.



## **OBJETIVOS**

### **General**

Determinar la equivalencia del Método Winkler como sustituto del Método Respirométrico en la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en efluentes de los beneficiados húmedos de café.

### **Específicos**

1. Determinar la demanda bioquímica de oxígeno en efluentes del proceso de beneficiado húmedo de café por medio del Método Respirométrico como método de referencia.
2. Determinar la demanda bioquímica de oxígeno del proceso de beneficiado húmedo de café por medio del Método Winkler como método sustituto.
3. Establecer la existencia de diferencias significativas entre las mediciones de la demanda de oxígeno realizadas por medio de los Métodos de Respirometría y Winkler.

## **Hipótesis**

Por medio de un análisis de varianza, se puede terminar la posibilidad de sustitución del método Respirométrico por el método Winkler para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en los efluentes del proceso de beneficiado húmedo de café.

### **Hipótesis nula:**

Ho: Existen diferencias significativas en la determinación del oxígeno disuelto por medio del método Respirométrico en comparación con el método Winkler.

$$\mu_1 \neq \mu_2$$

### **Hipótesis alternativa:**

H<sub>1</sub>: No existen diferencias significativas en la determinación del oxígeno disuelto por medio del método Respirométrico en comparación con el método Winkler.

$$\mu_1 = \mu_2$$

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad se ha vuelto un tema muy común y necesario el tratamiento de las aguas residuales, sean de tipo doméstica o de tipo industrial. Uno de los parámetros que debe ser medido según en el Acuerdo Gubernativo 236-2006 de Guatemala es la demanda bioquímica de oxígeno (DBO). La DBO es la cantidad de oxígeno requerida para que toda la materia orgánica presente en un cuerpo de agua pueda ser degradada por medio biológico (microorganismos). Dicho parámetro mide indirectamente la contaminación de un efluente industrial o doméstico. La eficiencia con la que se reduce la DBO es uno de los requisitos importantes para los permisos de descarga de las plantas de tratamiento de aguas.

Este análisis es realizado a nivel laboratorio en condiciones controladas. Existen diferentes métodos para su realización, siendo los dos más comunes el Método Respirométrico y el Winkler. El Método Respirométrico requiere de una inversión inicial más alta en comparación con el otro. Asimismo, presenta gastos de mantenimiento y operación más altos, lo cual repercute económicamente y dificulta su obtención por parte de algunas entidades o laboratorios.

El objetivo del proyecto tiene por fin demostrar la viabilidad de reemplazar el Método Respirométrico por el Winkler, específicamente aplicado a muestras de beneficios de café. Esto debido a que el Método Respirométrico es el que ha sido aplicado durante muchos años y desea buscarse una opción más económica y práctica al mismo.



## 1. ANTECEDENTES

Cerrato Espinal, Claudia. Julio 2013, tesis en el grado de maestría titulado: *Neutralización del potencial de hidrógeno del agua miel de un beneficiado húmedo tecnificado de café*. El objetivo principal de la investigación era obtener un alcalinizante capaz de neutralizar y mantener estable el potencial de hidrógeno del agua miel utilizando bicarbonato de sodio o una mezcla entre bicarbonato de sodio e hidróxido de calcio para luego ser dispuesta. Se concluyó que el bicarbonato de sodio adiciona una capacidad *buffer* al agua miel, permitiendo valores de pH cercanos a 7 unidades.

Alas Fajardo, Ileana. Julio 2013, tesis en grado de maestría titulado: *Evaluación de la eficiencia de modelos experimentales de lecho de roca caliza y laguna facultativa para el ajuste del potencial de hidrógeno y la remoción de la carga contaminante de las aguas mieles de un beneficiado húmedo tecnificado de café*. Se concluyó que los modelos experimentales permiten el ajuste instantáneo del potencial de hidrógeno hasta un valor igual a 6,14.

En 1960 fue creada la Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ), encargada de promover la producción de café a nivel nacional. Desde entonces ha realizado esfuerzos para implementar buenas prácticas de producción de café con el fin de minimizar el volumen y concentración de carga orgánica de las aguas mieles; y con ello el impacto ambiental.

Dicha asociación ha lanzado los siguientes títulos:

- *Los desechos del beneficiado y contaminación de las fuentes de agua*, publicado en julio de 1988 por César A. Rodas.
- *Avances en el tratamiento físico-químico de aguas residuales del beneficiado húmedo de café por medio de plantas depuradoras en Guatemala*, publicado en el 2004.

Dr. Bressani, Ricardo, década de 1980. Realizó una investigación en el Instituto de nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP) titulado: *Pulpa de Café: composición, tecnología y utilización*. El propósito de su investigación fue revisar los avances logrados en cuanto a la producción del café, realizar una caracterización de los compuestos que conforman el café, señalar los problemas que pueden enfrentarse en su utilización y delinear las áreas de investigación en que se necesite trabajo adicional.

Puerta Quintero, Gloria Inés, agosto de 2012. Publicó un estudio titulado *Factores, procesos y controles en la fermentación del café*. El objetivo del documento era ilustrar varios aspectos de los procesos microbiológicos y químicos de la fermentación del café, en relación con factores de temperatura ambiente, higiene, tiempo y sistema de fermentación y dar recomendaciones y buenas prácticas para el control de este proceso. Se desarrollo cada uno de los factores de la fermentación, tales como el sustrato, su comportamiento microbiológico, temperatura, la química de la fermentación y la cinética de la acidificación del mucílago durante la fermentación.

Vásquez, Rolando, 1997. Estudio titulado: *El manejo de efluentes en el beneficiado de Café en Costa Rica*. Dicho estudio implica la reducción del uso del agua en el beneficio, la recuperación de sólidos pequeños de las aguas residuales, la disminución del 50 por ciento de los sólidos suspendidos, realizar

un tratamiento anaerobio de las aguas. Recomienda el uso de tanques sedimentadores así como la aplicación del despulpado en forma seca. Así también propone la utilización de la pulpa como un abono orgánico por medio de la elaboración de un compost.

Field, Jim, 1987. Realizó un estudio sobre aguas residuales de café en la Universidad Agrícola de Wageningen de Holanda. Dicha investigación presenta varios apartados, entre ellos, caracterización de las aguas residuales de café, tratamientos en reactores anaerobios de flujo ascendente así como curvas del comportamiento de la acidez y de la demanda química de oxígeno respecto del tiempo.



## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Descripción del fruto de café**

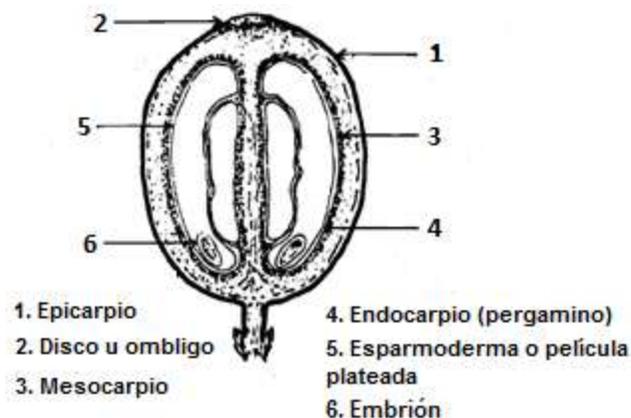
Los frutos de café se cosechan en América Central desde finales de agosto hasta el mes de marzo, dependiendo de la altitud sobre el nivel del mar de la plantación de café. El café de tierra cálida madura más temprano que el de tierra fría. Los frutos se cosechan al llegar a su madurez, lo que no se advierte por el color marrón intenso que adquiere el grano, aunque existen también variedades que presentan un color amarillo cuando están maduras.

En la figura 1 se muestra un corte longitudinal de un fruto de café, con las fracciones anatómicas del fruto: el grano de café propiamente dicho o endospermo, la cáscara o endocarpio, una capa mucilaginosa o mesocarpio y la pulpa o esocarpio. La semilla de café presenta una superficie plana que se encuentra con otra parte igual dentro del fruto. Cada mitad está recubierta por un delicado tejido conocido como película. Estas dos fracciones se sostienen dentro del endocarpio, membrana conocida también como el nombre de pergamino o cascarilla de café, que es duro y quebradizo cuando se seca, y el cual rodea individualmente a cada una de las dos fracciones que constituyen un grano.

La cascarilla, en cambio, está cubierta por una gruesa capa de células esponjosas que forman la pulpa. Esta capa tiene un espesor aproximado de 5 milímetros. Debido a la consistencia viscosa del mucílago, una leve presión sobre el fruto es suficiente para expulsar fuera de él las dos mitades que constituyen el grano. Esta característica ha sido aprovechada en el proceso que

desde hace largo tiempo se utiliza para separar los granos del resto de los componentes estructurales del fruto. Detalles adicionales sobre la anatomía de estas fracciones pueden encontrarse en algunos libros relacionados con las prácticas agrícolas y las técnicas de procesamiento del café.

Figura 1. **Corte longitudinal de una cereza de café**



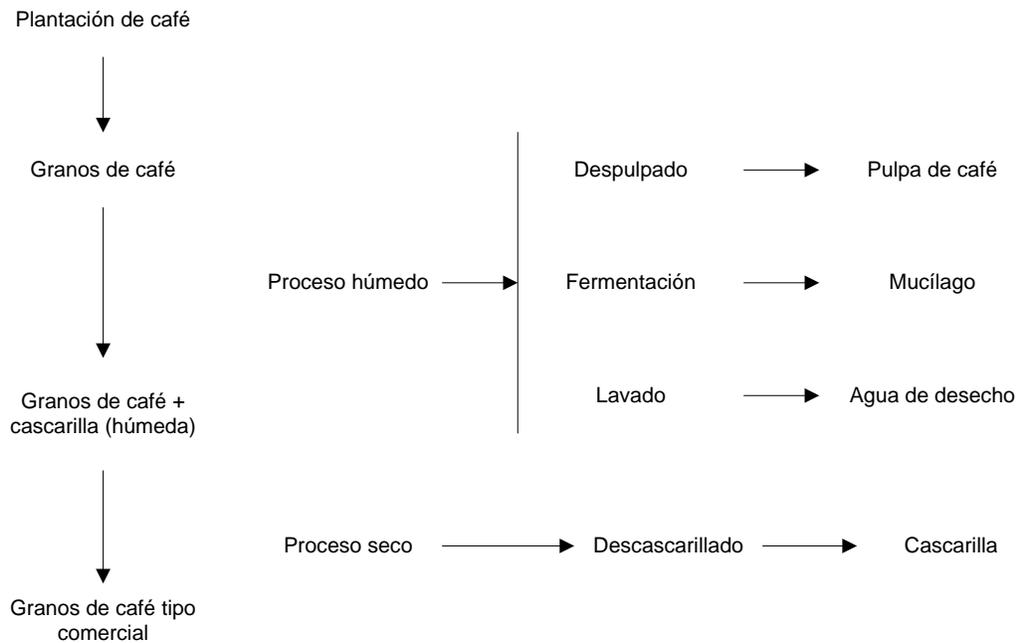
Fuente: Bressani, Ricardo. *Pulpa de café, composición, tecnología y utilización*. p. 10.

## 2.2. **Procesamiento del fruto de café**

Después de cosechados, los granos de café son llevados a los beneficios y allí se sumergen, primero que todo, en un tanque de agua, con un doble propósito: remover granos dañados, frutos verdes u otros materiales extraños que en estas condiciones flotan, y servir como mecanismo de transporte de los granos. Las principales operaciones a que se someten los granos aparecen en el diagrama de la figura 2. El procesamiento del fruto del café para obtener los granos comerciales consiste básicamente en dos operaciones. La primera es el remojo o procesamiento húmedo que deja como producto pulpa de café,

mucílago y aguas de desecho, por una parte, y por la otra, los granos de café y la cascarilla, como unidad.

Figura 2. **Procesamiento del grano de café y sus subproductos**



Fuente: Bressani, Ricardo. *Pulpa de café, composición, tecnología y utilización*. p. 11.

La segunda operación es un proceso seco que separa la cascarilla del grano de café. Los frutos se sumergen en un tanque de agua la que se la da la forma de pirámide invertida. En el fondo del tanque un tubo que hace las veces de sifón trasporta la fruta a los pulperos, los cuales por medio de un mecanismo de fricción separan los granos de la pulpa.

La pulpa es luego trasportada por agua hacia un sistema de recolección de desperdicios, que puede ser un carretón, o simplemente los desperdicios se apilan para ser removidos más tarde.

Una vez separados de la pulpa, los granos de café se transportan por agua, ya sea hacia tanques de fermentación para remover el mucílago, o hacia máquinas que sirven para el mismo propósito. El proceso de fermentación casi es anaeróbico en su naturaleza, y se lleva a cabo durante 48 horas a 72 horas, lo que causa el desprendimiento del mucílago del grano. Los productos de la hidrólisis quedan en el agua que va a ser descartada. El mucílago también puede separarse mecánicamente por medio de fricción de los granos, los cuales después del despulpado, pasan con agua a un cilindro perforado que gira sobre su eje y que contiene un tubo interior, también perforado, con un flujo de agua constante.

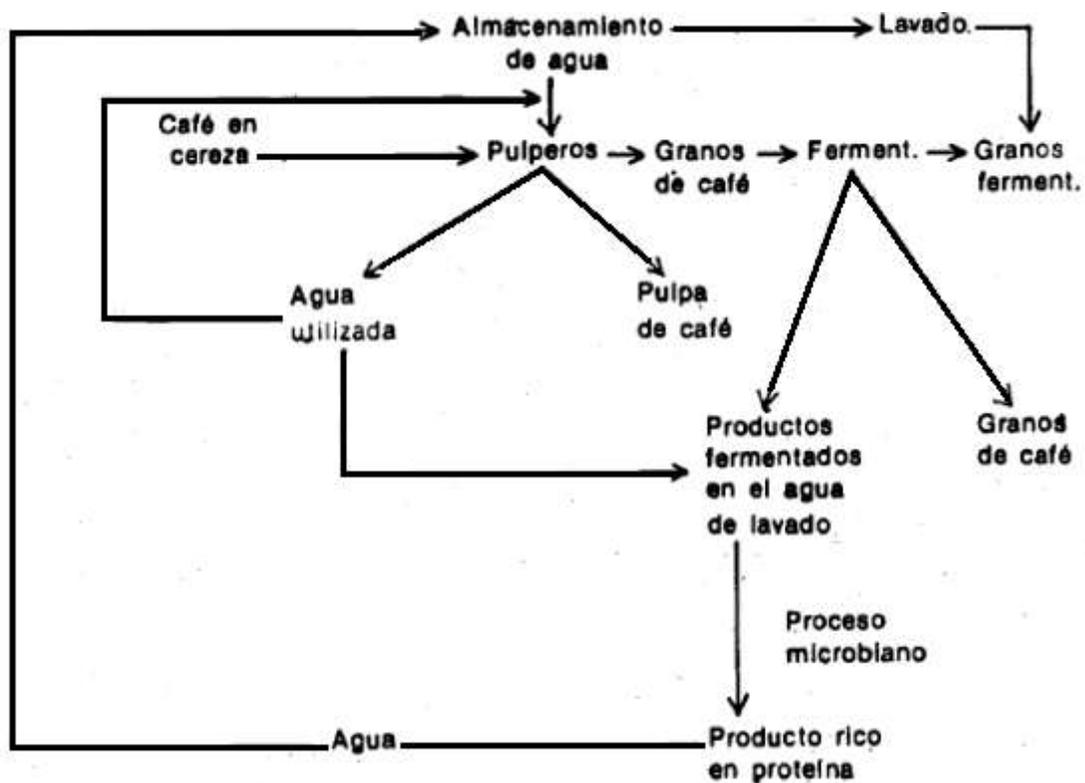
El mucílago, ya sea completo o hidrolizado, constituye un segundo subproducto del fruto del café. Este proceso es comúnmente utilizado en los beneficios de café que cuentan con abundante agua disponible. En aquellos donde el agua es un factor limitante, se tiende a reciclarla, así como también a la posibilidad de utilizarla para propósitos industriales. El resultado de dicho reciclamiento es la disponibilidad de una solución que, según algunos investigadores, contiene solutos con una demanda química de oxígeno (DQO) de 20 a 50 gramos por litro, y consecuentemente podría ser utilizada para el crecimiento de microorganismos y la posible producción de proteína microbiana.

Por otra parte, al tratar dichas aguas con hidróxido de calcio, disminuye la concentración de DQO y, por lo tanto, los carbohidratos del mucílago pueden ser recuperados.

Luego de la remoción del mucílago, mecánica o químicamente, o por fermentación, los granos de café son lavados antes de pasar al proceso de deshidratación. Este se lleva a cabo mediante un período inicial de secado al sol, en el cual los granos de café se revuelven constantemente y luego mediante el secado con el aire caliente en un tambor de cilindro perforado de

diseño especial. Una vez secos, se someten a un proceso de beneficiado, consistente principalmente en la separación de la cascarilla, la cual representa un tercer subproducto.

Figura 3. Utilización de agua en algunos beneficios de café de Centroamérica



Fuente: Bressani, Ricardo. *Pulpa de café, composición, tecnología y utilización*. p. 13.

### 2.3. Aguas residuales del café

La tabla I muestra la cantidad y contaminación del agua residual producida durante el procesado del café. Aproximadamente la mitad de la contaminación (expresada en DQO) proviene del agua de percolado de la pulpa de café y la otra mitad del agua de fermentación del mucílago.

Tabla I. **Contaminación generada en un cafetal de Nicaragua**

Agua residual	Caudal (m <sup>3</sup> /t <sub>cop</sub> )	DQO	
		kg/t <sub>cop</sub>	g/l
Agua de pulpa	9	57	6.3
Agua de lavado	22	72	3.3
Agua miel	31	129	4.2

T<sub>cop</sub>=toneladas de café oro producidas

Fuente: Baez, Jorge. *Ingeniería Ambiental*. p. 416.

#### 2.3.1. Composición del agua residual del café

Los integrantes fundamentales de la DQO del agua de pulpa son azúcares y proteínas, así como pequeñas cantidades de cafeína, taninos y ácido clorogénico (tabla II). Los taninos y el ácido clorogénico son los responsables del color del agua residual (cuando el pH es elevado). El aguamiel contiene básicamente ácidos orgánicos simples de pectina y azúcares, provenientes del mucílago.

Tabla II. **Composición química de la fracción hidrosoluble de un extracto de pulpa de café (1 parte de pulpa de café: 660 partes de agua)**

<b>Fración identificada</b>	<b>Porcentaje de DQO</b>
Grasas	4.2
Proteínas	24.4
Azúcares	44.2
Cafeína	7.9
Taninos	8.7
Ácido clorogénico	10.8

Fuente: Baez, Jorge. *Ingeniería Ambiental*. p. 418.

Generalmente, este tipo de agua residual está parcialmente acidificada de forma natural. Una muestra fresca de jugo de pulpa se acidifica rápidamente convirtiéndose en ácidos grasos volátiles durante el almacenaje a 25 grados Celcius, a causa de las bacterias fermentativas presentes en la pulpa.

Ijspeet, (1984) observó que aproximadamente el 40 por ciento de la DQO del aguamiel correspondía a ácidos grasos volátiles.

Cuando se produce la acidificación del aguamiel, la proporción entre los ácidos grasos volátiles producidos depende del pH de operación. La tabla III muestra que, a pH bajo, la mayor parte de los ácidos grasos volátiles son de tres carbonos (C3) y cuatro carbonos (C4), mientras que en condiciones de pH neutro predomina el de dos carbonos (C2).

Tabla III. **Relación C2: C4 (calculado como DQO) del agua residual de pulpa de café acidificada en condiciones de pH ácido y neutro**

pH durante la Acidificación	C2	C4
	%AGV DQO	meq/AGV
4.0	9	35
7.4	81	17

Fuente: Bressani, Ricardo. *Pulpa de café, composición, tecnología y utilización*. p. 20.

### 2.3.2. Toxicidad del agua residual del café

El agua de pulpa de café contiene algunos compuestos tóxicos. Tres componentes naturales de la pulpa son toxinas potenciales: la cafeína, el ácido clorogénico y los taninos. Estudios previos descritos en la tabla 4 muestran que la cafeína no es tóxica en las condiciones adecuadas. La biodegradación parcial en condiciones anaerobias del ácido cloro génico por parte de lodo no adaptado indica que existe una adaptación a este producto. La toxicidad de los taninos ya fue discutida en el capítulo dedicado a la toxicidad. La concentración de taninos que inhibe el 50 por ciento de la metanogénesis ronda los 600-800 miligramos de DQO por litro. Por ello, el agua residual de pulpa debe diluirse a una concentración de DQO inferior a 7gramos de DQO por litro (suponiendo que los taninos contribuyan con un 10 por ciento de la DQO).

En la mayoría de los casos, la concentración en DQO del agua de pulpa es inferior a éste valor límite.

Tabla IV. **Toxicidad metano génica de la cafeína**

<b>Conc. Probada (mg/l)</b>	<b>Porcentaje de Inhibición metanogénica</b>
83	0
1000	0

Fuente: Bressani, Ricardo. *Pulpa de café, composición, tecnología y utilización*. p. 24.

#### **2.4. Oxígeno Disuelto (OD) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)**

El oxígeno disuelto se requiere para mantener una comunidad balanceada de organismos en lagos, ríos y el océano. Cuando el desperdicio demandante de oxígeno (medido como DBO) se añade al agua, la velocidad a la que el oxígeno es consumido al oxidar dicho desperdicio (desoxigenación) puede exceder a la velocidad a la que el oxígeno se vuelve a suplir desde la atmósfera (reaereación). Esto puede llevar al agotamiento de los recursos de oxígeno, con concentraciones muy por debajo de los niveles de saturación. Cuando los niveles de oxígeno caen por debajo de de los 4 a 5 miligramos por litro de oxígeno.

#### **2.5. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)**

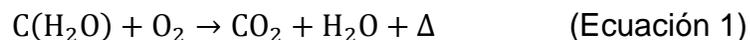
La DBO es un análisis muy amplio, con funciones en distintas áreas. En la tabla V se muestran los tipos de DBO que son utilizados en distintas investigaciones, dependiendo de la finalidad de los estudios.

Tabla V. Tipos de DBO

<b>DBO</b>	<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno.</b> La cantidad de oxígeno que utilizan los microorganismos para oxidar la materia orgánica de tipo carbónica y nitrogenada
<b>CDBO</b>	<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno carbónica.</b> La materia orgánica carbónica dona el electrón.
<b>NDBO</b>	<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno nitrogenada.</b> La materia orgánica nitrogenada dona el electrón.
<b>DBO<sub>5</sub></b>	<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno del día 5.</b> Cantidad de oxígeno consumida en un periodo de incubación de 5 días.
<b>DBO<sub>U</sub></b>	<b>Demanda Bioquímica de Oxígeno final.</b> Cantidad de oxígeno consumida cuando se ha oxidado toda la materia orgánica biodegradable.

Fuente: Mihelcic, James. *Ingeniería ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño*. p. 316.

Los organismos obtienen la energía que necesitan para mantener sus funciones metabólicas, crecimiento y reproducción de los proceso de fermentación y respiración. Tanto la materia orgánica como la inorgánica pueden servir como fuentes de dicha energía. Los organismos quimioheterótrofos son los que utilizan la materia orgánica C(H<sub>2</sub>O) como fuente de carbono y energía y, bajo condiciones aerobias, para obtener tal energía consumen oxígeno:



Los quimiautótrofos son los organismos que utilizan dióxido de carbono como fuente de carbono y de energía, y por lo general consumen oxígeno al obtener esa energía. Un ejemplo de quimiautotrofismo es la nitrificación, la conversión microbiana de amoníaco en nitrato.



Estas son reacciones REDOX con participación microbiana, los que donan los electrones son  $\text{C}(\text{H}_2\text{O})$  y  $\text{NH}_4^+$  y el que acepta el electrón es el oxígeno.

Se consume oxígeno en ambas reacciones. Por lo tanto, se puede definir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) como la cantidad de oxígeno que usan los microorganismos para realizar la oxidación. La DBO mide la fuerza del agua o del agua residual: mientras mayor sea la concentración de amoníaco-nitrógeno o de carbono orgánico degradable, mayor la DBO.

Las reacciones que se describen con anterioridad se distinguen con base en el compuesto que ha sido la fuente del electrón donado: carbonífera y nitrogenada. La fuerza química (miligramos de  $\text{C}(\text{H}_2\text{O})$  por litro o miligramos de  $\text{NH}_4^+$  por litro) se expresa en términos de su impacto al medio ambiente.

El oxígeno disuelto es un requisito clave para la integración de los organismos que se encuentran asociados en un ecosistema diverso y en equilibrio. A menudo, los desechos domésticos e industriales contienen altos niveles de DBO, que si se descargan sin haber sido tratados, agotarían las reservas de oxígeno y reducirían la diversidad de la vida acuática de forma grave.

Para prevenir la degradación de las aguas que recibirán tales descargas, se han construido sistemas en los que se controlan cuidadosamente la DBO y el oxígeno disuelto y la tasa a la que se efectúan las oxidaciones. La eficiencia con la que se retira la DBO es uno de los requisitos importantes para los permisos de descarga de las plantas de tratamiento de aguas.

### **2.5.1. Fuentes de DBO**

Plantas y animales utilizan los carbohidratos simples que se producen mediante fotosíntesis para sintetizar químicos más complejos cuya base es el carbono como azúcares y grasas. Los organismos utilizan estos compuestos como fuente de energía y liberan demanda de oxígeno carbónica (CDBO). Además, las plantas usan el amoníaco para producir proteínas, es decir, químicos complejos de cuya base es el carbono y cuya estructura incluye grupos de aminoácidos. Al final las proteínas se degradarán en péptidos y luego en aminoácidos.

Este proceso de degradación de aminos continúa descomponiendo los aminoácidos y da lugar al esqueleto del carbono (CDBO) y de un grupo amino. El proceso de degradación se completa con la conversión del grupo amino en amoníaco (amonificación). Entonces el amoníaco se encuentra disponible para emplear demanda de oxígeno nitrogenado (NDBO) en el caso de que sea utilizado por los microorganismos.

Las aguas residuales domésticas y muchos desechos industriales son sumamente ricos en materia orgánica comparados con el agua natural. En las aguas negras, las proteínas y los carbohidratos constituyen 90 por ciento de la materia orgánica. La fuente la constituyen las heces y la orina de los seres humanos; los desechos alimenticios de los fregaderos; tierra y suciedad de duchas, bañeras y lavadoras; además de varios tipos de jabón, detergente y otros productos de limpieza. Los desechos de ciertas industrias, como las destilerías, las embotelladoras de latas y los productores de pulpa y papel también tienen altos niveles de materia orgánica.

La tabla VI presenta valores de DBO para algunos desechos representativos. Incluso las aguas no contaminadas contienen alguna DBO vinculada con la materia orgánica carbónica y nitrogenada derivada de los litorales y de las aguas en sí mismas. Los niveles de oxígeno disuelto en las aguas superficiales a menudo están por debajo del nivel de saturación debido a su DBO natural.

Tabla VI. **Demanda Bioquímica de Oxígeno de una selección de arroyos**

Origen	DBO del día 5 (mg/L)
Río	2
Agua residual doméstica	200
Manufactura de papel y pulpa	400
Lavanderías comerciales	2,000
Fábrica de azúcar de remolacha	10,000
Peletería	15,000
Destilería	25,000
Embotelladora de latas de soda de cerveza	55,000

Fuente: Mihelcic, James. *Ingeniería ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño*. p. 318.

## 2.6. Método Respirométrico

Este es ampliamente utilizado para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en efluentes, cuando se desea cuantificar el grado de contaminación que presentan los mismos. A continuación se dará información acerca del mismo con más detalle.

### **2.6.1. Fundamentos**

El Método Respirométrico para la determinación de la DBO<sub>5</sub> se basa en medir el consumo de oxígeno, o la producción de CO<sub>2</sub>, en una botella respirométrica. Este objetivo se logra entre otras formas (método manométrico) midiendo la variación de la presión en la botella, mediante un manómetro lo suficientemente sensible. Otros métodos respirométricos propiamente dichos miden la producción dentro de la botella de CO<sub>2</sub> u otros gases como metano, anhídrido sulfhídrico, entre otros.

El Método Respirométrico se puede usar también para medir la DBOU (DBO carbonácea última o total, en miligramos por litro). Con la respirometría se puede evaluar la actividad biológica del lodo activo en su relación con la biomasa, el nivel de contaminación del agua residual, nitrificación y toxicidad.

El consumo de oxígeno se mide principalmente bajo dos variantes:

- La velocidad de consumo de oxígeno es igual a la tasa de respiración o captura de oxígeno.
- La cantidad total de oxígeno consumido para degradar una muestra durante un determinado período de tiempo es igual a la Demanda Bioquímica de Oxígeno de período corto (DBO).

### **2.6.2. Absorción de CO<sub>2</sub>**

En el Método Manométrico, se mide el vacío creado por el consumo de oxígeno causado por la muestra. Para esto, se requiere absorber el CO<sub>2</sub> formado de alguna manera. De lo contrario no habría cambio de presión en las

botellas ya que el volumen de CO<sub>2</sub> producido podría ser igual o casi igual al volumen de oxígeno consumido.

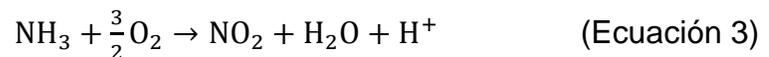
La absorción del CO<sub>2</sub> puede hacerse de varias maneras:

- Adecuando el poder *buffer* de la solución en ensayo para absorber la totalidad del CO<sub>2</sub>, en forma de bicarbonato disuelto en el líquido.
- Absorbiendo el CO<sub>2</sub> mediante alguna base fuerte en un recipiente apropiado en contacto con la fase gaseosa de la botella.

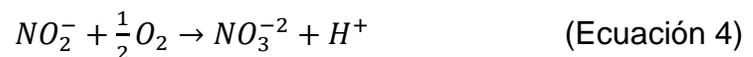
La nitrificación se refiere al proceso en el cual las bacterias nitrificantes (microorganismos autótrofos: Nitrosomas y Nitrobacter) pasan a oxidar el nitrógeno amoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en dos etapas consecutivas (oxidación a nitrito NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y finalmente a nitrato NO<sub>3</sub><sup>-2</sup>).

Puede ocurrir una demanda adicional de oxígeno como consecuencia de la oxidación biológica del amonio. Las reacciones simplificadas que definen este proceso de nitrificación son:

- Conversión de amonio a nitrito (por nitrosomas): convierte el NH<sub>3</sub> en ion nitrito, siendo el O<sub>2</sub> el agente oxidante.



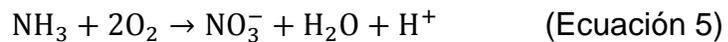
- Conversión de nitrito a nitrato (por Nitrobacter): oxida el nitrito en nitrato



Ambas reacciones son exergónicas; la primera consiste en la oxidación del nitrógeno de -3 a +3; la segunda es una oxidación de dos electrones de +3 a +5.

Ambos grupos de organismos son autótrofos; es decir, sintetizan todos sus componentes celulares de carbono (proteínas, lípidos, carbohidratos) a partir de CO<sub>2</sub> en carbohidratos requiere energía. En la fotosíntesis, dicha energía es proporcionada por la luz; en los casos de Nitrosomonas y Nitrobacter, la energía para la reducción del CO<sub>2</sub> en carbohidratos y otros compuestos de carbono es proporcionada, respectivamente, por la oxidación del NH<sub>3</sub> y el ion NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Puesto que los organismos obtienen la energía que requieren para crecer de la oxidación de compuestos inorgánicos simples, se denominan quimioautótrofos.

- Conversión total de amonio a nitrito



El oxígeno necesario para la conversión de amonio a nitrato se conoce como Demanda Nitrogenada de Oxígeno (DNO). En general, la demanda de oxígeno debida a la nitrificación ocurre de 5 a 8 días después de iniciada la prueba de DBO<sub>5</sub> convencional. Sin embargo, si inicialmente existen suficientes organismos nitrificantes, la nitrificación puede ocurrir al principio de la prueba.

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Variables

Las variables que fueron seleccionadas como objeto de estudio y que sustentan a la presente investigación se muestran en la tabla VII, las cuales se clasifican como independiente y dependiente.

Tabla VII. **Variables de estudio en el análisis de la Demanda Bioquímica de Oxígeno**

Variables de estudio			Factor potencial de diseño	
No	Variable	Dimensional	Independiente	Dependiente
1	Oxígeno disuelto	mg/L		X
2	Temperatura	°C	X	
3	pH	Adimensional	X	
4	Cantidad de muestra inoculada	ml	X	
5	Concentración de titulante	Mol/L	X	
6	DBO	mg/L		X
7	Factor de dilución	Adimensional		X

Fuente: elaboración propia.

### 3.2. Delimitación de campo de estudio

El análisis fue realizado en un laboratorio específico para el control de aguas residuales de la industria del café. Asimismo el presente estudio sólo se limita al análisis de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), no así de otros parámetros de calidad asociados.

En cuanto a la temporalidad del estudio, las evaluaciones y análisis se realizó durante la época de poscosecha, lo cual tuvo una duración de 4 meses, iniciando en diciembre y finalizando en marzo del presente año.

### 3.3. Recursos humanos disponibles

La elaboración de esta investigación fue gracias al apoyo de los profesionales que se mencionan a continuación. Ellos fueron de mucha ayuda tanto en la parte de campo, como en la parte experimental a nivel laboratorio.

Tabla VIII. **Recursos humanos disponibles**

Tesista	<b>Br. José Fernando García Chinchilla</b>
Asesor	<b>Ing. Jorge Mario Estrada Asturias</b>
Coordinador de laboratorio en donde se llevó a cabo la investigación	<b>Ing. Oscar Humberto Jiménez García</b>
Asesor de campo	<b>Ing. Luis Roberto Soto</b>

Fuente: elaboración propia.

### 3.4. Recursos materiales disponibles

Se contó con distintos insumos, reactivos y equipos, los cuales fueron indispensables para la elaboración de la investigación a nivel laboratorio. A continuación se enlistan todos y cada uno de ellos.

- Cristalería, insumos y reactivos
  - Erlenmeyer 250 mL
  - Probeta 25 mL
  - Probeta 100 mL
  - *Beacker* 150 mL
  - Cubeta para análisis de DQO Merck
  - Frasco ámbar especial para DBO
  - Agitador magnético
  - Vaso de caucho
  - Piseta
  - Pipeta automática
  - Hidróxido de sodio en lentejas grado analítico
  - Cloruro de calcio grado analítico
  - Sulfato de magnesio grado analítico
  - Cloruro de hierro hepta hidratado grado analítico
  - Fosfato diácido de potasio grado analítico
  - Fosfato ácido de dipotasio grado analítico
  - Fosfato ácido de disodio grado analítico
  - Sulfato de manganeso grado analítico
  - Frasco Winkler.

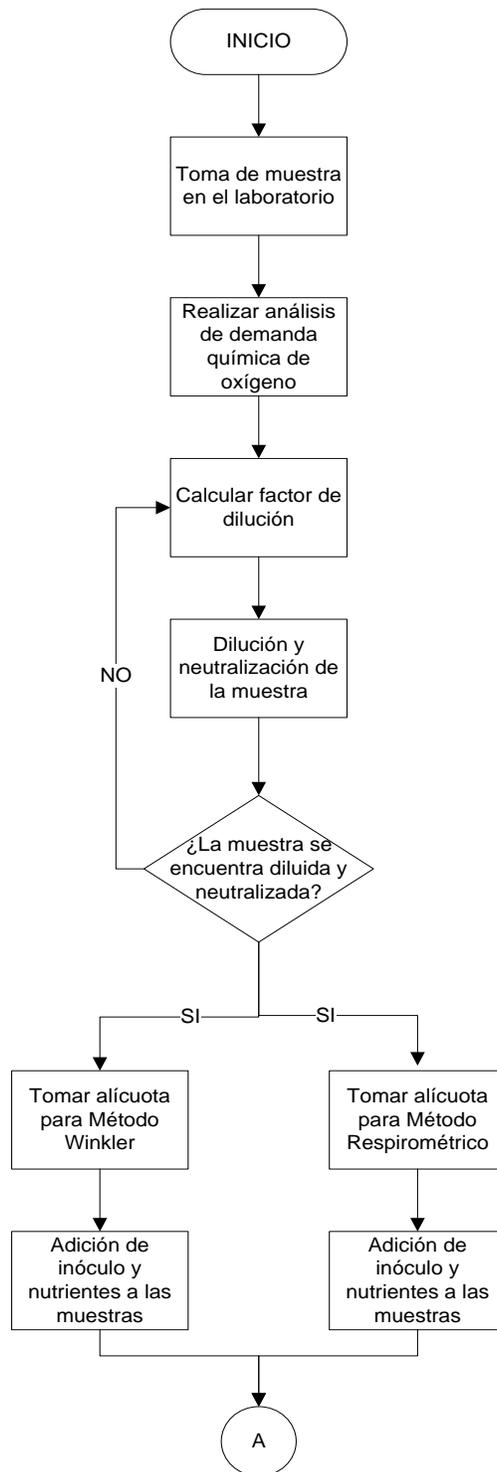
- Equipos
  - Fotómetro Spectroquant NOVA 60
  - Respirómetros WTW
  - Incubadora VWR 2020
  - Plancha de agitación magnética OXITOP WTW IS12
  - Potenciómetro ORION 3 STAR B 33667
  - Electrodo de medición de oxígeno disuelto HACH

### **3.5. Técnica cuantitativa**

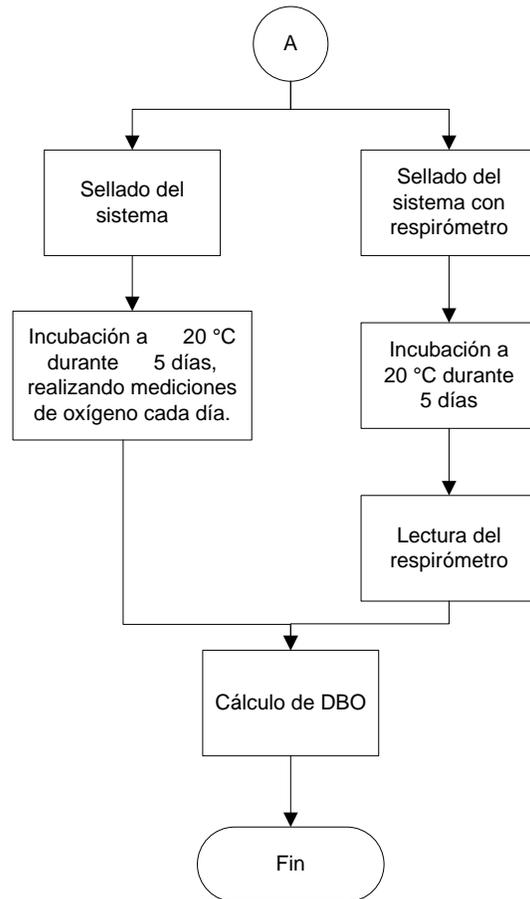
Para la ejecución de la presente investigación se llevó a cabo la medición de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) realizada por dos métodos distintos, uno bajo el principio de un diferencial de presión, creado por la formación de dióxido de carbono, el cual reaccionó con hidróxido de sodio, provocando que el gas fuera consumido y con ello disminuir la presión del sistema, esto es cuantificado por un respirómetro.

El otro método se basa en la presencia de oxígeno disuelto en el agua y se cuantifica la diferencia de oxígeno presente al inicio y al final de un período de incubación. El propósito de la investigación fue evaluar la existencia o ausencia de una diferencia significativa entre ambos métodos para determinar la viabilidad de sustituir uno por el otro.

Figura 4. Procedimiento experimental de la investigación



Continuación de la figura 4.



Fuente: elaboración propia.

### 3.6. Recolección y ordenamiento de la información

La información a recolectar en la investigación, para el caso del Método Respirométrico, será el pH, temperatura (T), y el Factor Oxitop (FO), el Factor de Dilución (FD), las lecturas de los 5 días (L1 a L5), la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).

Tabla IX. **Recolección de datos para Método Respirométrico**

Datos para método Respirométrico										
No.	pH	T (°C)	FO	FD	L1	L2	L3	L4	L5	DBO (mg/L)

Fuente: elaboración propia

Para el Método Winkler la información a recolectar es el pH, temperatura (T), Factor de Dilución (FD), Oxígeno Disuelto (OD) y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).

Tabla X. **Recolección de datos para Método Winkler**

Datos para Método Winkler						
No.	pH	T (°C)	FD	ODi (mg/L)	ODf (mg/L)	DBO (mg/L)

Fuente: elaboración propia.

### 3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Para llevar a cabo un análisis de la información obtenida con la investigación, se utilizó una serie de formatos para su tabulación, ordenamiento y procesamiento, los cuales se presentan en las siguientes tablas.

Tabla XI. **Procesamiento de información Método Respirométrico**

NO.	DBO (mg/l)
<b>MEDIA</b>	
<b>DESV. EST.</b>	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Procesamiento de información Método Winkler**

NO.	DBO (mg/l)
<b>MEDIA</b>	
<b>DESV. EST.</b>	

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Análisis ANOVA**

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculado	F teórico

Fuente: elaboración propia.

### 3.8. Análisis estadístico

Para concluir si el estudio dio buenos resultados o no, se lleva a cabo un análisis estadístico, el cual permite visualizar el comportamiento entre ambos métodos. Para tal efecto se utilizó el análisis ANOVA.

- Método y modelos de los datos según tipo de variables

Para comprobar las hipótesis planteadas en el presente trabajo de investigación por medio del Método ANOVA, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

Cálculo F de Fisher:

$$F_{n1,n2} = \frac{\frac{SST}{k-1}}{\frac{SSE}{n-k}} = \frac{MST}{MSE} \quad (\text{Ecuación 16})$$

Donde:

$F_{n1,n2}$ : es el valor de la F de Fisher obtenido de ambos tratamientos

SSE: es la suma de cuadrados del error

SST: es la suma de cuadrados de los tratamientos

MST: es la media cuadrática de los tratamientos

MSE: es la media cuadrática del error

Suma de cuadrados:

$$SSTotal = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \quad (\text{Ecuación 17})$$

Donde:

SSTotal: es la suma de cuadrados total

X: es la media poblacional

N: es el número de datos que se tienen

Suma de cuadrados debido al tratamiento:

$$SST = \sum \left( \frac{T_c^2}{n_c} \right) - \frac{(\sum X)^2}{n} \quad (\text{Ecuación 18})$$

Donde:

SST: es la suma de cuadrados debido al tratamiento

T<sub>c</sub>: es la suma de los valores obtenidos

X: es la media poblacional

n: es el número total de datos que se tienen

n<sub>c</sub>: es el número de datos de cada tratamiento

Suma del cuadrado del error:

$$SSE = SSTotal - SST \quad (\text{Ecuación 19})$$

Donde:

SSE es la suma del cuadrado del error

SSTotal es la suma de cuadrados total

SST es la suma de cuadrados debido a los tratamientos

Tabla XIV. **Análisis de varianza ANOVA**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculado	F teórico
Tratamientos	k - 1	SST	$\frac{SST}{(k - 1)}$ $= MST$	$\frac{MST}{MSE}$	Tabla de Fisher
Error	n - K	SSE	$\frac{SSE}{(n - k)}$ $= MSE$		
Total	n - 1	SSTotal			

NOTA: El  $F_{\text{teórico}}$  se obtiene de las tablas de ANOVA con un nivel de significancia de  $1 - 0.95 = 0.05\%$  y con los siguientes grados de libertad.

Fuente: Devore, Jay. *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. p. 417.

Conclusión:

Si  $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{teórico}}$  se rechaza  $H_0$  al nivel de significancia especificado.

Si  $F_{\text{calculado}} \leq F_{\text{teórico}}$  se rechaza  $H_1$  al nivel de significancia especificado.



## 4. RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la investigación realizada. Para este fin se dividió en dos secciones principales: la primera parte consiste en la presentación de datos obtenidos por ambos métodos, la segunda parte consiste en el análisis de varianza que da la pauta del cumplimiento de la hipótesis.

### 4.1. Tablas de datos obtenidos

A continuación se presenta una serie de tablas en las cuales se condensa todo el trabajo realizado durante la investigación. Se muestra un total de 50 muestras para cada uno de los métodos aplicados.

Tabla XV. **Datos obtenidos por Método Respirométrico**

DQO (mg/L)	No.	Fecha análisis	pH	T (°C)	FO	FD	L1	L2	L3	L4	L5	DBO5 (mg/l)
DQO 53 950	1	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	13	31	40	45	47	29 658
	2	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	13	31	39	44	47	29 658
	3	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	9	32	43	47	48	30 289
	4	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	10	24	34	41	45	28 396
	5	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	10	25	34	39	43	27 134
	6	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	8	20	23	33	43	27 134
	7	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	9	29	39	45	48	30 289
	8	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	14	37	46	48	48	30 289
	9	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	10	34	44	47	48	30 289
	10	01/02/2014	4,1	21,2	10	68	4	16	25	33	39	24 610
DQO 40 120	11	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	17	34	42	46	48	22 272
	12	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	24	40	46	48	47	22 272
	13	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	21	36	40	40	39	18 560
	14	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	15	31	41	45	48	22 272
	15	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	25	41	46	48	48	22 272
	16	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	23	40	45	48	47	22 272
	17	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	5	21	31	38	42	19 488
	18	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	14	29	39	43	46	21 344
	19	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	23	39	45	47	47	21 808
	20	15/02/2014	4,2	22,6	10	50	15	30	40	44	47	21 808

Continuación de la tabla XV.

DQO (mg/L)	No.	Fecha análisis	pH	T (°C)	FO	FD	L1	L2	L3	L4	L5	DBO5 (mg/l)
DQO 37 250	21	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	25	41	46	48	48	20 935
	22	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	5	21	31	38	42	18 318
	23	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	23	40	45	48	47	20 935
	24	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	15	30	40	44	47	20 499
	25	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	17	34	42	46	48	20 935
	26	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	15	31	41	45	48	20 935
	27	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	24	40	46	48	47	20 935
	28	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	23	39	45	47	47	20 499
	29	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	21	36	40	40	39	17 446
	30	22/02/2014	4,1	19,2	10	47	14	29	39	43	46	20 063
DQO 36 960	31	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	17	40	47	48	48	20 490
	32	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	20	39	46	48	49	20 917
	33	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	12	29	38	43	47	20 063
	34	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	19	41	47	49	49	20 917
	35	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	16	35	43	47	48	20 490
	36	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	2	13	24	33	39	16 648
	37	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	20	40	46	48	48	20 490
	38	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	20	39	46	48	48	20 490
	39	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	15	37	46	48	49	20 917
	40	01/03/2014	4,1	22,4	10	46	19	39	46	48	48	20 490
DQO 32 920	41	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	17	39	46	49	49	19 098
	42	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	16	35	43	46	48	18 708
	43	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	17	40	47	49	48	19 098
	44	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	13	29	40	48	48	18 708
	45	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	18	40	47	49	49	19 098
	46	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	17	40	47	48	48	18 708
	47	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	14	38	46	49	49	19 098
	48	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	19	40	46	48	48	18 708
	49	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	1	17	31	38	43	16 759
	50	08/03/2014	4,1	20,5	10	42	17	38	45	48	48	18 708

Media aritmética	21,592
Desviación estándar	3,896

Fuente: datos obtenidos del proceso experimental.

Tabla XVI. Datos obtenidos con Método Winkler

Blanco			
No.	Fecha	OD i	Od f
1	01/02/2014	7,43	6,84
2	15/02/2014	7,43	6,84
3	22/02/2014	6,84	5,36
4	01/03/2014	6,98	5,36
5	08/03/2014	7,04	6,08

DQO (mg/L)	No.	No. frasco	Fecha análisis	pH	T (°C)	FD	Odi (mg/L)	Odf (mg/L)	DBO <sub>5</sub> (mg/l)
DQO 53 950	1	1	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,62	3,11	25 333
	2	2	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,63	3,47	23 072
	3	3	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,67	3,43	23 589
	4	4	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,64	3,31	24 170
	5	5	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,6	3,31	23 912
	6	6	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,61	3,42	23 266
	7	7	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,67	3,28	24 558
	8	8	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,64	3,06	25 786
	9	9	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,65	2,81	27 465
	10	10	01/02/2014	4,1	21,2	10,79*1,67%	7,68	3,26	24 752
DQO 40 120	11	1	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	7,05	3,12	16 101
	12	2	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,97	2,89	16 823
	13	3	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,68	3,16	14 125
	14	4	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,69	2,85	15 667
	15	5	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,66	2,95	15 040
	16	6	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,65	2,99	14 799
	17	7	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,64	2,92	15 089
	18	8	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,67	3,09	14 414
	19	9	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,77	2,85	16 052
	20	10	15/02/2014	4,2	22,6	8,00*1,67%	6,68	2,99	14 944
DQO 37 250	21	1	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,88	2,28	13 929
	22	2	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,74	2,16	13 840
	23	3	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,75	2,45	12 591
	24	4	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,76	1,95	14 866
	25	5	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,67	2,12	13 706

Continuación de la tabla XVI.

DQO (mg/L)	No.	No. frasco	Fecha análisis	pH	T (°C)	FD	Odi (mg/l)	Odf (mg/l)	DBO5 (mg/l)
DQO 37 250	26	6	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,71	2,77	10 985
	27	7	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,79	2,20	13 884
	28	8	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,78	2,06	14 464
	29	9	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,8	2,83	11 119
	30	10	22/02/2014	4,1	19,2	7,45*1,67%	6,87	2,78	11 654
DQO 36 960	31	1	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,00	1,87	15 670
	32	2	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	6,98	1,87	15 581
	33	3	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	6,97	1,85	15 625
	34	4	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	6,98	1,91	15 402
	35	5	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,00	1,92	15 447
	36	6	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,02	1,98	15 268
	37	7	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	6,97	1,98	15 045
	38	8	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,02	2,01	15 135
	39	9	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,02	2,01	15 135
	40	10	01/03/2014	4,1	22,4	7,39*1,67%	7,04	2,03	15 135
DQO 32 920	41	1	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	6,98	2,43	16 022
	42	2	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	6,94	2,40	15 977
	43	3	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,04	2,44	16 245
	44	4	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	6,91	2,46	15 576
	45	5	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,02	2,48	15 977
	46	6	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,06	2,51	16 022
	47	7	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	6,98	2,52	15 620
	48	8	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,07	2,52	16 022
	49	9	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,05	2,53	15 888
	50	10	08/03/2014	4,1	19,2	6,584*1,67%	7,07	2,56	15 843

<b>Media aritmética</b>	<b>16,853</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>4,130</b>

Fuente: datos obtenidos del proceso experimental.

Figura 5. Resultados de DBO obtenidos con ambos métodos



Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. Análisis de varianza ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	F teórico
Tratamiento	561 503 837,16	1	561 503 837,16	34,84	3,94
Error	1 579 608 340,49	98	16 118 452,45		
Total	2 141 112 177,65	99	577 622 289,62		

Fuente: elaboración propia.

Dado que  $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{teórico}}$  se rechaza  $H_0$  con un nivel de significancia del 95 por ciento.



## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La elaboración de esta investigación se realizó con el objetivo de buscar una alternativa al método que se aplica actualmente para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en efluentes del beneficiado húmedo de café.

En las tablas XV, XVI y en la figura 5 se puede observar que ambos métodos presentan una misma tendencia. A medida que avanzaron los días, los valores de DQO mostraron una disminución. Esto se debe a que todos los compuestos orgánicos se están estabilizando por acción del oxígeno del ambiente, el cual los oxida, provocando que cada vez sea necesaria una menor cantidad de oxígeno para degradar la materia orgánica.

Así también, puede observarse en dichas tablas que los valores de DBO para el Método Winkler son relativamente más bajos que para el Método Respirométrico. Esto se atribuye a que, en el caso del Método Winkler, fue necesario realizar diluciones demasiado altas ya que en éste método no puede consumirse todo el oxígeno disponible, sino ya no podría cuantificarse una diferencia de concentración del mismo. Por lo tanto se atribuye un error considerable a dicho factor.

En el caso del Método Respirométrico, las diluciones no llegan a ser tan altas debido a que el método está diseñado para tomar lectura de muestras con una mayor concentración de carga orgánica, por lo que se atribuye a la gran diferencia en los valores presentados en ambos casos.

Conjuntamente con los valores de DQO, puede observarse en la figura 5 que los valores de DBO se encuentran en disminución con respecto del tiempo, sin embargo, éstos no llegan a ser mayores al valor de DQO. Esto se debe a que la DQO está definida como la cantidad de oxígeno necesaria para degradar la materia orgánica e inorgánica; en cambio, la DBO es la cantidad de oxígeno necesaria para degradar solamente la materia orgánica por medios biológicos. El oxígeno presente en el ambiente también influye en los valores de la DBO, ya que al degradar la materia constantemente, cada vez se necesita menos oxígeno para llevarla al equilibrio químico.

Ambos métodos son efectivos para mostrar la naturaleza degradatoria de la muestra, evidenciándose en la tendencia de las dos curvas. Sin embargo, a simple vista puede notarse que los valores solamente coinciden en un punto de los cincuenta, por lo que no pueden considerarse métodos exactos entre sí.

En la tabla XVII se evidencia el trabajo estadístico realizado para comparar las medias de ambas poblaciones. Se hizo el análisis ANOVA y se puede observar que el valor calculado de la F de Fisher, siendo de 34,84, es mucho mayor (casi 10 veces) que el valor teórico, el cual es de 3,94. Esto indica que la diferencia entre ambas medias poblacionales es significativa. Por lo tanto, no puede tomarse el Método Winkler como sustituto del Método Respirométrico.

Sin embargo, una de las posibles causas que hayan permitido que el estudio no fuera exitoso es que los métodos se apliquen para un tipo distinto de muestras. Entiéndase, por ejemplo, que el Método Winkler sea aplicado a muestras con un valor de DBO más bajo en comparación con el Método Respirométrico.

Por lo tanto se recomienda hacer pruebas de linealidad para cada método (las cuales están fuera de los objetivos de ésta investigación) para verificar el tipo de muestras a los cuales se aplican los métodos.



## CONCLUSIONES

1. Dado que el valor calculado de la F de Fisher es aproximadamente 10 veces mayor que el teórico, sí existen diferencias significativas entre los dos métodos estudiados.
2. Por lo anterior, no puede tomarse el Método Winkler como método sustituto del Respirométrico.
3. La tendencia en el comportamiento de la DBO en ambos métodos es la misma, la especificidad de las pruebas puede considerarse igual.
4. El desarrollo y la detección de la DBO se ve afectada en proporcionalidad directa a la dilución de la muestra en el Método Winkler.



## RECOMENDACIONES

1. Estudiar la linealidad de cada método para comprobar la efectividad de los mismos según el tipo de muestra que se analice.
2. Realizar una intercomparación para una misma muestra, en la cual, se haga el estudio en un laboratorio que utilice el Método Winkler como referencia.
3. Realizar la investigación manejando distintas variables que podrían tener incidencia sobre la muestra a analizar, tales como el clima y la variedad de café. Y con ello analizar el efecto en los resultados.



## BIBLIOGRAFÍA

1. ALAS FAJARDO, Blanca Ileana. *Evaluación de la eficiencia de modelos experimentales de lecho de loca caliza y laguna facultativa, a escala de laboratorio*. Director: Adán Pocasangre Collazos. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2013. 276 p.
2. BÁEZ NOGUERA, Jorge. *Ingeniería Ambiental, sistemas de recolección y evacuación de aguas residuales y pluviales*. Colombia: Ediciones Uninorte, 2007. 268 p. ISBN: 978-958-8133-71-3.
3. BRESSANI, Ricardo. *Pulpa de café. Composición, tecnología y utilización*. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 1982. 152 p.
4. CERRATO ESPINAL, Claudia. *Neutralización del potencial de hidrógeno del agua miel de un beneficiado húmedo tecnificado de café*. Director: Adán Pocasangre Collazos. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2013. 149 p.
5. DEVORE, Jay, *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 6a ed. México: Thomson, 2005. 794 p. ISBN: 970-686-457-1
6. EATON, Andrew D. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19a ed. Washington DC.: APHA AWWA WEF, 1995. ISBN: 0-87553-223-3

7. KIELY, Gerard. *Ingeniería Ambiental. Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión*. España: McGraw-Hill, 1999. 1331 p. ISBN: 84-481-2039-6
8. MASKEW FAIR, Gordon. *Ingeniería Sanitaria y de Aguas Residuales volumen 1*. 5a ed. México: Grupo Noriega Editores, 1993. 269 p. ISBN: 968-18-2382-6.
9. MASKEW FAIR, Gordon Salvador (trad.). *Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales*. México. LIMUSA-WILEY, 1971. 764 p.
10. MIHELICIC, James; ZIMMERMAN, Julie. *Ingeniería ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño*. México: Alfaomega, 2012. 720 p. ISBN: 978-607-707-317-8.
11. WALPOLE, Ronald; MYERS, Raymond. *Probabilidad y estadística*. Maldonado, Gerardo (trad.). 4a ed. México: McGraw-Hill, 1992. 797 p. ISBN: 0-02-424210-1

## APÉNDICE

### Fotografías de la investigación realizada

#### Apéndice 1. **Ejemplo de muestra utilizada**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

#### Apéndice 2. **Frasco Winkler**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 3. **Botella con respirómetro**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 4. **Preparación de las muestras**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 5. **Realización del Método Respirométrico**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 6. **Realización de método Winkler**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

**Apéndice 7. Incubación de las muestras**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

**Apéndice 8. Lecturas dadas por el respirómetro**



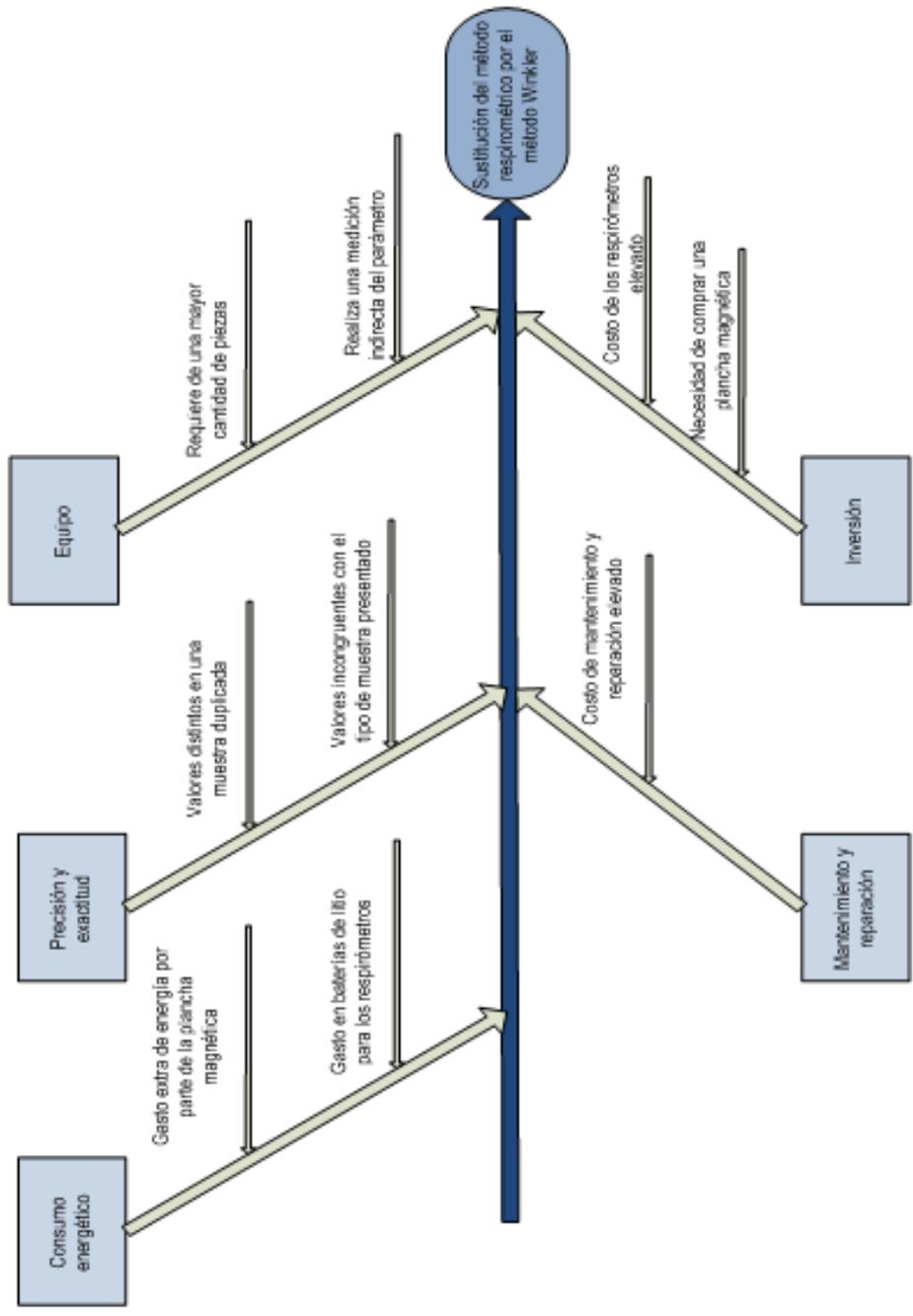
Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 9. **Lecturas dadas por la sonda de medición de oxígeno disuelto (Método Winkler)**



Fuente: elaboración propia, laboratorio de Anacafé.

Apéndice 10. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 11. **Tabla de requisitos académicos**

ÁREA	TEMA GENERAL	TEMA ESPECÍFICO	ESPECIFICACIÓN
Química	Análisis cuantitativo	Métodos analíticos y estequiométricos	Análisis de laboratorio
	Química ambiental	Contaminación ambiental	Impacto ambiental
Operaciones unitarias	Flujo de fluidos	Principios de transferencia de momento lineal	Agitación y mezclado
Especialización	Microbiología	Calidad del agua	
Ciencias básicas y complementarias	Estadística 2	Análisis estadístico de datos	Control estadístico de datos

Fuente: elaboración propia.



## ANÉXOS

### Anexo 1. **Procedimiento de análisis de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) por medio del método Respirométrico**

- **Reactivos**
  - Hidróxido de sodio 1N
  - Ácido sulfúrico 0,25N
  - Agua desmineralizada
  - Perlas de hidróxido de sodio
  - Inhibidor de nitrificación N-Allythiourea
  - Sulfato de magnesio hepta hidratado
  - Cloruro de calcio
  - Cloruro férrico hexa hidratado
  - Fosfato diácido de potasio
  - Fosfato ácido de dipotasio
  - Cloruro de amonio
  - Fosfato ácido de disodio di hidratado
  - Ácido glutámico para análisis
  - Glucosa para análisis
  
- **Preparación de soluciones**
  - **Solución hidróxido de sodio 1N:**  
Pesar 40 gramos de NaOH y enrasar a 1 litro.
  
  - **Solución ácido sulfúrico 0.25 N:**  
Medir 28,38 mililitros de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y aforar a 1 litro.

- **Solución patrón:**  
 Pesar 0,150 gramos de ácido glutámico. Pesar 0,150 gramos de glucosa. Aforar a 1 litro.
  
- **Solución tampón de fosfato:**  
 Pesar 8,5 gramos de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . 21,75 gramos de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . 22,30 gramos de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . 1,7 gramos de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Aforar a 1 litro.
  
- **Solución de sulfato de magnesio**  
 Pesar 22,5 gramos de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y aforar a 1 litro.
  
- **Solución de cloruro de calcio**  
 Pesar 27,5 gramos de  $\text{CaCl}_2$  y aforar a 1 litro.
  
- **Solución de cloruro férrico**  
 0,25 gramos de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .
  
- **Equipo**
  - Botella de 500 mL color ámbar
  - Sensor Oxitop DBO
  - Vaso de caucho
  - Bandeja de agitación magnética
  - Barras magnéticas
  - Potenciómetro ORION 3STAR Thermo Scientific
  - Incubadora VWR 2020

- **Materiales y cristalería**

- *Beacker* de 150 mL
- Jarra plástica de 1 L y de 5 L
- Vaso plástico
- Varilla de agitación
- Balón aforado de 250 mL y 500 mL
- Probeta de 25 mL clase A
- Frasco de volumen fijo (Überlaufkolben)
- Embudo

- **Procedimiento analítico**

- Verter aproximadamente 60 mL de muestra en un Beacker de 100 mL
- Neutralizar con NaOH 1N y 5N o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.25N hasta alcanzar un pH entre 6,8 a 7,2
- Determinar el factor de dilución de la muestra utilizando la siguiente ecuación:

$$FD = \frac{DQO^{*\%}}{DBO^*} \quad (\text{Ecuación 20})$$

Donde:

DBO\* es el valor máximo del rango esperado de DBO

DBO: es el valor obtenido en el análisis de DQO

‰: es el porcentaje por el cual se multiplica la ecuación. Para muestras con valores de DQO de 1 000 a 10 000 se utiliza 0,8. Para muestras con valores de DQO mayor a 10 000 se utiliza 0,5

- Redondear el valor a un número entero fácilmente medible
- Determinar el volumen de muestra por medio de la siguiente ecuación:

$$V = \frac{500}{FD} \quad (\text{Ecuación 21})$$

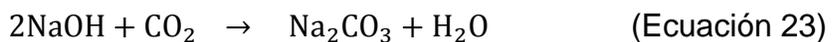
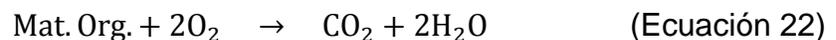
Donde:

FD: es el factor de dilución

- Diluir el volumen de muestra en 500 mililitros.
- Trasvasar con un embudo la muestra diluida al frasco de volumen fijo (Überlaufkolben).
- Verter la solución en la botella color ámbar con un embudo.
- En caso de ser una muestra clara, agregar 250 mililitros de la misma al frasco ámbar sin diluir.
- Agregar :
  - 1 ml de solución tampón de fosfato
  - 1 ml de solución de sulfato de magnesio
  - 1 ml de solución cloruro de calcio
  - 1 ml de cloruro férrico
  - 1 ml de inóculo
  - 4 gotas de inhibidor de nitrificación
- Introducir el agitador magnético en la botella.
- Colocar el vaso de caucho en la boca de la botella.

- Agregar 5 perlas de NaOH y cerrar inmediatamente con el sensor Oxitop.
- Reiniciar el sensor Oxitop presionando los botones S y M simultáneamente durante dos segundos, hasta que aparezca 00 en la pantalla.
- Incubar a 20 grados Celcius durante 5 días con agitación constante.
- Para obtener la DBO actual, presionar el botón M durante 1 segundo, hasta que aparezca el valor en la pantalla.
- Para recuperar los valores guardados después de 5 días, se presiona el botón S durante 1 segundo hasta que aparezcan los valores en la pantalla.

- **Reacciones químicas**



- **Cálculos**

- Factor de dilución

$$\text{Factor de dilucion} = \frac{\text{DQO} * \%}{\text{DBO}_{\text{máx}}} \quad (\text{Ecuación 24})$$

Donde:

DQO: Es el valor de la demanda química de oxígeno en mg/L

%: Es un porcentaje estándar. Se utiliza 0,5 para valores de DQO entre 1000 y 10,000 y 0,8 para valores mayor a 10 000

DBO<sub>máx</sub>: Es el valor de DBO más grande del rango en mg/L

- Valor de DBO para muestras directas:  

$$DBO_5 = \text{Valor más alto medido} * \text{Factor oxitop} \quad (\text{Ecuación 25})$$
- Valor de DBO para muestras diluidas:  

$$DBO_5 = \text{Valor más alto medido} * \text{Factor oxitop} * \text{Factor de dilucion} \quad (\text{Ecuación 26})$$

## Anexo 2. **Procedimiento de análisis de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) por medio del Método Winkler**

- **Reactivos**

- Agua desmineralizada
- Sulfato de magnesio hepta hidratado
- Cloruro de calcio
- Cloruro férrico hexa hidratado
- Fosfato diácido de potasio
- Fosfato ácido de dipotasio
- Cloruro de amonio
- Fosfato ácido de disodio dihidratado

- **Preparación de soluciones**

- **Solución tampón de fosfato:**  
 Pesar 8,5 gramos de  $KH_2PO_4$ , 21,75 gramos de  $K_2HPO_4$ , 22,30 gramos de  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ , 1,7 gramos de  $NH_4Cl$ . Aforar a 1 litro.
- **Solución de sulfato de magnesio:**  
 Pesar 22,5 gramos de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  y aforar a 1 litro.

- **Solución de cloruro de calcio:**  
Pesar 27,5 gramos de  $\text{CaCl}_2$  y aforar a 1 litro.
- **Solución de cloruro férrico:**  
Pesar 0,25 gramos de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y aforar a 1 litro.
- **Equipo**
  - Potenciómetro ORION 3STAR Thermo Scientific
  - Electrodo para medición de oxígeno disuelto
  - Incubadora VWR 2020
- **Materiales y cristalería**
  - Frasco Winkler
  - *Beacker* de 150 mL
  - Jarra plástica de 1 L y de 5 L
  - Vaso plástico
  - Balón aforado de 250 mL y 500 mL
  - Probeta de 25 mL clase A
  - Frasco de volumen fijo (Überlaufkolben)
  - Embudo
- **Procedimiento analítico**
  - Verter aproximadamente 60 mililitros de muestra en un *Beacker* de 100 mililitros
  - Neutralizar con NaOH 1N y 5N o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.25N hasta alcanzar un pH entre 6,8 a 7,2

- Determinar el factor de dilución de la muestra utilizando la siguiente ecuación:

$$FD = \frac{DQO * \%}{DBO^*} \quad (\text{Ecuación 20})$$

Donde:

DBO<sup>\*</sup>: es el valor máximo del rango esperado de DBO en mg/L

DBO: es el valor obtenido en el análisis de DQO en mg/L

‰: es el porcentaje por el cual se multiplica la ecuación. Para muestras con valores de DQO de 1 000 a 10 000 se utiliza 0,8. Para muestras con valores de DQO mayor a 10 000 se utiliza 0,5

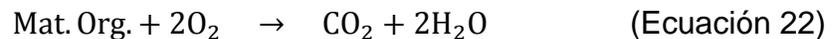
- Redondear el valor a un número entero fácilmente medible
- Determinar el volumen de muestra por medio de la siguiente ecuación:

$$V = \frac{500}{FD} \quad (\text{Ecuación 21})$$

- Diluir el volumen de muestra en 500 ml.
- Trasvasar con un embudo la muestra diluida al frasco de volumen fijo (Überlaufkolben)
- Verter la solución en un frasco Winkler.
- En caso de ser una muestra clara, agregar 250 mililitros de la misma al frasco Winkler sin diluir.
- Agregar :
  - 1 ml de solución tampón de fostato
  - 1 ml de solución de sulfato de magnesio
  - 1 ml de solución cloruro de calcio

- 1 ml de cloruro férrico
- 1 ml de inóculo
- 4 gotas de inhibidor de nitrificación
- Una vez preparada la muestra realizar la medición del oxígeno disuelto inicial y anotar dato.
- Incubar la muestra durante 5 días a 20 grados Celcius
- Realizar la medición del oxígeno disuelto final y anotar dato

- **Reacciones químicas**



- **Cálculos**

- Factor de dilución

$$\text{Factor de dilucion} = \frac{\text{DQO} \cdot \%}{\text{DBO}_{\text{máx}}} \quad (\text{Ecuación 23})$$

Donde:

DQO: es el valor de la demanda química de oxígeno en mg/L

% es un porcentaje estándar. Se utiliza 0,5 para valores de DQO entre 1 000 y 10 000 y 0,8 para valores mayor a 10 000

$\text{DBO}_{\text{máx}}$ : es el valor de DBO más grande del rango en mg/L

- Valor de DBO para muestras directas:

$$\text{DBO}_5 = (\text{OD inicial} - \text{OD final}) - (\text{OD inicial} - \text{OD final})_{\text{Blanco}} \quad (\text{Ecuación 24})$$

Donde:

$\text{DBO}_5$ : es el valor de la demanda bioquímica de oxígeno en mg/L

$OD_{inicial}$ : es el valor del oxígeno disuelto al inicio del análisis en mg/L

$OD_{final}$ : es el valor del oxígeno disuelto al final de los 5 días en mg/L

- Valor de DBO para muestras diluidas:

$$DBO_5 = \frac{(OD_{inicial} - OD_{final}) - (OD_{inicial} - OD_{final})_{Blanco} * (1 - \% / 100)}{(\% / 100)}$$

(Ecuación 25)

Donde:

$DBO_5$ : es el valor de la demanda bioquímica de oxígeno en mg/L

$OD_{inicial}$ : es el valor del oxígeno disuelto al inicio del análisis en mg/L

$OD_{final}$ : es el valor del oxígeno disuelto al final de los 5 días en mg/L

%: es el porcentaje de dilución de la muestra