

TERCERA PARTE

## **NUTRIENTES Y GASES: OXIGENO DISUELTO**

EL OXIGENO DISUELTO HA SIDO uno de los constituyentes no-conservativos (su concentración es variable) más estudiados en ecosistemas acuáticos (Packard, et al., 1969). Este es un requisito nutricional esencial para la mayoría de los organismos vivos, dada su dependencia del proceso de respiración aeróbica para la generación de energía y para la movilización del carbono en la célula. Además, el oxígeno disuelto es importante en los procesos de: fotosíntesis, oxidación-reducción, solubilidad de minerales y la descomposición de materia orgánica. Los niveles de oxígeno disuelto necesarios para sostener la vida de organismos acuáticos varían de una especie a otra. La truchas, por ejemplo, requieren concentraciones mayores a 4.0 mg/L para permanecer saludables, mientras que muchas especies de crustáceos pueden vivir y reproducirse en ambientes acuáticos donde la concentración de oxígeno disuelto oscila entre 2.0 y 0.1 mg/L. Por otro lado, existe una gran variedad de microorganismos (bacterias, hongos y protozoarios) para los cuales el oxígeno no es indispensable (anaerobios facultativos), otros no lo utilizan, siendo indiferentes a su presencia (aerotolerantes) e incluso, para algunos el oxígeno resulta ser tóxico o inhibitorio para el crecimiento (anaerobios estrictos).

La distribución del oxígeno en cuerpos de agua naturales está determinada por el intercambio gaseoso a través de la superficie del agua, la producción fotosintética, el consumo respiratorio y por procesos físicos de advección (movimiento horizontal del aire causado principalmente por variaciones de la presión atmosférica cerca de la superficie) y difusión. Siendo el oxígeno un requisito nutricional esencial para la mayoría de los

organismos, es importante medir las variaciones por unidad de tiempo de los procesos bióticos (fotosíntesis y respiración celular) y abióticos que se desarrollan *in situ*, que afectan su concentración y distribución. Es conveniente conocer dichas variaciones, si nos interesa construir modelos dinámicos del funcionamiento de comunidades acuáticas.

### **Fuentes de oxígeno en ambientes acuáticos:**

La entrada de oxígeno al agua envuelve dos procesos: la entrada de oxígeno atmosférico y la generación de oxígeno dentro del cuerpo de agua por la actividad de organismos fotosintéticos. Para el primer proceso es necesario un gradiente apropiado basado en las diferencias entre las presiones parciales de oxígeno en la atmósfera y en el agua. La dirección y velocidad de transferencia del oxígeno al agua dependen de tres factores:

- (i) la magnitud del gradiente de concentración
- (ii) el grosor de la película superficial [la razón de difusión molecular de oxígeno a 24°C es de sólo  $2.3 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/segundos, requiriéndose años para que trazas de oxígeno logren penetrar 5 metros a través de la superficie]
- (iii) la turbulencia [ej. en áreas de cascadas y represas la alta presión de la corriente de agua lleva a solución los gases atmosféricos]

El aporte de oxígeno al agua a través del proceso de fotosíntesis constituye la otra fuente primaria de oxígeno en el agua. La mayor parte del oxígeno lacustre (referente a los lagos) y de otros cuerpos lóticos proviene de la actividad fotosintética. El oxígeno derivado del proceso de fotosíntesis se produce como resultado de la fotólisis del agua.



Las diferencias en la concentración de oxígeno disuelto entre diferentes hábitats acuáticos, puede explicarse a base de los siguientes criterios:

- a. diferencias en la magnitud de la actividad respiratoria de plantas, animales y microorganismos.
- b. influencia de la morfología del fondo en el perfil vertical de oxígeno (mientras mayor es la irregularidad del fondo, mayor es el área superficial de los sedimentos ricos en materia orgánica que demandan oxígeno).
- c. diferencias en la penetración de luz y por ende, en la actividad fotosintética.
- d. diferencias en la temperatura del agua.
- e. entrada de minerales solubles (aumento en salinidad).
- f. aumento en concentración de minerales a consecuencia de evaporación de agua.
- g. entrada de grandes cantidades de materia orgánica oxidable.

### Solubilidad de oxígeno:

Aunque la abundancia de oxígeno en la atmósfera es relativamente alta, su solubilidad es baja al compararla con la solubilidad del bióxido de carbono (Tabla 1). A pesar de la naturaleza gaseosa del oxígeno, rara vez se expresa su concentración o solubilidad en centímetros cúbicos u otra medida apropiada de volumen. Generalmente, las medidas de oxígeno disuelto se expresan en mg O<sub>2</sub>/L, siendo dicha expresión mayor por un factor de 1.4 a la concentración expresada en volumen (la densidad de oxígeno a 0°C y 1 atmósfera de presión es de 1.4276 mg/L).

**Tabla 1: Abundancia de gases más comunes en aire no-contaminado y su solubilidad en agua.**

<b>GASES</b>	<b>Abundancia Relativa en Aire (%)</b>	<b>Solubilidad * (ml/L)</b>	<b>Contenido Total Gas Disuelto a 0°C (mg/L)</b>
<b>Nitrógeno (N<sub>2</sub>)</b>	<b>78.084</b>	<b>23.3</b>	<b>20</b>
<b>Oxígeno (O<sub>2</sub>)</b>	<b>20.946</b>	<b>49</b>	<b>14.6</b>
<b>Argón (Ar)</b>	<b>0.934</b>	<b>---</b>	<b>---</b>
<b>Bióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>)</b>	<b>0.033</b>	<b>1710</b>	<b>1.10</b>

\* Datos tomados de Cole (1983).

La concentración de oxígeno disuelto se puede expresar también en términos del por ciento de saturación de oxígeno en agua. A menudo éste parámetro es utilizado para describir cualitativamente la calidad de cuerpos de agua, siempre y cuando no estén presentes compuestos tóxicos, tales como metales pesados y pesticidas (Tabla 2).

**Tabla 2: Calidad del agua en función del % saturación de oxígeno.**

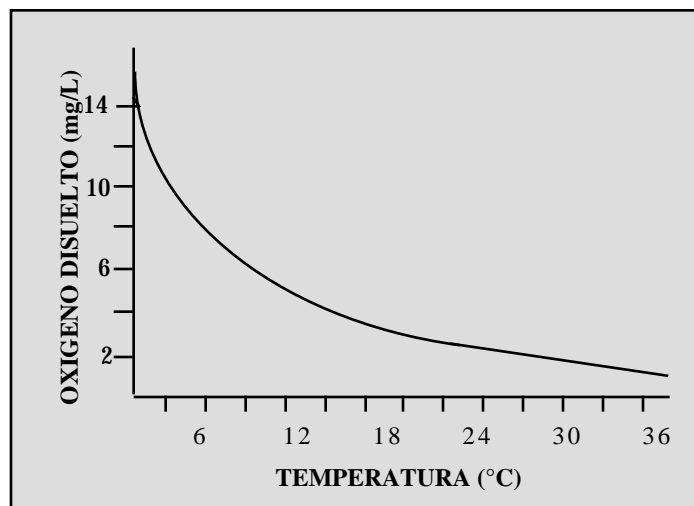
<b>Calidad</b>	<b>% Saturación de Oxígeno (a la temperatura y salinidad prevaletientes en el ambiente)</b>
Buena	90
Regular	89 - 75
Dudosa	74 - 50
Contaminada	< 50

\* Datos tomados de Lynch y Poole (1979).

En ocasiones se pueden registrar valores que indiquen que un cuerpo de agua está saturado con oxígeno a una temperatura, salinidad y altitud dadas. En ambientes acuáticos naturales la sobresaturación puede ser producida por una alta tasa de actividad fotosintética. Un signo de la supersaturación es la formación de burbujas sobre superficies sumergidas o dentro del sistema vascular y los tejidos de organismos

acuáticos. La supersaturación de gases puede afectar adversamente la vida acuática y puede también interferir con los procesos de tratamiento de aguas usadas. Se han reportado niveles de sobresaturación letales para organismos acuáticos en manantiales, ríos, pozos, lagos, estuarios y agua de mar (áreas de praderas de *Thalassia*) [APHA, 1992]. Por otro lado, medidas de oxígeno por debajo del nivel de saturación pueden indicar contaminación con materia orgánica o una alta tasa de actividad respiratoria provocada por procesos naturales (ej. la caída de hojas en cuerpos acuáticos durante el otoño).

**Figura 1: Efecto de la temperatura sobre las concentraciones de oxígeno disuelto en agua.**



\* Modificada de Horne y Goldman (1994).

Los valores indicados son representativos de agua pura a nivel del mar a una presión de 760 mm Hg.

## **EFFECTO FACTORES ABIOTICOS SOBRE LA SOLUBILIDAD DE OXIGENO**

### **Temperatura:**

La cantidad de oxígeno presente en el agua es afectada por la temperatura, la salinidad y la presión atmosférica. La concentración de oxígeno en agua es inversamente proporcional con la temperatura (Figura 1). Si elevamos la temperatura del agua a su punto de ebullición generamos una solución libre de oxígeno. Podemos generalizar que a cualquier presión atmosférica, aguas frías saturadas con oxígeno contienen una mayor cantidad de oxígeno disuelto que aguas tibias o calientes. No obstante, la relación inversa entre temperatura y la concentración de oxígeno disuelto puede verse alterada en ambientes naturales por efecto de los procesos de fotosíntesis y respiración.

Los cambios estacionales generan alteraciones significativas en la temperatura de los cuerpos de agua. Dichas alteraciones en temperatura tendrán, a su vez, un efecto sobre los niveles de oxígeno disuelto. Aumentos en la temperatura del agua traen como consecuencia una disminución en los niveles de oxígeno disuelto. Algunos incidentes de mortandad masiva de peces en cuerpos de agua interiores, durante la época de verano, se pueden relacionar con una reducción en los niveles de oxígeno. De forma inversa, en cuerpos de agua no-contaminados se registran aumentos en los niveles de oxígeno disuelto durante el periodo de invierno.

### Salinidad:

La presencia de algunos minerales en una solución reducen la solubilidad de los gases. Las sales disueltas en agua reducen los espacios intermoleculares disponibles para la disolución del oxígeno. La Tabla 3 nos ilustra el efecto combinado de la temperatura y la salinidad sobre el oxígeno disuelto. El efecto de la exclusión de oxígeno en función de la concentración de sales disueltas es mínimo excepto en ambientes hipersalinos, tales como los salitrales.

**Tabla 3: Solubilidad de oxígeno en función de la temperatura y la salinidad.**

Temperatura °C	Solubilidad De Oxígeno (mg/L)					
	Salinidad (‰)					
	0.030	9.055	18.080	27.105	36.130	45.155
0.0	14.621	13.728	12.888	12.097	11.355	10.657
5.0	12.770	12.024	11.320	10.656	10.031	9.441
10.0	11.288	10.656	10.058	9.493	8.959	8.454
15.0	10.084	9.541	9.027	8.540	8.079	7.642
20.0	9.092	8.621	8.174	7.749	7.346	6.964
25.0	8.263	7.850	7.457	7.083	6.728	6.390
30.0	7.559	7.194	6.845	6.513	6.100	5.806
35.0	6.950	6.624	6.314	6.017	5.734	5.464
40.0	6.412	6.121	5.842	5.576	5.321	5.078
45.0	5.927	5.665	5.414	5.174	4.944	4.724
50.0	5.477	5.242	5.016	4.799	4.591	4.392

\* Datos tomados del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1992); la salinidad promedio del agua de mar es de 35‰.

### Presión atmosférica:

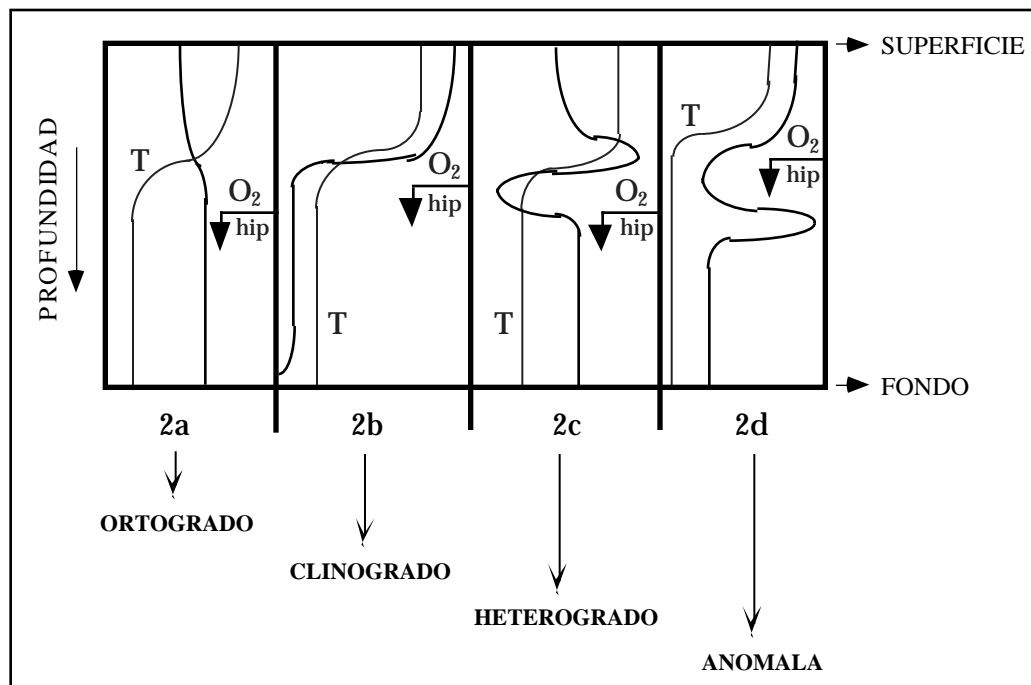
La solubilidad de un gas está determinada por su presión parcial ( $p$ ) [Ley de Henry]. A su vez, la presión parcial de un gas es afectada por cambios en altitud (cambios en presión atmosférica). Observamos que en cuerpos de agua no contaminados la

concentración de oxígeno disminuye con la altitud. Es conveniente aclarar que dicha relación puede ser alterada por los procesos de fotosíntesis y respiración. La relación entre los niveles medidos de oxígeno disuelto, el por ciento de saturación de oxígeno en agua, la temperatura del agua y la altitud se interpretan tradicionalmente utilizando un nomograma.

### Distribución vertical de oxígeno en cuerpos de agua estratificados:

Se reconocen cuatro (4) patrones de distribución de oxígeno en cuerpos de agua que presentan una estratificación termal (Figura 2). En cuerpos de agua oligotróficos (presentan una baja actividad fotosintética y por ende, una baja productividad), la distribución del oxígeno a lo largo de la columna de agua varía en función de la temperatura. Este patrón se conoce como distribución **ortogrado** (Figura 2a). No se observan cambios apreciables en la concentración de oxígeno disuelto a lo largo del perfil de profundidad.

**Figura 2: Perfiles de distribución de oxígeno en cuerpos de agua estratificados.**



\* Modificada de Horne y Goldman (1994).  
T=temperatura; O<sub>2</sub>=oxígeno; hip=hipolimnio

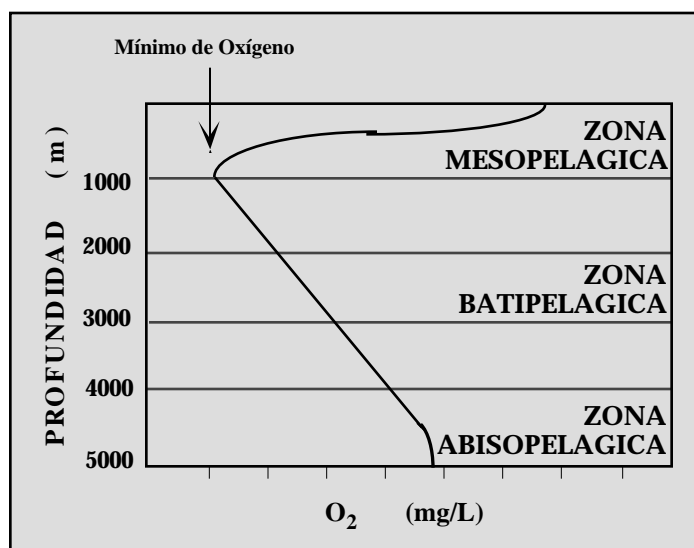
La curva **clinogrado** (Figura 2b) se caracteriza por un contenido relativamente mayor de oxígeno cerca de la superficie, donde se desarrolla la actividad fotosintética. Este patrón de distribución vertical de oxígeno se observa en cuerpos de agua estratificados,

con una alta productividad. Se produce una reducción significativa de oxígeno en el hipolimnio, como resultado de la descomposición aeróbica de la materia orgánica generada por los fototrofos.

La curva **heterogrado** (Figura 2c) exhibe una pendiente irregular a lo largo del perfil de profundidad. Se puede producir una distribución heterogrado negativa (disminución  $O_2$  disuelto) como resultado de la acumulación de organismos heterotróficos que lleve a que la respiración domine sobre la actividad fotosintética. De igual forma se podría producir una distribución heterogrado positiva como resultado de la acumulación de organismos fototróficos.

Se pueden producir patrones **anómalos** en la distribución vertical del oxígeno disuelto como resultado del asentamiento de aguas superficiales frías, ricas en oxígeno (Figura 2d). El mismo fenómeno puede también producirse por la estratificación a profundidades intermedias de afluentes que tienen una concentración de oxígeno diferente.

**Figura 3: Perfil de oxígeno en aguas oceánicas.**



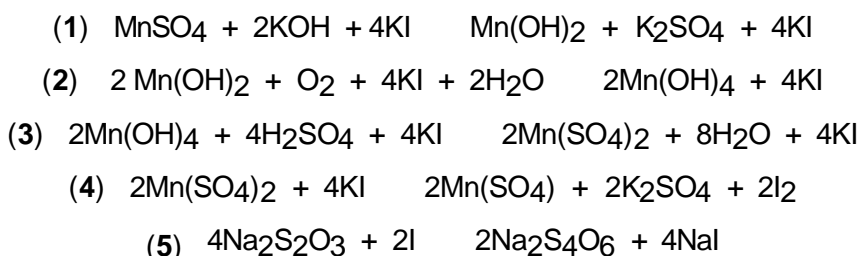
En ausencia de períodos de mezcla estacionales de la columna de agua y de perturbaciones atmosféricas que generen vientos fuertes o una precipitación intensa, los cuerpos de agua lénticos en ambientes tropicales tienden a mantener su estratificación termal. Bajo esas condiciones, dichos cuerpos de agua presentan un déficit de oxígeno hipolimnético perenne. En consecuencia, en el hipolimnio prevalecen condiciones anóxicas y altas concentraciones de metano ( $CH_4$ ) o sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ). Dicho tipo de ambiente se caracteriza por presentar una curva clinogrado.

En ambientes oceánicos, la zona epipelágica es la única porción de la columna de agua, donde hay suficiente luz para sostener el proceso de fotosíntesis. Una vez penetramos a la zona mesopelágica (profundidad > 200 m) la concentración de oxígeno disuelto comienza a disminuir significativamente. Dicha reducción se produce como consecuencia de la disminución en la densidad de fototrofos y el consumo de oxígeno por parte de descomponedores. Dentro de la zona mesopelágica se registra el **mínimo de oxígeno disuelto** (zona ubicada entre 700 y 1000 m). El contenido de oxígeno disuelto aumenta por arriba y por debajo del área del mínimo (Figura 3).

#### **Determinación de oxígeno disuelto por el método Winkler:**

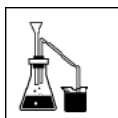
Existe una técnica sencilla y al mismo tiempo eficiente, para medir oxígeno disuelto en agua. La misma fue desarrollada por Winkler varias décadas atrás. La técnica consiste en la adición de una solución de manganeso divalente ( $\text{MnSO}_4$ ) [sulfato manganoso] a una muestra de agua, seguida de la adición de una base fuerte (ioduro de potasio alcalino), generándose un precipitado de hidróxido manganoso. El oxígeno disuelto en la muestra oxidará una cantidad equivalente del hidróxido manganoso a hidróxido mangánico. En la presencia de iones de yoduro y la acidificación de la muestra con ácido sulfúrico, el manganeso oxidado revierte al estado divalente, liberándose al mismo tiempo una cantidad de yodo equivalente al contenido original de oxígeno disuelto en la muestra. Finalmente el yodo liberado es cuantizado mediante una titulación con tiosulfato (Figura 4).

**Figura 4: Secuencia de reacciones en la determinación de oxígeno por el Método Winkler.**



Las reacciones 3 y 4 ocurren simultáneamente. La prueba descansa sobre dos hechos: (1)  $\text{MnSO}_4$  se oxida fácilmente a  $\text{Mn(OH)}_4$  y (2) las sales mangánicas [ $\text{Mn(SO}_4)_2$ ] son inestables en soluciones ácidas conteniendo yoduros (KI), revirtiendo a sales manganosas [ $\text{MnSO}_4$ ] y liberando yodo ( $\text{I}_2$ ).

Existen varias modificaciones al método Winkler dirigidas a minimizar la interferencias causadas por la presencia de agentes oxidantes o reductores en la muestra de agua o por la presencia de compuestos orgánicos que obstaculizan la sedimentación del precipitado mangánico y que dificultan la determinación del punto final de equivalencia en la titulación iodométrica. La modificación ácida remueve eficientemente la interferencia causada por nitritos ( $\text{NO}_2$ ), los cuales representan la interferencia más común en efluentes tratados biológicamente y en determinaciones de demanda bioquímica de oxígeno (DBO). La modificación de permanganato reduce la interferencia del ión ferroso. Cuando la concentración del ión férrico en la muestra excede los 5 mg/L se añade fluoruro de potasio como el primer reactivo en la modificación ácida o después del tratamiento de permanganato para remover el ión ferroso. También se puede eliminar la interferencia del ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) utilizando ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) en lugar de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), en la fase de acidificación de la muestra. Refiérase a APHA, 1992 para los detalles de algunas de estas modificaciones.



## METODOLOGIA

### Modificación Ácida

#### Reactivos:

- Solución sulfato manganeso ( $\text{MnSO}_4$ )
- Solución ioduro alcalino ácida ( $\text{KOH} - \text{KI} - \text{N}_3$ )
- Acido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- Solución almidón
- Solución standard de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (0.0250 N)

(\*Refiérase al manual "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" [APHA, 1992] para obtener la fórmula de preparación de estos reactivos. Los mismos se pueden obtener ya preparados de conocidas compañías comerciales dedicadas a la manufactura y venta de reactivos químicos.)

#### Materiales:

- Botellas de oxígeno disuelto de 300 mL con tapón de cristal esmerilado
- Pipetas de 1 mL
- Matraces cónicos de 250 mL
- Buretas con su base y soporte
- Cilindros graduados de 200 mL

**Procedimiento (Figura 5):**

1. Si toma las muestras de agua sumergiendo las botellas de muestreo directamente en el cuerpo de agua, asegúrese de sumergirla cerrada. Remueva el tapón de cristal esmerilado debajo del agua y mueva la botella de lado a lado tratando de remover toda burbuja de aire atrapada en la botella. Cuando utiliza botellas de muestreo (Kemmerer o VanDorn) para llenar sus botellas de oxígeno disuelto, asegúrese de llenar esta última hasta que se desborde, de tal forma que su volumen sea reemplazado por lo menos tres (3) veces.
2. Añada a la muestra **2.0 mL** de  $MnSO_4$ , introduciendo la punta de la pipeta dentro de la muestra de agua (**asegúrese de lavar la pipeta o de utilizar una pipeta nueva cuando tome otra alícuota de la solución de sulfato manganoso**).
3. Añada inmediatamente y de igual forma **2.0 mL** de ioduro alcalino ácida ( $KOH - KI - N_3$ ) (**asegúrese de lavar la pipeta o de utilizar una pipeta nueva cuando tome otra alícuota de la solución de ioduro alcalino ácida**).
4. Cierre la botella con su tapón de vidrio esmerilado evitando atrapar burbujas de aire e invierta **suavemente** varias veces (10 veces) para mezclar las soluciones contenidas en la botella. Los pasos 2, 3 y 4 deben realizarse inmediatamente después de tomar la muestra, para así fijar el oxígeno disuelto contenido en la botella. En el caso de que no pueda continuar con el resto del procedimiento inmediatamente, coloque las botellas en frío, protegidas de la luz.
5. Deje la botella en reposo, permitiendo que el precipitado se asiente hasta que la porción de líquido claro ocupe la mitad de la botella. Repita el paso 4 (la inversión de la botella) dejando asentar el precipitado nuevamente hasta la mitad de la botella.
6. Añada **2.0 mL** de  $H_2SO_4$  concentrado **dejándolos correr por el cuello interno de la botella de oxígeno disuelto**. Tape la botella y mezcle por inversión suave (10 veces). Utilice guantes resistentes al ácido para realizar esta operación. Deje la botella en reposo por 3 a 5 minutos. La muestra acidificada presentará un color amarillo oro.
7. Transfiera **203 mL\*** de la muestra acidificada a un matraz cónico de 250 mL y títule la solución anterior con tiosulfato de sodio ( $Na_2S_2O_3$ ) 0.0250N hasta que se produzca un color amarillo pálido. Recuerde agitar su matraz cónico frecuentemente mientras lleva a cabo la titulación.
8. Añada **1.0 ml** de la solución de almidón a la muestra. Mezcle, agitando en forma circular su matraz. La solución adquirirá ahora un color azul opaco. Continúe la

titulación con tiosulfato hasta que desaparezca el color azul. Ignore cualquier retorno a un color azulado, luego de haber alcanzado el punto final de la titulación.

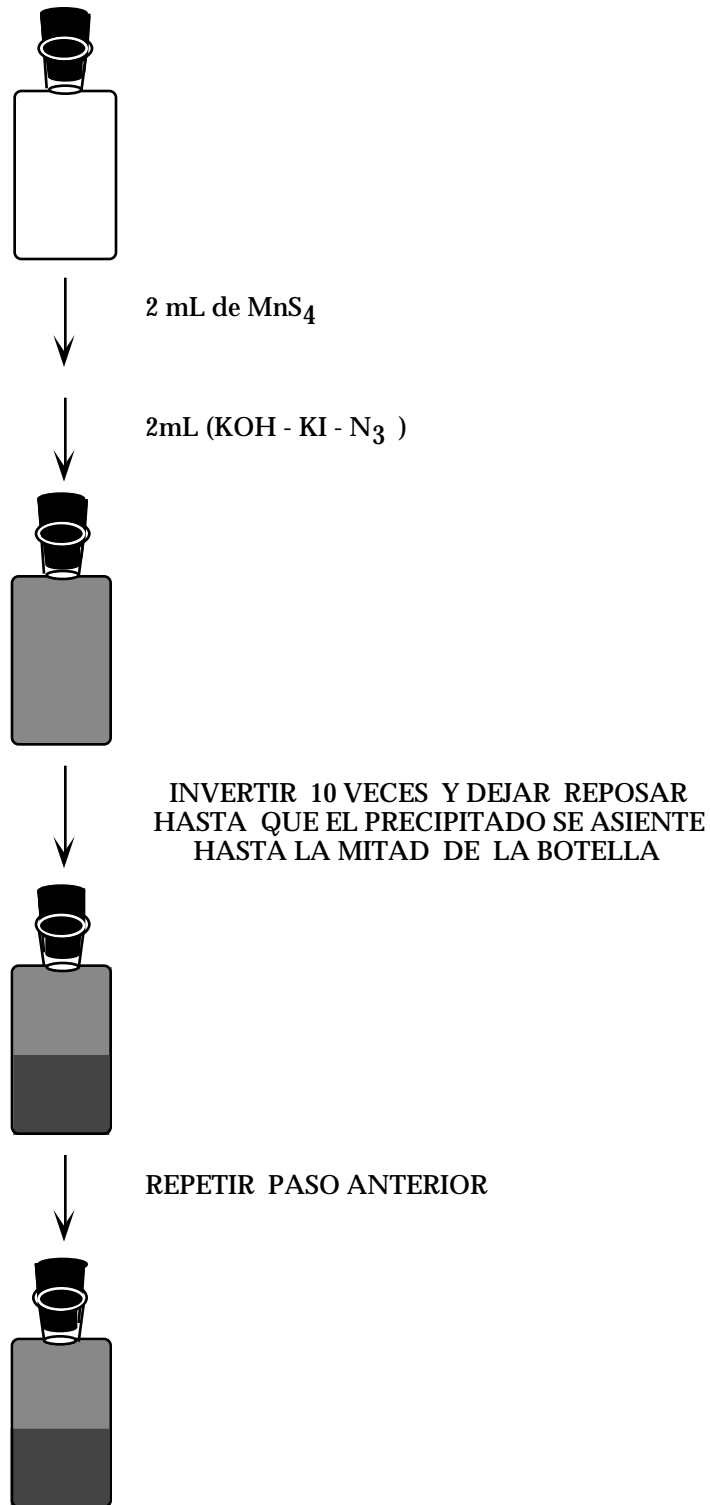
9. **Cálculos:** El oxígeno disuelto en la muestra será igual al volumen total de tiosulfato utilizado en la titulación de la muestra. Para 200mL de la muestra original:

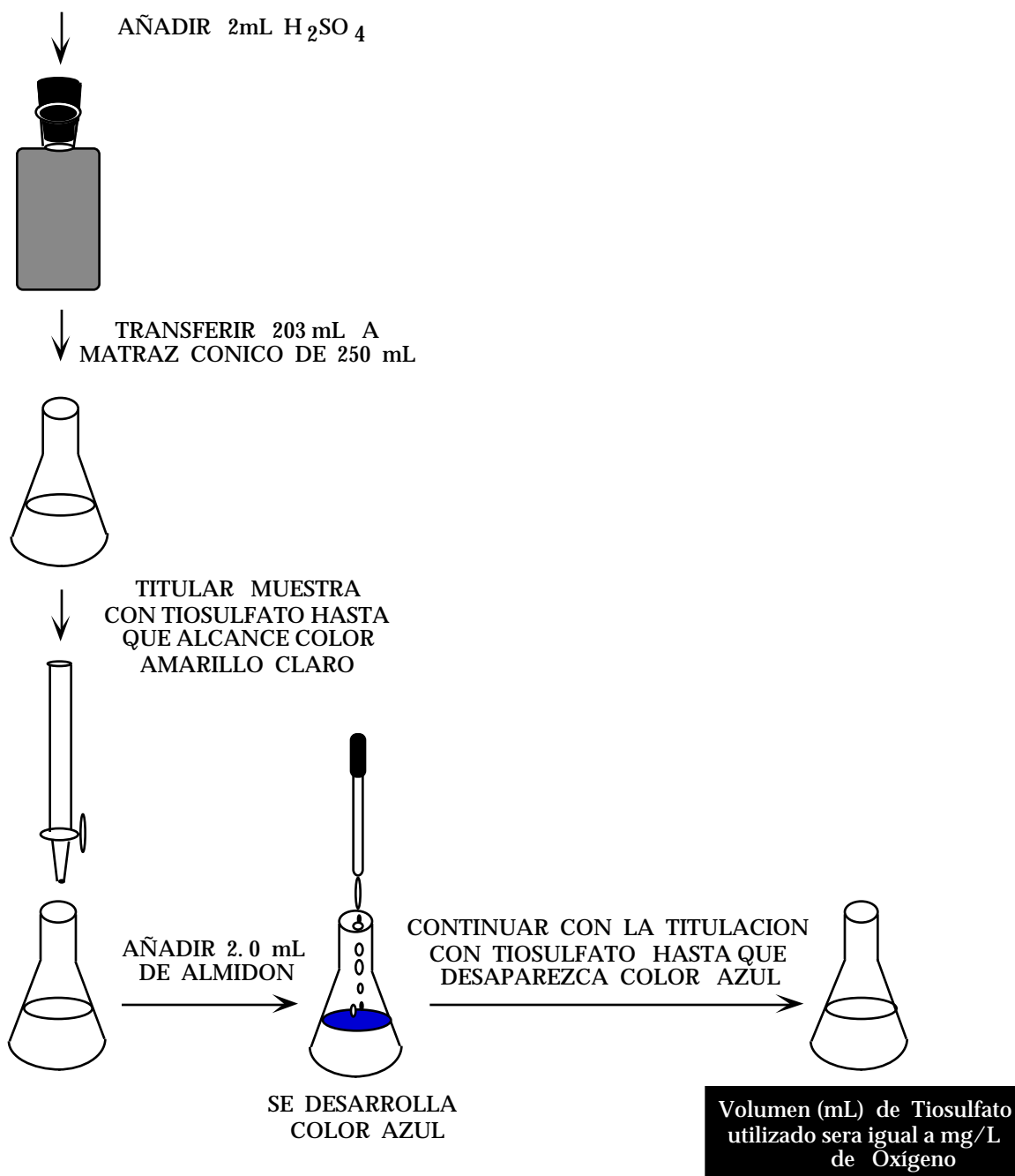
**1 mL de tiosulfato de sodio = 1 mg/L de oxígeno disuelto**

**\*Nota:** La muestra a titularse debe corresponder a 200mL de la muestra original de agua. Se titulan 203 mL de la muestra acidificada para corregir por el volumen de muestra desplazado por los 2mL del sulfato manganoso y los 2 mL del yoduro alcalino ácida que se añadieron a la muestra.

$$200 \times 300 / (300 - 4) = 203 \text{ mL}$$

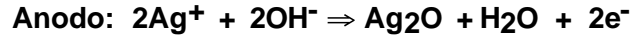
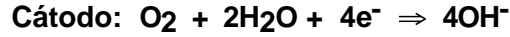
**Figura 5: Flujograma para la determinación de oxígeno disuelto por el Método Winkler.**





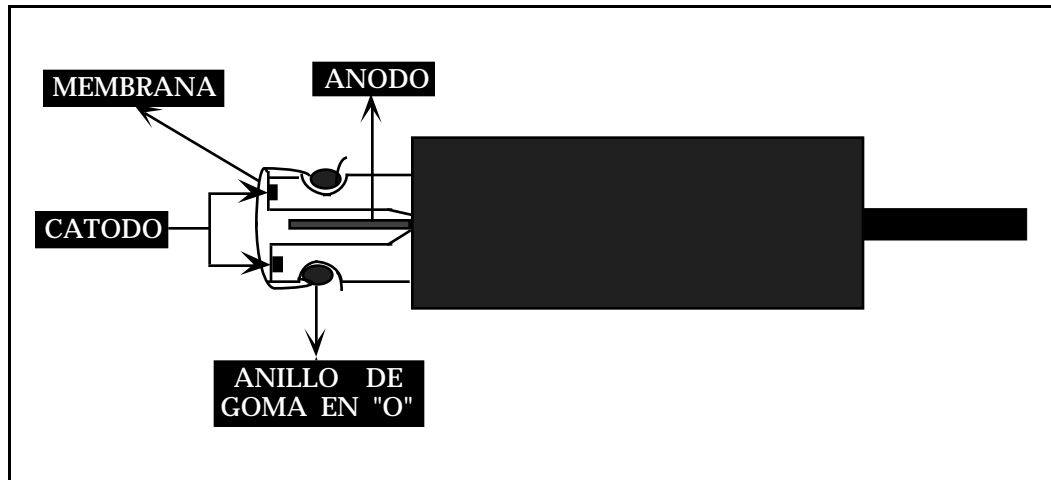
### Determinación de oxígeno disuelto utilizando un Metro de Oxígeno Polarográfico:

El metro polarográfico emplea un cátodo de platino u oro y un ánodo de plata sensitivo a electrones. Una fuente de energía externa causa la reducción de oxígeno, creando un flujo de electrones entre los electrodos. El cátodo se mantiene a 0.8 voltios con respecto al ánodo. La reducción de oxígeno se produce de acuerdo a las siguientes reacciones:



El sensor que sumergimos en el agua contiene los dos electrodos (ánodo y cátodo) fijos en una matriz de epoxy cilíndrica y conectados entre sí por una solución de cloruro de potasio (KCl) (Figura 6). Los electrodos quedan separados del agua por medio de una membrana tipo Clark hecha de una lámina de teflón muy fina. El oxígeno presente en el agua se reduce (gana electrones) según se difunde a través de la membrana de teflón. La corriente resultante es proporcional a la presión parcial de oxígeno en la muestra. El instrumento viene calibrado para traducir las medidas de presiones parciales a medidas de concentración en mg/L. Hoy día los metros de oxígeno polarográficos proveen la opción de un termistor integrado a la sonda para compensar las medidas de oxígeno por diferencias en la temperatura del agua. También se provee la opción de corregir manualmente las medidas de oxígeno por diferencias en salinidad.

**Figura 6: Sensor polarográfico para oxígeno disuelto.**



La deteminación de oxígeno disuelto por métodos elecrométricos brinda varias ventajas: rapidez del análisis, el instrumento es portátil, se puede realizar un monitoreo continuo con la ayuda de equipo de grabación de señales y el método enfrenta menos interferencias que los métodos químicos. Por otro lado, el uso de metros polarográficos también presenta desventajas: se requiere de calibraciones frecuentes del instrumento (basadas en el método Winkler) y la presencia de otros gases disueltos en el agua ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{S}$ ) puede generar interferencias.

**PROCEDIMIENTO A SEGUIR**

**OXIGENO DISUELTO:**      **Método Winkler**  
   **(según se describe en esta unidad)**

**Metro de Oxígeno**  
   **(vea instrucciones de operación)**

**PREGUNTAS...**

1. Discuta cómo la temperatura, la altitud, la salinidad y la actividad biológica afectan la concentración de oxígeno disuelto en cuerpos de agua naturales.
2. Realizamos una determinación de oxígeno disuelto por el método Winkler y observamos que luego de la acidificación no se produce un color amarillo oro en la muestra. Le añadimos almidón a la muestra acidificada y tampoco se desarrolla el color azul, quedando la muestra incolora o blancuzca. ¿Cómo explicaría usted este resultado?