UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS
VERITATE SOLA NOBIS IMPONETUR VIRILIS TOGA. 1948
Facultad de Química-Farmacia
Departamento de Licenciatura en Química
Centro de Bioactivos Químicos

TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL TÍTULO ACADÉMICO DE MASTER EN QUÍMICA ANALÍTICA

Título: Caracterización del agua empleada en el Centro de Bioactivos Químicos mediante Técnicas Analíticas

Autor: Lic. Emilia Montero Medina

Tutoras: Dra. C. Zenaida Rodríguez Negrín.
MSc. Gisela Peralta Messeguer.

"Año 49 de la Revolución"
2007

CON SU ENTRAÑABLE TRANSPARENCIA

Resumen

En este trabajo se realiza una caracterización analítica del agua empleada en el Centro de Bioactivos Químicos (CBQ), ya que el agua es uno de los recursos básicos en los que se apoya el desarrollo de la industria química de producción de principios activos para la formulación de medicamentos humanos, agrícolas y veterinarios. Los parámetros determinados para evaluar su calidad cualitativamente fueron la turbidez, el gusto, el color y el olor, mientras que los cuantitativos fueron pH, sólidos disueltos, conductividad, cloruros, alcalinidad total, nitritos, amoniaco, nitratos, dureza total, dureza cálcica y dureza magnésica, demanda bioquímica de oxígeno (DBO), oxígeno disuelto y la contaminación microbiana (coliformes totales y fecales) del agua empleada en las diferentes épocas del año. Se determinaron algunos parámetros de validación con el fin de obtener mayor grado de confiabilidad en los resultados, a las técnicas para la determinación de amoniaco, nitrito y nitratos resultando las mismas lineales, precisas y exactas. Los resultados obtenidos de los diferentes parámetros analizados al agua en las cisternas correspondiente a cada área nos permiten establecer criterios en cuanto a su utilización.

Palabras clave: análisis de aguas, calidad del agua, parámetros químicos, físicos y microbiológicos

Abstract

This paper makes an analytical characterization of the water used at the Center for Chemical Bioactive (CBQ), and that water is one of the basic resources that support the development of the chemical industry production of active ingredients in the formulation in human medicine, agricultural and veterinary. The determined parameters to assess their quality qualitatively were turbidity, taste, color and smell, while the quantitative were pH, dissolved solids, conductivity, chloride, total alkalinity, nitrite, ammonia, nitrates, total hardness, calcium hardness and hardness magnesic, biochemical oxygen demand (BOD), dissolved oxygen and microbial contamination (fecals coliform and total) of water used at different times of the year. It identified some validation parameters in order to obtain greater reliability in the results, the techniques for the determination of ammonia, nitrite and nitrate be the same linear, precise and accurate. The results of the various parameters analyzed in the water tanks for each area enable us to establish criteria for their use.

Keywords: Analysis of water; quality water; chemical, physical and microbiological parameters

Introducción……. 1
Capítulo I: Revisión Bibliográfica……. 3
1.1-Importancia del agua……. 3
1.2-Tipos de aguas……... 3
1.3-Purificación del agua……. 4
1.4-Contaminación del agua…… 6
1.5-Enfermedades transmitidas por el agua……. 9
1.6-Análisis cualitativos y cuantitativos que definen la calidad del agua…... 9
1.7-Validación y evaluación de los parámetros analíticos…….. 18
Capítulo II: Materiales y Métodos……. 21
2.1-Determinación de parámetros químico físicos en aguas……... 21
2.1.1-Determinación de amoniaco en aguas…….. 21
2.1.2- Determinación de nitrito en aguas ……... 22
2.1.3- Determinación de nitrato en aguas …….. 23
2.1.4-Determinación de pH…… 24
2.1.5-Determinación de conductividad……... 25
2.1.6-Determinación de alcalinidad total y a la fenolftaleína……. 26
2.1.7-Determinación de la dureza total, cálcica y magnésica……. 27
2.1.8-Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno…….. 30
2.1.9-Determinación del oxígeno disuelto…….. 35
2.1.10-Determinación de cloruros…….. 38
2.1.11-Sólidos totales disueltos y conductividad eléctrica……. 40
2.1.12-Determinación del color…….. 41
2.1.13- Determinación de la turbidez…….. 41
2.1.14-Determinación de coliformes totales…… 42
2.1.15- Determinación de coliformes fecales…….. 43
2.2-Procedimiento a seguir para la determinación de algunos parámetros de validación de las técnicas analíticas para la determinación de amoníaco, nitrito y nitrato……. 45
Capítulo III: Análisis y discusión de los resultados……. 47
3.1- Determinación de algunos parámetros revalidación de la técnica analítica para la determinación de amoníaco……..... 47
3.1.1- Estudio de linealidad……. 47

3.1.2- Precisión: repetibilidad y precisión intermedia……. 49
3.1.3- Exactitud……... 50
3.1.4- Límite de cuantificación……... 51
3.2- Determinación de algunos parámetros revalidación de la técnica analítica para la determinación de nitrito……. 52
3.2.1- Estudio de linealidad…… 52
3.2.2- Precisión: repetibilidad y precisión intermedia……... 53
3.2.3- Exactitud……... 54
3.2.4- Límite de cuantificación……... 55
3.3- Determinación de algunos parámetros revalidación de la técnica analítica para la determinación de nitrato……. 56
3.3.1- Estudio de linealidad……. 56
3.3.2- Precisión: repetibilidad y precisión intermedia……... 57
3.3.3- Exactitud…….. 58
3.3.4- Límite de cuantificación……... 59
3.4-Evaluación de los parámetros analizados a las aguas de las diferentes cisternas……. 59
Conclusiones…… 62
Recomendaciones…… 63
Bibliografía
Anexos

Introducción:

El Centro de Bioactivos Químicos de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas tiene como misión el desarrollo de nuevas entidades moleculares potencialmente bioactivas a ciclo completo, y utiliza para ello en lo fundamental materias primas nacionales y consta de un área de investigación, otra de producción y de comercialización para cerrar el ciclo.

En la planta de producción se producen compuestos que presentan actividad biológica como el 2-bromo-5-(2- bromo-2-nitrovinil)-furano (G-1) y el 2-(2-nitrovinil)-furano (G-0), mientras que en el área investigativa se sintetizan y evalúan otros principios activos.

El agua que abastece a la universidad proviene de la fuente de abasto de la Presa Minerva, esta después de pasar por la planta de tratamiento es almacenada en la cisterna central, distribuyéndose posteriormente por toda la institución, incluyendo las cisterna del área química de la cual se abastece la división química del CBQ y la facultad de Química Farmacia, la cisterna del área biológica de la cual se abastece la división biológica, el CIAP (Centro de Investigaciones Agropecuarias) y viviendas de trabajadores de la UCLV y las cisternas de la planta de producción del Centro de Bioactivos Químicos. Esta agua es utilizada para el fregado de toda la cristalería del laboratorio de análisis de control de la calidad, control del proceso, investigación y producción de los principios activos, para el aseo personal de los trabajadores, para beber y cocinar los alimentos. Desde el punto de vista industrial (en la planta de producción del CBQ) es empleada para recircular en los condensadores y para llenar los baños de agua de maría.

Para llevar a cabo los procesos de obtención, purificación, control de la calidad de los principios activos, la tecnología para el tratamiento de los residuales tanto a escala de planta piloto como en áreas investigativas resulta necesario caracterizar el agua empleada. El agua es uno de los recursos naturales fundamentales y es uno de los cuatro recursos básicos en que se apoya el desarrollo de la industria química.

Se considera que el agua está contaminada (Acha, Szyfres. 1992), cuando ya no puede utilizarse para el uso que se le iba a dar, en su estado natural o cuando se ven alteradas sus propiedades químicas, físicas, biológicas y/o su composición. En líneas generales,

el agua está contaminada cuando pierde su potabilidad para consumo diario o para su utilización en actividades domésticas, industriales o agrícolas.

Por todo lo anterior se plantea el siguiente **Problema Científico**:
En el CBQ no existe una caracterización analítica de la calidad del agua que se emplea en la planta de producción, ni en las áreas investigativas y existen criterios cualitativos que la misma difiere en dependencia de la época del año, esto influye en la calidad del proceso de tratamiento de los residuales.

Como vía para solucionar el problema científico se formula la siguiente **Hipótesis:**
Es posible realizar una caracterización del agua empleada en el proceso productivo e investigativo del Centro de Bioactivos Químicos en diferentes épocas del año y llegar a criterios en cuanto a su utilización.

Teniendo en cuenta lo anterior, se propone el siguiente **Objetivo general:**

1. Caracterizar Química, física y microbiológicamente el agua empleada en el proceso productivo e investigativo del CBQ, en diferentes épocas del año.

Para el logro del mismo este trabajo se propone los siguientes **Objetivos Específicos**:

2. Determinar algunos parámetros de validación a las técnicas para la determinación de Amoniaco, Nitritos y Nitratos.
3. Muestrear el agua de las diferentes cisternas y llaves correspondientes a cada área del CBQ.
4. Emplear técnicas analíticas desarrolladas para la caracterización del agua en las diferentes épocas del año (sequía, lluvia) desde el punto de vista físico, químico y microbiológico.
5. Establecer cuál son las características del agua que se emplea en la planta de producción y en las áreas investigativas en las diferentes épocas del año.

Capítulo I. Revisión Bibliográfica

1.1-Importancia del agua

Debido a sus temperaturas de solidificación y de vaporización, es la única sustancia que se encuentra de forma natural sobre la tierra en los tres estados de agregación. Desempeña un papel vital en el desarrollo de los seres vivientes; siendo el componente mayoritario de los seres vivos (entre el 50 - 70 %). (OMS, 1999). En ellos es el vehículo utilizado por la naturaleza como portador de nutrientes.

La naturaleza física y química del agua, su abundancia y distribución hacen de esta especie química la más importante de todas las conocidas. Juega un papel muy importante en el desarrollo de los seres vivientes, siendo imprescindible para la higiene, para el desarrollo de las plantas (fotosíntesis) y está asociado a multitud de minerales y rocas. Se afirma que el agua es la base de la vida, ya que sin su presencia y propiedades singulares, esta seria imposible sobre la tierra.

Es el medio universal y único en el que se realizan las reacciones bioorgánicas. Su calidad condiciona la calidad de los alimentos. En su seno se realizan muchos procesos geoquímicas y ejerce gran influencia en el desarrollo de la agricultura, de la industria, de las fuentes de energía, etc. Gran número de compuestos toma el estado coloidal en su contacto.

Se considera que el agua está contaminada, cuando ya no puede utilizarse para el uso que se le iba a dar, en su estado natural o cuando se ven alteradas sus propiedades químicas, físicas, biológicas y/o su composición. En líneas generales, el agua está contaminada cuando pierde su potabilidad para consumo diario o para su utilización en actividades domésticas, industriales o agrícolas.

1.2- Tipos de aguas

Existen diferentes tipos de agua, de acuerdo a su procedencia y uso: de manantial, potable y residual (OMS, 1999). El agua de manantial es el flujo natural de agua que surge del interior de la tierra desde un solo punto o por un área restringida. Puede aparecer en tierra firme o ir a dar a cursos de agua, laguna o lagos. Su localización está en relación con la naturaleza de las rocas, la disposición de estratos permeables e impermeables y el perfil del relieve, ya que un manantial tiene lugar donde un nivel freático se corta con la superficie.

Los manantiales pueden ser permanentes o intermitentes, y tener origen atmosférico (agua de lluvia que se filtra en la tierra y surge en otro lugar a menor altitud) o ígneo, dando lugar a manantiales de agua caliente o aguas termales, calentadas por contacto con rocas ígneas.

La naturaleza a través del ciclo del agua, trabaja para limpiarla, sin embargo no tiene la capacidad suficiente para eliminar todas las sustancias y contaminantes que se vierten al agua. Por ello el agua captada de los ríos es llevada por una línea de conducción, a una planta de tratamiento para purificarla y hacerla potable y apta para el consumo humano. Ya potable el agua es conducida a tanques de distribución que a través de redes de distribución surten a los diferentes sectores de la ciudad.

Cuando un producto de desecho se incorpora al agua, el líquido resultante recibe el nombre de agua residual.

Las aguas residuales pueden tener origen doméstico, industrial, subterráneo o meteorológico y reciben los siguientes nombres respectivamente: domésticas, industriales, de infiltración y pluviales.

1.3- Purificación del agua

Purificación de agua por Sedimentación.

La sedimentación consiste en dejar el agua de un contenedor en reposo, para que los sólidos que posee se separen y se dirijan al fondo. (Urbieta, 2005) La mayor parte de las técnicas de sedimentación se fundamentan en la acción de la gravedad. (BROS, 2005) La sedimentación puede ser simple o secundaria. La sedimentación simple se emplea para eliminar los sólidos más pesados sin necesidad de otro tratamiento especial; mientras mayor sea el tiempo de reposo mayor será el asentamiento y consecuentemente la turbidez será menor, haciendo el agua más transparente. (Putzeys, 2005)

El reposo natural prolongado también ayuda a mejorar la calidad del agua, pues provee oportunidad de la acción directa del aire y los rayos solares, lo cual mejora el sabor y elimina algunas sustancias nocivas del agua.

La sedimentación secundaria ocurre cuando se aplica un coagulante para producir el asiento de la materia sólida contenida en el agua.

Purificación de agua por Filtración.

La filtración es el proceso de separar un sólido del líquido en el que está suspendido al hacerlos pasar a través de un medio poroso (filtro) que retiene al sólido y por el cual el líquido puede pasar fácilmente. (Bros, 2005)

Se emplea para obtener una mayor clarificación, generalmente se aplica después de la sedimentación para eliminar las sustancias que no salieron del agua durante su decantación

Purificación de agua por Desinfección.

Se refiere a la destrucción de los microorganismos patógenos del agua ya que su desarrollo es perjudicial para la salud. Se puede realizar por medio de ebullición que consiste en hervir el agua durante 1 minuto y para mejorarle el sabor se pasa de un envase a otro varias veces, proceso conocido como aireación, después se deja reposar por varias horas y se le agrega una pizca de sal por cada litro de agua. Cuando no se puede hervir el agua se puede hacer por medio de un tratamiento químico comúnmente con cloro o yodo. (Bros, 2005)

Purificación de agua por Cloración.

Cloración es el procedimiento para desinfectar el agua utilizando el cloro o alguno de sus derivados, como el hipoclorito de sodio o de calcio. En las plantas de tratamiento de agua de gran capacidad, el cloro se aplica después de la filtración. Para obtener una desinfección adecuada, el cloro deberá estar en contacto con el agua por lo menos durante veinte minutos; transcurrido ese tiempo podrá considerarse el agua como sanitariamente segura. Para desinfectar el agua para consumo humano generalmente se utiliza hipoclorito de sodio al 5.1%. Se agrega una gota por cada litro a desinfectar.

Purificación de agua por Ozono.

El ozono es el desinfectante más potente que se conoce, el único que responde realmente ante los casos difíciles (presencia de amebas, etc.), es capaz de conseguir la eficaz oxidación de la materia orgánica, y no sólo eso, por sí sólo es 3000 veces más rápido y eficaz que el cloro destruyendo virus, bacterias y una serie de organismos cloro-resistentes sin originar subproductos ni olores y sabores extraños en el agua debido al hecho de que la molécula de ozono está formada por tres átomos de oxígeno y se origina in situ mediante descarga eléctrica del aire, por lo tanto, tras un tiempo relativamente corto, el ozono se transformará de nuevo en oxígeno renovándose de nuevo al ambiente del que proviene. La inversión inicial de una instalación para tratamiento por ozono es superior a la de cloración pero posee la ventaja que no deja ningún residuo. **.** (Bros, 2005)

Purificación de agua por Rayos Ultravioletas.

La desinfección por ultravioleta usa la luz como fuente encerrada en un estuche protector, montado de manera que, cuando pasa el flujo de agua a través del estuche, los

rayos ultravioleta son emitidos y absorbidos dentro del compartimiento. (EWT, 2005) Cuando la energía ultravioleta es absorbida por el mecanismo reproductor de las bacterias y virus, el material genético (ADN/ARN) es modificado, de manera que no puede reproducirse.

Los rayos ultravioleta se encuentran en la luz del sol y emiten una energía fuerte y electromagnética. Están en la escala de ondas cortas, invisibles, con una longitud de onda de 100 a 400 nm (1nanometro=10-9m)

1.4-Contaminación del agua

El fenómeno de la contaminación presenta múltiples aspectos, todos ellos relacionados entre sí; es preciso saber de dónde provienen los contaminantes, qué sustancias y qué procesos son los que emiten mayores cantidades, cómo se difunden dichos contaminantes, cómo se transforman químicamente y qué efectos provocan (MIS. CI, 2004).

El agua es un recurso renovable y una fuente de vida fundamental, es uno de los elementos que determinan la existencia de la vida en la tierra ya que es parte de un ciclo natural continuo e interminable. (Dis.Com.Inc, 2005; Gómez, 2004).

Sin embargo, se puede contaminar por las actividades humanas y volverse no útil para muchos de sus propósitos e incluso volverse nociva para los seres vivos que la utilizan.

La contaminación del agua es un problema que se da en todos los niveles y lugares del mundo, esto está muy relacionado con la contaminación del aire y con el modo en que el hombre utiliza los recursos de la Tierra, por lo que protegerla y conservarla son cuestiones vitales.

<u>Fuentes Contaminación del Agua.</u>

Los trabajos agrícolas y ganaderos pueden producir una contaminación muy grave de las aguas de los ríos y los acuíferos. (Urbieta, 2005). Los principales causantes son los vertidos de aguas cargadas de residuos orgánicos, procedentes de las labores de transformación de productos vegetales, o de los excrementos de los animales. (MIS. CI, 2004).

- Muchas industrias, como la papelera, textil y siderúrgica, necesitan agua para desarrollar su actividad. La consecuencia es el vertido de aguas residuales cargadas de materia orgánica, metales, aceites industriales e incluso radiactividad.

- Para evitar los problemas que pueden causar los contaminantes de las aguas residuales existen sistemas de depuración que sirven para devolverles las características físicas y químicas originales.

Principales causas de la contaminación del agua.

El agua de calidad apta para consumo humano cuando entra al sistema de distribución, puede contaminarse a través de conexiones cruzadas, retrosifonaje, rotura de las tuberías del sistema de distribución, conexiones domiciliarias, cisternas y reservorios defectuosos, grifos contraincendios dañados y durante el tendido de nuevas tuberías o reparaciones realizadas sin las mínimas medidas de seguridad (OMS, 1985; OMS, 1995; VARGAS, 1996). Asimismo defectos en la construcción o en las estructuras de pozos, depósitos, ausencia o irregular mantenimiento de dichas instalaciones son causas que predisponen el ingreso y proliferación de microorganismos desde distintas fuentes (GOYA, 1997). Además existen factores secundarios que permiten el crecimiento de microorganismos en el agua dentro de los sistemas de distribución y almacenamiento como: cantidad y tipo de nutrientes, oxígeno, temperatura, pH, concentración de desinfectante y material de las tuberías (GALARRAGA, 1984).
Los principales causantes son:

- Los vertidos de aguas cargadas de residuos orgánicos, procedentes de las labores de transformación de productos vegetales, o de los excrementos de los animales.
- Aguas residuales y otros residuos que demandan oxígeno (en su mayor parte materia orgánica, cuya descomposición produce la desoxigenación del agua).
- Agentes infecciosos.
- Nutrientes vegetales que pueden estimular el crecimiento de las plantas acuáticas. Éstas, a su vez, interfieren con los usos a los que se destina el agua y, al descomponerse, agotan el oxígeno disuelto y producen olores desagradables (DC. APHA, WEF, AWWA, 1992).
- Productos químicos, incluyendo los pesticidas, diversos productos industriales, las sustancias tensoactivas contenidas en los detergentes, y los productos de la descomposición de otros compuestos orgánicos.
- Petróleo, especialmente el procedente de los vertidos accidentales.
- Minerales inorgánicos y compuestos químicos.

- Sedimentos formados por partículas del suelo y minerales arrastrados por las tormentas y escorrentías desde las tierras de cultivo, los suelos sin protección, las explotaciones mineras, las carreteras y los derribos urbanos.
- Sustancias radiactivas procedentes de los residuos producidos por la minería y el refinado del uranio y el torio, las centrales nucleares y el uso industrial, médico y científico de materiales radiactivos.
- El ruido, el calor y el movimiento también son formas de contaminación que alteran los ciclos vitales.
- El calor también puede ser considerado un contaminante cuando el vertido del agua empleada para la refrigeración de las fábricas y las centrales energéticas hace subir la temperatura del agua de la que se abastecen.

Consecuencias de la Contaminación.

Los efectos de la contaminación del agua incluyen los que afectan a la salud humana. La presencia de nitratos (sales del ácido nítrico) en el agua potable pueden producir una enfermedad infantil que en ocasiones es mortal. (MIS. CI, 2004). El presente en los fertilizantes derivados del cieno o lodo puede ser absorbido por las cosechas, de ser ingerida en cantidad suficiente, el metal puede producir un trastorno diarreico agudo, así como lesiones en el hígado y los riñones. Hace tiempo que se conoce o se sospecha de la peligrosidad de sustancias inorgánicas, como el mercurio, el arsénico y el plomo.

Los lagos son especialmente vulnerables a la contaminación. Hay un problema, la eutrofización, que se produce cuando el agua se enriquece de modo artificial con nutrientes, lo que produce un crecimiento anormal de las plantas. Los fertilizantes químicos arrastrados por el agua de los campos de cultivo pueden ser los responsables. del proceso de eutrofización puede ocasionar problemas estéticos, como mal sabor y olor, y un acumulamiento de algas o verdín desagradable a la vista así como un crecimiento denso de las plantas con raíces, el agotamiento del oxígeno en las aguas más profundas y la acumulación de sedimentos en el fondo de los lagos, así como otros cambios químicos, tales como la precipitación del carbonato de calcio en las aguas duras, otro problema cada vez más preocupante es la lluvia ácida que ha dejado muchos lagos del Norte y del Este de Europa y del Noroeste de Norteamérica totalmente de provistos de vida

1.5- Enfermedades trasmitidas por el agua

Los agentes patógenos transmitidos por el agua constituyen un problema mundial que demanda un urgente control mediante la implementación de medidas de protección ambiental a fin de evitar el incremento de las enfermedades relacionadas con la calidad del agua (VARGAS, 1996; El agua, 2003).

Enfermedades microbiológicas trasmitidas por el agua:

Son las enfermedades causadas por organismos patógenos presentes en el agua y que ingresan al organismo por la boca. (Hurst, 1997; Ripert, 1998)

Están relacionadas a la contaminación con excretas humanas. Se caracteriza por ser fácilmente transmisibles por otros medios como ser las manos o los alimentos. Ej disentería amebiana: cólera: la fiebre tifoidea: disentería bacilar; gastritis y gastroenteritis.

Enfermedades químicas trasmitidas por el agua:

Son enfermedades asociadas a la ingestión de aguas que contienen sustancias tóxicas en concentraciones perjudiciales. Estas sustancia pueden ser de origen natural o artificial, generalmente de localización especifica. Algunos ejemplos son: metahemoglobinemia infantil, fluorosis endémica crónica, y gastroenteritis.

Enfermedades relacionadas con la higiene:

Incluyen a muchas enfermedades trasmitidas por vía fecal-oral. Entre ellas se encuentran: tiña, tracoma, conjuntivitis, sarna ascariasis, amebiasis, teniasis, y uncinariasis (.Neva Abrowm., 1994).

Enfermedades trasmitidas por contacto con el agua:

Son producidas por microorganismos patógenos que ingresan al cuerpo humano a través de la piel. El ejemplo mas conocido es el de la esquistosomiasis (bicharziasis).

1.6-Análisis cualitativos y cuantitativos que definen la calidad del agua

Los análisis cualitativos son los que describen las características visibles del agua, incluyendo turbidez, gusto, color y olor del agua. (OMS 1995; Ed. APHA, 1992)**.**

Turbidez:

La turbidez es un parámetro relacionado con el grado de transparencia y limpieza del agua que a su vez depende de la cantidad de sólidos en suspensión del agua que pueden ser resultado de una posible actividad biológica o simplemente una presencia de componentes no deseables. Se mide mediante la absorción que sufre un haz de luz al atravesar un determinado volumen de agua. Para eliminar esta turbidez y así mejorar la

calidad del agua se usan los distintos tipos de filtros que hay en el mercado, mejorando el rendimiento con el uso de floculantes. El aporte al agua de vertimientos con altas concentraciones de sólidos en suspensión, coloidales o finos, aumenta la turbiedad, se disminuye la transparencia, impidiendo la penetración de la luz, disminuyendo la incorporación del oxígeno disuelto por la fotosíntesis, afectando la calidad y productividad de los ecosistemas. Se expresa en unidades nefelométricas de turbiedad (NTU).

Sabor:

Compuestos químicos presentes en el agua como los fenoles, diversos hidrocarburos, cloro, materias orgánicas en descomposición o esencias liberadas por diferentes algas u hongos pueden dar olores y sabores muy fuertes al agua, aunque estén en muy pequeñas concentraciones. Las sales o los minerales dan sabores salados o metálicos, en ocasiones sin ningún olor. . No es posible establecer métodos de determinación suficientemente objetivos como ocurre con otros parámetros. Todas las aguas potables poseen cierto sabor y olor. No obstante, el agua debe presentar olor y sabor inobjetables para la mayoría de los usuarios.

Color:

El color natural de un agua puede ser de origen mineral, por ejemplo: debido a compuestos de hierro y/o manganeso; o de origen orgánico, producto de descomposición de materia orgánicas materias húmicas, algas, plantas acuáticas y protozoarios. El color de las aguas también, pueden ser originado por residuos solubles orgánicos e inorgánicos producidos por las industrias, en cuyo caso, constituye un peligro. Colores de hasta seis (6) unidades no son perceptibles por la mayor parte de los usuarios, cuando se observan volúmenes de agua más o menos pequeños, tales como un vaso o jarra de uso doméstico, colores de quince (15) unidades no son objetables, pero podrían ser percibidos por los usuarios y además evidenciar deficiencias en el tratamiento o desmejoramiento de la calidad en la red de distribución.

Valores superiores al limite tolerable, no justifican de por sí el rechazo del agua para la provisión, si su origen, cuidadosamente investigado, no provoca sospechas respecto de su inocuidad. Las aguas contaminadas pueden tener muy diversos colores pero, en general, no se pueden establecer relaciones claras entre el color y el tipo de contaminación.

Olor:

La detección del olor puede ser útil, porque el oler puede detectar generalmente incluso niveles bajos de contaminantes. Sin embargo, en la mayoría de los países la detección de contaminantes con olor está limitada a terminantes regulaciones, pues puede ser un peligro para la salud cuando algunos contaminantes peligrosos están presentes en una muestra.

Los análisis cuantitativos para evaluar la calidad del agua son: ph, sólidos disueltos, la conductividad, nitritos, nitratos, amoniaco, dureza total, cálcica y magnésica, cloruros alcalinidad total, alcalinidad a la fenolftaleína, demanda bioquímica de oxígeno, oxígeno disuelto y la contaminación microbiana(coliformes totales y fecales).

pH:

Los valores de pH adoptados están referidos al pH de saturación del agua (pHs) con respecto al carbonato de calcio. Al margen de consideraciones técnicas y/o económicas su valor deberá estar comprendido entre 6.5 y 8.5 unidades. El pH del agua tiene influencia en su sabor, su acción corrosiva o incrustante, la eficiencia bactericida del cloro y su efecto disolvente sobre los metales de las instalaciones. En consecuencia, un pH inadecuado del agua de beber, puede ocasionar un desmejoramiento de su calidad, por aumento del color o turbiedad, o incorporar eventualmente metales como plomo, zinc, hierro etc. ó disminuir la eficiencia de la desinfección.

Las aguas naturales pueden tener pH ácidos por el CO_2 disuelto desde la atmósfera o proveniente de los seres vivos; por ácido sulfúrico procedente de algunos minerales, por ácidos húmicos disueltos en el mantillo del suelo. La principal sustancia básica en el agua natural es el carbonato cálcico que puede reaccionar con el CO_2 formando un sistema tampón carbonato / bicarbonato.

Las aguas contaminadas con vertidos mineros o industriales pueden tener pH muy ácido. El pH tiene una gran influencia en los procesos químicos que tienen lugar en el agua, actuación de los floculantes, tratamientos de depuración, etc.

El nivel de pH tiene un efecto en muchas fases del proceso de tratamiento de las aguas y afecta a la formación de costras de las fuentes de agua. El nivel de pH se puede determinar con varios métodos de análisis, tales como indicadores del color, pH-papel o pH-metros.

Dureza total:

La dureza de las aguas está relacionada principalmente por la presencia de los cationes de Calcio y Magnesio. Otros cationes tales como, Aluminio, Manganeso, Hierro, Zinc,

etc. En cantidades significativas, también producen durezas. Las aguas con valores de "dureza total" aún superiores a los consignados en tablas, no parecen tener efectos perjudiciales para la salud. Los inconvenientes ocasionados por durezas elevadas, son particularmente de carácter económico, en el ámbito domestico e industrial. Ejemplo de ello son: elevado consumo de jabón en el lavado; endurecimiento de los vegetales en la cocción, formación de incrustaciones en calderas, artefactos de calentamiento de aguas y en cañerías, aún a temperatura ambiente. Por otra parte, la dureza del agua esta relacionada con su capacidad de formación de una capa protectora en el interior de las cañerías; por lo tanto se fija un mínimo de 80 mg/L que tiene por finalidad de prevenir el desmejoramiento de la calidad del agua por posibles problemas de corrosión.

En función de este estado de mineralización, podemos distinguir distintos tipos de aguas:

Clasificación	**Dureza (mg $CaCO_3$/l)**
Blandas	0 - 100
Moderadamente duras	101 - 200
Duras	200 - 300
Muy duras	> 300

Alcalinidad:

La alcalinidad del agua es la suma de las concentraciones de los iones carbonatos (CO_3^{2-}), bicarbonatos (HCO_3^-) e hidróxilos (OH^-) siendo estos últimos despreciables frente al resto.

$$TAC = [CO_3^{2-}] + [HCO_3^-] + [OH^-]$$

Estas especies producen en el agua un efecto tampón ya que absorben protones manteniendo el pH en un valor muy estable. Esta propiedad es muy importante para los seres vivos en determinados medios como el flujo sanguíneo ya que mantienen el valor de pH muy constante y estable frente a posibles variaciones en el medio.

Conductividad:

La conductividad es una medida de la capacidad que tiene el agua para conducir la corriente eléctrica. La conductividad está relacionada con un parámetro llamado fuerza iónica que viene determinado por la concentración y la carga de cada ión presente en el agua.

$$\mu = 1 / 2 \, \Sigma \, Ci \times Zi^2$$

Los valores de conductividad vienen expresados normalmente en µS/cm (microsiemens por centímetro).

La conductividad y la dureza son dos parámetros cuyos valores están relacionados y reflejan el grado de mineralización de las aguas y su productividad potencial. Un aumento en la conductividad de las aguas naturales afecta la productividad de los ecosistemas.

El agua pura tiene una conductividad eléctrica muy baja. El agua natural tiene iones en disolución y su conductividad es mayor y proporcional a la cantidad y características de esos electrolitos. Por esto se usan los valores de conductividad como índice aproximado de concentración de solutos. Como la temperatura modifica la conductividad las medidas se deben hacer a 20 ºC.

Nitratos, Nitritos y Amoniaco:

Los nitratos aparecen en el suelo y en las aguas superficiales y profundas como el resultado de la descomposición natural por acción de microorganismos, del material nitrogenado orgánico (proteínas vegetales, animales y excretas).Los nitritos que se encuentran en el agua se forman, generalmente, por la acción de bacterias sobre el amoníaco y el nitrógeno orgánico, proceso oxidativo, o por la reducción de los nitratos. Debido a que son fácilmente oxidados a nitratos, se encuentran presentes en concentraciones muy pequeñas en las aguas superficiales. Junto con el amoníaco, el nitrógeno orgánico y los nitratos son indicadores de polución de las aguas. Las concentraciones de nitrato y nitrito en la naturaleza han aumentado por las actividades humanas (uso de fertilizantes, descargas de líquidos cloacales e industriales, desechos de las actividades ganaderas, la combustión y los aerosoles).

El nitrógeno contenido en aguas industriales proviene generalmente de procesos de la industria alimenticia y del petróleo. Los óxidos de nitrógeno en la atmósfera aparecen por la combustión y los procesos industriales liberándose 50 millones de Toneladas de NO por año; gran parte fija el N_2 del aire y vuelve a la superficie de la tierra como nitritos. Estas actividades hacen que actualmente el nitrógeno fijado “industrial” equivalga a 1/3 del nitrógeno fijado biológicamente en los ecosistemas terrestres. Manteniendo este ritmo del incremento de fijación industrial, se provoca un incremento en la desnitrificación de la atmósfera y una disminución de la concentración de ozono en la misma. Los efectos más importantes de los nitratos sobre el medio ambiente son: La contaminación de cuerpos de agua con compuestos nitrogenados (microorganismos),

llevándolos hacia la eutrofización, la polución del aire urbano con peroxiacetilnitrato y del aire rural con sales de nitrato, y la acidificación de los suelos y el agua.

La cantidad de nitrógeno en desechos humanos se estima en 5 Kg/persona por año; debe asegurarse que con el tratamiento de los líquidos cloacales se reduzcan estos valores en un 90 a 95 % expresado en DBO.

Los nitratos ingeridos tienen relativamente baja toxicidad por si mismo, son rápidamente absorbidos en el estómago y se excretan con la orina. Las intoxicaciones por nitrato no son comunes; su gravedad depende del nivel de reducción a nitritos.

Los nitratos y nitritos contenidos en el agua de bebida, pueden provocar cianosis por metahemoglobinemia en los lactantes. Los factores que inducen a ésta son:

a) La hemoglobina fetal es más fácilmente convertible en metahemoglobina.

b) Los nitratos son reducidos más rápidamente a nitritos por la débil acidez estomacal (pH de 5 a 7) durante los primeros meses de vida.

Los signos clínicos de la metahemoglobina en los lactantes son la cianosis, taquicardia, cefalea, diseña vértigos, somnolencia y shock. Las concentraciones capaces de causar enfermedad pueden ser variables, pero en general se acepta que deben ser mayores que 45 mg/L, para nitrato + nitrito. Los efectos negativos del nitrato invariablemente implican su reducción a nitrito como etapa preliminar. En consecuencia la ingestión de nitrito produce la aparición más rápida de efectos clínicos y el límite tolerable para este ión es correspondientemente mas bajo que para el nitrato.

Sólidos:

Podemos distinguirlos en sólidos sedimentables, sólidos en suspensión y sólidos disueltos, siendo los sólidos totales la suma de todos ellos. Estos sólidos, además de poder suponer la presencia de cuerpos o sustancias extrañas que pudieran en algún caso no ser recomendables, aumentan la turbidez del agua y disminuyen la calidad de la misma.

Los sólidos sedimentables son sólidos de mayor densidad que el agua, se encuentran dispersos debido a fuerzas de arrastre o turbulencias. Cuando estas fuerzas y velocidades cesan y el agua alcanza un estado de reposo, precipitan en el fondo. Suelen eliminarse fácilmente por cualquier método de filtración.

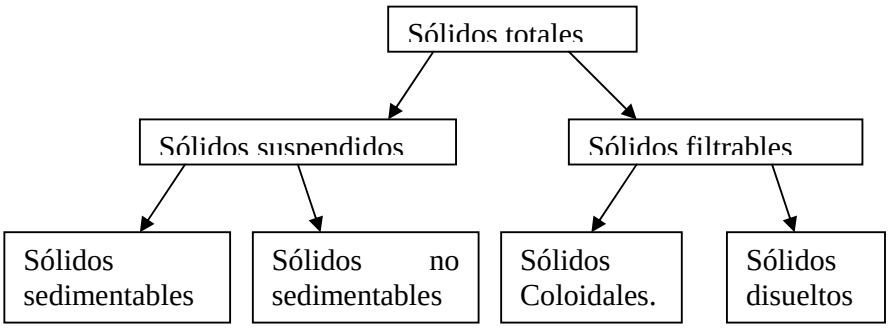
Los sólidos en suspensión se mantienen en el agua debido a su naturaleza coloidal que viene dada por las pequeñas cargas eléctricas que poseen estas partículas que las hacen tener una cierta afinidad por las moléculas de agua. Este tipo de sólidos como tales son difíciles de eliminar siendo necesaria la adición al agua de agentes coagulantes y

floculantes que modifican la carga eléctrica de estas partículas consiguiendo que se agrupen en flóculos de mayor tamaño para así poder separarlos mediante filtración. Ciertos sistemas de tratamiento de agua como la ozonización ya suponen de por sí un buen método floculante ya que se produce la oxidación del hierro, manganeso y aluminio, óxidos que son los que verdaderamente ejercen un fuerte poder floculante en el agua aumentando la eficacia del filtro y mejorando la transparencia del agua.

Los sólidos disueltos están relacionados con el grado de mineralización del agua ya que son iones de sales minerales que el agua ha conseguido disolver a su paso. Están relacionados con la conductividad del agua ya que un aumento de estos iones aumenta la capacidad conductiva. Un tratamiento prolongado con compuestos del cloro en una piscina por ejemplo aumenta la cantidad de sólidos disueltos y la conductividad en el tiempo.

Los sólidos (suspendidos y disueltos) son sustancias presentes en el agua que pueden servir de criterio para determinar su calidad; mientras que el agua químicamente pura no debe contener ningún tipo de sólidos, las aguas de abasto y las residuales suelen contener determinadas cantidades de estos en todos los tipos. Son usados para evaluar el poder contaminante de las aguas domesticas e industriales.

Los sólidos (a los cuales también se les llama residuos) se pueden clasificar de acuerdo con la forma establecida en el siguiente diagrama.



La concentración elevada de “sólidos disueltos totales” en el agua de bebida, ocasiona una serie de inconvenientes: influencia sobre el sabor (que en conjunto guarda relación con otros parámetros tales como cloruros, sulfatos, calcio, magnesio, sodio y potasio), precipitación durante la cocción de alimentos, depósitos en calderas y recipientes de uso domestico, corrosión en instalación de

redes de distribución como consecuencia de la mayor conductividad del agua, pudiendo con ello desmejorarse su calidad en cuanto al color, turbiedad, presencia de hierro, plomo, zinc, etc.

Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO):

DBO es la cantidad de oxígeno disuelto requerido por los microorganismos para la oxidación aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Se mide a los cinco días. Su valor da idea de la calidad del agua desde el punto de vista de la materia orgánica presente y permite prever cuanto oxígeno será necesario para la depuración de esas aguas e ir comprobando cual está siendo la eficacia del tratamiento depurador en una planta. Se puede decir por tanto que la DBO representa la cantidad de materia orgánica biodegradable y la DQO representa tanto la materia orgánica biodegradable como la no biodegradable. El aumento de la DBO, al igual que la DQO ocasiona disminución del oxígeno disuelto, afectando la vida acuática. Valores de DBO mayores de 6 ppm indican alta contaminación.

Oxigeno disuelto (OD):

Las aguas superficiales limpias suelen estar saturadas de oxígeno, lo que es fundamental para la vida. Si el nivel de oxígeno disuelto es bajo, indica contaminación con materia orgánica, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida.

Cloruros:

El aumento de cloruros en agua puede tener orígenes diversos, sí se trata de una zona costera puede deberse a infiltraciones de agua del mar. En el caso de una zona árida el aumento de cloruros en un agua se debe al lavado de los suelos producido por fuertes lluvias. En último caso, el aumento de cloruros puede deberse a la contaminación del agua por aguas residuales. La presencia de cloruros en aguas de beber no es perjudicial, a menos que alcancen concentraciones muy elevadas, en cuyo caso influyen marcadamente sobre el sabor y posibilitan su acción corrosiva y además pueden resultar nocivos a personas que sufren enfermedades cardíacas o renales. Los contenidos de cloruros en las aguas naturales no suelen sobrepasar los 50-60 mg/L.

Análisis microbiológico:

Establece un examen y estudio de gran valor y vital importancia en la prevención de epidemias resultantes de la contaminación de aguas. Con este tipo de análisis se determinará el número de bacterias presentes en el agua así como la presencia o ausencia de bacterias del grupo coliforme y Streptococus faecalis, cuya presencia es

indicativo de contaminación fecal y por tanto, de la posible presencia de cepas microbianas patógenas responsables de enfermedades.

La determinación de microorganismos intestinales normales como indicadores de contaminación fecal, en lugar de patógenos, es un principio de aceptación universal en la vigilancia y evaluación de la seguridad microbiana en los sistemas de abastecimiento de agua (GOEZ, 1999). Estos microorganismos deben cumplir diferentes requisitos como ser inofensivos para humanos, permanecer más tiempo que los microorganismos patógenos y con su ausencia demostrar un agua segura libre de éstos. (GALARRAGA, 1984). Además, un buen indicador debe ser específico de contaminación fecal, debe hallarse en forma constante en las heces y estar asociado a las aguas residuales. Asimismo, debe ser fácilmente aislables, identificables y enumerables en el menor tiempo posible y con el menor costo. Debe ser capaz de crecer en los medios de cultivos comunes, estar distribuido al azar en las muestras y ser resistente a la inhibición de su crecimiento por otras especies (GOEZ, 1999).

Coliformes totales:

El grupo coliforme total fue uno de los primeros sistemas de indicadores utilizados y se emplea aún como indicador principal de la calidad sanitaria del agua potable.

Este grupo comprende los bacilos aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, no formadores de esporas que fermentan lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48 horas a 35°C, son citocromo oxidasa negativos y utilizan glucosa con formación de ácido y/o gas.

Se encuentran en las heces del hombre, animales y en algunos pescados. Además se presentan como patógenos en varias partes del cuerpo y pueden ser encontrados en el suelo (Citrobacter, Enterobacter y Klebsiella), sobre granos, plantas y árboles (Klebsiella y Enterobacter) y en residual doméstico e industrial.

Los coliformes totales tienen un valor limitado como indicador directo de contaminación fecal en aguas sin tratar y otros tipos de muestras ya que no siempre están asociados con fuentes fecales y son capaces de una multiplicación significativa en el ambiente, aunque son considerados indicadores sensibles de una desinfección inadecuada en aguas tratadas por su mayor resistencia a estos procesos. Se expresa como numero más probable por 100 mililitros de muestra (NMP / 100 mL)

Coliformes fecales:

Los coliformes totales fueron utilizados como principal indicador de la contaminación del agua durante muchos años, sin embargo, ya que muchos de éstos microorganismos no

procedían de fuentes fecales se desarrollaron métodos para restringir este grupo a aquellos coliformes que más claramente tenían un origen fecal y surgieron los coliformes fecales donde se incluían todos aquellos bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, citocromo oxidasa negativo que fermentaban lactosa con producción de ácido y gas a 44,5°C ± 0,2 en 24 horas.

Los coliformes fecales se encuentran generalmente en las heces del hombre y los animales, en residuales domésticos e industriales y algunas especies están vinculadas al ambiente.

El grupo coliforme fecal ha sido utilizado como indicador de contaminación fecal y su presencia en número elevado está asociada con la ocurrencia de organismos patógenos aunque su ausencia no necesariamente prueba la no presencia de éstos.

1.7-Validación y evaluación de los parámetros analíticos

La necesidad de aplicar una validación es debido a que:

- Proporciona un alto grado de confianza al método analítico y a la calidad de los resultados.
- Permite un alto conocimiento de las características del funcionamiento del método analítico.
- Hace posible el cumplimiento de las normas establecidas. (NC-TC-368: 2004).

Los métodos analíticos a utilizar deben ser prácticos, es decir si son fáciles de aplicar; idóneo y fiable.

- Linealidad
- Precisión
- Exactitud
- Sensibilidad
- Especificidad

Linealidad:

Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un intervalo definido. El ensayo puede efectuarse tanto sobre soluciones patrón del analito como sobre muestras problemas que tengan concentraciones crecientes del analito. El intervalo lineal dinámico del sistema instrumental debe ser más amplio que el intervalo de las concentraciones a estudiar.

El numero de soluciones patrón puede estar comprendido entre 3 y 10 y el intervalo de concentraciones se seleccionara de acuerdo a las cantidades de analito esperadas en la muestra.

Si se supone que la concentración del analito puede variar ampliamente los patrones deberán abarcar todo el rango de concentraciones previsto. El tratamiento estadístico se realiza por el coeficiente de correlación (r) y ensayos de linealidad (NC-TC-368: 2004).

Precisión:

La precisión es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos analíticos efectuados sobre una muestra homogénea. Expresa la capacidad que tiene el método de dar resultados semejantes cuando se aplican repetidamente en una muestra. La precisión mide el error aleatorio, o indeterminado de un análisis.

Los parámetros de calidad de la precisión son la desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación y varianza. En estas ecuaciones un valor razonable para la constante es k=3. Estos se definen a continuación:

Desviación estándar absoluta, s $$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$$

Desviación estándar relativa, RSD $$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$$

Desviación estándar de la media, s_m $$s_m = s/\sqrt{N}$$

Coeficiente de variación, CV $$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

Varianza, s^2

Repetibilidad: es la medida de la precisión de un método efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio con los mismos equipos y reactivos efectuando estos análisis en u corto intervalo de tiempo. El ensayo se efectúa sobre una serie de porciones de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio hasta el fin bajo las mismas condiciones.

El número de repeticiones del análisis deberá ser superior a 5 y la concentración del analito suele ser similar a la declarada. Para este tipo de ensayos se realizan 6

determinaciones de la sustancia de interés al 100% del nivel normal de procedimiento, se calcula la media aritmética (X), la desviación estándar (S), el coeficiente de variación (CV), tomando como criterio que el coeficiente de variación debe ser menor o igual al 3% (Castro, 1989).

Precisión intermedia: es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuados sobre una misma muestra pero en condiciones diferentes. Cuando la medida se realiza en laboratorios diferentes se habla de precisión ínter laboratorios.

Para este tipo de estudio al igual que para la repetibilidad se recomienda hacer 6 determinaciones de la sustancia de interés al 100% del nivel normal del procedimiento y calcular el coeficiente de variación siguiendo el criterio de que el mismo sea igual o menor que el 5% para las técnicas o métodos analíticos (NC-TC-368: 2004; Regulación N^{o} 41-2007)

Selectividad y especificidad: Se define como la capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito, sin interferencia de impurezas, producto de degradación, compuestos relacionados o excipientes que puedan estar presentes en la matriz de la muestra. Otros autores diferencian ambos términos y así consideran la selectividad como la capacidad de detectar un analito en una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud bajo condiciones experimentales establecidas.

Límite de detección y de cuantificación: Cantidad o contenido del analito que corresponda a la más baja señal de medición que, con una determinada confianza estadística, se puede interpretar como índice de que hay presencia del analito en la concentración, pero que no necesariamente permite una cuantificación precisa. Es un límite cuantitativo (menor cantidad detectable).

Límite de cuantificación: Es la menor cantidad de analito en la muestra que se puede determinar cuantitativamente con una determinada confianza. Se denomina también límite de determinación. Es un parámetro de ensayos cuantitativos para bajos niveles de componentes de muestras matrices tales como, impurezas en materias primas y productos de degradación en productos terminados, es un término cuantitativo (menor cantidad medible).

Capítulo II: Materiales y Métodos.

2.1 Determinación de parámetros químico-físicos en aguas

2.1.1- Determinación de amoniaco en aguas

El nitrógeno se determinó por un método colorimétrico después de la adición del reactivo de Nessler. El método colorimétrico se basa en la medición de la absorbancia de la solución nesslerizada de color amarillo en un espectrofotómetro a una λ= 420nm. (Standard Methods, 2005).

Preparación de los reactivos:

Reactivo de Nessler:

Solución 1: Se disuelve 100g de HgI y 70g de KI en un volumen de agua exenta de amoniaco.

Solución 2: Se mezclan 160g de NaOH en 500 mL de agua libre de amoniaco.

Se mezcla la solución 1 lentamente con la solución 2 y se completa a 1000 mL con agua exenta de amoniaco.

Procedimiento:

A una porción de 25 mL de la muestra se le añade 1mL de reactivo de Nessler. Agitar y esperar 15 minutos y leer en el espectrofotómetro a 420 nm. Se obtiene una curva de calibración con disoluciones de concentraciones conocidas.

- *Cálculo en mglL de amoniaco en la muestra:*

$$C=F*DO$$

F = pendiente de la curva de calibración.

C = Concentración de amoniaco en mg/L.

-*Curva de calibración***:**

Solución madre: 0,3819g de NH_4Cl en 100 mL de agua y queda 1,22 mg/mL.

Solución patrón: Se toma 1mL de la solución madre y lleva a un matraz de 100 mL se enrasa con agua destilada y queda 0,0122 mg/ mL de NH_3.

-Transferir a cinco matraces de un trazo de 100 mL las cantidades de solución patrón de 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 5.0 mL.

Se adiciona 1 mL del reactivo de Nessler. Posteriormente se enrasa con agua bidestilada y se agita vigorosamente. Se deja en reposo durante 15 min a temperatura ambiente. Paralelamente se prepara un blanco de reactivos y se toman las lecturas de absorbancia a λ = 420 nm.

2.1.2- Determinación de nitritos en aguas

El nitrito reacciona en medio fuertemente ácido (pH = 2) con sulfanilamida. El diazocompuesto resultante se une con el dihidrocloruro de N-(1-naftil) etilendiamina (NED) para formar un compuesto intensamente coloreado de rojo. La absorbancia del colorante es proporcional a la concentración de nitrito presente. Este método se corresponde con la NC 93-01-115, 1987: SNPMA. Hidrosfera. Determinación de nitritos.

Preparación de soluciones**:**

Reactivo NED: Se disuelve 0,5g de dihidrocloruro de N-(1-naftil) etilendiamina (NED) en 500 mL de agua destilada. Se envasa en frascos color ámbar. Esta solución se prepara mensualmente o al producirse coloración carmelita. El reactivo NED se maneja con extremo cuidado, empleando pipetas de seguridad y evitando su inhalación y el contacto directo con la boca y la piel.

Solución de sulfanilamida: Se disuelven 5 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 mL de ácido clorhídrico concentrado y 300 mL de agua. Se diluye a 500 mL. La solución es estable por varios meses.

Muestreo:

Las muestras se toman en frascos de material plástico o de vidrio de un volumen mínimo de 50 mL. Para prevenir la conversión de nitritos a nitratos o amoniaco los análisis se efectúan en muestras recientemente colectadas. No se emplea ácido en la preservación de la muestra. Para almacenar muestras por períodos cortos de 2 o tres días, se enfría a – 20 ^{o}C ó se les adicionan 40 mg de cloruro de mercurio y se enfría a – 4 ^{o}C.

Procedimiento:

Eliminación de la turbiedad: Si la muestra contiene sólidos suspendidos se filtra a través de filtros de membrana con poros de diámetro de 0,45 μm.

Desarrollo del color: Se toman 50 mL de la muestra neutralizada a pH 7 ó una alícuota diluida a 50 mL, se añade 1 mL de sulfanilamida. Se deja que se desarrolle la reacción en el transcurso de 2 a 8 min. Se añade 1 mL de NED y se mezcla inmediatamente. Se deja en reposo aproximadamente 10 min.

Medición fotométrica: Se mide la absorbancia a 543 nm en un espectrofotómetro, utilizando celdas de 1 cm de paso de luz.

Ensayo en blanco: Se emplea agua destilada, sometida al mismo procedimiento ya descrito.

-*Curva de calibración:* Se prepara una solución de referencia: 0,616g de $NaNO_2$ en volumétrico de 500mL cuya concentración es 821mg/mL de NO_2^-.

Solución trabajo: 0,5ml de la solución de 821 mg\mL de NO_2^- se lleva a 100mL y queda 4,105 mg\mL de NO_2^-.

-Transferir a cinco matraces de 100 mL los volúmenes de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 y 6.0 mL de la solución patrón.

Se adiciona 1 mL de sulfanilamida. Se deja que se desarrolle la reacción en el transcurso de 2 a 8 min. Se añade 1 mL de NED y se mezcla inmediatamente. Posteriormente se enrasa con agua bidestilada se agita vigorosamente y se deja en reposo aproximadamente 10 min. Se mide la absorbancia a 543 nm en un espectrofotómetro, utilizando celdas de 1 cm de paso de luz. Paralelamente se prepara un blanco de reactivos.

Cálculos:

Método para los cálculos: La concentración total de nitrógeno expresada como nitrito (*A*) se calcula por la formula siguiente:

$$A = \frac{a * 50}{V} \quad (mg / L)$$

y la concentración de nitrito en la muestra (*C*) por la fórmula:

$$C = A * 3.29 \quad (mg / L)$$

donde:

a- cantidad total de nitrógeno expresada como nitrito del gráfico de calibración en mg/L

V- volumen de muestra en mL.

2.1.3- Determinación de nitratos en aguas

Método del salicilato de sodio:

El salicilato de sodio reacciona con los iones nitratos en medio ácido para dar lugar al para nitro salicilato de sodio. Se sustituye un hidrógeno del grupo benzoico por un grupo nitro en posición meta con respecto al -COONa. El compuesto formado tiene una banda de absorción a 400 nm.

Reactivos:

- Acido Sulfúrico concentrado (d =1.84 g/mL).
- Solución de Hidróxido de sodio al 30 %.
- Solución de Hidróxido de sodio al 3 %.
- Solución de salicilato de sodio al 1 %.

Procedimiento:

-En cápsula de porcelana de 50 mL, poner 5 mL de muestra y 3 gotas de hidróxido de sodio al 30 % y 1 mL de reactivo de salicilato de sodio al 1 %. Poner en la plancha eléctrica hasta casi sequedad, enfriar, agregar por las paredes y adicionar gota a gota 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se deja enfriar. Disolver en 2 mL de agua destilada, agregar 5mL de hidróxido de sodio al 30 % y traspasar a tubos Nessler de 50 mL con agua destilada, enjuagar. Si aparece turbidez (cuando la muestra es muy dura se filtra).

-Leer en cubeta de 1 cm de paso de luz a 400 nm en un Espectrofotómetro UV-VIS.

-*Curva de calibración:*

-Solución madre de nitrato de 100 mg/L KNO_3.: Pesar 0.7218 g de nitrato de potasio y llevar a un matraz de1000 mL.

-Solución de trabajo 50 mg/L de nitrato: Tomar 11.3mL solución madre y llevar a un matraz de 100 mL con agua destilada.

-En cápsulas de porcelana de 50 mL, poner las cantidades de solución patrón de 1.0, 2.0, 3.0, y 4.0 mL siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para las muestras.

2.1.4-Determinación de pH

La determinación de pH es una prueba empírica que permite medir la actividad de los iones hidrógeno (H^+) en una solución.

Preparación de soluciones buffer:

Cuando no se cuenta con solución tampón certificada, se puede prepara la misma de la siguiente forma:

-Disolver la pastilla de pH conocido en agua destilada y hervida a temperatura ambiente y llevar al volumen recomendado por el fabricante (frecuentemente 100mL). Esta solución debe guardarse a 4^oC y no debe usarse después de pasado 30 días posteriores a su preparación, si su uso ha sido sistemático.

Procedimiento:

-Después de calibrado el equipo se procede a la medición.

-Espere 5 minutos para la estabilización de la lectura en el display y realice la lectura final.
-Lave el electrodo con abundante agua destilada y déjelo sumergido en ella hasta su posterior uso.

2.1.5-Determinación de Conductividad

La conductancia específica es una medida de la capacidad de un agua para transmitir la corriente eléctrica y esa propiedad está relacionada con la concentración total de sustancias ionizadas en un agua y con la temperatura a la que se hace la medición. Afectan la conductancia específica la naturaleza de las distintas sustancias disueltas, sus concentraciones y la composición iónica total de la muestra.

Preparación de solución patrón de cloruro de potasio 0.01 mol/L:

Se seca KCl a 110^{o}C durante la noche y se disuelve 0.7456 g en agua bidestilada recién hervida, diluyéndose a 1000 mL a 25^{o}C. Esta es la solución patrón de referencia que, a 25^{o}C. tiene una conductancia específica de 1411.8 μS/cm, siendo satisfactoria para muchas aguas cuando se usan celdas con una constante de 1 a 2.

Procedimiento:

La conductancia específica se registra en μS/cm a 25^{o}C. Varía alrededor del 2 % por cada grado centígrado. Es recomendable, aunque no estrictamente necesario, que el baño de maría se mantenga exactamente a 25^{o}C; sin embargo, cualquier temperatura entre 20^{o} y 30^{o} es adecuada, porque dentro de ese ámbito, la conductividad del patrón de cloruro de potasio varía con la temperatura casi en el mismo grado que las muestras. Para que la temperatura no fluctúe rápidamente se debe procurar que el baño maría sea de capacidad suficiente y que se encuentre en un lugar apropiado.

- Se ponen en el baño maría cuatro tubos con la solución patrón de cloruro de potasio y, asimismo, se ponen en el baño dos tubos de cada una de las muestras en estudio, dejándose en el baño por 30 minutos para que alcancen su equilibrio térmico.
- Se enjuaga la celda de conductividad en tres de los tubos de cloruro de potasio y se mide la resistencia de la cuarta solución, registrándose este valor como R_{KCl}. A continuación se enjuaga la celda con uno de los tubos de la primera muestra, asegurándose que el enjuagado es adecuado, y se mide la resistencia en el segundo tubo; se procede en la misma forma hasta que se hayan medido todas las muestras. No es necesario medir de nuevo la resistencia de la solución de KCl, a no ser que la temperatura se haya desplazado, durante la medición más de unos cuantos décimos de grado centígrado. Sin embargo, se debe hacer subsecuentemente la medición del KCl para cada serie de muestras que se

examinen. Si se encuentra que las muestras difieren en conductividad, con respecto a la del KCl, por un factor de 5 o más, para evitar arrastres de una muestra a otra es más seguro usar tres tubos de cada muestra; cuando se procede así, la celda se enjuaga con dos tubos y se hace la medición en el tercer tubo.

Cálculos:

La constante de la celda, C, es igual al producto de la resistencia medida, en ohmios, de la solución patrón de KCl por la conductividad específica, en S por centímetro, de esta solución patrón; C= R_{KCl} x 0.0014118, si la medición se hace a 25^o C.

La conductancia específica (μS/cm) de la muestra de agua, a 25^o C, Es igual a la constante de la celda, C, dividida por la resistencia, en μS, de la muestra, R_S, medida a 25^{o}C.

Conductancia específica = C / R_S

Es tan baja la conductancia específica de la mayor parte de las aguas que la práctica normal es expresada en μS/cm (el valor numérico expresado así es 1 000 000 de veces más grande que el valor numérico expresado en S / cm).

Si la temperatura de medición no es exactamente de 25^o C, es más conveniente calcular la conductancia específica a 25^o C con la expresión:

Conductancia específica = 1411.8 x R_{KCl} / R_S μS/cm

en la cual R_{KCl} y R_S se miden a la misma temperatura, de preferencia a temperatura cercana a la ambiente, entre 20^o y 30^o C.

2.1.6-Determinación de Alcalinidad total en aguas

El método esta basado en la medición cuantitativa de los constituyentes alcalinos totales de un agua tanto en el estado ionizado como en el no ionizado, utilizando ácido sulfúrico porque reacciona en igualdad de equivalente.

Preparación de soluciones:

- Tiosulfato de sodio 0.025 mol/L: Pesar 3.1g de tiosulfato de sodio pentahidratado y enrazar a 500ml de agua destilada.

- Indicador fenolftaleina 1%: Pesar 1g del indicador y diluirlo en 100mL de alcohol etílico al 95%.

- Indicador metil naranja 0.1%: Pesar 0.1g del indicador y diluirlo en 100mL de alcohol etílico al 95%.

Procedimiento:

Pretratamiento de la muestra: Si al agua que se le determina la alcalinidad, está tratada con cloro, se le añade tiosulfato de sodio como tratamiento preliminar, porque el cloro es un agente decolorante que puede falsear los resultados, es decir se añade a 50 o 60mL de muestra, 1 mL de tiosulfato de sodio 0.025N, para anular la reacción del cloro residual.

Medir con pipeta 25-50mL de muestra, llevarlo a un enlermeyer y añadirle 5 gotas de fenolftaleína. Si no se produce coloración rosada, no hay alcalinidad a la fenolftaleína. Si se produce la coloración rosada, se añade H_2SO_4 o HCl 0.02mol/L hasta que desaparezca el color. Anotar el volumen de ácido gastado.

Cálculos:

-Alcalinidad a la fenolftaleína:

$$\text{Alcalinidad a la fenolftaleína expresada en mg/L de } CaCO_3 = \frac{A * C(H2SO4/2) * 50000}{V_M}$$

-Alcalinidad total:

-Añadir al mismo enlermeyer 2 o 3 gotas de indicador metil naranja, produciéndose un color amarillo.

-Valorar con H_2SO_4 o HCl (0.02mol/L) hasta cambio de color de amarillo a naranja. Los mililitros de H_2SO_4 o HCl que se utilicen en esta titulación deben incluir también, los que se utilizaron en la titulación con fenolftaleina.

$$\text{Alcalinidad total expresada en mg/L de } CaCO_3 = \frac{A * C(H2SO4/2) * 50000}{V_M}$$

Donde:

C (H_2SO_4/2) – concentración molar en cantidad de sustancia de ácido sulfúrico.

A – Volumen en mL de la solución ácido sulfúrico gastados en la valoración.

2.1.7- Determinación de la dureza total, cálcica y magnésica

El EDTA y sus sales sódicas, forman un complejo soluble cuando se añade a una solución acuosa que contiene cationes metálicos. Si se añade una pequeña cantidad de un indicador como el eriocromo negro T a una solución acuosa que contenga iones Ca y Mg, con un pH de 10 ± 0.1, la solución se tornara rojo vino. Después que se le ha añadido suficiente EDTA a todo el compuesto de magnesio y calcio, la solución cambiara de rojo vino a azul, lo que se toma como viraje final. La determinación del Ca se lleva a cabo utilizando el indicador de murexida (púrpura de amonio) y llevando la solución a pH = 12. El indicador forma un complejo de color rosa-

orquídea con los iones de Ca que cambia a orquídea intenso cuando se añade el EDTA, siendo el final de la valoración.

Preparación de reactivos:

- Solución amortiguadora (Buffer): disuelva 1.179g de EDTA y 0.78g de Mg SO_4 .$7H_2O$ o 0.644g de Mg SO_4 .$6H_2O$ en 50mL de agua destilada. Añada esta solución a 16.9g de NH_4Cl y 143 mL de disolución amoniacal concentrada, mezclar y diluir hasta 250 mL con agua destilada. Conserve en frasco plástico bien tapado. No guardar más de un mes si el frasco se abre con frecuencia.

-Hidróxido de sodio (1mol/L): disolver 40g de NaOH con agua destilada y llevar a un volumétrico de 1000mL, enrasando con agua destilada.

-Ácido clorhídrico (1mol/L): en un volumétrico de 1000mL que contenga 300mL de agua destilada se añaden poco a poco 98.2mL de HCl concentrado, dejar enfriar y llevar a volumen de agua destilada.

-Solución titrante de EDTA (0.01 mol/L): pese 3.723g del reactivo analítico ($C_{10}.H_{14}.N_2.Na_2.O_8.x.2H_2O$) disuélvalo en agua destilada y dilúyalo hasta un litro. Chequee la concentración estandarizando contra la solución de calcio patrón. Esta estandarización debe realizarse periódicamente. 1 mL de la solución de EDTA 0.01mol/L equivale a 400.8 µg de calcio.

-*Estandarización de la solución de EDTA 0.01mol/L:* tomar 5 mL de la solución estándar de calcio (0.01 mol/L) y llevar a un enlermeyer de 100 mL. Añada 50 mL de agua destilada, 5 mL de la solución amortiguadora, agregar una pizca del indicador eriocromo negro T y valore con EDTA. El cambio de color es de violeta a azul brillante. Cuando se va llegando al punto final debe añadirse el EDTA al ritmo de una gota cada 5-10 segundos. Anotar los mL gastados de EDTA.

$$M(EDTA) = \frac{V_1 * M(CaCO3)}{V_2}$$

Donde:

V_1:- volumen de la solución patrón de carbonato de calcio (5mL).

M($CaCO_3$):- molaridad del carbonato de calcio.

V_2:- mililitros gastados de la solución de EDTA.

- Solución patrón de carbonato de calcio (0,01mol/L): pesar 1.000g de $CaCO_3$ anhidro (seco en estufa a 105^o C durante 2h en un beaker de 500 mL, añadir poco a poco HCl 1mol/L hasta

la disolución completa, 200 mL de agua destilada y hervir la solución por unos minutos para eliminar CO_2. Enfriar y añadir unas gotas de indicador rojo de metilo ajustando el color naranja intermedio por adición de NH_3 (3mol/L) o HCl (1mol/L) según se requiera. Transfiera cuantitativamente a un volumétrico de un litro y enrase con agua destilada. Esta solución es equivalente a 1 mg de $CaCO_3$ por cada 1 mL.

- Indicador eriocromo negro T: Mezcle triturando en mortero de porcelana 0.5g de eriocromo negro T y 100g de cloruro de sodio (mezcla de polvo seco). Guardar en frasco ámbar.

- Indicador rojo de metilo: pesar 0.1g del indicador en 100 mL de etanol al 60% .

- Disolución amoniacal 3mol/L: agregar 100 mL de NH_3 (28-29%) en 500 mL de agua destilada.

- Indicador murexida: Mezclar triturando en mortero de porcelana 0.200 g de murexida con 100 g de cloruro de sodio (mezcla de polvo seco). Guardar en frasco ámbar.

Procedimiento:

Seleccione un volumen de muestra que requiera menos de 15 mL de tritante. No exceda el tiempo de titración por más de 5 minutos, contando a partir de la adición del amortiguador. Tome 25-50 mL muestra o una porción diluida a 50 mL en una cápsula de porcelana u otro recipiente adecuado. Si la muestra es de baja dureza, procedente de intercambiadores o ablandadas de cualquier otra forma (contenidos menores de 5 mg/L), tome volúmenes mayores, entre 100-1000 mL, añadiendo cantidades proporcionales del amortiguador.

-Adicione 1 mL de la solución amortiguadora (Buffer).

-Añada una pizca del indicador eriocromo negro T. Valore lentamente con el titrante EDTA con agitación continua hasta que aparezca el color azul.

Cálculos:

Dureza total:

$$\text{mg/L de dureza total como Ca } CO_3 = \frac{A * B * 1000}{V_M}$$

Donde: A = mililitros gastados de la solución EDTA.

B = mg de Ca CO_3 equivalente a 1mL de EDTA = 1mg

V_M= volumen de muestra.

Dureza cálcica y dureza magnésica:

-Tome un volumen de muestra de 50mL o una porción diluida a 50mL.

-Adicionar 2mL de Na OH 1mol/L.

-Adicionar una pizca de murexida, tomando la muestra un color rosa- orquídea.

-Valorar con la solución de EDTA lentamente y con agitación continúa hasta que aparezca el mismo color orquídea pero intenso.

mg/L de dureza cálcica como Ca CO_3 = $\frac{A * B * 1000}{V_M}$

mg de Ca/L = $\frac{A * B * 400.8}{V_M}$

Donde: A = mililitros gastados de la solución EDTA.

B = mg de $CaCO_3$ equivalente a 1mL de EDTA = 1mg

V_M= volumen de muestra.

mg de Mg/L = [Dureza total (mg $CaCO_3$) – Dureza cálcica (mg $CaCO_3$)]x 0.243

2.1.8- Determinación de Demanda Bioquímica de Oxígeno

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) es una prueba empírica, la cual da una medida del O_2 requerido para la biodegradación del material orgánico y el oxígeno requerido para oxidar algunos materiales inorgánicos tales como los sulfuros, formas reducidas del nitrógeno y el ión ferroso. Este método consiste en colocar un frasco lleno con muestra, cerrado herméticamente, e incubar el mismo en la oscuridad a 20^o C por cinco días. El oxígeno disuelto (OD) es determinado inicialmente y después de la incubación. La DBO_5 es calculada por la diferencia entre el OD inicial y el OD final.

Preparación de soluciones:

-Solución amortiguadora de fosfato: Disolver 8.5g de dihidrogenofosfato de potasio (KH_2PO_4), 21.75g de hidrogenofosfato de potasio (K_2HPO_4), 33.4g de hidrogenofosfato de sodio heptahidratado ($Na_2HPO_4.7H_2O$), y 1.7g de cloruro de amonio (NH_4Cl) en 500mL de agua destilada, diluyéndose a 1000 mL. Esta solución debe tener pH = 7.2 sin ajuste alguno. Si el agua de dilución se conserva en incubadora la solución se agrega justamente antes de usar el agua de dilución.

-Solución amortiguadora de sulfato de magnesio: Disolver 22.5g de sulfato de magnesio heptahidratado ($MgSO_4$. $7H_2O$) hasta un volumen final de 1000mL con agua destilada.

-Solución de cloruro de calcio anhidro: Disolver 27.5g de cloruro de calcio anhidro ($CaCl_2$) hasta un volumen final de 1000mL con agua destilada.

-Solución de cloruro de hierro (III): Disolver 0.25g de cloruro de hierro (III) ($FeCl_3$) hasta un volumen final de 1000mL con agua destilada.

-Soluciones ácidas y alcalinas, 1mol/L: Para neutralizar muestras residuales acidas ó básicas.

- Ácido: Añada lentamente y con agitación lenta, 28 mL de Ácido Sulfúrico concentrado, al agua destilada. Diluya a 1 L.
- Álcali: Disuelva 40 g de NaOH en agua destilada. Diluya a 1L.

-Solución de sulfito de sodio, (0.025mol/L): Disolver 1.575g de sulfito de sodio (Na_2SO_3) en 1000 mL de agua destilada. Esta solución no es estable, así que se debe preparar diariamente.

-Solución de aliltiourea (0.5mg/L): Pesar 0.0005g del reactivo, disolverlos en 500ml de agua destilada y llevar a volumen final de 1000mL

-Solución patrón DBO_5: Pesar 0.1500g de glucosa y 0.1500g de ácido glutámico (ambas sustancias previamente secas a 105 ^oC durante una hora), disolverlas en agua destilada y enrasar a 1000mL). La DBO_5 de esta mezcla debe estar en el rango de 200 ± 37 mg/L.

Preparación del patrón: En un frasco de DBO_5 añada 150mL de agua de dilución, 6 mL de la solución patrón, (introduciendo la punta de la pipeta en él liquido), y completar el volumen con agua de dilución Esta operación no se hace directamente, sino, con una manguera de goma (única para este uso) que se introduce hasta el fondo del frasco y se deja que el líquido fluya lentamente de tal forma que se desborde un volumen aproximado de 5mL para evitar la formación de burbujas de aire. Retire la manguera con cuidado, tape la botella y añada agua de dilución en el borde para que actúe como un sello de agua. Incubar durante 5 días, en la oscuridad a 20^0 C. Como hay ausencia de microorganismos, es necesario añadirle inóculo

Si el valor obtenido es muy diferente del valor teórico, deberán revisarse algunas operaciones tales como: calidad de los reactivos, preparación de soluciones, limpieza de la cristalería, etc.

Preparación del inóculo:

Si la muestra de ensayo no contiene por sí misma suficientes microorganismos adaptados, ha sido pre-tratada, contiene residuos de alta temperatura o valores de pH extremos, debe utilizarse inóculo obtenido, de una de las siguientes formas:

-Aguas albañales, tomadas de una alcantarilla principal o de una fosa de zona residencial libre de contaminación industrial notable. Esta agua debe ser decantada antes de usarse.

-Añada 10 g de tierra de jardín en 100ml de agua destilada, mezcle y deje reposar por 10 minutos. La solución restante será el inóculo. Debe añadirse 2ml del inóculo/100ml de muestra, original o diluida o agua de dilución.

-Agua de lagos o ríos conteniendo aguas albañales.

-Efluente sedimentado de agua de una planta de tratamiento.

-Agua tomada, corriente abajo, de una descarga de agua a ser analizada o; agua conteniendo microorganismos adaptados al agua a ser analizada y cultivada en el laboratorio (caso de efluentes industriales conteniendo sustancias que se degraden con dificultad).

El inóculo debe incubarse a 20^{o} C por un período de tiempo no mayor de 36 horas, después de ese tiempo se desecha. Puede añadirse al agua de dilución o directamente al frasco.

Pretratamiento de la muestra.

Muestreo y almacenamiento: Las muestras para analizar en el laboratorio, deben ser recogidas preferentemente en frascos de cristal o polietileno. Se analiza la muestra tan pronto como sea posible, dentro de un período de dos horas (2h) después de su recogida; si no, enfriar la muestra a 4^{0}C y analizar dentro de las cuatro (4h) horas siguientes (a partir de aquí comenzar a anotar los factores incidentes como la distancia a la fuente y tiempo de refrigeración), pero nunca en un periodo superior o igual a las veinticuatro (24h) horas de su recogida. En el caso de muestras muy frías, llevarlas a 20^{o}C antes del análisis.

- *Muestras contaminadas con alcalinidad cáustica o ácida*: Neutralice la muestra a un pH entre 6.5-7.5 con solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) o hidróxido de sodio, en un rango tal de concentración que la muestra no se diluya más de un 0.5 %. El pH del agua de dilución no debe ser afectado por la menor dilución de la muestra.
- *Muestras que contienen cloro residual*: En algunas muestras el cloro se disipará sometiendo la muestra por una o dos horas a la luz. Si el cloro residual no es disipado, se puede destruir por la adición de una solución de sulfito de sodio. Para determinar la cantidad de sulfito de sodio (0,025mol/L) se procede de la siguiente forma: tome 100ml de muestra neutralizada, adicione 10mL de ácido acético (CH_3COOH) 1:1 o 10 mL de ácido sulfúrico (0,025mol/L) 1:50, 10 mL de yoduro de potasio (KI) al 10 % y valore con solución de sulfito de sodio (0.025mol/L) hasta al punto final del almidón con yodo. Añada el volumen de la solución de sulfito de sodio determinado por cada 100 mL de muestra. Después de 10-20 minutos el cloro residual de la muestra será eliminado.
- *Muestras contaminadas con sustancias tóxicas:* en este caso la muestra requiere un estudio y tratamiento especial.
- *Muestras sobresaturadas de oxígeno*: Las muestras sobresaturadas de oxígeno (mas de 9mg OD/L a 20^{0}C) se encuentran en aguas frías o aguas donde ocurra la fotosíntesis.

Para prevenir las perdidas de oxígeno durante la incubación de tales muestras, reducir OD a saturación a 20^0C, llevando la muestra a 20^0C dentro de un recipiente parcialmente lleno, agitando vigorosamente o aireando con aire comprimido.

Procedimiento:

-*Preparación del agua dilución*: Antes de utilizar el agua destilada es necesario que se sature de oxígeno disuelto, para ello se hace pasar una corriente de aire comprimido y filtrado por un tiempo de 15 -30 minutos, incubar de 24 - 48 horas a 20 ^{o}C y para su uso, sacarla del frasco con manguera (única para esto).

Coloque el volumen deseado de agua en un frasco con tapa apropiada y añada 1ml de cada solución (amortiguadora de fosfato, sulfato de magnesio, cloruro férrico, y cloruro de calcio) por cada litro de agua. Posteriormente se coloca en reposo en la incubadora a 20 ^{0}C± 0.05% y añada el buffer de fosfato, en el momento de utilizarla.

La calidad del agua de dilución se determina como sigue: si el agua de dilución ha sido almacenada para mejorar su calidad y no ha sido sembrada con microorganismos, el consumo de OD después de los 5 días de incubación a 20^0C no debe ser mayor de 0.1-0.2 mg/L. Otra forma de chequear la calidad del agua de dilución es mediante la incubación del patrón de glucosa-ácido glutámico.

Si el agua de dilución no es satisfactoria las correcciones adecuadas se dificultan y los resultados son dudosos, en este caso debe prepararse de nuevo.

Técnica de dilución: Para obtener resultados más exactos, se debe elegir un volumen de muestra, de modo que se consuma por lo menos 2 mg/L de OD durante el período de incubación, pero que quede 1 mg/L de OD en la botella. Hacer varias diluciones de muestras preparadas para obtener un consumo de OD en este rango.

- Un análisis rápido, puede ser correlacionando la DBO con la DQO:

El valor de la DQO que más se acerque al 50 % se divide entre 2 y después entre 4, con estos valores de (anexo 1) y se buscan los mL de muestra/ 300 mL de agua de dilución. Se deben realizar dos diluciones más, una por encima y otra por debajo del valor dado.

Ej.: DQO más cercano al 50 % = 611.77/2 = 305.88

al 50 % = 611.77/4 = 152.84

Estos valores se encuentran en el rango de 100-300 mL OD/L (DBO esperada)

Con estos valores se va al anexo1 y se buscan los mL de muestras por 300 mL de agua de dilución, en este caso es de 5mL de muestra, la otra con 1mL por encima (6mL) y una tercera con 1mL de muestra por debajo (4mL).

- En ausencia de conocimientos previos, usar las siguientes diluciones: 0 a 1% para residuos industriales cargados; 1 a 5% para aguas residuales sedimentadas y no tratadas; 5 a 25% para efluentes tratados biológicamente; 25 a 100% para aguas de rió contaminadas.

Montaje de la muestra:

En un frasco de DBO_5 añada 150mL de agua de dilución, el volumen de muestra requerido y 1ml de fluoruro de potasio (KF) y completar el volumen con agua de dilución. Esta operación no se hace directamente, sino, con una manguera de goma (única para este uso) que se introduce hasta el fondo del frasco y se deja que el líquido fluya lentamente de tal forma que se desborde un volumen aproximado de 5 mL para evitar la formación de burbujas de aire. Retire la manguera con cuidado, tape la botella y añada agua de dilución en el borde de la tapa para que actúe como un sello de agua. Incubar uno de los frascos que contiene el blanco y los frascos que contienen las muestra (diluidas o no) durante 5 días en la oscuridad a 20^0 C± 0.05%.

Nota1. En caso de no tener frascos de DBO_5, tomar un frasco de vidrio con tapa esmerilada de volumen aproximado de 250-300 mL, después que esté limpio y seco pesarlo con su tapa, llenarlo con agua de forma tal que no quede oxígeno en el mismo y pesarlo de nuevo, a ese peso se le resta el peso del pomo vacío y estos serán los mL de agua de dilución a tener en cuenta para los cálculos (volumen exacto del frasco. Invertir los pomos en frascos más amplios o beaker que contengan agua de dilución. Incubar uno de los blancos del agua de dilución y la muestra durante 5 días en la oscuridad, a 20 ^{0}C.

Determinación de OD (blanco, patrón y muestra) antes y después de la incubación:

Cálculos:

Determinación de la DBO_5 cuando el agua de dilución no tiene inóculo:

$$DBO = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

Donde:

D_1- OD de la muestra diluida inmediatamente después de preparada.

D_2- OD de la muestra diluida después de la incubación por 5 días a 20^0C.

P- fracción decimal de la muestra utilizada.= mL de muestra / volumen real del frasco.

Cuando el agua de disolución tiene inóculo:

$$DBO = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2) * f}{P}$$

Donde:

B_1= OD del blanco con inóculo inmediatamente después de preparada o a tiempo 0.

B_2= OD del blanco con inóculo después de la incubación por 5 días a 20°C.

f = Relación entre inóculo en la muestra y él inóculo en el blanco = % inóculo en la muestra (D_1)/ % inóculo en el blanco (B_1)

Si se agrega material de cultivo (inóculo) directamente a la muestra o a las botellas de blanco de cultivo.

f = Relación entre inóculo en la muestra y el inóculo en el blanco = volumen de inóculo en la muestra diluida (D_1)/ volumen de inóculo en el blanco de cultivo (B_1).

2.1.9- Determinación del oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto, es una prueba que se utiliza para calcular el efecto de los desechos residuales en los recursos de oxígeno de las aguas de recepción. Se determina por el método Winkler, modificación azida, donde la muestra se trata con una sal de manganeso (II) y yoduro alcalino. El precipitado de hidróxido de manganeso, reacciona con el oxígeno disuelto para formar un precipitado carmelita de fórmula $MnO(OH)_2$. La acidificación de la muestra con ácido sulfúrico forma sulfato mangánico el cual actúa como agente oxidante, liberando el iodo del yoduro de potasio. El iodo liberado es estequiométricamente equivalente al oxígeno.

$Mn(OH)_2 + 1/2\ O_2 \Rightarrow MnO(OH)_2$

$MnO(OH)_2 + 4H_3O^+ + 3I^- \Rightarrow Mn^{2+} + I_3^- + 7H_2O$

$2S_2O_3^{2-} + I_3^- \Rightarrow S_4O_6^{2-} + 3I^-$

Preparación de soluciones:

-Solución de sulfato de manganeso (II): Pesar 480g de sulfato de manganeso (II) tetrahidratado ($MnSO_4.4H_2O$), 400g de sulfato de manganeso (II) dihidratado ($MnSO_4.2H_2O$) ó 364g de sulfato de manganeso (II) monohidratado ($MnSO_4.H_2O$); filtrar si es necesario y llevarlo hasta un volumen de 1000 mL con agua destilada. Esta solución no se debe colorear en presencia de almidón al adicionarla a una solución de yoduro de potasio acidificada.

-Solución de álcali-yoduro-azida: Pesar 500 g de hidróxido de sodio (NaOH) o 700 g de hidróxido de potasio (KOH) y 135 g de yoduro de sodio (NaI) o 150 g de yoduro de potasio (KI) en 500 mL de agua destilada. Enrasar a 1000 mL. Adicionar luego a la solución 10g de

azida de sodio (NaN_3) disuelta en 40mL de agua destilada. Esta solución no debe colorearse en presencia de almidón cuando se diluye o acidifica.

-Para muestras sobresaturadas: Disolver 10 g de azida de sodio en 500 mL de agua destilada. Adicionar 480 g de hidróxido de sodio y 750 g de yoduro de sodio y agitar hasta disolver. Al hacer estas operaciones, aparecerá una turbidez blanca debido al carbonato de sodio pero esto no afectará la calidad del reactivo

Precauciones: No acidificar esta solución pues se podrían producir vapores de ácido hidrazoico.

-Almidón al 1 %: pesar 1 g de almidón soluble grado-laboratorio y 0.2 g de ácido salicílico ($C_6H_4OHCOOH$), hinchar con un poco de agua al ambiente, añadir a 40 mL de agua destilada hirviendo, disolverlo y llevarlo a un volumen final de 100 mL con agua destilada a temperatura ambiente.

-Solución estándar de biyodato de potasio, (0.0021 mol/L): Disolver 0.8124 g de biyodato de potasio KH $(IO_3)_2$ en agua destilada y diluir a 1000 mL.

-Solución estándar de tiosulfato valorante, (0.025 mol/L): Disolver 6.205 g de tiosulfato de sodio pentahidratado ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) en agua destilada y recién hervida, adicionar 1.5 mL de hidróxido de sodio 6 mol/L ó 0.4 g de hidróxido de sodio sólido NaOH(s) y enrasar a 1000 mL. La solución es guardada en frasco ámbar a temperatura ambiente. Es estable por varios meses, se desecha cuando forme precipitado. Estandarizar con solución de biyodato de potasio 0.0021 mol/L

Estandarización: la concentración exacta de la solución de tiosulfato puede ser determinada por valoración con ión yodato en medio ácido.

$IO_3^{1-} + 5I^{1-} + 6H_3O^{1+}$ ---------> $2I_3^- + 9H_2O$

$6S_2O_3^{2-} + 2I_3^{1-}$ ----------> $3S_4O_6^{2-} + 6I^{1-}$

Disolver aproximadamente 2 g de yoduro de potasio, libre de yodato, en un erlenmeyer con 100-150 mL de agua destilada. Adicionar 1mL de ácido sulfúrico 6mol/L o unas pocas gotas del mismo ácido pero concentrado, y 20 mL de solución estándar de biyodato. Diluir a 200mL y valorar el yodo liberado con tiosulfato titrante, adicionar almidón hacia el final de la valoración cuando se alcanza un color amarillo-pajizo-pálido. Si las soluciones se preparan correctamente, se nesecitarán 20 mL de solución de tiosulfato 0.025 mol/L; sino es así, ajustar la solución de tiosulfato a 0.025 mol/L.

$$C = \frac{V_{1.}\,0.0021}{V_2}$$

Donde:

V_1= volumen de solución estándar de biyodato de potasio.

V_2= mL de tiosulfato de sodio gastados.

C- concentración molar en cantidad de sustancia de tiosulfato de sodio.

-Solución de fluoruro de potasio: Disolver 40g de fluoruro de potasio dihidratado (KF. $2H_2O$) en agua destilada y diluir a 100 mL.

-Solución de ácido sulfúrico (6 mol/L): añadir con cuidado 784 mL de ácido sulfúrico concentrado en una porción de agua destilada, y diluir hasta 1L.

Procedimiento:

La muestra se colecta en una botella de DBO o frasco para muestreos. Esta operación no se hace directamente, sino, con una manguera de goma (única para este uso) que se introduce hasta el fondo del frasco, la cual contendrá 1 mL de fluoruro de potasio (KF) y se deja que él líquido fluya lentamente de tal forma que se desborde un volumen aproximado de 5 mL para evitar la formación de burbujas de aire. La manguera se retira con cuidado y se tapa la botella.

Nota: En caso de no tener frascos de DBO, tome un frasco de vidrio y tapa esmerilada de volumen aproximado de 250-300 mL, después que esté limpio y seco pesarlo con su tapa, llenarlo con agua de forma tal que no quede oxígeno en el mismo y pesarlo de nuevo, a ese peso se le resta el peso del pomo vacío y estos serán los mL de agua de dilución a tener en cuenta para los cálculos (volumen exacto del frasco)

-Destapar el frasco y agregan 1mL sulfato de manganeso y 1mL de álcalis-yoduro-azida formándose un precipitado en forma de flóculos. Si el precipitado es blanco no hay oxígeno presente y el análisis se detiene en este punto. Si el precipitado es carmelita rojizo hay oxígeno presente y se puede continuar el mismo.

-Agitar por inversión de 10-15 veces, deje sedimentar el precipitado

Nota 1: Si el análisis no se puede hacer en el momento, es preferible guardar la botella con el oxígeno precipitado (no más de 8 horas). El ácido debe ser añadido, sólo si las botellas no van a estar almacenadas por mucho tiempo.

-Añadir 1mL de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del frasco. Romper los flóculos y volver a agitar por inversión de 10-15 veces.

-Guarda en un lugar oscuro y no prolongar el proceso de valoración por más de una hora (1h).

-Transferir cuantitativamente a un erlenmeyer de 300 mL o un volumen de 100 -200 mL de la muestra y valorar el iodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio 0.025 mol/L hasta color amarillo pajizo, adicionar 2 mL de almidón al 1% y continúe la valoración hasta la primera desaparición del color azul. La valoración debe transcurrir relativamente rápida para evitar que el tiosulfato se oxide y ocurra una regresión de color. Anotar los mililitros de tiosulfato gastados en la valoración.

Cálculos:

$$OD(mg/L) = \frac{V.N.8000}{V_m}$$

Donde:

V- volumen gastado de tiosulfato de sodio

N- Concentración molar del tiosulfato de sodio rectificado.

V_m- volumen de muestra.

2.1.10- Determinación de Cloruros

El cloruro en forma de ión cloruro (Cl^-), es uno de los más comunes aniones inorgánicos en aguas y aguas residuales. En agua potable, el sabor salino producido por la concentración de Cl^- es variable y depende de la composición química de la misma. Algunas aguas que contienen 250 mgCl^-/ L pueden tener un sabor salino detectable si el catión es el sodio. Por otra parte el sabor salino típico puede estar ausente en aguas que contienen 1000 mg/L cuando los cationes predominantes son el Ca y Mg.

La concentración de cloruro es mayor en aguas residuales que en aguas crudas porque el NaCl es un compuesto común en la dieta del hombre que se intercambia en el intestino.

Se basa en la valoración del contenido de iones cloruros presentes en una muestra de agua o aguas residuales, utilizando una solución de nitrato de plata y cromato de potasio como indicador. Cuando los cloruros han sido completamente precipitados como cloruro de plata, los iones plata reaccionan con el cromato dando cambio de coloración de amarillo a rojo ladrillo.

Preparación de soluciones:

-Solución indicadora de cromato de potasio: disolver 2 g de cromato de potasio en una cantidad de agua destilada, adicionar solución de nitrato de plata hasta que aparezca un precipitado rojo; dejar en reposo por 12 horas, filtrar y diluir con agua destilada hasta 100ml.

-Solución de nitrato de plata (0.0141 mol/L): pesar 2.395g de $AgNO_3$ y disolverlo hasta 1 L con agua destilada.

-Solución estándar de cloruro de sodio (0.0141 mol/L): pesar 0.824 g de NaCl (seco a 140 ^{o}C por 2 h) y disolverlo a 1L con agua destilada. (1mL= 500 μgCl^-).

En caso de no utilizar nitrato de plata fixanal es necesario estandarizar la solución antes de usarla. Para ello tome 20 mL de la solución estándar de cloruro de sodio 0.0141 mol/L, añada 1mL del indicador cromato de potasio y valore con al solución de nitrato de plata 0.0141mol/L hasta que tome una coloración rojo-ladrillo que será el punto final de la valoración.

$$C(Ag) = \frac{V_1 * C(Cl)}{V_2}$$

Donde:

$V_{1:}$ volumen de la solución de NaCl.

C(Cl): concentración molar en cantidad de sustancia de la solución estándar de NaCl.

V_2: volumen de nitrato de plata gastado.

C(Ag): Concentración molar en cantidad de sustancia de la disolución de $AgNO_{3.}$

-Solución de ácido sulfúrico 1mol/L: añadir 28 mL de ácido sulfúrico concentrado en una porción de agua destilada, y diluir hasta 1L.

-Indicador fenolftaleína 1%: disolver 1g del indicador en 100mL de alcohol etílico.

-Solución de hidróxido del sodio 1mol/L: pesar 40 g de NaOH y disolverlo a un litro con agua destilada.

-Solución de hidróxido de aluminio: disolver 125g de sulfato de aluminio y potasio (Al K $(SO_4)_{2.}$ 12 H_2O) o sulfato de aluminio y amonio (Al NH_4 $(SO_4)_2$ .12 H_2O) en un litro de agua destilada. Calentar a 60 ^{o}C y adicionar 55 mL de disolución amoniacal concentrada (NH_3) lentamente y agitando. Dejar reposar por 1h, desechar el sobrenadante y lavar el precipitado con adiciones sucesivas de agua destilada hasta que esté libre de cloruro. La suspensión debe llevarse a volumen aproximado de 1L.

Procedimiento:

Utilizar 100 mL de muestra o una porción de la misma diluida en 100 mL.

- Si la muestra tiene un pH entre 7-10 puede realizar la titración directamente. Si el pH no está en dicho rango ajuste el mismo con H_2SO_4 (1mol/L) o NaOH (1mol/L) y fenolftaleína como indicador.

- Si la muestra es coloreada adicione 3mL de la suspensión de $Al(OH)_3$,si no aparece precipitado, añada NaOH (1mol/L) poco a poco, hasta que aparezca (pH = 9), mezcle, déjela en reposo y

filtre. Si hay presencia de sulfitos, sulfatos o tiosulfatos, adicione 1 mL de H_2O_2 y agite por un minuto.

-Añadir 1mL del indicador de cromato de potasio.

- Comenzar la valoración añadiendo una solución de nitrato de plata (0.0141 mol/L) hasta que se produzca el cambio de color de amarillo a amarillo-rojizo, siendo este el punto final. Es necesario mantener una agitación de la muestra durante la valoración. Prepare un blanco y realice el mismo procedimiento de la muestra, valorando el mismo con el nitrato de plata. Es usual que se gasten de 0.2-0.3 mL.

Cálculos:

$$mg / L(Cl^-) = \frac{C(Ag)(V_A - V_B)}{V_M} 35400$$

Donde:

V_A: mL gastados en la valoración de la muestra.

V_B: mL gastados en la valoración del blanco.

C(Ag): concentración en cantidad de sustancia del nitrato de plata.

mg NaCl/ L = (mg Cl^-/ L). 1.65

2.1.11- Sólidos totales disueltos y conductividad eléctrica

La primera propiedad importante a tener en cuenta para determinar la adaptabilidad de una agua para diluir un agroquímico es el Total de sólidos disueltos (TSD**)** lo cual es expresado corrientemente en mg/L. El TSD puede ser determinado evaporando una muestra y pesando los minerales que quedan o puede también ser determinado midiendo la concentración de los seis iones principales y calculando la suma de los iones.

Por ejemplo si el análisis de agua muestra:

Calcio= 666 mg/L; Sulfatos= 2434 mg/L; magnesio= 234 mg/L; cloruros=32 mg/L; sodio_=130 mg/L; bicarbonatos=346 mg/L , el TSD por el método de la suma de iones es de 3842 mg/L.

La determinación de TSD por evaporación es tediosa y no es una medición realizada por la mayoría de los laboratorios. El TSD por suma de iones requiere el análisis de los principales constituyentes y es por ende más caro. De allí que generalmente se utilice un método más sencillo como es determinar la *conductividad eléctrica* (CE) como una medida para medir el material mineral total disuelto en el agua.

La suma de todos los minerales disueltos en una muestra de agua se refiere normalmente como total de sólidos disueltos (TSD). Cuando más alto es el valor de TSD más es la

conductividad eléctrica del agua considerada. Aprovechando esta característica, una medida de la conductividad eléctrica (CE), en µS/cm a 25ºC, es usada frecuentemente para proporcionar una estimación rápida y económica del total de sólidos (TSD, mg/L) disueltos en agua. La CE de muestras de agua puede ser determinada rápida y fácilmente en laboratorio o a campo. Debido a que la CE es dependiente de la temperatura, todas las lecturas la CE deben ser estandarizadas a 25º C.

2.1.12- Determinación del Color

La expresión color se debe considerar que define el concepto de verdadero color, esto es el color del agua de la cual se ha eliminado la turbiedad. El término de color aparente no incluye únicamente el debido a las sustancias en solución, sino también al atribuible a sustancias en suspensión. El color aparente se determina en la muestra original sin filtración o centrifugación.

Se determina por comparación con discos de cristal de color especial, si se han calibrado propiamente. En esta determinación la muestra y el blanco (agua destilada) se colocan en los tubos Lovibond, éstos se colocan en el equipo y la lectura se hace de forma directa.

2.1.13-Determinación de la Turbidez

La turbidez es un parámetro relacionado con el grado de transparencia y limpieza del agua que a su vez depende de la cantidad de sólidos en suspensión del agua que pueden ser resultado de una posible actividad biológica o simplemente una presencia de componentes no deseables. Se emplea el método espectofotométrico, que se basa en comparar la intensidad de la luz trasmitida en línea recta (turbidimetría) por la muestra en condiciones definidas, con la trasmitida por una suspensión de referencia en iguales condiciones. (NC: 1989)

Preparación de soluciones:

-Solución de sulfato de hidracina 10 g/L.

-Solución de hexametilentetramina 100g/L.

-Solución de referencia de permazina (V_1). Se mezcla 5.0mL de solución de sulfato de hidracina con 5.0mL de solución de hexametilentetramina se deja en reposo durante 24 horas a 25 ± 3 ^{0}C y luego se diluye a100mL. La turbiedad de esta solución es de 400 unidades nefelométricas y se prepara cada mes.

-solución de referencia de permazina (V_2). Se diluye 10.0 mL de solución de referencia V_1 en 100 mL de agua. Esta suspensión es de 40 unidades nefelométricas de turbiedad y se preparará semanalmente.

Procedimiento:

La muestra se toma en recipientes de vidrio y plástico, requiriéndose un volumen mínimo de 100 mL; la turbiedad se determinará el mismo día que se toma la muestra. La muestra se agita para dispersar los sólidos, se espera a que desaparezcan las burbujas de aire y se traspasa a las celdas del equipo de medición. Se calcula la turbiedad mediante el gráfico de calibración. Ambos se miden en un espectrofotómetro UV-VIS a 420nm.

- *Curva de calibración:*

Transferir a seis matraces de un trazo de 100 mL las cantidades de12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 75.0, y 87.5 mL de solución de referencia permazina que se correspondan con 5.0, 10, 15, 20, 30 y 35 NTU (unidades de turbiedad nefelométricas) del anexo 2. Enrasar con agua destilada y medir a 420nm

Cálculos:

NTU de la muestra = (A-I) $*$ f

Donde:

A: Absorbancia de la muestra problema.

f: Factor que representa la cotangente del ángulo de inclinación de la curva de calibración.

I : Intercepto de curva de calibración.

2.1.14- Determinación de coliformes totales

La determinación de coliformes totales se lleva a cabo de forma tradicional por la Técnica de Tubos Múltiples de Fermentación, siendo esta aplicable a aguas salobres, lodos, sedimentos y fangos, teniendo en consideración el número de tubos por dilución y el tamaño de la muestra.

Este grupo comprende los bacilos aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, no formadores de esporas que fermentan lactosa con producción de ácido y gas dentro de las 48 horas a 35°C. Son citocromo oxidasa negativos y utilizan glucosa con formación de ácido y/o ácido y gas.

- *Análisis cuantitativo por la técnica de tubos múltiples de fermentación:*

Fase presuntiva:

- Se preparan diluciones decimales según el grado de contaminación esperado de la muestra. Se toma 1 mL de la muestra y se añade a un tubo que contiene 9 mL de buffer fosfato, se homogeniza el contenido y se obtiene la dilución 1:10. Se procederá de igual forma según el número de diluciones requeridas (1:100, 1:1000, etc.) con el empleo de una pipeta estéril para cada dilución .

- Se inoculan series de 5 tubos (a,b,c,d,e) de Caldo Lactosado o Caldo Lauril Triptosa con tubos Durham invertidos. La primera serie se inocula directamente con 10 mL de la muestra en tubos que contengan 10 mL del caldo de doble concentración. La serie siguiente se inocula con cantidades de 1 mL de la muestra directamente en tubos con 10 mL del caldo de simple concentración. Después se inoculan las series siguientes con 1 mL de cada una de las diluciones preparadas.

Se incuba a 35 ± 0,5°C por 24 ± 2 horas. Después de este tiempo se observará si hay presencia de ácido o gas en los tubos invertidos, si están negativos se incuban hasta las 48 ± 3 horas.

La producción de ácido o gas dentro de las 48 ± 3 horas constituye una reacción presuntiva positiva y la ausencia de formación de ácido o gas al finalizar la incubación constituye una prueba negativa.

Fase confirmativa:

Los tubos positivos en la fase presuntiva son subcultivados con asa de metal en tubos de Caldo Bilis Verde Brillante.

Se incuba a 35 ± 0,5°C durante 48 ± 3 horas.

- La producción de gas en cualquier cantidad en el tubo invertido es considerado como una fase confirmativa positiva.
- Se calcula el valor NMP del número de tubos positivos de Caldo Bilis Verde Brillante.

Cálculo y expresión de los resultados:

La densidad de coliformes totales se expresa como el numero mas probable (NMP) de coliformes totales por 100 mL de la muestra.

Si se utilizan porciones de la muestra 10, 1,0 y 0,1mL, los valores se obtienen directamente de la tabla 6 de los anexos para el cálculo de NMP.

Si se usan porciones de la muestra de 1,0, 0,1 y 0,01mL, el resultado se registra como 10 veces el valor reflejado en el anexo3.

Si se siembran porciones de 0,1, 0,01 y 0,001mL, se registra como 100 veces el valor de la tabla 6 de los anexos; y así sucesivamente para otras combinaciones.

2.1.15-Determinación de coliformes fecales

Para la determinación de coliformes fecales tradicionalmente se ha empleado la técnica de Tubos Múltiples de Fermentación, este grupo comprende los bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, citocromo oxidasa negativo que fermentaban lactosa con producción de ácido y gas a 44,5°C ± 0,2 en 24 horas.

- *Análisis cuantitativo por la técnica de tubos múltiples de fermentación:*

Fase presuntiva:

- Se preparan diluciones decimales según el grado de contaminación esperado de la muestra. Se toma 1 mL de la muestra y se añade a un tubo que contiene 9 mL de buffer fosfato, se homogeniza el contenido y se obtiene la dilución 1:10. Se procederá de igual forma según el número de diluciones requeridas (1:100, 1:1000, etc.) con el empleo de una pipeta estéril para cada dilución.

- Se inoculan series de 5 tubos (a,b,c,d,e) de Caldo Lactosado o Caldo Lauril Triptosa con tubos Durham invertidos. La primera serie se inocula directamente con 10 mL de la muestra en tubos que contengan 10 mL del caldo de doble concentración. La serie siguiente se inocula con cantidades de 1 mL de la muestra directamente en tubos con 10 mL del caldo de simple concentración. Después se inoculan las series siguientes con 1 mL de cada una de las diluciones preparadas.

- Se incuba a 35 ± 0,5 °C por 24 ± 2 horas. Después de este tiempo se observará si hay presencia de ácido o gas en los tubos invertidos, si están negativos se incuban hasta las 48 ± 3 horas.

- La producción de ácido o gas dentro de las 48 ± 3 horas constituye una reacción presuntiva positiva y la ausencia de formación de ácido o gas al finalizar la incubación constituye una prueba negativa.

Fase confirmativa:

Los tubos positivos en la fase presuntiva son subcultivados en Caldo EC.

- Se incuba a 44.5 ± 0,2 °C durante 24 ± 2 horas.

-La producción de gas en Caldo EC se considera un resultado positivo y su ausencia un resultado negativo.

Cálculo y expresión de los resultados:

-La densidad de coliformes fecales se expresa como el NMP de coliformes fecales/100 mL.

La densidad de coliformes totales se expresa como el NMP de coliformes totales por 100 mL de la muestra.

-Si se utilizan porciones de la muestra 10, 1,0 y 0,1mL, los valores se obtienen directamente de la tabla 6 de los anexos para el cálculo de NMP.

-Si se usan porciones de la muestra de 1,0, 0,1 y 0,01mL, el resultado se registra como 10 veces el valor reflejado en el anexo3.

-Si se siembran porciones de 0,1, 0,01 y 0,001mL, se registra como 100 veces el valor de la tabla; y así sucesivamente para otras combinaciones.

2.2 Procedimiento a seguir para la determinación de algunos parámetros de validación de las técnicas analíticas para la determinación de amoniaco, nitrito y nitrato.

Para la determinación de la Linealidad se construyeron cuatro curvas de calibración (una para cada técnica de ensayo), en el intervalo de concentraciones definido anteriormente. Para ello se utilizó la sustancia de referencia correspondiente a cada determinación. Teniendo en cuenta todos los valores experimentales, se determinó la ecuación de la recta, se calculó el coeficiente de correlación lineal (r), el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_f %), la desviación estándar relativa de la pendiente y el intervalo de confianza del intercepto.

Para la determinación de la precisión se analiza el comportamiento de la repetibilidad del método, se realizan réplicas, se calcula la media de las concentraciones, la desviación estándar y el coeficiente de variación en %. Para el estudio de la precisión intermedia se realiza el experimento por dos analistas diferentes. Se calcula la media, el coeficiente de variación (CV %) de los resultados obtenidos.

Para determinar la exactitud del método se realizaron réplicas para un valor intermedio de concentración de la curva de calibración confeccionada a partir de una solución patrón. Se comparó el valor medio determinado y el referido a través de la expresión:

$$\frac{\overline{C}_X}{C_{TEOR}} = \frac{X}{100\%}$$

donde:

$\overline{C}x$: Concentración media experimental.

C_{TEOR}: concentración teórica.

X: Porcentaje de recobro obtenido.

Además, se realizó una prueba de hipótesis t de Student, para ello se utilizó la expresión:

$$t_{exp} = \frac{100 - R|\sqrt{n}}{CV}$$

donde:

R = % de recobro promedio

n = número de determinaciones

CV = coeficiente de variación del % de recuperación en cada determinación

El valor experimental de t, (t_{exp}), se comparó con el valor *t* de la tabla, ($t_{(1-\alpha),\nu}$), donde α= 0.05 y ν = n-1.

Para evaluar la exactitud del método bajo estudio se consideraron los criterios de aceptación:

- Si el valor de la recuperación media se encuentra en el intervalo 97 % ≤ R ≤ 103 % puede considerarse que $\overline{C}x = C_{TEOR}$ y el método es considerado exacto.

- Si se cumple que: $t_{exp} < t_{(1-\alpha),\nu}$ no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100, confirmando la buena veracidad del método.

En la siguiente tabla se refieren los experimentos realizados para la evaluación de los parámetros estudiados en cada técnica.

Técnica analítica	Linealidad(n)	Precisión		Exactitud(n)
		Repetibilidad(n)	P.Intermedia(n)	
nitritos	20	4	8	8
nitratos	16	4	8	8
amoniaco	20	4	8	8

En el estudio del límite de cuantificación se realizaron 4 réplicas de las respectivas determinaciones en cada nivel de concentración que se presenta en la siguiente tabla,

amoniaco		**nitratos**		**nitritos**	
C.teórica (mg/L)	**n**	**C.teórica (mg/L)**	**n**	**C.teórica (mg/L)**	**n**
0.122	4	10	4	0.0821	4
		20	4	0.1642	4

Se determinó el coeficiente de variación de las réplicas en cada caso y su % de Recobro, seleccionando el menor nivel de concentración que cumple con los límites de aceptación de ambos parámetros.

Capítulo III. Discusión de los resultados

3.1-Determinación de algunos parámetros de validación de la técnica analítica para la determinación de amoniaco

3.1.1-Linealidad

En la figura 1 y el anexo 4 se muestran los resultados del estudio de linealidad realizado al patrón de amoniaco.

En la siguiente tabla 1 se muestran los valores de absorbancia para cada concentración y los factores respuesta (y/x) para cada determinación.

Tabla 1: Resultados del estudio de linealidad en la determinación de amoniaco

Conc (mg/L)	Abs $_1$	Abs $_2$	Abs $_3$	Abs $_4$	f $_1$	f $_2$	f $_3$	f $_4$	Tratamiento estadístico
0,122	0,021	0,022	0.021	0.021	0.1721	0.1803	0.1721	0.1721	
0,244	0,045	0,042	0.043	0.045	0.1844	0.1721	0.1762	0.1844	n=20
0,488	0,085	0,081	0.080	0.082	0.1741	0.1659	0.1639	0.1680	X_m=0.1722
0,732	0,120	0,127	0.130	0.129	0.1639	0.1734	0.1775	0.1762	S=0.00657
1,220	0,205	0,216	0.205	0.209	0.1680	0.1770	0.1680	0.1713	CV=3.82%

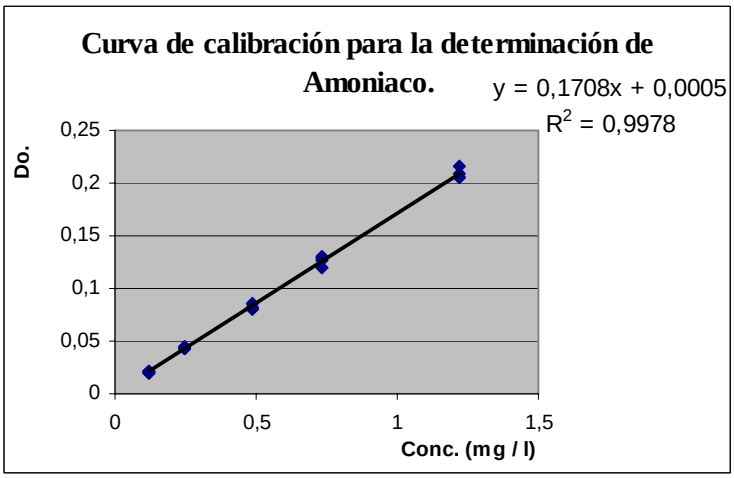


Figura 1: Curva de calibrado para el amoniaco

Tabla 2: Resultados estadísticos del estudio de linealidad

Parámetros	Valor experimental	Criterio
# Total de datos (n)	20	-
Coeficiente de correlación (r)	0.998	$r \geq 0.99$
Pendiente (m)	0.1708	Desigual de cero
S relativa de m (S_m)	0.00236	-
C V(m), %	1.4	≤ 2 %
C V f(y/x) %	3.82	≤ 5%
$b \pm S_b t$ (n-2; p=0.05)	- 0.00053 a + 0.00153	b± Sbt, contiene al cero
Intervalo de la curva calibrado	0.122-1.22 mg/L	

El coeficiente de variación de la función respuesta resultó de 3.82%, siendo este valor menor que el 5%, criterio de aceptación para este parámetro; se cumple con el Test de linealidad de la pendiente y el Test de proporcionalidad del intercepto, donde los límites de confianza de este último incluyen al cero, por lo que se puede afirmar que la dependencia de la respuesta de la técnica con respecto a la concentración de amoniaco es lineal en el rango de 0.122-1.22 mg/L.

3.1.2-Precisión

En las tablas 3 y 4 se muestran los resultados de la repetibilidad y precisión intermedia respectivamente.

Tabla 3: Resultados de repetibilidad para la determinación de amoniaco

Conc(amoniaco) = 0.488 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc.(mg/L)	
1	1	0.085	0.495	n=4
	2	0.081	0.475	Xm =0.478
	3	0.080	0.466	S = 0.002160
	4	0.082	0.477	CV = 2.63%

Tabla 4: Resultados de precisión intermedia para la determinación de amoniaco

Conc(amoniaco) = 0.488 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc. (mg/L)	
1	1	0.085	0.495	n=8
	2	0.081	0.475	Xm = 0.483
	3	0.080	0.466	S = 0.011237
	4	0.082	0.477	CV =2.33%
2	1	0.085	0.495	
	2	0.083	0.483	
	3	0.081	0.475	
	4	0.085	0.495	

El análisis de los parámetros de las tablas 3 y 4 refleja la adecuada precisión de la técnica en las condiciones estudiadas, ya que los coeficientes de variación son inferiores al 3 y 5 % respectivamente.

3.1.3- Exactitud

En la tabla 5 se muestran los resultados del estudio de exactitud, realizados con un patrón.

Tabla 5: Resultados del estudio de la exactitud. Determinación de amoniaco

Concentración Teórica (mg/L)	0.122	0.488	1.22
Recobro (%)	98.4	101.4	98.1
	103.3	99.0	103.4
	98.4	97.8	98.1
	98.4	101.4	100.05
C.V.(%)	2.45	1.80	2.49
Recobro Medio(%)	**99.6**	**99.9**	**99.9**
T de Student Exp.	**1.25**	**0.11**	**0.06**
T de Student Tab.	**2.353**		

Como se observa los valores de la $t_{exp} < t_{tab}$ (α =0.05, n-1)) en los niveles de concentración ensayados por lo que el método analítico es exacto.

3.1.4-Determinación del límite de cuantificación

En la tabla 6 se muestran los valores del estudio del límite de cuantificación y el porcentaje de recobro para una concentración cercana al contenido permisible para aguas potables.

Tabla 6: Límite de cuantificación para la determinación del amoniaco

Concentración teórica (mg/L)	**0.122**	Recobro (%)	**Parámetros estadísticos.**
Concentración experimental (mg/L)	0.120	98.4	n=4
	0.126	103.3	R=**99.6%**
	0.120	98.4	S=2.4
	0.120	98.4	CV(%)=2.45

Al analizar el recobrado del 97.13% (97 %≥ R ≤ 103 %) y el coeficiente de variación correspondiente al nivel más bajo de concentración de amoniaco empleado en la curva (por debajo de 5%), se demuestra que es válida la cuantificación de amoniaco a partir de ese valor, siendo este el limite de cuantificación de esta técnica.

3.2-Determinación de algunos parámetros de validación de la técnica analítica para la determinación de nitritos

3.2.1- Linealidad

En las figura 2 y el anexo 5 se muestra los resultados del estudio de linealidad realizado al patrón de nitrito.

En la siguiente tabla 7 se muestran los valores de absorbancia para cada concentración y los factores respuesta (y/x) para cada determinación.

Tabla 7: Resultados del estudio de linealidad en la determinación de nitritos

Conc (mg/L)	**Abs $_1$**	**Abs $_2$**	**Abs $_3$**	**Abs $_4$**	**f $_1$**	**f $_2$**	**f $_3$**	**f $_4$**	**Tratamiento Estadístico**
0,0821	0,070	0,065	0.071	0.075	0.8526	0.7917	0.8647	0.9135	
0,1642	0,150	0,145	0.135	0.150	0.9135	0.8830	0.8221	0.9135	n=20
0,2463	0,215	0,220	0.210	0.225	0.8729	0.8365	0.8526	0.9135	
0,3284	0,290	0,286	0.284	0.290	0.8830	0.8708	0.8647	0.8830	X_m=0.87143
0,4185	0,365	0,360	0.367	0.370	0.8721	0.8602	0.8769	0.8841	S= 0.02861
0,4926	0,435	0,429	0.425	0.430	0.8830	0.8708	0.8627	0.8729	CV= 3.28 %

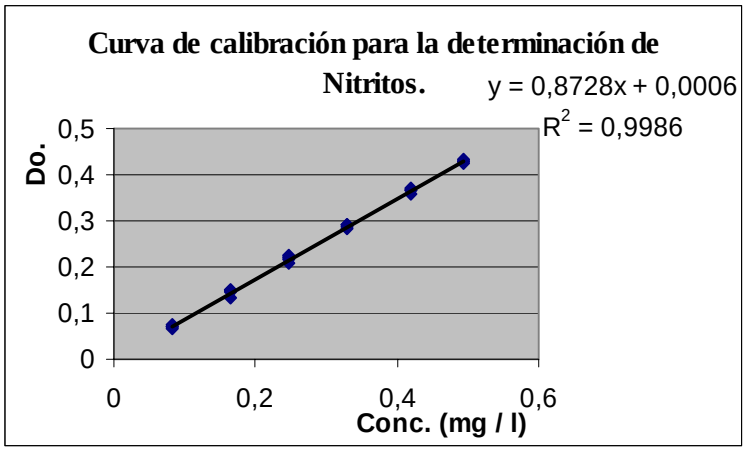


Figura 2: Curva de calibración para la determinación de nitritos

Tabla 8: Resultados estadísticos del estudio de linealidad

Parámetros	Valor experimental	Criterio
# Total de datos (n)	20	-
Coeficiente de correlación (r)	0.999	$r \geq 0.99$
Pendiente (m)	0.8728	Desigual de cero
S relativa de m (S_m)	0.0069	-
C V(m), %	0.79	≤ 2 %
C V f(y/x) %	3.28	≤ 5%
$b \pm S_b t$ (n-2; p=0.05)	- 0.0048 a + 0.0066	b± Sbt, contiene al cero
Intervalo de la curva calibrado	0.0821-0.4926 mg/L	

El coeficiente de variación de la función respuesta resultó ser del 3.28%, siendo este valor menor que el 5% que es el criterio de aceptación para este parámetro. Se demuestra el cumplimiento del Test de linealidad de la pendiente y del Test de proporcionalidad del intercepto, donde los límites de confianza de este último incluyen

al cero, por lo que se puede afirmar que la dependencia de la concentración experimental con respecto a la concentración teórica de nitrito es lineal en el rango de 0.0821-0.4926 mg/L.

3.2.2-Precisión

En las tablas 9 y 10 se muestran los resultados de la repetibilidad y precisión intermedia respectivamente, realizados con un patrón de nitrito.

Tabla 9: Resultados de repetibilidad para la determinación de Nitritos

Conc(nitrito) = 0.2463 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc.(mg/L)	
1	1	0.215	0.246	n=4 Xm =0.2485 S = 0.00723 CV =2.91 %
	2	0.220	0.251	
	3	0.210	0.240	
	4	0.225	0.257	

Tabla 10: Resultados de precisión intermedia para la determinación de Nitritos

Conc(nitrito) =0.2463 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc. (mg/L)	
1	1	0.215	0.246	n=8 Xm = 0.2475 S = 0.00558 CV =2.25 %
	2	0.220	0.251	
	3	0.210	0.240	
	4	0.225	0.257	
2	1	0.217	0.248	
	2	0.215	0.246	
	3	0.211	0.241	
	4	0.220	0.251	

Siendo los coeficientes de variación para la repetibilidad y la reproducibilidad menores que el 3 y el 5%, se puede afirmar que la técnica presenta una adecuada precisión en las condiciones estudiadas.

3.2.3-Exactitud

En la tabla 11 se muestran los resultados del estudio de exactitud, realizados con un patrón de nitrito.

Tabla 11: Resultados del estudio de la exactitud. Determinación de nitritos

Concentración teórica (mg/L)	**0.1642**	**0.3284**	**0.4926**
Recobro (%)	104.14	101.09	101.06
	99.27	99.27	99.47
	100.49	98.96	98.66
	104.14	101.09	99.88
Recobro Medio (%)	**102.01**	**100.10**	**99.77**
Coef. Variación (%)	2.46	1.15	1.02
T de Student Exp.	**1.6**	**0.18**	**0.44**
T de Student Tab	2.353		

Como se observa los valores de la $t_{exp} < t_{tab}$ (α =0.05, n-1)) en los niveles de concentración ensayados por lo que el método analítico es exacto.

3.2.4-Determinación del límite de cuantificación

En las tabla 12 se muestran los valores del estudio del límite de cuantificación y el porcentaje de recobro en las cercanías del límite de cuantificación respectivamente.

Tabla 12: Límite de cuantificación para la determinación del nitritos.

.

Concentración teórica (mg/L)	0.0821	**0.1642**
Recobro (%)	97.44	104.14
	91.35	99.27
	98.66	100.49
	103.53	104.14
Recobro medio (%)	97.75	**102.01**
CV (%)	5.12	**2.46**

Al analizar el recobrado y el coeficiente de variación correspondientes a los dos niveles de concentración mas bajos de nitrito de la curva de calibración, se puede apreciar que el valor de concentración 0.1642 es el límite inferior de cuantificación de la técnica, por debajo de esta concentración no se debe cuantificar ya que el coeficiente de variación es de 5.12 %, mayor de lo establecido.

3.3-Determinación de algunos parámetros de validación de la técnica analítica para la determinación de nitratos

3.31-Linealidad

En la figura 3 y el anexo 6 se muestra los resultados del estudio de linealidad realizado al patrón de nitrato.

En la siguiente tabla 13 se muestran los valores de absorbancia para cada concentración y los factores respuesta (y/x) para cada determinación.

Tabla 13: Resultados del estudio de linealidad para la determinación de nitratos.

Conc. (mg/L)	**Abs $_1$**	**Abs $_2$**	**Abs $_3$**	**Abs $_4$**	**f $_1$**	**f $_2$**	**f $_3$**	**f $_4$**	**Tratamiento Estadístico**
10	0.080	0.079	0.075	0.078	0.0080	0.0079	0.0075	0.0078	n=20
20	0.170	0.163	0.170	0.165	0.0085	0.0082	0.0085	0.0082	X_m=0.00822
30	0.250	0.246	0.250	0.249	0.0083	0.0082	0.0083	0.0083	S= 0.00031
40	0.340	0.332	0.350	0.345	0.0085	0.0083	0.0087	0.0086	CV= 3.81 %

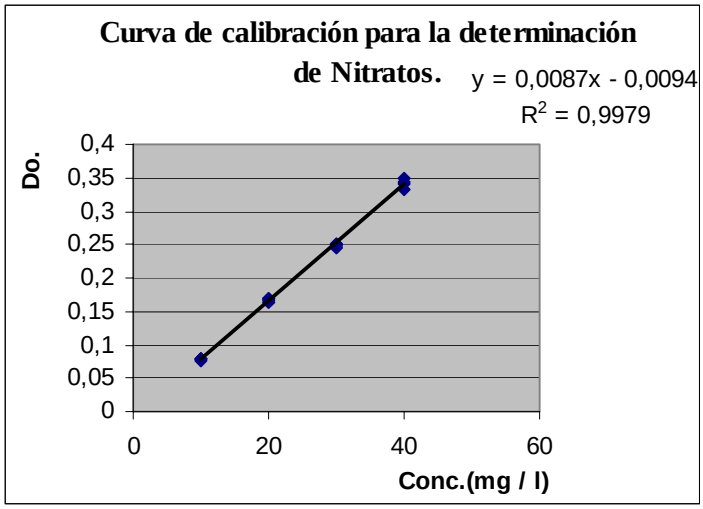


Figura 3: Curva de calibración para la determinación de nitratos.

Tabla 14: Resultados estadísticos del estudio de linealidad.

Parámetros	Valor experimental	Criterio
# Total de datos (n)	20	-
Coeficiente de correlación (r)	0.998	$r \geq 0.99$
Pendiente (m)	0.0087	Desigual de cero
S relativa de m (S_m)	0.000141	-
C V(m), %	1.5	≤ 2 %
C V f(y/x) %	3.81	≤ 5%
$b \pm S_b t$ (n-2; p=0.05)	- 0.00086 a + 0.01794	b± Sbt, contiene al cero
Intervalo de la curva calibrado	10-40 mg/L	

El coeficiente de variación de la función respuesta resultó ser del 3.81%, siendo este valor menor que el 5%, que es el criterio de aceptación para este parámetro. El Test de linealidad de la pendiente y el Test de proporcionalidad del intercepto demuestra la validez de los valores obtenidos para la pendiente y el intercepto, así como los límites

de confianza de este último. Se puede afirmar que la dependencia obtenida presenta una correlación lineal en el rango de 10-40 mg/L.

3.3.2- Precisión

En las tablas 15 y 16 se muestran los resultados de la repetibilidad y precisión intermedia respectivamente, realizados con un patrón de nitrato.

Tabla 15: Resultados de repetibilidad para la determinación de nitratos.

Conc(nitrato) = 30 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc.(mg/L)	
1	1	0.250	29.82	n=4 Xm =29.68 S =0.21749 CV = 0.73 %
	2	0.246	29.36	
	3	0.250	29.82	
	4	0.249	29.70	

Tabla 16: Resultados de precisión intermedia para la determinación de nitratos.

Conc(nitrato) = 30 mg/L				**Tratamiento estadístico**
Analista	Réplicas	Abs	Conc. (mg/L)	
1	1	0.250	29.82	n=8 Xm =29.39 S = 0.48568 CV =1.65 %
	2	0.246	29.36	
	3	0.25	29.82	
	4	0.249	29.70	
2	1	0.245	29.24	
	2	0.238	28.43	
	3	0.243	29.01	
	4	0.249	29.70	

Los coeficientes de variación para la repetibilidad y la reproducibilidad son menores que el 3 y el 5% respectivamente, lo que refleja una adecuada precisión de la técnica en las condiciones estudiadas.

3.3.3-Exactitud

En la tabla 17 se muestran los resultados del estudio de exactitud, realizados con un patrón de nitratos.

Tabla 17: Resultados del estudio de la exactitud. Determinación de nitratos

Concentración teórica (mg/L)	**10**	**20**	**40**
Recobro (%)	102.80	103.31	100.40
	101.60	99.10	98.1
	97.00	103.10	103.3
	100.5	100.25	101.8
Recobro Medio (%)	100.48	101.44	100.9
Coef. Variación (%)	**2.49**	2.06	2.19
T de Student Exp.	**0.38**	**1.38**	**0.81**
T de Student Tab	2.353		

Como se observa los valores de la $t_{exp} < t_{tab}$ (α =0.05, n-1)) en los niveles de concentración ensayados por lo que el método analítico es exacto.

3.3.4-Determinación del límite de cuantificación

En las tabla 18 se muestran los valores del estudio del límite de cuantificación y el porcentaje de recobro en las cercanías del límite de cuantificación respectivamente.

Tabla 18: Límite de cuantificación para la determinación de nitratos

Concentración teórica (mg/L)	**10**	20
Recobro (%)	102.80	103.31
	101.60	99.10
	97.00	103.10
	100.5	100.25
Recobro medio (%)	**100.48**	101.44
CV (%)	**2.49**	2.06

Al analizar el recobrado y el coeficiente de variación correspondientes a los dos niveles de concentración mas bajos de nitrato, se observa que se puede cuantificar por encima de 10 mg/L debido a que presenta un recobrado de 100.48 % (97 % ≥ R ≤ 103 %) y un coeficiente de variación de 2.49 %.

Todos los datos anteriores para las diferentes determinaciones se procesaron mediante un análisis de regresión simple, empleando el programa profesional SPSS, 11.5 para Windows.

3.4-Evaluación de los parámetros analizados a las aguas de las diferentes cisternas

En la anexo 7, aparecen los resultados correspondientes a la cisterna de agua de la UCLV, esta es la cisterna donde se almacena el agua que es distribuida hacia toda la institución. Como se observa, los parámetros tales como nitritos, dureza magnésica y coliformes fecales en la época de lluvia y la demanda bioquímica de oxígeno están por encima de los valores permitidos para el agua potable según NC 93-02; anexos 12, 13 y 14, provocando una disminución del oxígeno disuelto hasta 5.2 mg/L, ya que tiene que estar por encima de 7mg/L. Esto demuestra que el agua ya sale con cierta contaminación de la cisterna principal debido a que antes de entrar a ella el procedimiento de desinfección que se le hace en la planta de tratamiento correspondiente a la Universidad Central de Las Villas es incompleto o inadecuado. Como se pueden observar los valores del color resultaron iguales para ambas épocas, eso es debido a la poca precisión de la técnica utilizada ya que se hace por comparación

de discos donde el rango es muy amplio, de 5 a 10, mientas que los valores intermedios no se pueden determinar.

En el anexo 8, aparecen los resultados correspondientes a la cisterna de agua potable en la planta de producción, en la cual fueron evaluados 19 parámetros de calidad. Si se comparan los resultados en la época se sequía con la época lluviosa se observa que no presentan el mismo comportamiento, aspecto que indica que existen diferencias que pueden afectar la calidad del agua según la época del año. En el mismo anexo se puede apreciar que durante el tránsito del agua de la cisterna hacia las llaves de los talleres existe una contaminación, debido al incrustamiento de las tuberías, arrastre de lodos, materia orgánica, sólidos en suspensión, etc.

Es importante destacar parámetros como nitritos, demanda bioquímica de oxígeno, y dureza magnésica (cisterna sequía), coliformes totales y fecales, que están por encima de los valores establecidos para aguas potables esto corrobora la inadecuada desinfección.

En el anexo 9, aparecen los resultados correspondientes a la cisterna de agua industrial de la Planta de Producción, en la cual algunos de los parámetros están por encima de los valores del agua potable, a pesar de proceder del mismo origen., la causa fundamental se debe al mal almacenamiento del agua, ya que esta es una cisterna a la intemperie, lo que ha originado crecimientos de plantas acuáticas y un alto contenido de lodos que al descomponerse agotan el oxígeno disuelto y producen olores desagradables. Es un agua muy contaminada si se valoran los datos de DBO que alcanza valores de 4.4 mg/L (límite 0.0), esto provoca una disminución en el oxígeno disuelto que está en 6.3 mg/L (límite, mas de 7) y coliformes totales del orden de 97.57 NMP/100 mL (límite de hasta 20 NMP/ 100 mL) y coliformes fecales 34.42 NMP/ 100 mL (límite, menor que 3 NMP/ 100 mL). Esta agua es la que se utiliza para recircular en los condensadores y para el llenado de los baños de maría en los cuales se incrusta un lodo de color verdoso de difícil limpieza.

En el anexo 10, aparecen los resultados correspondientes a la cisterna de agua del área Biológica. En ella los valores de los parámetros tales como nitritos, demanda bioquímica de oxígeno, coliformes totales y fecales, están por encima de los valores normales para el agua potable, estos valores van en aumento de la época de seca a la lluviosa y de de la cisterna a las llaves en el interior de los laboratorios.

En el anexo 11, aparecen los resultados correspondientes a la cisterna de agua del Área Química. En ella el contenido de nitritos, la dureza magnésica, la demanda bioquímica de oxígeno, los coliformes totales y fecales, están por encima de los valores permitidos para el agua potable y el oxígeno disuelto se encuentra por debajo de lo establecido (7mg/L).

De todos los resultados obtenidos podemos decir que un agua con presencia de nitritos indica polución con la consecuente aparición de organismos patógenos, también puede provocar cianosis por metahemoglobinemia, además de una posible concentración de este ión originado por cualquier proceso de cocción.

Un aumento de la Demanda Bioquímica de Oxígeno ocasiona una disminución del oxígeno disuelto afectando la vida acuática; si tenemos en consideración que todas estas aguas van hacia los residuales provocando que el valor de DBO aumente, puede concluirse su efecto negativo. Los valores de coliformes totales y fecales que se encuentran por encima de lo establecido, pueden provocar distintos tipos de enfermedades que pueden ingresar al organismo por diferentes vías. También se puede apreciar los valores de dureza total, que según la clasificación, se consideran .aguas moderadamente duras, lo cual no ocasiona efectos perjudiciales para la salud y sí beneficiosos desde el punto de vista industrial ya que se forma una capa protectora en el interior de las tuberías que impide el deterioro de la calidad del agua por corrosión.

Conclusiones

1. La técnica analítica para la determinación de amoniaco, resultó ser lineal (de 0.122 a 1.22 mg/L), precisa y exacta. Su límite de cuantificación se encuentra en 0.122 mg/L.
2. La técnica analítica para la determinación de nitritos, resultó ser lineal (0.0821 a 0.4926 mg/L), precisa y exacta. Su límite de cuantificación se encuentra en 0.1642 mg/L.
3. La técnica analítica para la determinación de nitratos, resultó ser lineal (de10 a 40 mg/L), precisa y exacta. Su límite de cuantificación se encuentra en 10 mg/L.
4. Las cisternas de agua potable e industrial tienen en común que los parámetros químico físico tales como, nitritos, dureza magnésica, oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno se encuentran fuera de parámetro.
5. Las cisternas de agua potable e industrial tienen en común que los parámetros microbiológicos coliformes totales y fecales se encuentran muy por encima de lo establecido, por lo que no es agua potable.
6. El comportamiento de las cisternas varía en función de la época del año, ya que hay un aumento de los valores en la mayoría de los parámetros estudiados de la época de sequía a la lluviosa.

Recomendaciones

1. Evaluar la implantación un Sistema Auxiliar de Agua (una planta de tratamiento) en la planta de producción del CBQ, por la posibilidad que tiene de ser independiente de la universidad.
2. Limpieza y desinfección de las cisternas del área biológica y química dado su empleo como agua potable.

Bibliografía.

1. A.PH.A – A.W.W.A. - W.P.C.F. “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” 16th edition, 1985 and 17th edition 1989.
2. A.T. Export. (9 de abril de 2005). Desinfección. http://www.atexport.com/pagesp/info/desinfpis.htm Consultado, Septiembre 2006
3. Acha, P.N. and Szyfres, B. 1992. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Segunda Edición. Organización Panamericana de la Salud. OMS
4. Agencia para la protección del Medio Ambiente. Criterios sobre el agua potable. EPA de EUA. 1975. En inglés
5. Agua. (1989) Diccionario Enciclopédico Océano Uno España: Ediciones Océano.
6. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Microbiological examination of water. En: Greenberg A.E., ed Standard Method for the Examination of Water and Wastewater 17 ed. Washington, DC. APHA, AWWA, 1989, 9-1 9-114.
7. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Microbiological examination of water. En: Greenberg A E, ed. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18 ed. Washington, DC.: APHA, WEF, AWWA, 1992:9-1-9-100.
8. American Public Health Association. 1992. Standard methods for theçexamination of water and wastewater. Ed. APHA, Washington.
9. Aragón señala la contaminación microbiológica como causa del brote gastrointestinal detectado hace unas semanas(3 de agosto de 2004) http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/2004/08/03/13704.php Consultado, Octubre 2006
10. Bros, Marialba. (10 de abril de 2005). La Purificación del Agua. http://html.rincondelvago.com/la-purificacion-del-agua.html Consultado, Septiembre 2006
11. Calidad del agua 2003. http://www.google.com.cu/search?hl=es&q=Calidad+del+agua&btnG=Buscar+con+Google&meta= Consultado, Diciembre 2006.

12. Calidad del Agua a lo Largo de la Frontera México - Estados Unidos 2002 http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/delallave%2011-12-02.pdf. Consultado, Julio 2006.
13. Castro, D., Palacios, D. y Pérez, M. (1997). Monitoreo de radón en agua y sus relaciones con la salud en el Litoral Central. D. F. (Resumen) 118p Ponencia Presentada en la IV Congreso Interamericano sobre el Medio Ambiente. USB-CONICIT.
14. Castro, D., Palacios, D., Sajo–Bohus, L. y León, P. (1996). Radón en Fuentes de Agua Potable y Ríos del Litoral Central. Atlántida, 38, 95-100.
15. Committee on the Challenges of Modern Society (NATO/CCMS). Drinking Water Microbiology. Cliver D O, ed. Washington, DC: EPA 570/9-84-006 CCMS-128, 1984.
16. Contaminación del Agua (2003). Enciclopedia Microsoft Encarta. Estados Unidos: Microsoft Corporation. CD Rom
17. Discovery Communications Inc (Dis.Com.Inc). (13 de febrero de 2005). La Contaminación del Agua. http://www.tudiscovery.com/water/ Consultado, Septiembre 2006.
18. EcoPortal. (12 de febrero de 2005). Crisis Mundial del Agua. http://www.ecoportal.net/noti02/n922.htm Consultado, Agosto 2006.
19. El agua como vehículo de transmisión de enfermedades. 2003 www.tierramerica.net/agua/-. Consultado, Julio 2006.
20. Empagua. (2001). Agua Para Vivir. Guatemala: Tercero & Asociados Comunicaciones.pp.2-6.
21. Evolución de las guías microbiológicas de la OMS para evaluar la calidad del agua para consumo humano: 1984 -2004 Revista Costarricense de Salud Pública Print ISSN 1409-1429. Rev. costarric. salud pública vol.15 no.29 San José Dec. 2006
22. Excel Water Technologies. (EWT) (9 de abril de 2005). Desinfección por Ultravioleta. http://www.excelwater.com/spa/b2c/uvprocess.php Consultado, Septiembre 2006
23. FAQ de la Microbiología del Agua (9 de abril de 2005). Preguntas frecuentes. http://www.lenntech.com/espanol/FAQ-microbiologia-del-agua.htm
24. Galarraga Soto, Efrén 1984. Algunos aspectos relacionados con microorganismos en agua potable. Revista Politénica de información técnica científica 9(3) p. 135-43.

25. Gillespie, S.H. and Hawkey, P.M. 1995. Medical Parasitology. A practical approach. Ed.IRL Press, Oxford.
26. Goez Mariano, Vásquez María José 1999. Determinación y diferenciación de E. Coli y Coliformes Totales usando un mismo sustrato cromogénico. Textos Completos. CEPIS.
27. Gómez, Adela. (19 de noviembre de 2004). Contaminación del Agua. http://eureka.ya.com/ecositio/cont_agua.htm Consultado, Agosto, 2006.
28. Goya, A.B. y Wilde, O.R. 1997. Calidad Bacteriológica de las aguas en plantas faneadoras de la Provincia de Tucumán. Lab. Regional-GELAB-SENASA.
29. Gray, N. F. 1994.Calidad del agua potable. Ed. Acribia, Zaragoza.
30. Hurst, CH. J. e*t al*. 1997. Manual of environmental microbiology. Ed. ASM, Washington
31. InfoAgua. (12 de febrero de 2005). El Agua. http://www.infoagua.org Consultado, Agosto, 2006.
32. Instituto Tecnológico Geominero de España (ITGE). 1998. Conceptos básicos de Microbiología de las aguas subterráneas. Ed. ITGE, Madrid.
33. Isaac, A. y Lezama, C. (2000). Calidad sanitaria del agua para el consumo humano en una comunidad rural de México. Acta Científica Venezolana 49: 187- 192.
34. Kettle, D.S. 1995. Medical and Veterinary Entomology. Second Edition. CAB Internatinal, Wallingford.
35. Las enfermedades de origen hídrico. 2002. http://www.crid.or.cr/crid/CD_Agua/pdf/spa/doc14587/doc14587-b.pdf. Consultado, Diciembre 2006.
36. León, D., Botero, L. y Valero, N. (2002). Detección de enterovirus, colifagos y bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales y aguas tratadas de un sistema de lagunas de estabilización. CIENCIA, 10(3), 224-235.
37. Leterman, R. D. 2002. calidad y tratamiento del agua. Manual de suministros de agua comunitaria. 5ª ed. Mc.Graw Hill, Madrid.
38. Maier, Franz J. “Fluoración del Agua Potable” Publicación Científica Nro. 203 OPSOMS, 1971.
39. Manual de Ingenería Sostenible del Agua/Contaminación Industrial. (MIS. CI, 2004) "http://es.wikibooks.org/wiki/Manual_de_Ingener%C3%ADa_Sostenible_del_Agua/CONTAMINACI%C3%93N_INDUSTRIAL. Consultado, Junio 2006.

40. McGhee, T. (1999). Abastecimiento de Agua y Alcantarillado. 6ta edi. Santa Fe de Bog26. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (2003). Estado Vargas: situación de salud. [Documento en línea]. Disponible: http://www.ops-oms.org.ve/desastres/vigilancia/Inf-especial2/. Consultado: Noviembre, 2006.
41. Membrane 9222 filter technique for members of the coliform. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater © Copyright 1999 by American Public Health Association, American WateWorks Association, Water Environment Federation
42. México, Reglamento para la prevención y control de la contaminación de agua. Marzo 1971
43. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. Marchand Pajares, Edgard Orlando. 2005. http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Basic/Marchand_P_E/anteced.htm Consultado, Diciembre 2006.
44. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. Marchand Pajares, Edgard Orlando 2001. http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Basic/Marchand_P_E/Indice_Marchand.htm Consultado, Junio, 2006.
45. MINSAP. Anteproyecto del Código Sanitario de la República de Cuba. Habana 1974
46. MINSAP. Resolución No. 67 Calidad sanitaria del agua potable. Gaceta oficial de la República de Cuba No 31. La Habana 29 de Mayo de 1984, p. 540.
47. Morea, Lucas. (12 de febrero de 2005). Contaminación del Agua. http://www.monografias.com/trabajos/contamagua/contamagua.shtml Consultado, Agosto, 2006.
48. Mueller Willian y SMITH, David L. “Compilation of E.P.A.´s Sampling and Analysis Methods” Editado por L.H. Keith, Austin, Texas, Estados Unidos de Norteamérica, 1991.
49. NC-TC-368: 2004. Guía para la validación de métodos químicos para alimentos.
50. NC. 93-02. 1985. Higiene Comunal. Agua Potable. Requisitos sanitarios y muestreo.
51. NC: 1989. Determinación de turbiedad.
52. NC: 93-02. 1985. Higiene Comunal AGUA POTABLE Requisitos sanitarios y muestreo.

53. Neva, F.A. and Abrowm, H.W. 1994 Basic Clinical Parasitology. Sixth Edition. Appelton&Lange, Norwalk.
54. Norma Cubana 93-01-128. Determinación del Número Más Probable de Coliformes totales y fecales. Sistema de Normas de Protección del Medio Ambiente. Cuba, 1988
55. OMS (Organización Mundial de la Salud). 1999. Guías para la calidad del agua potable. Volumen 1. Ginebra. Zuiza. 195 p
56. OPS-OMS.2000. Evaluación Global de los Servicios de abastecimiento de agua y saneamiento. Informe Analítico. Perú.
57. Organización Mundial de la Salud "Evaluación Epidemiológica de Riesgos causados por Agentes Químicos Ambientales – Generalidades y Toxicología" Tomo I: Centro panamericano de Ecología Humana y Salud. OPS-OMS, Buenos Aires, 1988.
58. Organización Mundial de la Salud "Guías para la Calidad del Agua Potable" – Vol I: Monografía Nro. 83 .POS 1977.
59. Organización Mundial de la Salud "Guías para la Calidad del Agua Potable " – Vol I : Recomendaciones OPS, 1985.
60. Organización Mundial de la Salud "Guías para la Calidad del Agua Potable " – Vol II : Criterios Relativos a la Salud y otra Información de Base, OPS , 1987.
61. Organización Mundial de la Salud "Guías para la Calidad del Agua Potable " – Vol III: Control de la Calidad de Agua Potable en Sistemas de Abastecimiento para Pequeñas Comunidades, OPS, 1988.
62. Organización Mundial de la Salud. (1987). Guía para la calidad del agua potable. N° 506. otá, Colombia: McGhee Interamericana.
63. Organización Mundial de la Salud. (1998). Guía para la calidad del agua potable. 2da Edición, Volumen 3: Ginebra.
64. Organización Mundial de la Salud. 1995. Guías para la calidad del agua potable. OMS, Ginebra.
65. Prescott, L. M., Harley, J.P. and Klein, D.A. 1999. Microbiología. 4ª ed. Ed. Mc Graw Hill, Interamericana. Madrid.
66. Programa de las naciones unidas para el desarrollo. PRONAP. 1999. Informe sobre desarrollo humano NY, PNUD.
67. Puerto, A. del., Rojas, C. y Iglesias, A. (1999). Calidad del agua y enfermedades de transmisión digestiva. Revista Cubana Medicina General Integral, 15(5): 495- 502.
68. Putzeys de David, Licda. Evelyn. (2 de abril de 2005). Desinfección e Identificación de Organismos. Entrevista Personal.

69. Ramírez, Alberto. (4 de marzo de 2004). Recursos Naturales en Grave Deterioro. http://www.cepredenac.org/05_nove/a_prensa/2004/mar_04/mar_04d.htm Consultado, Agosto, 2006.
70. Regulación N^{o} 41-2007. Validación de métodos analíticos.
71. Real Decreto 1138/1990, de 14 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público. BOE 1990; 226:27488-97.
72. Reilly, K. & Kippin, J. 2000. Relación entre el contaje bacteriológico y otros parámetros de calidad del agua tratada en sistemas de distribución. Hojas de divulgación técnica. CEPIS, 4p.
73. Ripert, C. 1998. Epidemiologie des maladies parasitaires. 2. Helminthosis. Ed. Technique & Documentation, Cachan.
74. Rotger, R. 1997. Microbiología Sanitaria y Clínica. Ed. Síntesis, Madrid.
75. Servei de Vigilància Epidemiològica. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1996. Butlletí Epidemiològic de Catalunya 1997; 18:135-42.
76. Servicio de Salud Publica de Estados Unidos. Criterios sobre agua potable, SSPEU. 1962. En inglés
77. Sociedad Americana de Trabajos del Agua. Calidad y tratamiento del agua. Manual de abastecimiento público de agua. 3ra edición. EUA. 1971. En inglés
78. Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. APHA, AWWA, ECF. USA. 2005.
79. Urbieta, Jissel. (12 de febrero de 2005). Contaminación y Purificación del Agua. http://www.monografias.com/trabajos12/conpurif/conpurif.shtml Consultado, Octubre 2006
80. Vargas García Carmen, Rojas Ricardo y Joseli Juan. 1996. Control y Vigilancia de la Calidad del Agua de Consumo humano. Textos Completos. CEPIS. 27p.
81. Vergaray Germán, Méndez Carmen Rosa y Marchand Edgar. 2001. Bases para el prefeccionamiento de los estándares microbianos de aguas de uso humano. Libro de resúmenes de la X Reunión Científica- ICBAR. UNMSM. pag. 116.

Anexo 4

Resultados estadísticos del estudio de linealidad para la determinación de amoniaco

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
VAR00002	,0964	,06848	20
VAR00001	,5612	,40054	20

Correlations

		VAR00002	VAR00001
Pearson Correlation	VAR00002	1,000	,999
	VAR00001	,999	1,000
Sig. (1-tailed)	VAR00002	.	,000
	VAR00001	,000	.
N	VAR00002	20	20
	VAR00001	20	20

Variables Entered/Removed(b)

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR00001(a)	.	Enter

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	,999(a)	,998	,998	,00328	,998	8243,457	1	18	,000

a All requested variables entered.
b Dependent Variable: VAR00002

Model Summary

a Predictors: (Constant), VAR00001

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	,089	1	,089	8243,457	,000(a)
	Residual	,000	18	,000		
	Total	,089	19			

a Predictors: (Constant), VAR00001
b Dependent Variable: VAR00002

Coefficient Correlations(a)

Model			VAR00001
1	Correlations	VAR00001	1,000
	Covariances	VAR00001	3,538E-06

a Dependent Variable: VAR00002

Collinearity Diagnostics(a)

Model	Dimension	Eigenvalue	Condition Index	Variance Proportions	
				(Constant)	VAR00001
1	1	1,821	1,000	,09	,09
	2	,179	3,189	,91	,91

a Dependent Variable: VAR00002

Anexo 5

Resultados estadísticos del estudio de linealidad para la determinación de Nitrito

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
VAR00002	,2526	,12616	24
VAR00001	,2887	,14445	24

Correlations

		VAR00002	VAR00001
Pearson Correlation	VAR00002	1,000	,999
	VAR00001	,999	1,000
Sig. (1-tailed)	VAR00002	.	,000
	VAR00001	,000	.
N	VAR00002	24	24
	VAR00001	24	24

Variables Entered/Removed(b)

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR00001(a)	.	Enter

a All requested variables entered.
b Dependent Variable: VAR00002

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	,999(a)	,999	,999	,00475	,999	16230,539	1	22	,000

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	,366	1	,366	16230,539	,000(a)
	Residual	,000	22	,000		
	Total	,366	23			

Coefficients(a)

Coefficient Correlations(a)

Model			VAR00001
1	Correlations	VAR00001	1,000
	Covariances	VAR00001	4,693E-05

a Dependent Variable: VAR00002

Collinearity Diagnostics(a)

Model	Dimension	Eigenvalue	Condition Index	Variance Proportions	
				(Constant)	VAR00001
1	1	1,898	1,000	,05	,05
	2	,102	4,315	,95	,95

a Dependent Variable: VAR00002

Anexo 7
Resultados de las determinaciones para la Cisterna UCLV

Parámetros		Criterio	Cisterna	
			Sequía	Lluvia
1	Olor	inodora	inodora	inodora
2	Color	<15 u	5 ± 0	5 ± 0
3	Gusto	Débil y agradadle	No desagradadle	No desagradadle
4	Turbidez	60 NTU	1,39 ± 0.03	7,54 ± 0,57
5	pH	6.5-8.5 u	7,36 ± 0,17	7,19 ± 0,15
6	Nitratos	< 45 (mg/l)	0 ± 0	0,75 ± 0,03
7	Nitritos	0.00 (mg/l)	0,01 ± 0,003	0,01 ± 0,004
8	Amoniaco	0.00 (mg/l)	0 ± 0	0 ± 0
9	Conductividad	50-1500 (us/cm)	123,61 ± 14.62	180.07 ± 34.56
10	Cloruros	< 250 (mg/l)	20,28 ± 1,14	33,08 ± 7.21
11	Dza Total	100-400 (mg/l)	102,4 ± 2,98	166.31 ± 7.07
12	Dza Cálcica	80-200 (mg/l)	37,53 ± 2,56	63,9 ± 6,29
13	Dza Magnésica	100 (mg/l)	66,11 ± 2,93	104,1 ± 3,67
14	Alcalinidad total	< 400 (mg/l)	110,47 ± 8,04	127,45 ± 3,95
15	Sólidos disueltos.	50-1.000	89,61 ± 6,02	122,88 ± 3,32
16	DBO	0.00 (mg/l)	0,43 ± 0,02	0,47 ± 0.01
17	Oxígeno disuelto	>7 (mg/l)	5,23 ± 0,16	5,46 ± 0,21
18	Coli. Total	20.000 NMP/100ml	9,86 ± 0.48	16.85 ± 5.36
19	Coli. Fecal	3.000 NMP/100ml	2,57 ± 0,53	3,8 ± 0,95

<u>Anexo 8:</u> Resultados de las determinaciones para Cisterna Agua Potable. Planta de producción.

Parámetros		Criterio	Cisterna		Llaves.	
			Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia
1	Olor	inodora	inodora	inodora	inodora	inodora
2	Color	<15 u	5 ± 0.0	5 ± 0.0	5 ± 0.0	5 ± 0.0
3	Gusto	Débil y agradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle
4	Turbidez	60 NTU	0 ± 0	5,24 ± 0,46	0,6 ± 0,75	0,79 ± 0,05
5	pH	6.5-8.5 u	7,85 ± 0,07	7,42 ± 0,13	7,47 ± 0,30	8,27 ± 0,1
6	Nitratos	< 45 (mg/l)	4,75 ± 0,70	7,14 ± 0,37	13,84 ± 1,04	13,97 ± 1,26
7	Nitritos	0.00 (mg/l)	0 ± 0	0,22 ± 0,04	0,02 ± 0,007	0,02 ± 0,005
8	Amoniaco	0.00 (mg/l)	0 ± 0	8,34 ± 0,71	0 ± 0	0 ± 0
9	Conductividad	50-1500 (uS/cm)	147,71 ± 1,70	150,17 ± 2,00	148,28 ± 1,79	150,14 ± 3.23
10	Cloruros	< 250 (mg/l)	31.12 ± 2,59	11,77 ± 0,46	33,54 ± 3,06	40.15 ± 1,19
11	Dza Total	100-400 (mg/l)	235,8 ± 50,18	150,42 ± 9.97	176,73 ± 40,96	159,79 ± 15,36
12	Dza Cálcica	80-200 mg/l	106,94 ± 34,59	65,08 ± 1,57	79,89 ± 20,60	52,17± 1,33
13	Dza Magnésica	100 (mg/l)	137,51 ± 76,08	64,34 ± 14,59	96,04 ± 42,13	56,18 ± 7,48
14	Alcalinidad total	< 400 (mg/l)	125,55 ± 9,33	130,59 ± 6,64	104,39 ± 24,37	155,16 ± 19,98
15	Sólidos disueltos.	50-1.000	39,70 ± 1,47	39,05 ± 1,22	40,36 ± 0,90	39,59 ± 0,88
16	DBO	0.00 (mg/l)	1,55 ± 0,04	1,52 ± 0,03		
17	Oxígeno disuelto	>7 (mg/l)	9,28 ± 0,16	9,21 ± 0,10		
18	Coli. Total	20.000 NMP/100ml	17 ± 7,48	28.71 ± 9,75	19,0 ± 6,83	35,85 ± 10,36
19	Coli. Fecal	3.000 NMP/100ml	3 ± 0	29,29 ± 10,8	9,21 ± 0,19	43,94 ± 2,24

<u>Anexo 9:</u> Resultados de las determinaciones para Cisterna Agua industrial. Planta de producción.

Parámetros		Criterio	Cisterna		Llaves.	
			Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia
1	Olor	inodora	inodora	inodora	inodora	inodora
2	Color	<15 u	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0
3	Gusto	Débil y agradadle	-	-	-	-
4	Turbidez	60 NTU	2,51 ± 0,35	5,41 ± 1,07	2,06 ± 1,36	4,09 ± 0,79
5	pH	6.5-8.5 u	8,00 ± 0,14	8,44 ± 0,23	7,74 ± 0,12	8,44 ± 0,22
6	Nitratos	< 45 (mg/l)	7,63 ± 1,01	14,14 ± 1,64	7,54 ± 1,42	11,14 ± 2,13
7	Nitritos	0.00 (mg/l)	0,03 ± 0,006	0,04 ± 0,009	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,01
8	Amoniaco	0.00 (mg/l)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,84 ± 0,02
9	Conductividad	50-1500 (us/cm)	480,00 ± 1,63	473,40 ± 4,37	505,07 ± 3,37	469,41 ± 4,45
10	Cloruros	< 250 (mg/l)	34,14 ± 1,76	15,34 ± 8,84	36,24 ± 2,60	37,92 ± 0,27
11	Dza Total	100-400 (mg/l)	172,80 ± 29,34	126,15 ± 23,12	169,97 ± 25,35	155,85 ± 7,97
12	Dza Cálcica	80-200 mg/l	99,29 ± 30,69	44,37 ± 1,23	99,45 ± 27,83	64,87 ± 1,99
13	Dza Magnésica	100 (mg/l)	84,73 ± 44,49	55,45 ± 10,46	81,68 ± 36,89	54,85 ± 3,45
14	Alcalinidad total	< 400 (mg/l)	131,45 ± 13,82	133,02 ± 4,12	130,81 ± 4,66	152,53 ± 3,67
15	Sólidos disueltos.	50-1.000	40,74 ± 2,41	38,07 ± 3,47	39,71± 0,35	39,84 ± 3,07
16	DBO	0.00 (mg/l)	4,42 ± 0,14	4,43 ± 0,11		
17	Oxígeno disuelto	>7 (mg/l)	6,36 ± 0,23	6,60 ± 0,19		
18	Coli. Total	20.000 NMP/100ml	93,57 ± 0,97	95,57± 3,37	98,64 ± 2,49	94.00 ± 1
19	Coli. Fecal	3.000 NMP/100ml	34,42 ± 10,69	26,71 ± 16,83	15,09 ± 7,40	40,43 ± 7,72

<u>Anexo 10:</u> Resultados de las determinaciones para la Cisterna Área Biológica.

Parámetros		Criterio	Cisterna		Llaves.	
			Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia
1	Olor	inodora	inodora	inodora	inodora	inodora
2	Color	<15 u	5	5	5	5
3	Gusto	Débil y agradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle
4	Turbidez	60 NTU	3,41 ± 0,65	4,36 ± 0,95	3,87 ± 0,89	5,88 ± 0,68
5	pH	6.5-8.5 u	7,61 ± 0,18	8,14 ± 0,18	7,72 ± 0,15	7,44 ± 0,10
6	Nitratos	< 45 (mg/l)	3,99 ± 0,54	8,83 ± 0,41	4,13 ± 0,37	7,07 ± 1,72
7	Nitritos	0.00 (mg/l)	0,01 ± 0,004	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,004	0,02 ± 0,005
8	Amoniaco	0.00 (mg/l)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
9	Conductividad	50-1500 (us/cm)	138,6 ± 1,84	141,78 ± 2,34	141,64 ± 0,94	142,78 ± 2,67
10	Cloruros	< 250 (mg/l)	38,3 ± 1,41	32,96 ± 3,59	35,01 ± 2,48	33,72 ± 2,07
11	Dza Total	100-400 (mg/l)	94,34 ± 2,34	98.46 ± 2.36	84,35 ± 3,40	94,47 ± 3,19
12	Dza Cálcica	80-200 mg/l	42,78 ± 4,10	47,41 ± 0.67	47,83 ± 3,90	45,36 ±5,54
13	Dza Magnésica	100 (mg/l)	33,17 ± 1,07	32,82 ± 1,12	40,34 ± 3,54	45,53 ± 3,73
14	Alcalinidad total	< 400 (mg/l)	117,76 ± 7,11	104,24 ± 14,39	102,87 ± 8,17	104,91 ± 8,20
15	Sólidos disueltos.	50-1.000	34,21 ± 1,41	34,02 ± 0,74	35,11 ± 1,48	37,81 ± 2,61
16	DBO	0.00 (mg/l)	1,19 ± 0,07	1,19 ± 0,07		
17	Oxígeno disuelto	>7 (mg/l)	8,44 ± 0,16	8,53 ± 0,18		
18	Coli. Total	20.00 NMP/100ml	43,28 ± 0,75	93,57 ± 0,97	71,57 ± 0,75	64,43 ± 6,73
19	Coli. Fecal	3.00 NMP/100ml	7,29 ± 2,92	43,85 ± 1,06	23,85 ± 1,06	24,29 ± 2.69

<u>Anexo 11:</u> Resultados de las determinaciones para la Cisterna Área Química.

Parámetros		Criterio	Cisterna		Llaves.	
			Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia
1	Olor	inodora	inodora	inodora	inodora	inodora
2	Color	<15 u	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0
3	Gusto	Débil y agradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle	No desagradadle
4	Turbidez	60 NTU	1,43 ± 0,09	3,63 ± 0,89	4,19 ± 0,75	4,12 ± 0,72
5	pH	6.5-8.5 u	7,51 ± 0,36	7,57 ± 0,29	7,74 ± 0,18	7,74 ± 0,14
6	Nitratos	< 45 (mg/l)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
7	Nitritos	0.00 (mg/l)	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,001	0,16 ± 0,03	0,02 ± 0,003
8	Amoniaco	0.00 (mg/l)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
9	Conductividad	50-1500 (us/cm)	140,97 ± 1,49	139 ± 3	141,95 ± 2,29	142,43 ± 0,79
10	Cloruros	< 250 (mg/l)	38,61 ± 6,96	43,02 ± 2,83	38,3 ± 1,41	45,23 ± 1,67
11	Dza Total	100-400 (mg/l)	207,91 ± 27,99	157,23 ± 11,16	213,8 ± 20,80	208,05 ± 28,59
12	Dza Cálcica	80-200 mg/l	52,07 ± 5,48	50,35 ± 6,33	57,11 ± 9,52	46,32 ± 5,79
13	Dza Magnésica	100 (mg/l)	155,87 ± 10,89	115,07± 20,23	153,89 ± 9,12	132,0 ± 14,09
14	Alcalinidad total	< 400 (mg/l)	111,7± 7,34	115,43 ± 14,45	106,9 ± 8,89	113,47± 10,62
15	Sólidos disueltos.	50-1.000	38,30 ± 3,86	33,57± 1,32	41,06 ± 0,88	35,55 ± 2,59
16	DBO	0.00 (mg/l)	0,93 ± 0,03	0,96 ± 0,02		
17	Oxígeno disuelto	>7 (mg/l)	6,59 ± 0,23	6,64 ± 0,26		
18	Coli. Total	20.00 NMP/100ml	40,43 ± 7,72	94,43 ± 2,22	40,57 ± 7,78	43,85 ± 1,07
19	Coli. Fecal	3.00 NMP/100ml	29,57 ± 13,50	45,74 ± 12,17	26,71 ± 7,52	94 ± 2,23

<u>Anexo 3</u>: Índice de NMP y Límites de confianza (LC) para varias combinaciones de resultados positivos cuando son utilizados 5 tubos por dilución (10ml, 1,0ml y 0,1ml)

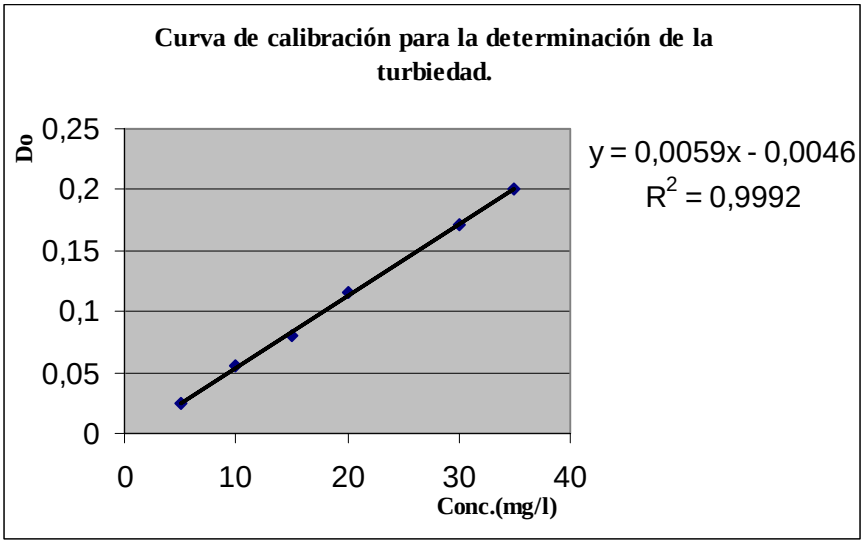
Combinación de positivos	Índice NMP/100	LCI	LCS
000	<2	-	-
001	2	1,0	10
010	2	1,0	10
020	4	1,0	13
100	2	1,0	11
101	4	1,0	15
110	4	1,0	15
111	6	2,0	18
120	6	2,0	18
200	4	1,0	17
201	7	2,0	20
210	7	2,0	21
211	9	3,0	24
220	9	3,0	25
230	12	5,0	29
300	8	3,0	24
301	11	4,0	29
310	11	4,0	29
311	14	6,0	35
320	14	6,0	35
321	17	7,0	40
400	13	5,0	38
401	17	7,0	45
410	17	7,0	46
411	21	9,0	55
412	26	12	63
420	22	9,0	56
421	26	12	65
430	27	12	67
431	33	15	77
440	34	16	80
500	23	9,0	86
501	30	10	110
502	40	20	140
510	30	10	120
511	50	20	150
512	60	30	180

Combinación de positivos	Indice NMP/100	LCI	LCS
520	50	20	170
521	70	30	210
522	90	40	250
530	80	30	250
531	110	40	300
532	140	60	360
533	170	80	410
540	130	50	390
541	170	70	480
542	220	100	580
543	280	120	690
544	350	160	820
550	240	100	940
551	300	100	1300
552	500	200	2000
553	900	300	2900
554	1600	600	5300
555	≥1600	-	-

Anexo 2

Curva de calibración para la determinación de la turbidez.

ml Solución de trabajo	Solución de referencia 40 NTU.	Densidad óptica (D.O)
12.5	5	0.025
25.0	10	0.055
37.5	15	0.080
50.0	20	0.115
75.0	30	0.172
87.5	35	0.200



Anexo 13

Características químicas del agua potable según NC 93-02

Componente	Concentración máxima deseable (CMD) (mg/L)	Concentración máxima admisible (CMA) (mg/L)
Sólidos totales disueltos	500	1 000
Sulfoalquilbenceno	0.20	0.5
Aceite mineral	0.01	0.3
Extracto de carbón con cloroformo	0.01	0.15
Compuestos fenólicos (referidos al fenol)	0.001	0.002
Dureza total (como carbono de calcio)	100	400
Calcio	75	200
Cloruro	200	250
Cobre	0.05	1.0
Hierro total	0.1	0.3 (*)
Magnesio	30 (Si existen 250 mg/L o más de sulfato)	150 (*) (Si existen menos que 250 mg/L de sulfato)
Manganeso	0.05	0.1
Sulfato	200	400
Cinc	5	15
Sodio	50	200
Plata	0.05	0.05
Aluminio	0.05	0.2
Níquel	0.01	0.02
Alcalinidad	- (**)	- (*)

(*) Cuando se utilicen aguas subterráneas sin tratamiento para la eliminación de hierro, se permitirá que entre el sistema de abastecimiento hasta 1 mg/L

(**) Se valorará junto con el pH y la dureza total

Nota. El pH será: deseable de 7 a 8 y máximo admisible de 6,5 a 8.5.

Anexo 14

Concentración de los componentes inorgánicos nocivos a la salud en el agua potable según NC 93-02

Componente inorgánico	CMD (mg/L)	CMA (MG/L)
Arsénico	Ausente	0.05
Cadmio	“	0.005
Cianuro	“	0.05
Mercurio total	“	0.001
Plomo	“	0.05
Selenio	“	0.01
Bario	“	0.03
Cromo total	“	0.05
Cromo (+6)	“	0.05
Berilio	“	0.0002
Molibdeno	“	0.5
Cobalto	“	1
Estroncio	“	2
Vanadio	“	0.1
Boro	“	1
Fluoruro	0.7	1 (*)
Amoníaco	Ausente	0 (* *)
Nitritos	“	0 (* *)
Nitartos	“	45

(*) Esta dosis se permitirá cuando el agua lo contenga en forma natural. En sistemas de abastecimiento público con fluoruración aplicada, la concentración media diaria será de (0,7 ±,0,1) mg/L. Las variaciones de esta concentración no excederán en más del 4 % de los días del año y en ningún día excederá la concentración máxima admisible.

(**) Como indicadores de contaminación se considerará el amoníaco y nitrógeno orgánico a 0,5 mg/L y el nitrito a 0,01 mg/L; concentraciones cercanas a los límites propuestos indicarían la posibilidad de contaminación orgánica que sería comprobada por el análisis bacteriológico.

(**) En este trabajo se utilizaron cubetas de 5 cm para la medición de las muestras, debido a las bajas absorbancias halladas en éstas con cubeta de 1 cm. Se calculó la concentración de las muestras conociendo la absortividad mediante la curva de calibración disponible, despejando en la siguiente ecuación: A= a.b.c

Donde:

a: Absortividad a λ= 543 nm.

b: Longitud de cubeta en cm.

c: Concentración en mg/L.

Anexo 6

Resultados estadísticos del estudio de linealidad para la determinación de Nitrato.

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
VAR00002	,2089	,10091	16
VAR00001	25,0000	11,54701	16

Correlations

		VAR00002	VAR00001
Pearson Correlation	VAR00002	1,000	,999
	VAR00001	,999	1,000
Sig. (1-tailed)	VAR00002	.	,000
	VAR00001	,000	.
N	VAR00002	16	16
	VAR00001	16	16

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR00001(a)	.	Enter

a All requested variables entered.
b Dependent Variable: VAR00002

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	,999 (a)	,998	,998	,00481	,998	6587,317	1	14	,000

a Predictors: (Constant), VAR00001

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	,152	1	,152	6587,317	,000(a)
	Residual	,000	14	,000		
	Total	,153	15			

a Predictors: (Constant), VAR00001
b Dependent Variable: VAR00002

Coefficient Correlations(a)

Model			VAR00001
1	Correlations	VAR00001	1,000
	Covariances	VAR00001	1,157E-08

a Dependent Variable: VAR00002

Collinearity Diagnostics(a)

Model	Dimension	Eigenvalue	Condition Index	Variance Proportions	
				(Constant)	VAR00001
1	1	1,913	1,000	,04	,04
	2	,087	4,686	,96	,96

a Dependent Variable: VAR00002

Anexo 1

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Para frascos de 300 ml	
Ml de residual a añadir en el frasco.	Nivel esperado de DBO (mg/lt)
0.02	30000-105000
0.05	12000-42000
0.10	6000-21000
0.20	3000-10500
0.50	1200-4200
1.0	600-2100
2.0	300-1050
5.0	120-420
10.0	60-210
20.0	30-105
50.0	12-42
100.0	6-21
300.0	0-7

Anexo 12

Características físicas del agua potable según NC 93-02

Característica	Concentración máxima deseable (CMD)	Concentración máxima admisible (CMA)
Turbiedad (escala sílice)	5 U	10 U
Color (escala platino cobalto)	5 U	15 U
Olor y sabor	Agradable	No desagradable