Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas
Facultad de Química y Farmacia
Departamento de Licenciatura en Química

Tesis en opción al Título Académico de Master en Química Analítica

Título: Caracterización de los residuales de la Fábrica Electromecánica "Escambray" de El Pedrero, Fomento.

Autor: Lic. Belkis Lisset Hernández Mesa

Tutor: Dra. Zenaida Rodríguez Negrín
MSc. Gisela Peralta Meseguer

2007

RESUMEN:

Actualmente la Fábrica Electromecánica “Escambray” de El Pedrero, Fomento, provincia de Sancti Spiritus ha cambiado su objeto de trabajo, producto de lo cual mantiene almacenados residuales acuosos de diferentes especies químicas, los cuales necesitan ser caracterizados para conocer el grado de contaminación que presentan. Una de las especies químicas presentes en el residual es el cromo hexavalente, residuo tóxico de elevado riesgo para la salud humana, por lo que es necesario determinar los parámetros químico–físicos que caractericen el grado de contaminación que presenta. En las seis piscinas de almacenamiento de aguas residuales se determinan pH, sólidos totales, fijos, volátiles y sedimentables, conductividad, cromo hexavalente (potenciométrico y por espectrometría de absorción atómica), oxígeno disuelto, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, coliformes totales, coliformes fecales y pseudomonas. Se comprueba que solamente una de las piscinas no cumple los límites de vertimiento establecidos en la NC 27:99.

Palabras claves: calidad de aguas, residuales acuosos, límites de vertimiento.

Abstract:

Currently The Electromechanical Factory "Escambray" located in The Pedrero, province of Sancti Spiritus has changed its purpose working due to it keeps waste water stored containing different chemical species, which need to be analized in order to find out how pollution presented. One of the chemical species present in the residual is hexavalent chromium, toxic waste from high risk to human health, so it is necessary to determine the physical chemical parameters characterizing the degree of contamination that presents. In the six pools storage wastewater determining pH, total solids, fixed, volatile and sedimentable, conductivity, hexavalent chromium (potenciometric and by atomic absorption spectrometry), dissolved oxygen, chemical demand of oxygen, biochemical demand of oxygen, total coliforms, fecal coliforms and pseudomonas. It found that only one of the pools did not meet the discharge limits set in the NC 27:99.

Key words: water quality, waste water, sloping limits.

Índice

Introducción……. 1

Capítulo I: Revisión Bibliográfica 3

1.1 Contaminación Ambiental…… 3

1.2 Escasez de agua potable……... 11

1.3 Fuentes y tipos de residuos……..... 12

1.4 Vertimiento de aguas…… 13

1.5 Métodos analíticos para la cuantificación de los parámetros de vertimiento…… 20

1.6 Validación de métodos de ensayo…… 26

Capítulo II: Materiales y métodos 35

2.1Técnicas para la determinación de parámetros de los residuales líquidos……. 35

2.1.1 Determinación de Cromo (VI) por valoración potenciométrica con sal Mohr….. 35

2.1.2 Determinación de Cromo (VI) por Absorción Atómica…… 37

2.1.3 Determinación de pH …….. 38

2.1.4 Determinación de Conductividad…… 39

2.1.5 Determinación de sólidos……... 41

2.1.6 Determinación del oxígeno disuelto…… 43

2.1.7 Demanda Bioquímica de Oxígeno…….. 47

2.1.8 Demanda Química de Oxígeno……... 52

2.1.9 Contaminantes microbiológicos…….. 53

2.2 Determinación de parámetros de los residuales líquidos de la Empresa Electromecánica "Escambray"…… 57

2.3 Métodos de cómputo utilizados…… 58

Capítulo III: Análisis y discusión de los resultados 59

3.1 Determinación de cromo (VI) por valoración potenciométrica con sal Mohr……. 59

3.2 Aplicación de las técnicas desarrolladas a las piscinas de la Fábrica de Equipos Electrodomésticos de Fomento……... 62

3.2.1 Valoración potenciométrica de cromo (VI) en muestras de las diferentes piscinas.. 62

3.2.2 Determinación de Cromo (VI) por Absorción Atómica…….. 68

3.2.3 Resultados de otras determinaciones realizadas en las diferentes piscinas…… 70

3.2.4 Resultados de la evaluación microbiológica inicial de las diferentes piscinas….. 74

Conclusiones 75

Recomendaciones 76

Bibliografía 77

Anexos

Introducción

El tratamiento de los residuales industriales, domésticos y agrícolas es de gran importancia para el cuidado del medio ambiente. En especial requiere una gran atención la disposición de los residuales acuosos procedentes de fábricas de la industria siderometalúrgica por el elevado contenido de metales disueltos. La determinación de la concentración de estas especies en los residuales así como de otros parámetros que permitan disminuir al mínimo las afectaciones al medio ambiente e incluso el posible envenenamiento de plantas, animales y el hombre es un aspecto determinante para el vertimiento de estos residuales (Díaz y Borges, 1997).

La Fábrica Electromecánica "Escambray" de El Pedrero, Fomento, provincia de Sancti Spíritus tenía una misión desde el año 1990 al 2000 distinta a la actual, producto de esto mantiene almacenados residuales líquidos de diferentes especies químicas, los cuales necesitan ser caracterizados para conocer el grado de contaminación que presentan. Una de las especies químicas presentes en el residual es el cromo hexavalente, residuo tóxico de elevados riesgos para la salud humana y para el medio ambiente (Catalán, 1990).

En los años 70 nuevas regulaciones medioambientales obligaron a restringir el uso de Cr(VI) debido a su carácter cancerígeno. Esta creciente preocupación por el medio ambiente y por la salud ha llevado a nuevos requerimientos en la tecnología de la pasivación. En particular, la industria europea del automóvil ha tomado la iniciativa en la introducción de nuevos tipos de pasivados sin Cr(VI) sobre zinc y sus aleaciones. Esta actuación ha estado generada por la reciente aparición de directivas que restringen los límites de uso de los iones de Cr(VI), considerados tóxicos y cancerígenos. Es por ello que una de las líneas actuales de investigación más importantes del tratamiento de superficies es el desarrollo de nuevos tratamientos menos tóxicos que los anteriores, pero con la misma resistencia a la corrosión (Poschenrieder, 1986).

En la industria mecánica cubana también se han introducido cambios en las tecnologías de pasivación destinados a eliminar la presencia del Cr(VI), razón por la cual en la Fábrica Electromecánica "Escambray", en la cual se realiza este trabajo, se gestiona la caracterización y posible desactivación de los residuales que fueron generados en el proceso de producción anterior.

Problema científico

La fábrica no cuenta con la caracterización de los residuales procedentes del proceso productivo anterior almacenados en piscinas y las regulaciones vigentes del Ministerio de ciencia, Tecnología y Medio Ambiente exigen su caracterización y tratamiento para un posible vertimiento de los mismos.

Hipótesis

Es posible caracterizar los residuales, mediante la aplicación de técnicas analíticas que permitan emitir criterios sobre la composición de los residuales a fin de determinar si cumple con los parámetros legislados para el vertimiento de los residuales.

Objetivo General

Determinar los principales parámetros químico-físicos reglamentados en la NC-27:1999, que permitan caracterizar las aguas almacenadas en las piscinas de residuales de la Fábrica Electromecánica “Escambray” de El Pedrero, Fomento, provincia Sancti Spíritus.

Objetivos Específicos

1. Desarrollar y determinar algunos parámetros de validación de la técnica de valoración potenciométrica para la determinación de cromo hexavalente en las condiciones de trabajo del laboratorio.
2. Evaluar los siguientes parámetros químico-físicos:
    - pH.
    - Sólidos totales, fijos, volátiles y sedimentables.
    - Conductividad.
    - Cromo hexavalente.
    - Oxígeno disuelto.
    - DQO.
    - $DBO_{5.}$
3. Evaluar la contaminación microbiológica de los residuales mediante la determinación de:
    - Coliformes totales y fecales.
    - Pseudomonas.

Capítulo I: Revisión Bibliográfica

1.1 Contaminación ambiental

Los problemas ambientales generados por las emisiones de residuos de producción, por el excesivo consumo de recursos naturales y por los accidentes en el transporte y procesamiento de materiales peligrosos, han tenido repercusiones que van más allá de las fronteras de los países individuales. Ello se ha traducido en fuertes presiones económicas y legales, a nivel internacional, para lograr niveles de desempeño ambiental cada vez más exigentes, en todos los sectores industriales (Harrison, 2001).

La mayor parte de los países consideran que la industrialización es un proceso favorable que genera riqueza rápidamente, revitaliza las zonas en decadencia y permite influir en asuntos de índole mundial. Asimismo, la mayoría de ellos reconoce la necesidad de que la base industrial sea diversa para proteger sus economías de las fluctuaciones en los precios de mercado de sus propios productos. Las consecuencias negativas de la industrialización son a veces más patentes en los países en vías de desarrollo que en los países con estructuras industriales establecidas, en los que la confusión social y los problemas medioambientales que frecuentemente se producen con el desarrollo empezaron hace ya tiempo (Catalán ,1990; Melcalf, 1981).

Algunos Problemas medio ambientales:

- Emisiones de chimeneas industriales.
- Efecto invernadero.
- Acidificación.
- Destrucción del ozono.
- Hidrocarburos clorados.
- Otras sustancias tóxicas.

Las sustancias tóxicas son productos químicos cuya fabricación, procesado, distribución, uso y eliminación representan un riesgo para la salud humana y el medio ambiente. La mayoría de estas sustancias tóxicas son productos químicos sintéticos que penetran en el medio ambiente y persisten en él durante largos períodos de tiempo. En los vertederos de productos químicos se producen concentraciones significativas de sustancias tóxicas. Si estas se filtran al suelo o al agua, pueden contaminar el suministro de agua, el aire, las cosechas y los animales domésticos, y han sido asociadas a defectos congénitos humanos, abortos y enfermedades orgánica (Misch,1994). A pesar de los riesgos conocidos, el problema no lleva camino de solucionarse. Recientemente, se han fabricado más de 4 millones de productos químicos sintéticos nuevos en un período de quince años

La contaminación de ríos y arroyos por contaminantes químicos se ha convertido actualmente en uno de los problemas ambientales más graves (Gary, 2001).

La preocupación alrededor de los problemas ambientales crece a diario en la población mundial y en Cuba. Este fenómeno no sólo está condicionado por los esfuerzos que en materia divulgativa y educación ambiental tiene lugar en el país, sino también porque la manifestación de los problemas ambientales se hace más evidente y afectan directamente a las comunidades y a las personas de manera individual, lo cual constituye a que la percepción de los mismos y sus consecuencias, sea un hecho creciente entre la población.

El estado cubano posee un marcado interés por la protección ambiental. Si bien en las primeras cinco décadas del siglo XX, no se le presto mucha atención al problema del medio ambiente, a partir del año 1959 con el triunfo de la Revolución Cubana, se elaboraron y promulgaron leyes dirigidas a materializar estos principios al mismo tiempo se crearon varios centros e instituciones científicas cuya misión estuvo dirigida al estudio, protección y uso racional de los recursos naturales del país.

En junio de 1992 tuvo lugar en Río de Janeiro, en ocasión de la Conferencia de Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y Desarrollo-comúnmente conocida como la Cumbre de Río o Cumbre de la Tierra- la mayor congregación mundial hasta la fecha de Jefes de de Estados y Gobiernos. A pocos meses de culminada esta cumbre y como una expresión clara y concreta de la voluntad política del gobierno cubano por continuar transitando por un desarrollo sostenible, fue la elaboración de un Programa Nacional de Medio Ambiente y Desarrollo, que representa la adecuación cubana de los objetivos y metas de la Agenda 21 y la proyección de la Política Ambiental Cubana (CITMA, Taller…, 1997).

En 1994 se creó el Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente y a partir de él todas las estructuras provinciales y territoriales que conforman el sistema ambiental de Cuba, al que se incorporaron los centros científicos existentes desde 1959 y nuevos centros de gestión ambiental. De igual forma se inició una labor intensa en la reestructuración de la legislación relacionada con el tema y en los últimos años de la década de 1990 se aprobaron por la Asamblea Nacional del Poder Popular, la Ley 81 "Ley del Medio Ambiente"(Gaceta Oficial, 1997); el Decreto Ley de Áreas Protegidas, el Decreto Ley Reglamento de Pesca, el Decreto Ley para la protección de las Costas, la promulgación de la Resolución de Evaluación de Impacto Ambiental y la Resolución de Inspección Estatal Ambiental, entre otros. Este nuevo marco legislativo junto a la Estrategia Ambiental Nacional, la Estrategia de Educación Ambiental, el Programa Nacional de Lucha contra la Desertificación y la Sequía y la Estrategia Nacional de Diversidad Biológica y las estrategias

ambientales sectoriales y territoriales, han constituido instrumentos imprescindibles para la gestión ambiental (Díaz y Borges,1997; CITMA, Estrategia Ambiental Nacional, 1997).

Importancia del agua:

El agua juega un papel fundamental en el funcionamiento de la Biosfera. La misma presenta propiedades que le permiten ser un excelente medio de transporte de energía y materia. La energía solar permite mantener un ciclo hidrológico que tiene un efecto determinante sobre todos los demás ciclos biogeoquímicos.

Desde el punto de vista de la sociedad humana, el agua se utiliza en diferentes roles, principalmente:

- Agua para consumo humano directo (vital).
- Agua para usos domésticos (lavado, sanitario, cocina).
- Agua para usos industriales (medio térmico, transporte de materiales, medio de reacción, solvente, lavado).
- Agua para fines de regadío agrícola, en actividad pecuaria, forestal, etc.
- Agua como medio para la producción de especies marinas (peces, algas, moluscos, etc.).
- Agua como recurso para la generación de energía eléctrica.
- Agua como medio recreacional.
- Agua como medio receptor de los residuos de la actividad humana (Díaz ,1991).

Origen de los contaminantes en el medio hídrico:

- Residuos sólidos procedentes de la tierra o de los buques que se vierten directamente al mar.
- Contaminantes líquidos y sólidos arrastrados por los ríos.
- Deposición de contaminantes vertidos a la atmósfera.
- Petróleo procedente de: plataformas de operación y extracción, operaciones de limpieza y deslastre de tanques y accidentes marítimos (Germain ,1982).

Contaminantes Líquidos:

El efecto de los residuos líquidos sobre los ecosistemas acuáticos depende, entre otros factores, de su composición química, de las características físicas y biológicas del efluente, además de las características del medio receptor acuático.

Los contaminantes en fase líquida incluyen un amplísimo rango de compuestos disueltos y suspendidos, orgánicos e inorgánicos.

Contaminación física:

Las alteraciones físicas más importantes que sufren las aguas como consecuencia de la polución son:

Temperatura: Los efluentes calientes pueden alterar negativamente el ecosistema, ya que la elevación de la temperatura reduce la solubilidad del oxígeno. Más aún, el metabolismo microbiano aumenta al elevarse la temperatura (hasta cierto límite).

Sólidos suspendidos: Los sólidos en el agua interfieren directamente con la transferencia de oxígeno y con la transmisión de la luz. Además, cuando sedimentan afectan la vida en el fondo del cuerpo de agua. Si son orgánicos biodegradables, imponen una fuerte demanda de oxígeno.

Color: El agua pura es incolora, pero las sustancias naturales presentes en ella le proporcionan ciertas tonalidades. La coloración de un agua natural no contaminada se debe fundamentalmente a la presencia de sustancias orgánicas y compuestos de hierro. El agua contaminada puede contener una gran variedad de compuestos colorantes orgánicos, minerales o ambos. Los desechos industriales dan a las aguas, algunas veces, colores característicos, pero generalmente es difícil relacionar directamente color y contaminación (NC 93-21: 86).

Olor y Sabor: Desde el punto de vista fisiológico estos sentidos están íntimamente relacionados, ya que cuando se quiere gustar algo hay que olerlo, lo que no ocurre en sentido contrario. Por esta razón se prefieren las determinaciones de olor que las de sabor. El olor presente en las aguas puede deberse a la presencia de compuestos químicos como fenoles y cloro, a materias orgánicas en descomposición o a ciertos micro-organismos.

pH: El pH puede modificarse tanto por medios naturales como artificiales. En las aguas naturales la variación del pH ejerce una gran influencia sobre las distintas reacciones que se llevan a cabo en el agua; modifica la facilidad de precipitación de algunas especies químicas, etc.

Conductividad: El agua pura tiene muy poca conductividad, por lo que la medida de la conductividad de un agua nos da una idea de los sólidos disueltos en la misma.

<u>Contaminación Química:</u>

Los contaminantes químicos comprenden tanto productos orgánicos como inorgánicos. El aspecto fundamental de la contaminación por compuestos orgánicos es la disminución del oxígeno disuelto como consecuencia de su consumo para los procesos de degradación de los contaminantes. En el caso de la contaminación por compuestos inorgánicos el resultado más importante depende de su efecto tóxico, aunque también existen compuestos inorgánicos que ejercen una gran demanda de oxígeno.

Los contaminantes químicos pueden clasificarse en contaminantes comunes, contaminantes especiales y metales pesados.

Parámetros que caracterizan los contaminantes comunes:

Oxígeno disuelto (OD): La presencia de oxígeno disuelto es fundamental para mantener la vida acuática y la calidad de las aguas. La carencia de oxígeno se presenta como consecuencia de la contaminación. La concentración de OD indica, entre otros, el estado de septización, potencialidad para producir malos olores, calidad de las aguas, y estimación de la actividad fotosintética.

La capacidad de autodepuración es altamente dependiente de la disponibilidad de oxígeno disuelto en el agua.

La actividad viviente le otorga a un cuerpo de agua una cierta capacidad de autodepuración, ya que los compuestos orgánicos que se vierten en éste, son consumidos por los microorganismos heterótrofos (Morea, 2006).

- *Demanda Bioquímica de Oxigeno (DBO):* Es el parámetro de contaminación orgánica más utilizado el cual se basa en la determinación del oxígeno disuelto antes y después de la incubación de una muestra de agua durante 5 días y a una temperatura determinada. La diferencia entre ambas concentraciones será la DBO5 expresada en concentración de oxígeno disuelto, usualmente en mg/L.
- *Demanda Química de Oxígeno (DQO):* Se considera la cantidad de oxigeno estequiométricamente necesaria para oxidar, en medio ácido, todas las formas reductoras cuyo potencial así lo permitan.

El concepto de DQO incluye no sólo la oxidabilidad de la materia orgánica presente en un residual, sino la de todas la formas oxidables, por lo cual no se puede considerar esta técnica como un estimador exacto de la materia orgánica.

Teniendo en cuenta que en la mayoría de los residuales procedentes de las industrias procesadoras de sustancias biológicas (industrias bioquímicas, procesos fermentativos, industria alimentaria) el componente orgánico es muy superior a la fracción inorgánica, se puede considerar que la DQO es un estimador relativamente bueno del contenido de materia orgánica. Algo similar ocurre con los albañales humanos y los residuales agropecuarios (NC 93-24: 87) .

Nutrientes: Estos elementos son esenciales para el crecimiento de las plantas, pero en cantidades excesivas provocan la Eutrofización, crecimiento desmesurado de las algas verdes cianofíceas y se impide la oxigenación del agua:

Nitrógeno total y amoniacal: En aguas contaminadas pueden existir nitratos y nitritos procedentes de la oxidación del amoniaco y de fertilizantes.

Fósforo: no está presente de forma natural en las aguas, en las aguas residuales procede de los excrementos y de los detergentes (Díaz, 2006).

Contaminantes especiales:

Aceites y Grasas: Están presentes en aguas domésticas e industriales, pueden ser orgánicos o derivados del petróleo. Generalmente se extienden sobre la superficie de las aguas, creando películas que afectan a la vida biológica de las aguas.

Detergentes: Generalmente contienen agentes tensoactivos (formadores de espuma); agentes coadyuvantes que ablandan el agua y cargas, sustancias que ajustan la sustancia activa a las dosis utilizadas.

Sulfuros: Se encuentran en las aguas negras, aguas de industria química y papelera y refinerías de petróleo. La concentración de sulfuros da una idea del grado de septización.

Cianuros: Contaminación de origen industrial, enormemente tóxicos

Fluoruros: Se encuentra en vertidos de la industria del aluminio y de abonos fosfatados.

Fenoles: Se encuentran en los efluentes industriales de las refinerías, industria siderúrgica, farmacéutica, etc. Los derivados clorados de los fenoles confieren al agua características organolépticas no deseables.

Pesticidas: los pesticidas más utilizados son poco biodegradables y, además de su elevada toxicidad, presentan problemas de bio-acumulación.

Hidrocarburos: Son compuestos químicos orgánicos, presentes en grandes cantidades en el petróleo y gas natural. La contaminación que puede originar un crudo de petróleo cuando se derrama en el mar depende de sus características que pueden variar mucho en función del tipo de petróleo.

Metales pesados:

La presencia de metales en aguas es motivo de preocupación, principalmente por sus efectos tóxicos y su bio-acumulación en la cadena trófica. Algunos metales son esenciales para la vida (Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Mo, Ni, Co, Cu y Zn). El hierro forma parte de la hemoglobina de la sangre y el cobalto de la vitamina B-12, siendo también un activador de enzimas, como el manganeso. El cobre y el cinc participan en la síntesis de enzimas. El molibdeno participa en los procesos de transferencia de electrones.

El resto de los metales pesados: mercurio, cadmio, níquel, cromo, etc. son metales no esenciales y tienen efectos tóxicos sobre el organismo. Incluso los metales esenciales, cuando sobrepasan las concentraciones requeridas por el organismo, pueden tener efectos tóxicos (Dickson, 1990; Poschenrieder, 1986).

Contaminantes Biológicos:

El análisis microbiológico es de gran valor y vital importancia en la prevención de epidemias resultantes de la contaminación de aguas. Con este tipo de análisis se determina el número de

bacterias presentes en el agua así como la presencia o ausencia de bacterias del grupo Coliforme y Streptococus fecalis, 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. 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. 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 aislable, identificable y cuantificable en el menor tiempo posible y con el menor costo. Debe ser capaz de crecer en los medios de cultivo comunes, estar distribuido al azar en las muestras y ser resistente a la inhibición de su crecimiento por otras especies (Galarraga, 1984; 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 ácido y 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 (Marchand, 2005).

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 (NC 93-01-128: 88).

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 (NC 93-01-128: 88).

Pseudomona aeruginosa:

La Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista muy relacionado con infecciones de nariz, oído, garganta y piel y es responsable de septicemias fatales en niños y pacientes adultos que sufren quemaduras graves o que se encuentran debilitados por cáncer, diabetes mellitus o edad avanzada. Esta bacteria puede desempeñar un papel importante en brotes de gastroenteritis de origen hídrico, en diarreas por ingestión de alimentos contaminados y en infecciones hospitalarias (NC 93-01-129:88).

Las Pseudomonas son bacilos Gram negativos, no esporulados, oxidasa y catalasa positivos, capaces de crecer a 42°C pero no a 4°C, usualmente produce un pigmento fluorescente soluble en agua y piocianina en más del 90% de las cepas, exhiben metabolismo oxidativo, reducen nitrato-nitritos a N_2, producen amonio en la ruptura de acetamida, licuan la gelatina, hidrolizan la caseína pero no el almidón. Puede tolerar valores de pH relativamente amplios y utilizan una variedad de compuestos orgánicos y amonios cuaternarios mejor que muchas bacterias.

Este microorganismo es encontrado en muchas lesiones humanas y de animales, residuales, aguas superficiales y suelos. En las heces humanas representa un 9% respecto al total de bacterias presentes.

Dada la falta de correlación entre la presencia *Pseudomonas aeruginosa* y la de otras bacterias indicadoras de contaminación fecal, es recomendable su búsqueda como un examen complementario para la calidad del agua destinada al abastecimiento público y las aguas utilizadas con fines recreativos ya que es un patógeno causante de infecciones del tracto respiratorio superior en nadadores. En relación al agua de abastecimiento industrial esta determinación es importante por su capacidad de formar limo, que puede causar interferencias en muchos procesos y particularmente en la industria farmacéutica por la posibilidad de contaminación de medicamentos y cosméticos.

Los métodos de Números Más Probable y Filtración por Membrana son utilizados de rutina para la enumeración de *Pseudomonas aeruginosa* y se aconseja una confirmación bioquímica.

1.2 Escasez de agua potable

En todo el mundo, más de mil millones de personas no tienen acceso a agua potable. Para el fin del siglo se estima que un 80% de los habitantes urbanos de la Tierra puede que no dispongan de suministros adecuados de agua potable. Sólo una pequeña cantidad del agua dulce del planeta (aproximadamente el 0,008%) está actualmente disponible para el consumo humano. Un 70% de la misma se destina a la agricultura, un 23% a la industria y sólo un 8% al consumo doméstico (Myers, 1992).

Al mismo tiempo, la demanda de agua potable está aumentando rápidamente. Se espera que el consumo agrícola de agua aumente un 17% y el industrial un 60% en los próximos años. A medida que el agua potable es más escasa, hay mayores posibilidades de que se convierta en una fuente de conflictos regionales (Ecoportal, 2005).

La agricultura de regadío, beneficiosa para muchos países que de otro modo no podrían obtener suficientes cosechas de alimentos, también puede contaminar el suministro de agua si se utiliza en exceso. Al acumularse sales del suelo en las aguas superficiales, éstas resultan inservibles para futuros usos agrícolas o domésticos.

La contaminación industrial de las aguas subterráneas sigue siendo un grave problema en la mayoría de los países desarrollados. En todo el mundo se produce la infiltración de productos tóxicos en el suelo y en las aguas subterráneas, procedentes de tanques de almacenamiento de gasolina, vertederos de basuras y zonas de vertidos industriales. En Estados Unidos, uno de cada seis habitantes bebe agua que contiene altos niveles de plomo, uno de los principales productos tóxicos industriales. Aun cuando la calidad media del agua de los ríos ha mejorado en los últimos 20 años en la mayoría de las naciones industrializadas, las concentraciones de metales pesados como el plomo se mantienen en niveles inaceptablemente altos (Gómez, 2006).

Otra causa importante de la contaminación del agua potable es el vertido de aguas residuales. En los países en vías de desarrollo, el 95% de las aguas residuales se descargan sin ser tratadas en ríos cercanos, que a su vez suelen ser una fuente de agua potable. Las personas que consumen esta agua son más propensas a contraer enfermedades infecciosas que se propagan a través de aguas contaminadas, el principal problema de salud en países en vías de desarrollo. Además, la contaminación producida por las aguas residuales destruye los peces de agua dulce, una importante fuente de alimentos, y favorece la proliferación de algas nocivas en zonas costeras (Manual Ing.Sost., 2004).

1.3 Fuentes y tipos de residuos

Los residuos se pueden clasificar según su estado físico en residuos sólidos, líquidos y gaseosos. Dichos residuos se generan en todos los ámbitos de la actividad humana, tanto doméstica como industrial.

Residuos Sólidos:

Los residuos sólidos se generan tanto en la actividad doméstica como industrial, y constituyen un problema ambiental crítico en la sociedad industrial moderna.

Residuos sólidos de origen doméstico:

Aquellos residuos generados por la actividad doméstica constituyen uno de los principales problemas ambientales de las grandes ciudades.

Residuos sólidos de origen industrial:

Pueden generarse a partir de diferentes fuentes, que reflejaran directamente la naturaleza de los materiales utilizados y de los productos derivados del procesamiento:

- Cenizas y escorias de los sistemas de combustión para generación de vapor de procesos. Sus características químicas dependen del tipo de combustible y de las condiciones de combustión.
- Sólidos secundarios generados por los sistemas de tratamiento de efluentes (ej.: lodos de sedimentación, lodos biológicos) y/o de gases (ej.: cenizas y polvos de los filtros, precipitadores electrostáticos o ciclones).
- Insumos químicos gastados no reutilizables (ej. catalizadores agotados, solventes gastados).
- Envases y otros contenedores de materias primas, insumos y equipos.
- Materiales residuales de las operaciones de mantención (ej. aceites, grasas y solventes gastados, partes de equipos dañadas, aislantes, escombros, chatarra).
- Otros tipos (cortezas, huesos, visceras, productos fuera de especificación sin valor comercial, etc.)

Residuos Gaseosos:

La contaminación atmosférica reviste gran importancia, debido a su enorme impacto directo sobre la salud humana. La mayoría de los contaminantes presentes en el aire puede encontrar fácilmente su camino hacia la sangre, debido a que la transferencia de materia a través de la pared de los capilares pulmonares es muy poco selectiva.

Los contaminantes atmosféricos más comunes incluyen: materiales particulados, aerosoles, óxidos de azufre, óxidos de nitrógeno, hidrocarburos, ozono, oxidantes fotoquímicos, dióxido de carbono, monóxido de carbono, ruido, radiaciones, etc.

Residuos líquidos:

El uso doméstico e industrial de agua resulta en la generación de residuos líquidos, cuya composición y volumen dependen del tipo de uso, de la naturaleza de los procesos, del nivel tecnológico, de los materiales utilizados y de la gestión de producción (Germain, 1982).

Residuos líquidos de origen doméstico:

Los residuos líquidos derivados de la actividad doméstica, están constituidos principalmente por las aguas generadas por las actividades de lavado (ropa, utensilios, alimentos, personas) y las aguas sanitarias (fecales). La tasa de generación diaria de residuos líquidos domésticos está en el rango 0,1-0,4 (m^3/persona) (Seoanez, 1995).

Residuos líquidos de origen industrial:

- Aguas de enfriamiento
- Aguas de procesos
- Aguas de lavado de equipos
- Aguas servidas

Los residuos de origen industrial constituyen un enorme volumen y los efluentes de una planta de tamaño mediano pueden equivaler en volumen a los generados por una gran ciudad (Dickson, 1990).

1.4 Vertimiento de aguas

El vertido final del agua tratada se realiza de varias formas. La más habitual es el vertido directo a un río o lago receptor. En aquellas partes del mundo que se enfrentan a una creciente escasez de agua, tanto de uso doméstico como industrial, las autoridades empiezan a recurrir a la reutilización de las aguas tratadas para rellenar los acuíferos, regar cultivos no comestibles, procesos industriales, recreo y otros usos. En un proyecto general de este tipo, el proceso de tratamiento comprende los tratamientos convencionales primario y secundario, seguidos de una limpieza por cal para eliminar los compuestos orgánicos en suspensión. Durante este proceso, se crea un medio alcalino (pH elevado) para potenciar el proceso. En el paso siguiente se emplea la recarbonatación para volver a un pH neutro. A continuación se filtra el agua a través de múltiples capas de arena y carbón vegetal, y el amoníaco es eliminado por ionización. Los pesticidas y demás compuestos orgánicos aún en suspensión son absorbidos por un filtro granular de carbón activado. Los virus y bacterias se

eliminan por ozonización. En esta fase el agua debería estar libre de todo contaminante pero, para mayor seguridad, se emplean la segunda fase de absorción sobre carbón y la ósmosis inversa y, finalmente, se añade dióxido de cloro para obtener un agua de calidad máxima (Díaz,2006; Hernández, 1994).

Criterios para el vertimiento:

La preservación de la calidad de las aguas terrestres adquiere cada vez mayor importancia por lo que implican para la sociedad las pérdidas por concepto de deterioro de aquélla, desde los puntos de vista higiénico - sanitario, económico, ambiental, social, estético y cultural.

Tan solo los riesgos que para la salud del hombre representan el consumo de aguas contaminadas, justifica que se regule el vertimiento de residuales a los cuerpos receptores. Téngase en cuenta que un grupo numeroso de patologías en el hombre tienen origen hídrico. Estas pueden ir desde las enfermedades entéricas hasta las derivadas de la ingestión de elementos tóxicos contenidos en las aguas.

Por otra parte, existe una amplia gama de usos del agua, cada uno de los cuales tiene requisitos específicos que cumplir, por lo que una norma que regule el vertimiento de residuales con el objetivo de preservar la calidad de las aguas terrestres tendrá tanto, requerimientos generales como específicos.

La norma es un instrumento legal para garantizar la calidad de las aguas terrestres mediante la regulación de las descargas de residuales a éstas, lo que a su vez servirá de base para la elaboración de estrategias de saneamiento. Ella ayudará a la protección de las fuentes de abasto a la población, los cursos naturales de las aguas, las aguas subterráneas y las obras e instalaciones hidráulicas.

Los residuales líquidos a verter al sistema de alcantarillado deben cumplir con las concentraciones relacionadas en la tabla 1 (NC-27: 99).

Tabla 1: Límites Máximos Permisibles Promedio (LMPP) para los parámetros de los residuales Líquidos

Parámetro	**Unidades**	**LMPP**
Temperatura	^{o}C	< 50
pH	Unidades	6-9
Sólidos Sedimentables	mL/L	<10
Grasas y Aceites	mg/L	<50
Conductividad	µS/cm	<4000
DBO5	mg/L	<300
DQO (Dicromato)	mg/L	<700
Fenoles	mg/L	<5
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	mg/L	<25
Aluminio	mg/L	<10.0
Arsénico	mg/L	<0,5
Cadmio	mg/L	<0,3
Cianuro	mg/L	<0,5
Cobre	mg/L	<5,0
Cromo hexavalente	mg/L	0,5
Cromo total	mg/L	2,0
Mercurio	mg/L	0,01
Plomo	mg/L	1,0
Zinc	mg/L	5,0
Sulfuros	mg/L	5,0

Los *parámetros básicos* que a los efectos de esta norma se han considerado son los que se especifican en la tabla 2.

Tabla 2: Parámetros básicos para las descargas.

Parámetros	
pH	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)
Conductividad eléctrica	Demanda química de oxígeno (DQO)
Temperatura	Nitrógeno total (Kjeldahl)
Grasas y Aceites	Fósforo total
Sólidos sedimentables totales	Coliformes fecales
Materia flotante	Compuestos tóxicos inorgánicos
Oxígeno disuelto	Compuestos tóxicos orgánicos

La determinación de pH es una prueba empírica que permite medir la actividad de los iones hidrógeno.

En el agua existe un equilibrio entre el dióxido de carbono, los iones hidrogenocarbonato y los carbonatos, el cual depende del pH de la disolución. En aguas que presentan pH entre 8 y 9 se puede existirá un máximo de iones hidrogenocarbonato. A pH menores que 4.6 hay presencia de ácidos minerales en el agua. A pH mayores que 9.4 no hay hidrogenocarbonatos, la alcalinidad es debida principalmente a hidróxidos y carbonatos. El pH óptimo para el vertimiento de aguas residuales está entre 6 y 9.

La conductividad eléctrica (CE) 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 reales y relativas y la concentración iónica de la muestra

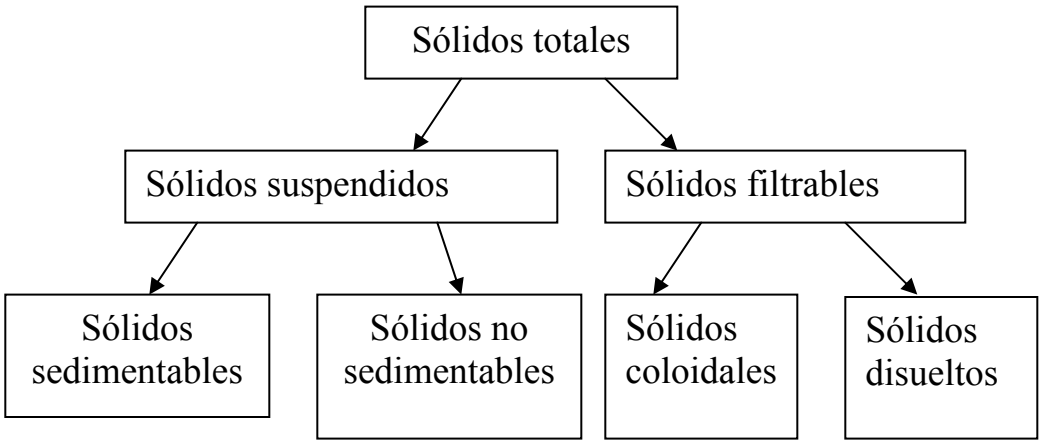
La CE de muestras de agua puede ser determinada rápida y fácilmente en laboratorio o a campo.

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 en agua (Díaz, 2006).

Los sólidos totales se determinan al evaporar una muestra en una cápsula tarada, sobre baño de vapor y posteriormente secada en estufa hasta peso constante a 103-105 ^{0}C. Este método se corresponde con las normas cubanas (NC-93-01-33-89).

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.



Sólidos sedimentables son aquellos que precipitan durante un tiempo de 60 minutos en un recipiente cónico graduado, conocido como cono Imhoff. Los sólidos que no precipitan durante este período de tiempo se consideran como sólidos no sedimentables.

Todos estos tipos de sólidos se pueden clasificar a la vez en: *sólidos fijos y sólidos volátiles*.

Debido a que los sólidos están compuestos por materiales orgánicos e inorgánicos, es conveniente diferenciarlos y para ellos se determinan los "sólidos totales volátiles" (los cuales incluyen el material orgánico) y los "sólidos fijos" (los cuales incluyen las sales inorgánicas no volátiles).

En el presente trabajo se determinan los sólidos totales, fijos, volátiles y sedimentables.

Debido a que el procedimiento para la determinación de ST es muy tedioso y no es una medición realizada por la mayoría de los laboratorios, generalmente se utiliza determinar la *conductividad eléctrica* (CE) como una medida del material mineral total disuelto o suspendido en el agua, la cual ya ha sido referida anteriormente. Cuanto más alto es el valor de ST mayor es la conductividad eléctrica del agua considerada.

El oxigeno disuelto (OD), es una prueba que se utiliza para calcular el efecto de los desechos residuales en los recursos de oxígeno de las aguas de recepción. El oxigeno disuelto es

imprescindible para poder estimar la materia orgánica degradable por lo que reviste especial interés en residuales procedentes de industrias como la alimenticia, la bioquímica, y de la agricultura. 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.

$$Mn(OH)_2 + 1/2\ O_2 \longrightarrow MnO(OH)_{2\,(s)}$$

$$MnO(OH)_{2\,(s)} + 4H_3O^+ + 3I^- \longrightarrow Mn^{2+} + I_3^- + 7H_2O$$

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

La adición de la azida de sodio (NaN_3) tiene como objetivo evitar que los iones nitrito oxiden el ioduro a iodo libre:

$$NaN_3 + H^+ \longrightarrow N_3H + Na^+$$

$$HN_3 + NO_2^- + H^+ \longrightarrow N_2 + N_2O + H_2O$$

Los parámetros seleccionados no cubren el universo de posibilidades que hoy en día se pueden presentar en descargas individuales o mixtas. En las evaluaciones para casos específicos corresponde al organismo rector de las aguas terrestres señalar, si fuera necesario, otros parámetros a considerar y sus límites máximos permisibles promedio o cargas contaminantes permisibles, siempre de acuerdo con la clasificación de los cuerpos receptores, su estado sanitario actual y las prioridades para su conservación.

El límite máximo permisible promedio para las concentraciones en las descargas de aguas residuales, se selecciona atendiendo a la clasificación cualitativa de los cuerpos receptores, la cual se detalla a continuación, (NC-27: 99):

Clase (A): Ríos, embalses y zonas hidrogeológicas que se utilizan para la captación de aguas destinadas al abasto público y uso industrial en la elaboración de alimentos. La clasificación comprende a los cuerpos de aguas situados en zonas priorizadas de conservación ecológica.

Clase (B): Ríos, embalses y zonas hidrogeológicas donde se captan aguas para el riego agrícola en especial donde existan cultivos que se consuman crudos, se desarrolla la acuicultura y se realizan actividades recreativas en contacto con el agua, así como cuerpos de agua que

se explotan para el uso industrial en procesos que necesitan de requerimientos sobre la calidad del agua. La clasificación comprende los sitios donde existan requerimientos menos severos para la conservación ecológica que los comprendidos en la Clase (A).

Clase +(C): Ríos, embalses, zonas hidrogeológicas de menor valor desde el punto de vista del uso como: aguas de navegación, riego con aguas residuales, industrias poco exigentes con respecto a la calidad de las aguas a utilizar, riego de cultivos tolerantes a la salinidad y al contenido excesivo de nutrientes y otros parámetros.

La Empresa Electromecánica "Escambray", en la cual se realiza el presente trabajo, posee un sistema de vertimiento de sus residuales hacia un afluente del Río Agabama, que presenta las características definidas anteriormente como Clase "C".

Los ríos se autodepuran, debido a que la respiración aerobia de las diferentes formas vivientes que subsisten en él; proporcionan la redisolución del oxígeno atmosférico producto de la turbulencia dada por la corriente y la acción fotosintética de las algas presentes.

A continuación se resume los límites permisibles según el cuerpo receptor.

Tabla 3: Límite máximo permisible para descargas de aguas residuales.

Cuerpos receptores		**Ríos y Embalses**			**Acuífero vertimiento en suelo y zona no saturada de 5m**			**Acuífero vertimiento directo a la zona saturada**		
Parámetros	**UM**	**(A)**	**(B)**	**(C)**	**(A)**	**(B)**	**(C)**	**(A)**	**B)**	**(C)**
pH	Unidades	6,5-8,5	6-9	6-9	6-9	6-9	6-10	6-9	6-9	6-10
Conductividad eléctrica	µS/cm	1 400	2 000	3 500	1 500	2 000	4 000	1 500	2 000	4000
Temperatura	ºC	40	40	50	40	40	50	40	40	50
Grasas y aceites	mg/L	10	10	30	5	10	30	Aus.	10	20
Materia flotante	-	Aus.	Aus.	-	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	-	Aus.
Sólidos Sedimentables Totales	mL/L	1	2	5	1,0	3,0	5,0	0.5	1,0	5,0
DBO	mg/L	30	40	60	40	60	100	30	50	100
DQO (Dicromato)	mg/L	70	90	120	90	160	250	70	140	250
Nitrógeno total (Kjd)	mg/L	5	10	20	5	10	15	5	10	15
Fósforo total	mg/L	2	4	10	5	5	10	5	5	10

Leyenda: Aus.=ausente.

1.5 Métodos analíticos para la cuantificación de los parámetros de vertimiento

Determinación de cromo en forma de cromo (VI):

El cromo puede presentarse en los estados de oxidación de II a VI. El estado VI (cromatos y dicromatos) es fuertemente oxidante y el más tóxico. Los dos estados de oxidación mas frecuentes en aguas residuales, Cr VI y Cr III, son fácilmente interconvertibles, dependiendo la dirección de esta conversión fundamentalmente del pH del medio, de la presencia de condiciones aerobias o anaerobias y de la temperatura. En un medio alcalino y en condiciones aerobias, puede ocurrir la oxidación del Cr III a Cr VI. Esta oxidación es más intensa a temperaturas más altas (Guzmán, 2007).

Casi todos los métodos para la determinación de cromo en aguas se basan en la oxidación del elemento a dicromato y la subsiguiente determinación de este último con métodos volumétricos o colorimétricos (NC 93-01-121: 88; Eaton, 2005).

Volumétricamente el dicromato se determina agregando una cantidad medida de un agente reductor, generalmente sulfato ferroso, titulando por retorno el exceso de la solución reductora con permanganato, o con una titulación potenciométrica directa con sulfato ferroso; en cualquier caso el dicromato se reduce a sal de cromo (III) (NC:44-14-3: 84).

Las sales de cromo (III) se pueden oxidar a dicromato en solución ácida y caliente (medio en que se efectúa generalmente la oxidación) con un cierto número de agentes oxidantes, de los cuales se pueden mencionar los siguientes: persulfatos alcalinos en presencia de nitrato de plata, ácido perclórico, permanganato y bromato de potasio.

El exceso de persulfato se puede destruir por ebullición, y el exceso de ácido perclórico se hace no oxidante con una simple dilución en agua.

Las soluciones de dicromato de potasio no varían su título por la acción del tiempo. El potencial de reducción del dicromato en medio ácido es menor que el de permanganato o el de sulfato de cerio (IV). En la reducción se forman iones de cromo (III) verde, y por lo tanto se debe usar un indicador para el reconocimiento del punto final: $Cr_2O_7^{2-} + H^+ + 6e^- \longrightarrow 2\,Cr^{3+} + 7\,H_2O$

El ácido difenilaminosulfónico y la difenilbencidina son las más útiles.

La reacción entre el dicromato y el ión ferroso se aplica con más frecuencia para la determinación volumétrica del cromo, que para la del hierro. Esta determinación se lleva a cabo convirtiendo el

cromo contenido en la muestra en dicromato y valorando éste mediante una solución tipo de sulfato ferroso o sal de Mohr.

Puesto que la presencia de iones cloruros impide la oxidación de las sales de cromo (III) a cromo (VI) esta conversión se lleva a cabo en medio nítrico. Así para la determinación del cromo presente en un acero o en otras aleaciones, se disuelve la muestra en ácido sulfúrico o en la mezcla de éste con el nítrico. La solución crómica se oxida a dicromato por uno de los siguientes métodos.

Con persulfato amónico en presencia de una pequeña cantidad de nitrato de plata como catalizador.

$$2\ Cr^{3+} + 3\ S_2O_8^{2-} + 7\ H_2O \longrightarrow Cr_2O_7^{2-} + 6\ HSO_4^- + 8\ H^+$$

Destruyendo el exceso de persulfato por ebullición.

$$2\ S_2O_8^{2-} + 2\ H_2O \longrightarrow O_2 + 4\ HSO_4^-$$

Método potenciométrico:

El potencial de un electrodo puede variar con la concentración (o más correctamente, la actividad) de una o más especies de la solución en la cual está sumergido. Las medidas de potencial pueden a menudo ser usadas para suministrar información cuantitativa de la composición de las soluciones. En el método potenciométrico, se mide la FEM de una celda galvánica, formada por la sumersión de un par de electrodos adecuados en la solución que va a ser analizada. Los aparatos requeridos, consisten en un electrodo de referencia y un dispositivo para medir potencial (Pombo, 2004; Harris, 2001).

Medida del potencial:

La fuerza electromotriz desarrollada por una celda galvánica no puede ser medida con exactitud utilizando un voltímetro de corriente directa a través de los electrodos. Debido a que una corriente significativa es requerida para operar el equipo.

Cuando esa corriente atraviesa por la celda ocurre una disminución en el voltaje lo cual se debe, en parte, a los cambios en la concentración de las especies reactivas cuando la celda comienza la descarga. Efectivamente, un valor significativo en el rendimiento de una celda puede ser logrado sólo si la medición es hecha con un insignificante paso de corriente, es decir, a $i = 0$. El instrumento conveniente para ésta especificación es llamado potenciómetro.

Electrodos de referencia. Electrodo de calomel:

En muchos métodos analíticos, es deseable que el potencial medio de un electrodo, sea completamente insensible a los cambios en la composición de la solución durante el curso del análisis. Un electrodo que tenga ésta característica es llamado electrodo de referencia, el cual debe ser capaz de mantener constante y reproducirle su potencial con el paso de pequeñas corrientes.

Electrodo de calomel:

El electrodo de referencia más usado es el electrodo de calomel, que está compuesto de mercurio metálico (Hg), cubierto de una capa delgada de calomel (Hg_2Cl_2) en contacto y en equilibrio con una solución de cloruro de potasio saturado con Hg_2Cl_2. El potencial de dicho electrodo depende de la concentración de iones cloruros y ésta se mantiene constante debido a la saturación, manteniéndose por tanto fijo el potencial.La media celda se puede representar de la siguiente forma:

$$Hg\ /Hg_2Cl_{(sat)}\ ,\ KCl_{\ (xmol/L)}\ //$$

El potencial de esta celda varía con la concentración x del cloruro y su valor debe ser especificado en la descripción del electrodo. Para el electrodo de calomel saturado (el más comúnmente usado) el potencial es 0.242 V a una temperatura de 25 C y a una concentración de 3.5 M (1).

Electrodos indicadores. Electrodos selectivos:

En las medidas potenciométricas son usados dos tipos básicos de electrodos indicadores, el electrodo indicador metálico y el electrodo de membrana.

Electrodos indicadores metálicos:

Varios metales como: plata, cobre, mercurio, cromo y cadmio, los cuales presentan varias reacciones reversibles, se pueden usar satisfactoriamente para la construcción de electrodos indicadores. Los potenciales de estos metales reflejan las actividades de sus iones en solución en forma predecible y reproducible. Otros metales son menos satisfactorios como electrodo, éstos tienden a desarrollar potenciales no reproducibles. Ellos pueden clasificarse a su vez en electrodos inertes (no atacables), electrodos de primera clase, electrodo de segunda clase y electrodo de tercera clase.

Electrodo de membrana:

Los electrodos de membrana se dividen en tres categorías dependiendo de la composición de éstos: electrodos de vidrio, electrodos selectivos de membrana líquida y electrodos selectivos en estado sólido o precipitado. El mecanismo mediante el cual se origina el potencial de membrana parece ser el mismo para los tres casos.

Electrodo de vidrio para medida de pH:

El electrodo de vidrio consiste en un bulbo de vidrio muy fino soldado a un tubo grueso del mismo material. La solución que está dentro del tubo (solución de referencia interna) es 1 mol/L de cloruro de sodio y saturada en cloruro de plata, además contiene una concentración de iones H dada por A (generalmente ácido fuerte). La solución exterior es idéntica en composición excepto que la actividad de H es A Esta celda desarrollará una diferencia de potencial (E celda) siempre que A es diferente a A siendo ambas magnitudes proporcionales.

Valoración potenciométrica:

Las valoraciones potenciométricas se basan en la medición del cambio potencial en un electrodo indicador, el cual va sumergido en la solución a valorar, a medida que se agrega el reactivo. El único requisito es que la reacción da lugar a la aparición o desaparición de algún ión para el cual se disponga de un electrodo indicador cuyo potencial es empleado para establecer el punto de equivalencia de una valoración potenciométrica. Esta se utiliza cuando no existe un producto químico adecuado que sirva de indicador visual para la valoración o cuando se hace difícil seguir con precisión el cambio de color del indicador. Permiten observar la sucesión de puntos finales en la titración de una mezcla y determinarse con exactitud éstos, aún en soluciones diluidas.

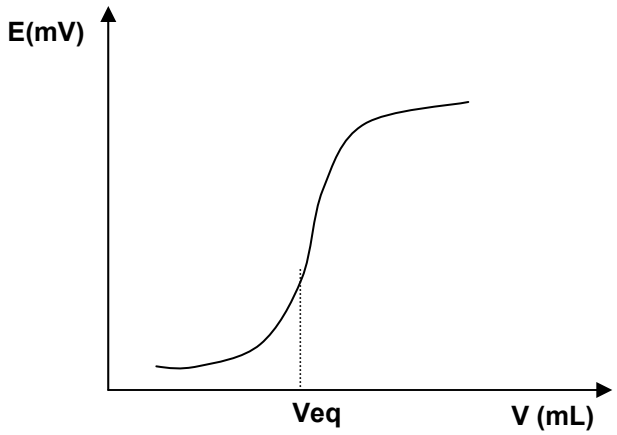
Las valoraciones redox ocupan una posición de gran importancia dentro de la química analítica y el método potenciométrico es adecuado para detectar sus puntos finales. En este tipo de reacciones se produce la transferencia de electrones de la sustancia que se oxida (reductor) a la que se reduce (oxidante).

Entre los oxidantes más frecuentemente utilizados se encuentran las sales de Ce^{4+},$S_2O_8^{2-}$, $Cr_2O_7^{2-}$, MnO_4^-, BrO_3^-, IO_3^-, etc y entre los reductores las sales de Fe^{2+}, $S_2O_3^{2-}$, $C_2O_4^{2-}$, $A_sO_3^{3-}$. El electrodo indicador debe ser un metal que sea inerte en las condiciones de la solución donde se efectúa la valoración (Pt, Au,grafito).

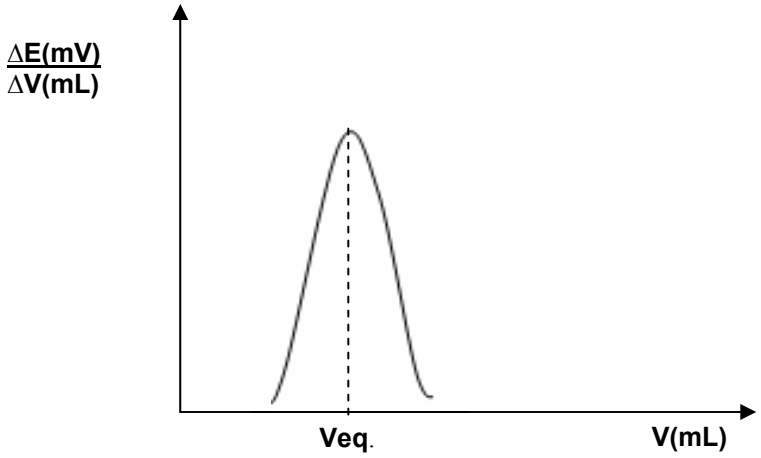
En la mayoría de los casos, las valoraciones redox se caracterizan por grandes cambios de potenciales asociados al punto de equivalencia, debido a lo cual se puede lograr una elevadísima precisión en las localizaciones de los puntos finales. Teóricamente, la magnitud del cambio de potencial asociado al punto de equivalencia, para las valoraciones de redox no es afectada por la dilución; sin embargo, cuando la dilución es grande, se establecen potenciales mixtos y la presencia de trazas de otros sistemas redox afecta la curva de valoración.

Tratamiento de los datos obtenidos para la detección del punto de equivalencia:

En la mayor parte de las valoraciones potenciométricas, los datos se obtienen por lecturas del instrumento, en voltios o milivoltios; o en unidades de pH que corresponden a distintos volúmenes de valorante añadidos y el punto final se detecta en la representación gráfica de la primera de éstas magnitudes en función de la otra. El punto final corresponde a la porción de mayor pendiente de la curva (casi vertical).

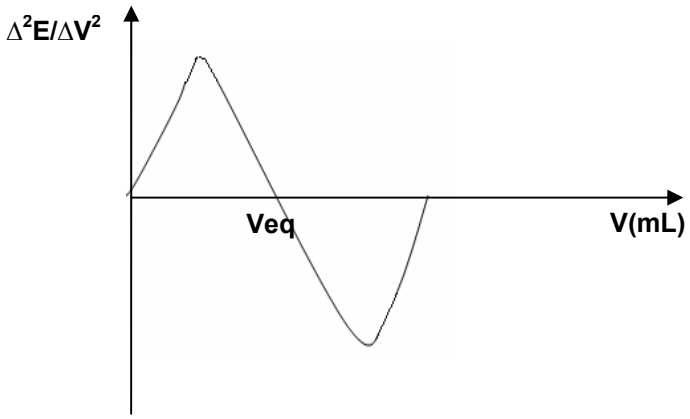


No siempre es fácil localizar el punto de equivalencia por una simple inspección de la curva. Puede localizarse con mayor exactitud mediante una representación diferencial en la cual se grafica la diferencia de E o pH por unidad de volumen valorante, ΔE o ΔpH/ΔV, frente al volumen de valorante. Esta variante constituye un método más exacto para calcular el volumen de valorante correspondiente a la máxima pendiente y de la curva de valoración ordinaria.



En algunos casos y como consecuencia de una pendiente muy pequeña es difícil localizar exactamente a partir de la curva diferencial; se puede utilizar entonces la segunda diferencial

$\Delta^2E/\Delta V^2$ ó $\Delta^2pHE/\Delta V^2$. En el punto estequiométrico exacto la segunda derivada es cero, es decir la pendiente de la primera curva diferencial es nula.



Las representaciones diferenciales tienen la ventaja de localizar con exactitud los puntos finales de valoraciones ¨asimétricas¨, tales como las reacciones redox en que los números de electrones intercambiados en las dos semi reacciones son diferentes, o en las valoraciones de ácido (o base) débil frente a una base (o ácido) fuerte. En estos casos, la curva de E frente a V no es simétrica en las proximidades del punto de equivalencia y la posición del máximo no se determina fácilmente por inspección de la curva (Harris,2001; Rubinson, 2000).

Espectroscopía de absorción atómica:

Espectroscopía es la medición e interpretación de la radiación electromagnética absorbida, dispersada o emitida por átomos, moléculas u otras especies químicas. Estos fenómenos están asociados con cambios en los estados de energía de las diferentes especies. Por consiguiente, dado que cada especie posee estados energéticos característicos, la espectroscopía puede utilizarse para identificarlas (Holguín, 2005).

La espectroscopía constituye la base del análisis espectroquímico, en el que la interacción de la radiación electromagnética con la materia se utiliza para obtener información cualitativa y cuantitativa acerca de la composición de una muestra. Dentro del análisis espectroquímico, la espectroscopía atómica estudia la absorción y emisión de la radiación por especies atómicas, iónicas y moleculares libres. Estas especies son generadas y examinadas en un medio gaseoso de alta energía, que constituye una fuente de vaporización-atomización-ionización-excitación.

Componentes inorgánicos son vaporizados y convertidos en su forma elemental, y los átomos son excitados térmicamente por la energía generada mediante reacciones químicas (Harris, 2001).

En un átomo en su estado de menor energía (estado fundamental), uno de los electrones de valencia correspondiente a un orbital externo es transferido a un estado electrónico de mayor energía. Al retornar al estado fundamental o a uno de menor energía, los átomos pierden su energía de excitación en forma de calor o como radiación electromagnética de longitud de onda característica.

1.6 Validación de métodos de ensayo

Existen numerosas definiciones de validación descritas que expresan la misma idea: "obtención de pruebas convenientemente documentas, demostrativas de que un método de fabricación o de control es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de los intervalos definidos"; "acción de comprobar que cualquier procedimiento, procesos, equipos, material, actividad o sistema responde realmente a los resultados esperados" ; "confirmación mediante el suministro de evidencias objetivas de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista". Según el Comité Nórdico de Análisis de Alimentos, validar es verificar documentalmente que un método o proceso hace lo que tiene que hacer (Comité Nórdico de Análisis de Alimentos, 1996).

Los métodos analíticos deben estar validados, entre otros aspectos, para cumplir con las exigencias de las "Buenas Prácticas de Producción" y otros documentos legales (EURACHEM, 1998).

Según la NC-TS 368: 2004 el proceso de validación comprende las mediciones realizadas para comprobar y describir que un método de ensayo opera en todo momento de acuerdo con las expectativas y los requisitos impuestos respecto a su exactitud, uso, implantación y fuentes de error.

Incluso, un método de ensayo que haya participado en un estudio inter laboratorio no debe ser introducido en la rutina de trabajo de un laboratorio, antes de haber sido demostrado y documentado que el mismo es adecuado para la tarea analítica específica. En otras palabras, el laboratorio debe asegurarse que el método es idóneo para el fin propuesto, no solamente que puede lograr las características de ejecución establecidas en el mismo.

Se deben validar los métodos analíticos cuando se presentan las siguientes situaciones:

- Cuando haya cambios en el método, sin importar cuan pequeño sean.
- Cuando se utilicen nuevas sustancias químicas.
- Cuando se utilicen nuevos instrumentos.
- Cuando se realice en nuevas instalaciones.
- Cuando lo realice un analista distinto al que comúnmente lo hace.

Antes de comenzar cualquier tarea de validación es necesario que se cumplan las Buenas Prácticas de Laboratorio, las cuales establecen procedimientos que nos permiten tener la garantía de la calidad de los resultados que se obtienen. Estos procedimientos incluyen, entre otros, los aspectos siguientes:

- Buena organización funcional.
- Personal suficiente y adiestrado.
- Instalaciones adecuadas y suficientes.
- Métodos escritos, disponibles, actualizados y aprobados.
- Equipos y aparatos apropiados, calificados y en buen estado de funcionamiento.
- Procedimientos apropiados para la toma de muestras.
- Utilización de reactivos apropiados y soluciones valoradas idóneas.
- Utilización de material auxiliar (cristalería) apropiado y en perfectas condiciones para su uso.
- Utilización de patrones y muestra de referencias correctos.
- Verificación-supervisión de los resultados obtenidos y que los registros de los análisis efectuados sean auditables.
- Adecuada información y comunicación de los resultados obtenidos.
- Higiene y seguridad.
- Autoinspección (Joachim, 2005).

Tipos de Validación:

Existen varios métodos de validación los cuales deben ser utilizados en dependencia del grado de desarrollo en que se encuentra el método analítico. Dichos métodos son los siguientes:

1. Validación prospectiva: se aplica cuando se elabora un método analítico. Es típico de los laboratorios de investigación y desarrollo. Corresponde el estudio de todos los parámetros analíticos necesarios para demostrarle el buen funcionamiento del método.
2. Validación retrospectiva: se aplica a métodos no validados previamente o de los que no se tiene una amplia historia de resultados. Suele emplearse en los laboratorios de control.
3. Revalidación: se utiliza cuando un método analítico, previamente validado se le ha introducido algún cambio significativo. Los parámetros analíticos se deciden en función del tipo del cambio efectuado.

Procedimiento para la validación de un método de ensayo:

Existen diversos procedimientos descritos en las normativas sobre procedimientos de validación, las que en general coinciden en definir las siguientes etapas a cumplimentar (CECMED, 2007; NC-TS 368: 2004)

- Protocolo de validación.
- Realización de la validación y evaluación de los parámetros analíticos.
- Documentación.
- Certificado de la validación.
- Monitoreo.

Protocolo de validación:

El protocolo de validación es un plan experimental diseñado para que cuando se ejecute el método constituya una evidencia de que el mismo ha sido validado.

Debe contener una recopilación de todos los requisitos que el método debe reunir.

El protocolo puede considerarse como una ¨orden de trabajo¨ en lo que respecta a las tareas a ejecutar y debe basarse en los siguientes elementos:

- Necesidad del cliente.
- Expectativas analíticas
- Condiciones del laboratorio, las cuales tendrán un impacto sobre la validación o verificación, tales como el ambiente de trabajo, el equipamiento disponible, etc.

En el protocolo se deberá incluir:

- La definición del sistema a validar.
- La identificación de los parámetros.
- Los criterios de aceptación.

El plan de validación o verificación debe describir concretamente los elementos de validación que van ha hacer evaluados y el orden en que se evaluarán. También establecerá los resultados que el laboratorio desea lograr en cada elemento evaluado. Si no hay requisitos específicos, el laboratorio establecerá el requisito analíticamente razonable del método en cuestión. Es importante comparar el Protocolo con los resultados del trabajo experimental parta conocer si se han cumplido los requisitos con respecto a los parámetros analíticos. Si el laboratorio detecta considerables desviaciones durante el trabajo, el método debe ser modificado y el trabajo de validación o verificación debe repetirse.

Si el laboratorio está desarrollando un método totalmente nuevo, el Protocolo debe incluir el trabajo de desarrollo y los aspectos relativos a la selección del principio analítico, la compra de los equipos apropiados, etc.

El Protocolo de validación debe ser específico para cada producto y método y debe ser firmado y fechado por el personal responsable de la validación y de su aprobación. Los datos deben ser perfectamente auditables en los diarios del laboratorio.

Realización de la validación y evaluación de los parámetros analíticos:

Los procedimientos para la determinación de los parámetros analíticos y sus requisitos de validación deben ser definidos por el laboratorio (NC-TS 368: 2004).

Estos procedimientos deben abarcar los aspectos siguientes:

- ✓ Preparación de muestras y sus concentraciones.
- ✓ Número de réplicas por muestras.
- ✓ Tratamiento estadístico de los datos analíticos mediante tablas y expresiones matemáticas.
- ✓ Eliminación o sustitución de los datos primarios que no pertenecen a la población (aberrantes) mediante dócima de Grubbs.
- ✓ Determinación de la homogeneidad de las medias y varianzas, cuando proceda.
- ✓ Realización de las dócimas necesarias para comprobar los criterios de validación.
- ✓ Determinación de los parámetros analíticos mediante expresiones matemáticas.
- ✓ Requisitos de validación.

A continuación se da una breve explicación de cada uno de los parámetros analíticos.

- Especificidad:

Capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito sin interferencia de otras sustancias presentes en la muestra

- Precisión:

Grado de concordancia entre resultados analíticos independientes, obtenidos en circunstancias específicas.

La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no está asociada con el valor real. Se expresa como la desviación típica de los resultados analíticos. Una baja precisión evidencia una elevada desviación típica. Puede determinarse a partir de la *Repetibilidad* o de la *Precisión intermedia.*

Repetibilidad: La repetibilidad de un método se pone de manifiesto cuando se obtiene resultados analíticos en porciones de ensayo idénticas, en el mismo laboratorio, utilizando el mismo equipamiento y en u período de tiempo breve.

Precisión intermedia o reproducibilidad: Se evidencia cuando se obtienen resultados analíticos en porciones de ensayo idénticas, en laboratorios diferentes, utilizando equipamientos diferentes. Por reproducibilidad interna se entiende la concordancia de resultados, cuando el análisis se realiza en el mismo laboratorio y utilizando el mismo método pero en momentos diferentes y por analistas diferentes.

- Exactitud o veracidad:

Es el grado de concordancia que existe entre el valor medio obtenido de una gran serie de resultados y un valor aceptado como referencia. El resultado real de la muestra siempre será un valor desconocido. Para evaluar la veracidad de un método, los laboratorios deben recurrir a valores aceptados tales como el contenido certificado de un material de referencia, los resultados obtenidos mediante un método validado o un resultado obtenido mediante un ensayo de aptitud. La medida de la veracidad viene expresada usualmente en términos de sesgo.

Matemáticamente, la exactitud se expresa en forma del porciento de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra, o bien, en forma de diferencia entre el valor hallado y el verdadero. Estadísticamente se efectúa un test t de Student.

donde:

$$t\exp = \frac{\left|Xv - \overline{X}\right|\sqrt{n}}{S}$$

En esta fórmula Xv es el valor verdadero, X el valor medio, n es el número de determinaciones y S es la desviación estándar.

Si $t_{exp} < t_{tab}$ para el riesgo escogido (p=0.05) y n-1 grados de libertad, significa que ambos valores son estadísticamente semejantes y que el método analítico tiene la exactitud requerida.

Otra vía para la comprobación de la exactitud es mediante la comparación estadística de los valores medios obtenidos por dos técnicas, una de las cuales es la que se quiere validar.

- Linealidad:

Capacidad para asegurar que los resultados del ensayo, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son linealmente proporcionales a la concentración de la sustancia (analito) en la muestra dentro de un intervalo determinado.

Para evaluar la linealidad de una técnica analítica se debe obtener la representación gráfica de la recta de regresión. Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta, significa que la linealidad no es buena o que el error experimental es importante y los límites de confianza deben ser amplios. Si la recta no pasa por el origen de coordenadas el método a evaluar esta afectado por un error sistemático(sesgo), ya sea por exceso o por defecto.

Después de obtenida la curva de calibración se debe realizar un tratamiento estadístico a los datos con el fin de evaluar la linealidad y la proporcionalidad de la técnica.

$$m = \frac{\sum (x - \overline{x}) \cdot (y - \overline{y})}{\sum (x - \overline{x})} = \frac{\sum x \cdot y \dfrac{\sum x \sum y}{n}}{\sum X^2 \dfrac{\cdot\cdot\left(\sum x^2\right).}{n}}.$$

$$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n}$$

$$r = \frac{\sum (X - \overline{X})(Y - \overline{Y})}{\sqrt{\sum (X - \overline{X})^2 \sum (Y - \overline{Y})^2}} = \frac{\sum XY - \dfrac{\sum X \sum Y}{n}}{\sqrt{(\sum X^2 - \dfrac{(\sum X)^2}{n})(\sum Y^2 - \dfrac{(\sum Y)^2}{n})}}$$

donde n es número de determinaciones.

Valores elevados de *r* no deben tomarse erróneamente como indicadores de linealidad.

Test de linealidad.

- Coeficiente de variación de los factores de respuesta *(CVf).*

El factor de respuesta *(f)* es la relación entre la lectura y la concentración. Para una concentración determinada el factor respuesta puede tomarse como una expresión aproximada de la sensibilidad de calibrado a esta concentración. En una calibración lineal, los factores respuesta deben ser semejantes entre sí y cercanos al valor de la pendiente, por este motivo se puede tomar el *CVf* como una expresión de linealidad.

Se considera que valores del *CVf* superiores al 5% indican falta de linealidad.

El coeficiente de variación de los factores respuestas se obtienen según:

$$CVf = \frac{Sf}{\bar{f}} \cdot 100$$

- Significación estadística de la varianza de la pendiente.

La pendiente se conoce también como coeficiente de regresión, a mayor pendiente mayor sensibilidad.

Para expresar la linealidad, se utiliza el coeficiente de variación de la pendiente el cual debe ser menor que el 2%.

Este parámetro se determina según:

$$CVm = \frac{Sm}{m} \cdot 100$$

Los límites de confianza de la pendiente se hallan a partir de la expresión: $m \pm Sm * t$, siendo *t* el valor de la distribución t de student para n^{-2} grados de libertad a la probabilidad escogida (generalmente p= 0.05).

Otro test estadístico para *m* es el de la prueba de hipótesis, a partir de la cual, si $t_{exp} > t_{tab}$ (n^{-2}, p=0.05), entonces existe regresión pues $m \neq 0$.

La test experimental es determinada según:

$$t\exp = \frac{|m|}{Sm}$$

Test de proporcionalidad.

El valor de *b,* intersección con el eje de las coordenadas, indica el error sistemático del método, en el caso ideal debe ser cero.

El coeficiente de variación del término independiente CV_b se determinó según:

$C\ V_b = \{\ S_b\ /\ |\ b\ |\ \}$ x 100,.donde S_b es la desviación estándar de *b*.

Los límites de confianza del término independiente son*:* $b \pm Sb * t$, siendo *t* el valor de la distribución t de student para n^{-2} grados de libertad a la probabilidad escogida (p=0.05). Si este límite de confianza incluye al cero, entonces se cumple la condición de proporcionalidad.

La significación estadística de *b* se deduce también de la expresión: $t_{exp} = /b/ \,/\, S_b$. En la tabla de *t* se halla el grado de significación para n^{-2} grados de libertad y p=0,05 (hipótesis nula: $b=0$).

- Sensibilidad: Es la medida de la magnitud de la respuesta causada por una determinada cantidad de analito.
- Sensibilidad del calibrado: Es la señal o respuesta por unidad de concentración. Se representa por la pendiente de la curva de calibración.
- Sensibilidad analítica: Es la sensibilidad del calibrado dividida por la desviación típica de la respuesta.
- Intervalo de trabajo o medición: Es el intervalo de la concentración del analito que, según se ha demostrado experimentalmente, cumple los requisitos de la calidad del metro.

- Límite de detección: 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).
- Robustez: Es la sensibilidad de un método analítico con respecto a las desviaciones menores en las condiciones experimentales del método. Se dice que un método es robusto cuando no recibe influencias apreciables ante pequeños cambios.

Documentación:

Una vez concluida la verificación o validación, debe emitirse un informe escrito del trabajo. Es particularmente importante que el informe incluya toda la información primaria del trabajo experimental, o las referencias de donde tal información pueda ser hallada. Deben ser claramente especificadas cuáles características fueron estudiadas, y si algún aspecto no ha sido incluido en el estudio, entonces deben documentarse las razones subrayadas. El informe debe contener los resultados calculados y debe quedar claro cómo los resultados fueron calculados.

Certificado de Validación:

Una vez concluidos los estudios de validación y analizados los resultados, se elaborarán los informes técnicos o de validación correspondientes, los cuales deberán incluir:

a) Identificación del Laboratorio y/o institución a la que pertenece.

b) Identificación del Informe Técnico.

c) Título del estudio de validación.

d) Referencias de la calibración, verificación y/o calificación de instrumentos de medición y equipos utilizados.

e) Resultados de las determinaciones de cada parámetro contra las especificaciones, incluyendo datos primarios (esquemas, curvas de calibración, espectros y cromatogramas originales, lecturas de absorbancia, fotos, figuras, etc.).

f) Discusión de los resultados y conclusiones.

g) Nivel de aprobación de los resultados.

h) Fechas de inicio y conclusión del estudio.

Monitoreo:

Cuando un método analítico, una vez validado o verificado, se incorpora a la rutina de trabajo, es importante que un analista competente se haga responsable de monitorear que el método funcione continuamente de acuerdo con los resultados obtenidos en la validación o verificación con relación a la fiabilidad y su exactitud. La frecuencia de ese monitoreo estará en dependencia de un análisis casuístico para cada método de ensayo y de la condiciones del laboratorio y la decisión tomada debe ser documentada como parte del método de ensayo.

Capítulo II: Materiales y métodos

2.1 Técnicas para la determinación de parámetros de los residuales líquidos

2.1.1 Determinación de Cromo (VI) por valoración potenciométrica con sal Mohr

Reactivos:

- H_2SO_4 concentrado (95% y d =1.84 g /mL).
- $K_2Cr_2O_7$ (p.a.).
- $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ (p.a).
- $KMnO_4$ (p.a.)
- $Na_2C_2O_4$ (p.a.).
- H_2SO_4 2 mol/L.

Materiales y Equipos:

- Agitador magnético (modelo VWR-BEL 444-2815).
- Balanza analítica (Sartorius, precisión ± 0.1 mg).
- Beakers de 75 mL.
- Electrodo de calomel saturado (E.C.S).
- Electrodo indicador de platino.
- Microbureta de 5 mL (±0.01 mL)
- Pipetas de 15 ,20 y 25 mL (± 0.1 mL).
- Volumétricos de 250 ml y 1000 mL.
- pH metro (marca HANNA modelo pH212).

Preparación de la disolución de ácido sulfúrico al 11.95% (v/v):

Se toman 125 mL de ácido sulfúrico al 95% y se llevan a un volumen de un litro con agua destilada.

Preparación de la disolución patrón de dicromato de potasio de $C(K_2Cr_2O_7/_6) = 1.0.10^{-3}$ mol/L:

Se pesa exactamente una masa de 0,1311 g y se lleva a un volumétrico de 250 mL. De esta solución preparada se toman 10 mL y se enrasan en un volumétrico de 100 mL.

Preparación de la disolución de sal de Mohr de concentración 1,0. 10^{-2} mol/L:

Se pesa 0,9843 g de sal de Mohr y se llevan a un matraz de 250 mL, se añaden 10 gotas de ácido sulfúrico al 95 % y se enrasa con agua destilada. Considerando la $M(Fe(NH_4)_2(SO_4)_2)$ = 92,14 g/mol. Esta solución debe ser valorada después de un tiempo de preparada con disolución patrón de permanganato de potasio.

Preparación de la disolución de Permanganato de Potasio de $C(KMnO_4/5)$ = 0.1 mol/L:

Se pesa aproximadamente 0.1g de cristales de permanganato de potasio. Agitar el sólido aproximadamente en 1 litro de agua destilada. Calentar la muestra con agitación frecuente hasta que el sólido se haya disuelto, cubrir después el vaso con un vidrio reloj y calentar a temperatura inmediatamente inferior al punto de ebullición durante 30 minutos al menos dejar en reposo la disolución en un vaso tapado por lo menos durante 24 horas y preferiblemente durante más tiempo. Filtrar por decantación a través de un crisol o embudo filtrante, aplicando una succión suave. Cuídese de remover lo menos posible el dióxido de manganeso precipitado. Despreciar los últimos 50-75 mL de la disolución, que contienen la mayor parte del precipitado. Pasar la disolución filtrada a un frasco ámbar limpio con tapón de vidrio.

Preparación de la disolución de Oxalato de Sodio de $C(Na_2C_2O_4)$ = 0.1000 mol/L:

Se pesa exactamente 0,6700 g de $Na_2C_2O_4$ se lleva a un matraz de 100 mL de capacidad, se disuelve con agua destilada y se enrasa.

Antes de pesar se debe desecar por una hora el oxalato de sodio, en una estufa a $200^{\cdot o}$C.

Técnica para la determinación de Cr (VI):

Se toman 20 mL de solución que contiene Cr(VI) y se le añade 15 mL de ácido sulfúrico al 11.95% (v/v). Se realiza una valoración potenciométrica con disolución patrón de sal de Mohr (NC: 44-14-3).

Ecuación del proceso:

$$Cr_2O_7^{2-} + 14\,H^+ + 6^{e-} \longrightarrow 2Cr^{3+} + 7\,H_2O \qquad E^o = 1.33\ V$$

$$6\ Fe^{2+} \longrightarrow 6\ Fe^{3+} + 6\ e- \qquad E^o = 0.77\ V$$

$$Cr_2O_7^{2-} + 14\,H^+ + 6\,Fe^{2+} \longrightarrow 2Cr^{3+} + 7\,H_2O + 6\,Fe^{3+}$$

Determinación de algunos parámetros de validación de la técnica de valoración potenciométrica para la cuantificación de Cr (VI):

Repetibilidad: Se realizan 7 réplicas de la determinación volumétrica de Cr(VI) en una disolución patrón de concentración $1.07 . 10^{-3}$ mol/L el mismo día, con el mismo equipo y el mismo analista. Se determina el coeficiente de variación de los valores de concentración obtenidos. Si C.V. < 3% se acepta el resultado.

Precisión intermedia: Se realizan 11 réplicas de la determinación volumétrica, por dos analistas a la misma muestra y se determina el coeficiente de variación de los valores de concentración obtenidos. Si C.V. < 5 % se acepta el resultado.

Exactitud: Se realizan 11 determinaciones en la misma muestra de concentración conocida ($1.07.10^{-3}$ mol/L) y se determina el porcentaje de recobro. Si el %Recobrado promedio está comprendido entre 97-103 % se acepta el resultado. Se aplica el estadígrafo t de Student para determinar si hay diferencias significativas con la concentración de la disolución patrón. Si $t_{exp} < t_{tab}$ se considera aceptable este parámetro.

Preparación de las muestras de ensayo:

Las muestras de las piscinas 1, 3, 4, 5 y 6 se analizaron de forma directa. La disolución de la piscina 2 fue diluida 40 veces en agua desionizada. Se efectuaron 7 réplicas de esta muestra y se reportó el promedio y la precisión de las mismas.

2.1.2 Determinación de Cromo (VI) por Absorción Atómica

Las determinaciones de cromo (VI) por espectrofotometría de absorción atómica se realizaron en el Centro Provincial de Higiene y Epidemiología fijando las siguientes condiciones de registro:

Marca del equipo: Shimadzu, de fabricación japonesa.

Corriente de la lámpara: 5 mA.

Slit: 0,5 nm

λ = 357,9 nm

Modo: HCl.

Flujo de acetileno: 2,6 L/min

Flujo de aire: 8 L/min

Presión Aire: 2,5 kgf/cm^2

Presión de acetileno: 0,5 kgf/cm^2

Preparación de la disolución patrón de Cr(VI) de concentración 1000 mg/ L :

Se pesa en balanza analítica 3,7350 g de cromato de potasio, previamente desecado en desecadora, se disuelven en agua desionizada y se completa en frasco volumétrico de un litro, a una temperatura 20°C (Bruce, M., 1984).

Preparación de las disoluciones de trabajo:

Patrón inicial		**Disoluciones de trabajo**	
Volumen (mL)	**Concentración (mg/L)**	**Volumen (mL)**	**Concentración (mg/L)**
2,5	20	50	1
5,0	20	50	2
10,0	20	50	4
15,0	20	50	6

Preparación de las muestras de ensayo:

Las muestras de las piscinas 1, 3, 4, 5 y 6 se analizaron de forma directa. La disolución de la piscina 2 fue diluida 50 veces en agua desionizada. Se realizó la lectura de 7 réplicas de esta muestra y se reportó el promedio y la precisión de las determinaciones.

Nota: La cristalería fue tratada previamente con HNO_3 2 mol/L para garantizar que esté exenta de interferencias químicas. El límite de cuantificación referido por el CPHE para la técnica es 0.1 mg/L.

2.1.3 Determinación de pH

Reactivos:

- Disoluciones tampón de referencia de pH 4, 7 y 9.

Utensilios y Equipos:

- Agitador magnético (modelo VWR-BEL 444-2815).
- Beakers de 75 mL.
- Electrodo combinado de vidrio.
- pH metro (marca HANNA modelo pH212).
- Termómetro digital (AK-688).

Preparación de disoluciones buffer:

Cuando no se cuenta con una disolución tampón certificada, se puede preparar 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 100 mL). Esta solución debe guardarse a 4 ^{o}C y no debe usarse después de pasado 30 días posteriores a su preparación, si su uso ha sido sistemático.

Nota: Debe observarse la fecha de vencimiento de las pastillas y de las disoluciones tampones.

Cuando se cuenta con solución tampón, después de abierta la misma, debe tomarse una alícuota para la calibración del equipo que no debe regresarse al frasco para evitar la contaminación de la misma. Esa porción tomada debe guardarse en otro frasco limpio y seco, y conservarla. No debe usarse más de una semana, pasado ese tiempo debe desecharse.

El frasco con el resto de la solución tampón debe conservarse también a 4 ^{o}C (Eaton, 2005).

Procedimiento:

1. El primer paso consiste en el encendido y calibración del equipo.
2. Después de calibrado el equipo se procede a la medición, de la siguiente forma:

- Los electrodos después de ser lavados y secos, deben ser enjuagados con la solución problema antes de hacer la lectura final.
- Las soluciones buffer y las soluciones problemas deben agitarse cuidadosamente durante la medición para evitar que se forme una capa fina de disolución en la interfase del electrodo de vidrio – disolución.
- 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.

2.1.4 Determinación de Conductividad

Reactivos:

- KCl (p.a.)

Utensilios y Equipos:

- Celda conductimétrica (marca HANNA).
- Conductímetro (marca HANNA, EC - 215).
- Termómetro digital (AK-688).
- Balanza analítica (Sartorius, precisión ± 0.1 mg).
- Baño de maría.

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

Se seca KCl a 110^{o}C y se disuelve 0.7456 g en agua bidestilada recién hervida, diluyéndose a 1000 mL a 25^{o}C. Esta es la disolución 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 disolución 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 disolución 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 mhos por centímetro, de esta solución patrón; $C = R_{KCL} \times 0.0014118$, 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 ohmios, de la muestra, R_S, medida a 25^oC:

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 = $1411.8 \times R_{KCl} / R_S$ 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.

2.1.5 Determinación de sólidos

Sólidos totales (ST):

Utensilios y Equipos:

- Estufa
- Mufla
- Balanza analítica (Sartorius, precisión ± 0.1 mg).
- Crisoles o cápsulas de porcelana.
- Desecadora.
- Pipetas de 25 y 50 mL.
- Cono Imhoff o cilindro graduado (probeta) de un litro de capacidad.

Preparación de las cápsulas:

1. Lavar las cápsulas con detergente y abundante agua, luego se ponen a secar en estufa por 1 hora a 105 ^{o}C y posteriormente en mufla a 550 ^{o}C por espacio de 1 hora. Dejarlas enfriar en desecadora con silica gel y llevarlas a peso constante.
2. Si las cápsulas tienen incrustaciones, colocar las mismas en una mezcla limpiadora y proceder según Punto 1.
3. Una vez finalizado el tiempo de secado, las cápsulas se colocan en la desecadora hasta que se vayan a usar.

Procedimiento:

1. Se sacan las cápsulas de la desecadora y se taran en la balanza analítica, anotándose en la libreta de trabajo.
2. Se mide el volumen adecuado de muestra entre 25 y 50 mL.
3. Se transfiere el volumen de la muestra a la cápsula previamente tarada y se evapora a sequedad en un baño de vapor u horno de secado. Esta operación debe realizarse bajo campana en los casos que lo requiera.
4. Pasar la muestra evaporada a la estufa y secar a 103- 105 ^{0}C por una hora.
5. Enfriar en una desecadora y pesar en balanza analítica.
6. Repetir la operación hasta peso constante. Se entiende por peso constante una variación menor de 0,15 mg entre pesadas.

Sólidos totales fijos (STF):

Procedimiento**(**Eaton, 2005):

1. Una vez pesada la cápsula de porcelana con el residuo seco de la muestra, se coloca en la mufla durante 15 minutos entre 550± 50°C para calcinar la materia orgánica, hasta peso constante.
2. Se enfría la cápsula, en la desecadora, hasta temperatura ambiente.
3. Pesar en la balanza analítica, anotar el valor en la libreta de trabajo.
4. Finalmente se realizan los cálculos.

Sólidos totales volátiles (STV) : Se determinan por diferencia de los resultados anteriores.

Cálculos:

Los cálculos que se realizan para determinar estos tipos de sólidos son los siguientes:

Sólidos totales (ST), volátiles (STV) y fijos (STF):

$$\text{ST } (mg/l) = \frac{(A-B)*1000}{V_m}$$

Donde: *A*: peso de la muestra seca + cápsula después de secada en la estufa (mg).

B: peso cápsula vacía (mg).

V_m : volumen de muestra (mL)

$$\text{STF } (mg/l) = \frac{(C-B)*1000}{V_m}$$

Donde:

C: peso del sólido y cápsula después de pasar por la mufla (mg).

B: peso de la cápsula vacía (mg).

V_m : volumen de muestra (mL)

STV = ST – STF

Sólidos sedimentables:

Se determinan en un cono Imhoff o en un cilindro graduado (probeta) de un litro de capacidad, permitiendo que la muestra sedimente por espacio de una hora. Los resultados son medidos y reportados en mL/L de sólidos sedimentables.

Procedimiento:

a) Llenar el cono Imhoff con 1 litro de muestra homogénea.
b) Deje sedimentar durante 45 min.
c) Remueva los sólidos adheridos a las paredes del cono suavemente con una varilla de vidrio.
d) Deje sedimentar 15 minutos más.
e) Lea el volumen de sólidos sedimentables en el cono en mL/L, anotando los resultados en el registro libreta de trabajo.

2.1.6 Determinación del oxígeno disuelto

Reactivos:

- $MnSO_4.4H_2O$ (p.a.)
- $MnSO_4.2H_2O$ (p.a.)
- $MnSO_4.2H_2O$ (p.a.)
- NaOH o KOH (p.a.)
- KI o NaI (p.a.)
- NaN_3 (p.a.)
- Almidón
- $C_6H_4OHCOOH$ (p.a.)
- $KH(IO_3)_2$ (p.a.)
- $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (p.a.)
- H_2SO_4 concentrado (95% y d =1.84 g /mL).
- $KF.2H_2O$ (p.a.)

Utensilios y equipos:

- Botella 500 mL vidrio ámbar para DBO.
- Balanza analítica (Sartorius, precisión ± 0.1 mg).
- Cristalería de laboratorio
- Utensilios para la medición de volúmenes

Preparación de disoluciones (Eaton, 2005):

1. Disolución 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 1000mL con agua destilada. Esta disolución no se debe colorear en presencia de almidón al adicionarla a una solución de yoduro de potasio acidificada.
2. Disolución de álcali-yoduro-azida: Pesar 500g de hidróxido de sodio (NaOH) o 700g de hidróxido de potasio (KOH) y 135g de yoduro de sodio (NaI) o 150g de yoduro de potasio (KI) en 500mL de agua destilada. Enrasar a 1000mL. Adicionar luego a la

disolución 10g de azida de sodio (NaN_3) disuelta en 40mL de agua destilada. Esta disolución no debe colorearse en presencia de almidón cuando se diluye o acidifica.

3. Para muestras sobresaturadas: Disolver 10g de azida de sodio en 500mL de agua destilada. Adicionar 480g de hidróxido de sodio y 750g 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 disolución pues se podrían producir vapores de ácido hidrazoico.

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

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

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

Estandarización: La concentración exacta de la disolución de tiosulfato puede ser determinada por valoración con ion yodato en medio ácido.

$$IO_3^- + 5I^- + 6H_3O^+ \longrightarrow 2I_3^- + 9H_2O$$

$$6S_2O_3^{2-} + 2I_3^- \longrightarrow 3S_4O_6^{2-} + 6I^-$$

Disolver aproximadamente 2g de yoduro de potasio, libre de yodato, en un erlenmeyer con 100-150mL de agua destilada. Adicionar 1mL de ácido sulfúrico 6mol/L o unas pocas gotas del mismo ácido pero concentrado, y 20mL de disolución estándar de diyodato. Diluir a 200mL y valorar el yodo liberado con tiosulfato estándar, adicionar almidón hacia el final de la valoración cuando se alcanza un color amarillo-pajizo-pálido. Si las disoluciones se

preparan correctamente, se necesitarán 20mL de disolución de tiosulfato 0.025mol/L; sino es así, ajustar la disolución de tiosulfato a 0.025 mol/L.

$$C(x/Z^*) = \frac{V_{1.}\,0.0021}{V_2}$$

Donde:

V_1= mL de disolución estándar de diyodato de potasio.

V_2= mL de disolución de tiosulfato de sodio gastados.

7. Disolución de fluoruro de potasio: Disolver 40g de fluoruro de potasio dihidratado (KF. $2H_2O$) en agua destilada y diluir a 100mL.
8. Disolución de ácido sulfúrico (6mol/L): añadir con cuidado 784 mL de ácido sulfúrico concentrado en una porción de agua destilada, y diluir hasta 1L.

Procedimiento (Eaton,2005):

1. 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 el liquido fluya lentamente de tal forma que se desborde un volumen aproximado de 5mL 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 oxigeno 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)

2. 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 oxigeno presente y el análisis se detiene en este punto. Si el precipitado es carmelita rojizo hay oxígeno presente y se puede continuar el mismo.
3. Agitar por inversión de 10-15 veces, deje sedimentar el precipitado

Nota: 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, solo si las botellas no van a estar almacenadas por mucho tiempo.

4. Añadir 1mL de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del frasco. Romper los flóculos y volver a agitar por inversión de 10-15 veces.
5. Guardar en un lugar oscuro y no prolongar el proceso de valoración por más de una hora (1h).
6. Transferir cuantitativamente a un erlenmeyer de 300 mL o un volumen entre 100 y 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 el volumen de tiosulfato gastado en la valoración.

Cálculos:

$$OD(mg/L) = \frac{V.\mathrm{C}(\mathrm{Na}_2\mathrm{S}_2\mathrm{O}_3.5\mathrm{H}_2\mathrm{O}/2).8000}{V_m}$$

Donde:

V- volumen gastado de tiosulfato de sodio.

$C(Na_2S_2O_3.5H_2O/2)$- concentración del tiosulfato de sodio rectificado.

V_m- volumen de muestra.

2.1.7 Demanda Bioquímica de Oxígeno

Utensilios y Equipos:

- Frasco de incubación de 250-300 mL.
- Incubadora o baño de agua.

Preparación de disoluciones:

Para la preparación de las siguientes disoluciones se emplean reactivos puros para análisis.

-Disolución 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 1000mL. Esta disolución debe tener pH = 7.2 sin ajuste alguno. Si el agua de dilución se conserva en incubadora la disolución se agrega justamente antes de usar el agua de dilución.

-Disolución 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.

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

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

-Disoluciones 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.

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

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

-Disolución 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 disolución patrón, (introduciendo la punta de la pipeta en el líquido), 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 pretratada, 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 disolución restante será el inóculo. Debe añadirse 2mL del inóculo/100mL de muestra, original, 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.

<u>Pretratamiento de la muestra:</u>

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^oC 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^oC antes del análisis.

- Muestras contaminadas con alcalinidad cáustica o ácida: Neutralice la muestra a un pH entre 6.5-7.5 con disolución 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 disolución 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 20^0C) 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^oC, llevando la muestra a 20^oC 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^{o}C 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 periodo 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 se va la tabla (Tabla 8.1; Díaz, 2006) 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 a la tabla referida anteriormente 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.

<u>Montaje de la muestra:</u>

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 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 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^o 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 oxigeno 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 ^{o}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^oC.

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^oC.

f = Relación entre inóculo en la muestra y él inoculo 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).

2.1.8 Demanda Química de Oxígeno

Reactivos:

- Disolución estándar de dicromato de potasio de concentración 0,25 mol/L: pesar 12,259 g y disolver en frasco volumétrico hasta 1 litro con agua destilada.
- Acido sulfúrico concentrado: que contenga 22 g de $AgSO_4$ por cada dos litros. La disolución debe dejarse reposar durante 1 o 2 días.
- Disolución estándar de sal de Mohr de concentración 0,1 mol/L: esta disolución se debe estandarizar diariamente.
- Ferroín: disolver 1,485 g de 1-10 fenantrolina monohidratado.junto con 695 mg de sulfato ferroso en agua hasta 100 mL.
- Sulfato de mercurio(II) p.a.

Procedimiento:

- Coloque 0,4 g de sulfato de mercurio en un frasco de reflujo. Añada 20 mL de muestra y mezcle. Añada 10 mL de dicromato estándar y varios gránulos de piedra pómez o cuentas de vidrio previamente secas a 600 ^oC por una hora. Conecte el frasco al condensador y por el extremo abierto añada 30 mL de ácido sulfúrico concentrado con sulfato de plata, mezclando bien por movimiento del frasco.
- Refluje la muestra por 2 horas o utilice un tiempo menor para algún residuo en particular si se ha detectado que se alcanza la máxima DQO. Enfríe y enjuague el condensador con agua destilada.
- Diluya la mezcla hasta unos 150 mL con agua destilada, enfríe hasta una temperatura ambiente y tigre el dicromato remanente con ferroín como indicador (2 o 3 gotas). Aunque la cantidad del indicador no es crítica utilice siempre la misma cantidad. Considere como punto final el viraje brusco de azul-aqua a carmelita rojizo, aunque el azul reaparezca al rato.
- Refluje en la misma forma un blanco consistente en 20 mL de agua destilada junto con los reactivos.

Determinación de la calibración:

Pueden utilizarse las siguientes disoluciones:

Glucosa: como posee una DQO teórica de 1,067 g/g, prepare una dilución de 468,6 mg de glucosa enrasada a un litro con agua destilada.

Biftalato ácido de potasio: como posee una DQO teórica de 1,176 g/g, prepare una dilución de 425,1 mg en un litro de agua destilada.

Ambas poseen 500 mg/L de DQO.

Cálculos:

mg/L de DQO = (a-b) C. 8 000 / mL de muestra.

Donde: a = volumen de titrante gastado por el blanco.

b = volumen del titrante gastado por la muestra.

C = concentración del titrante (mol/L).

2.1.9 Contaminantes microbiológicos

Determinación de coliformes totales en aguas:

Reactivos:

- Disolución buffer de fosfato
- Caldo Lactosado o caldo lauril triptosa
- Caldo Bilis verde brillante

Utensilios y equipos:

- Incubadora regulada a 35 ± 0,5°C
- Cristalería de laboratorio microbiológico

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 (Número Más Probable o NMP):

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 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 del anexo 2 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 anexo 2 para el cálculo de NMP.

Si se siembran porciones de 0,1, 0,01 y 0,001mL, se registra como 100 veces el valor del anexo 2 para el cálculo de NMP; y así sucesivamente para otras combinaciones.

Determinación de coliformes fecales:

Reactivos, utensilios y equipos: los ya referidos para coliformes totales.

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 (NMP)

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 según la tabla que aparece en el anexo 2 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 la misma tabla.

-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.

Determinación cualitativa de Pseudomonas aeruginosa:

Reactivos:

- Disolución buffer de fosfato
- Caldo Soya Tristona
- Caldo malaquita
- Agar cetrimide y otros medios de cultivo

Utensilios y equipos:

- Incubadora regulada a 35 ± 0,5°C
- Cristalería de laboratorio microbiológico

Pre-enriquecimiento:

-Se homogeiniza la muestra. Se agrega 1 mL de muestra en 120 mL de Caldo Soya Triptona.

-Se incuba a 37°C por 24 horas.

Enriquecimiento:

-A 100 mL de la suspensión se le añaden 10 mL de Caldo Malaquita.

-Se incuba a 37°C por 24 horas.

Selección:

-Una placa de medio selectivo para Pseudomonas (Agar Cetrimide) es estriada con una asada del cultivo en Caldo Malaquita.

-Se incuba a 37°C por 48 horas.

Identificación:

-De 3 a 5 colonias con características típicas son sembradas en cuñas de Agar Nutriente.

-Se incuba a 37°C por 24 horas.

-A partir de las cuñas de Agar Nutriente se realiza la identificación a través de las siguientes pruebas:

-Citocromo oxidasa (+)

-Siembra en medio de Kligler (no fermentación de la Glucosa ni de la Lactosa, no formación de sulfuro de hidrógeno, ni gas a partir de la Glucosa).

-Decarboxilación de L-lisina (-) y producción de L-arginina dihidrolasa en Caldo Moeller (+)

- Crecimiento a 42°C (+)

- Oxidación de la Glucosa (+) y Lactosa (-) en medio Oxidativo - Fermentativo (OF)

- Producción de pigmentos en los medios King A y King B. Se debe valorar que existen cepas de Pseudomonas aeruginosa apiociánicas.

Interpretación de los resultados:

Se expresan como presencia o ausencia de Pseudomonas aeruginosa en la muestra.

2.2 Determinación de parámetros de los residuales líquidos de la Empresa Electromecánica "Escambray"

1. Se realiza la determinación inicial de los siguientes parámetros a las aguas residuales contenidas en seis piscinas de la Empresa: pH, conductividad, sólidos totales, sólidos fijos, sólidos volátiles, oxígeno disuelto y cromo (VI) por valoración potenciométrica y por Espectrometría de absorción atómica. Se comparan los resultados de la determinación de cromo (VI) por valoración potenciométrica y por Espectrometría de absorción atómica.
2. Se determinan los contaminantes biológicos siguientes en las aguas residuales iniciales de cada piscina: coliformes totales, coliformes fecales y pseudomonas.

3. Se procede a ajustar el pH de las piscinas entre 6-9 (según la NC-27:1999) y se determinan nuevamente los parámetros referidos en el punto 1.
4. Se procede a realizar un segundo ajuste de pH entre 6-9 a las aguas residuales de las piscinas 1, 3, 4, y 6. La piscina 2 no se ajusta ya que no cumple el límite de vertimiento que señala la norma para cromo (VI). La piscina 5 no fue necesario ajustarla. Se determina el pH final para comprobar el cumplimiento de este parámetro para su vertimiento.

2.3 Métodos de cómputo utilizados

Para evaluar estadísticamente los resultados se aplican el Statgraphic, versión 5.1 y el Excel.

Capítulo III: Análisis y discusión de los resultados

3.1 Determinación de cromo (VI) por valoración potenciométrica con sal Mohr Los resultados de la estandarización de las disoluciones de $KMnO_4$ con oxalato de sodio se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Estandarización de KM_nO_4 con oxalato de sodio de concentración 0.1000 mol/L.

Réplicas	V equivalente (oxalato)	C($KMnO_4$)	Tratamiento Estadístico
1	15.3	0.0980	$\overline{C}$ = 0.09932 **S** = 0.000955 CV= 0.96%
2	15.0	0.1000	
3	15.0	0.1000	
4	15.0	0.1000	
5	15.2	0.0986	

Por lo que la concentración del $KMnO_4$ que se empleará para la determinación de la sal de Mohr es de 0.1000 mol/L.

Los resultados de la estandarización de las disoluciones de sal de Mohr con $KMnO_4$ patrón, se presentan en la tabla 2,

Tabla 2: Estandarización de la sal de Mohr con $KMnO_4$ estandarizado.

Réplicas	V equivalente ($KMnO_4$)	C(sal de Mohr) . 10^{-2}	Tratamiento Estadístico
1	2.5	1.00	$\overline{C}$ = 0.01016 **S** = 0.00022 CV =2.16%
2	2.5	1.00	
3	2.6	1.04	
4	2.5	1.00	
5	2.6	1.04	

Por lo que la sal de Mohr que se empleara para la determinación del cromo (VI) tiene una concentración de 1,016. 10^{-2} mol/L.

Determinación de algunos parámetros de validación de la Técnica Analítica Potenciométrica para la cuantificación de Cr (VI):

Precisión:

En la figura 1 y 2 se presenta la curva de valoración potenciométrica y su primera derivada, respectivamente del patrón de cromo con sal de Mohr de concentración 1.10^{-2} mol/L, mientras que en las tablas 3 y 4 se muestran los resultados de la

repetibilidad y la precisión intermedia de la cuantificación de cromo(VI) con sal de Mohr .

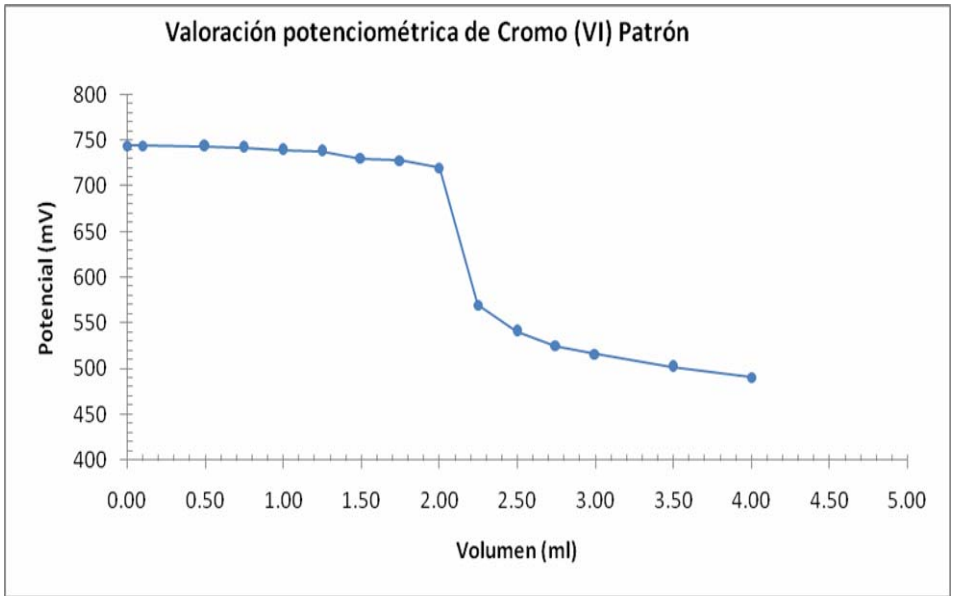


Fig. 1: Curva de valoración de la disolución de Cr(VI) patrón.

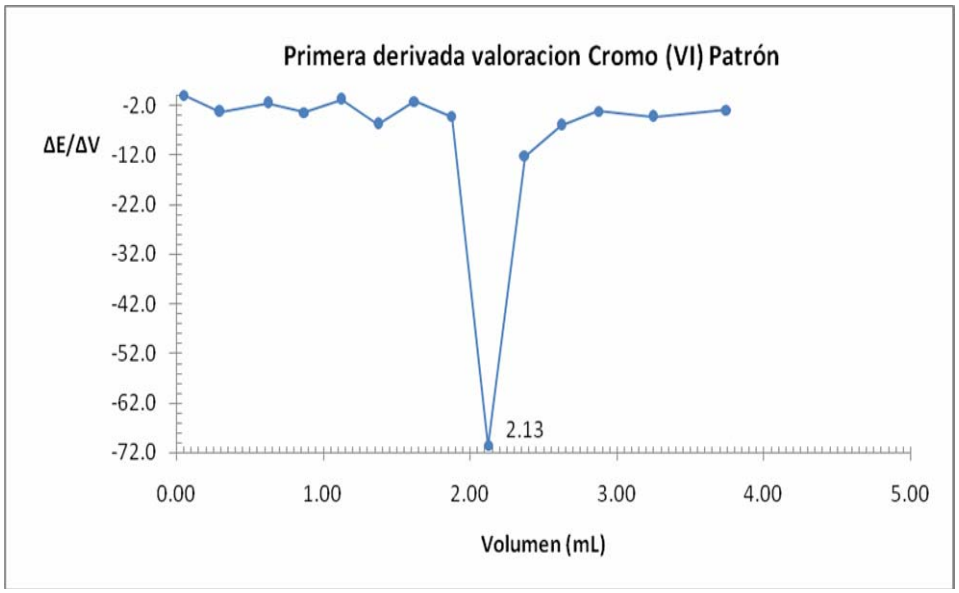


Fig. 2: Primera derivada de la curva normal de la disolución de Cr(VI) patrón.

Tabla 3: Resultados de repetibilidad de la técnica potenciométrica desarrollada para la cuantificación de cromo (VI).

Concentración de Sal de Mohr ($1 . 10^{-2}$)				
Analista	**Réplica**	**Volumen de sal de Mohr (mL)**	**$C(Cr_2O_7^{2-}/6) .10^{-3}$**	**Tratamiento Estadístico**
1	1	2.225	1.11	**n=7** **C_{prom}** $=1{,}08*10^{-3}$ **S** = 0.0216 CV =2.00%
	2	2.155	1.08	
	3	2.125	1.06	
	4	2.125	1.06	
	5	2.145	1.07	
	6	2.145	1.07	
	7	2.225	1.11	

Tabla 4: Resultados de la precisión intermedia para la determinación del patrón de cromo (VI).

Concentración de sal de Mohr ($1{,}0 . 10^{-2}$)				Tratamiento estadístico
Analista	**Réplicas**	**Volumen (mL)**	**Conc. (mol/L). 10^{-3}**	
1	1	2.225	1.11	**n** =11 **C_{prom}** = $1.08.10^{-3}$ **S** = 0.0212 CV = 1.96%
	2	2.155	1.08	
	3	2.125	1.06	
	4	2.125	1.06	
	5	2.145	1.07	
	6	2.145	1.07	
	7	2.225	1.11	
2	8	2.225	1.11	
	9	2.155	1.08	
	10	2.125	1.06	
	11	2.125	1.06	

Según los resultados expuestos la técnica satisface los criterios de aceptación de la repetibilidad (CV=3%) y la precisión intermedia (CV=5%).

Exactitud:

Tabla 5: Resultados del estudio de la exactitud. Determinación de cromo (VI).

Concentración teórica (mol/L)	**Conc. (mol/L). 10^{-3}**	**Recobro (%)**
$1{,}07.10^{-3}$	1.11	104.1
	1.08	100.7
	1.06	99.35
	1.06	99.35
	1.07	100.2
	1.07	100.2
	1.11	104.1
	1.11	104.1
	1.08	100.7
	1.06	99.35
	1.06	99.35
Promedio	$1.08.10^{-3}$	101.05
Desv.Est.	0.0211	2.028
Coef. Variación (%)	1,96	2.01
t de Student Exp.	1.77	1.73
t de Student Tab.	2.20	2.20

Resulta aceptable la exactitud del método al comprobarse que $t_{exp} < t_{tab}$ para el %Recobro promedio y para la concentración promedio por lo que el método analítico es exacto.

3.2 Aplicación de las técnicas desarrolladas a las piscinas de la Fábrica de Equipos Electrodomésticos de Fomento

3.2.1 Valoración potenciométrica de cromo (VI) en muestras de las diferentes piscinas

En las figuras 3- 14 aparecen las curvas de valoración potenciométrica de cromo(VI) y la primera derivada correspondiente a cada una de las muestras de cada piscina o estanque de estabilización.

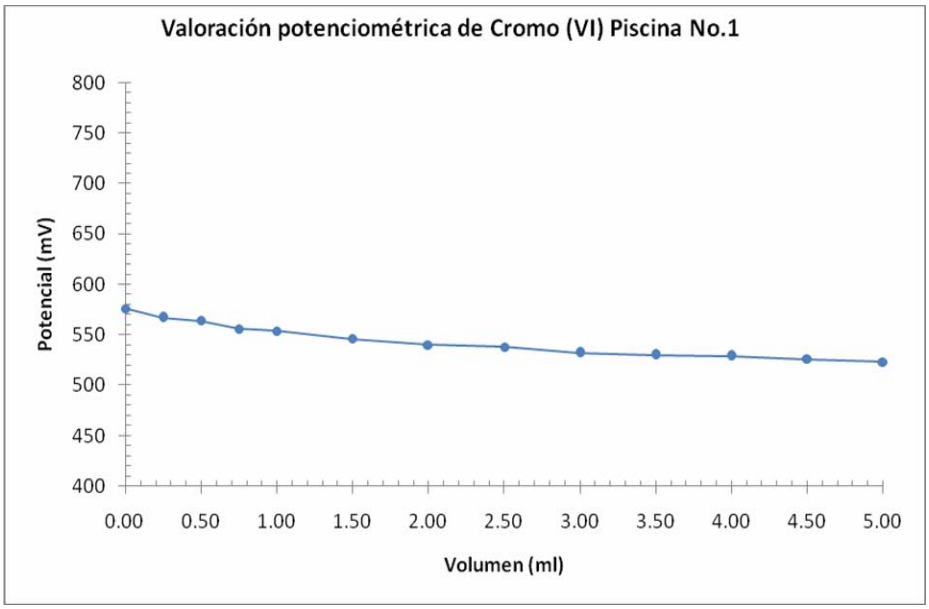


Fig. 3: Curva de valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 1.

Como se puede apreciar en la figura 3 la piscina 1 no contiene cromo (VI) detectable por la técnica utilizada, al no presentar un salto en su comportamiento, lo cual se corrobora mediante la curva de la primera derivada que se muestra a continuación.

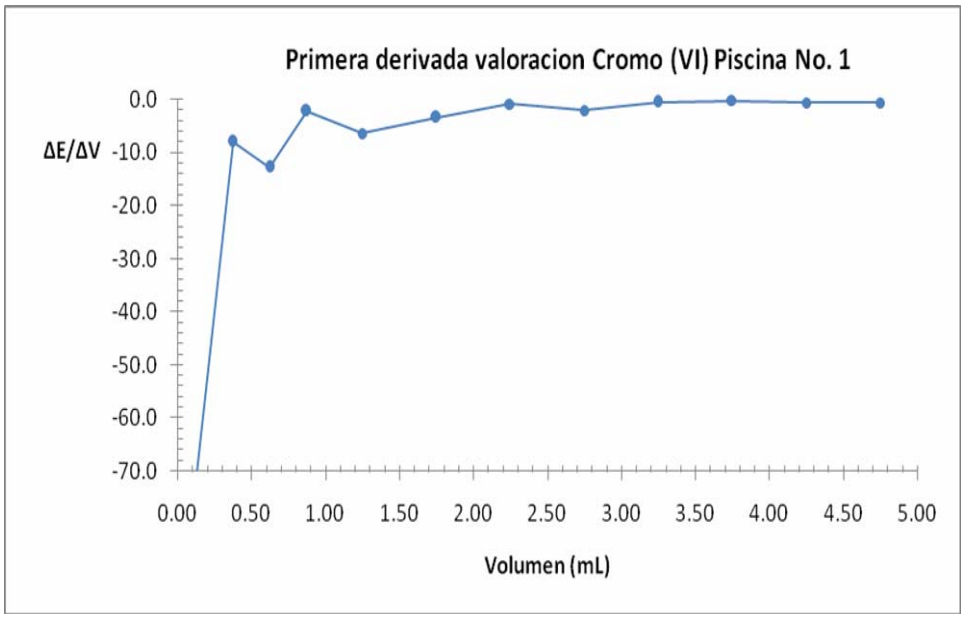


Fig. 4: Curva de la primera derivada de la piscina 1.

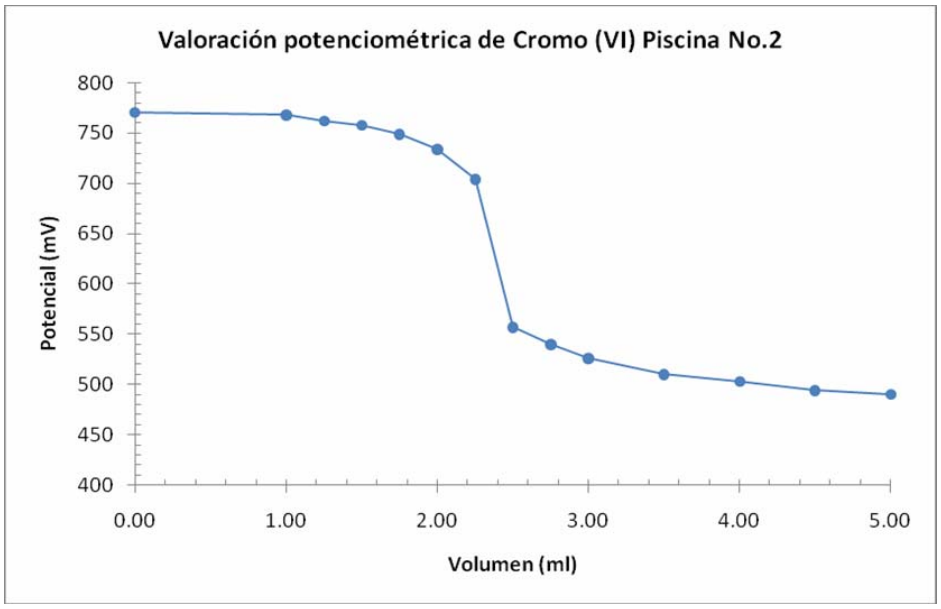


Fig. 5: Valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 2.

Como se muestra en la figura 5 existe un salto apreciable en el comportamiento de la curva, lo que corrobora la presencia de cromo(VI), La precisión de las determinaciones realizadas alcanza un valor del C.V.= 0,05 %, resultando la concentración promedio igual a 489,8 mg/L. En la siguiente figura se muestra la curva de la primera derivada donde se observa un volumen de equivalencia bien definido.

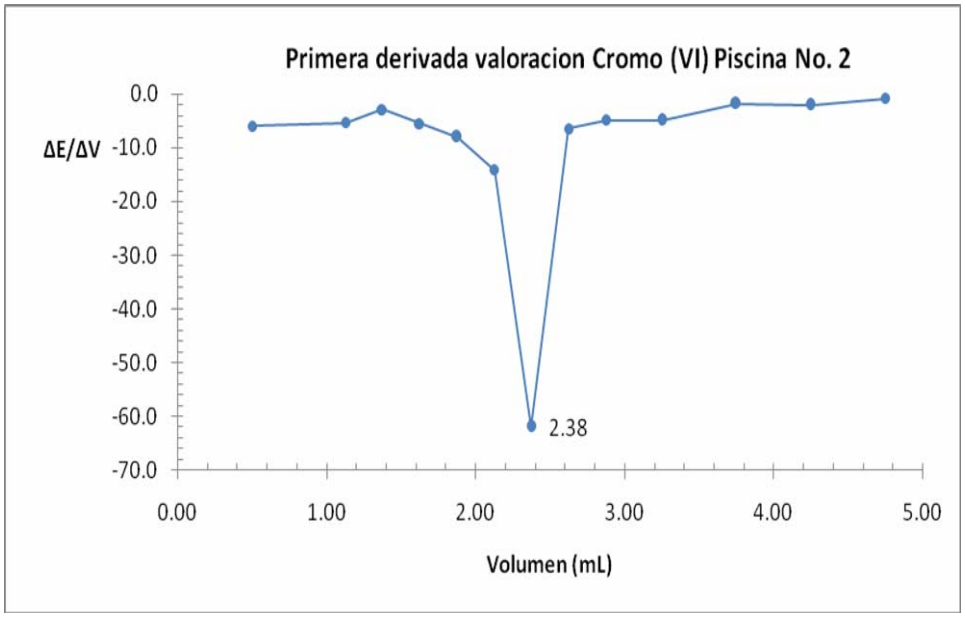


Fig. 6: Curva de la primera derivada de la piscina 2.

Las figuras 7 y 8 presentan las curvas de valoración normal y de la primera derivada de una muestra de la piscina 3, en la cual no se detecta cromo (VI), al no presentar un salto en su comportamiento.

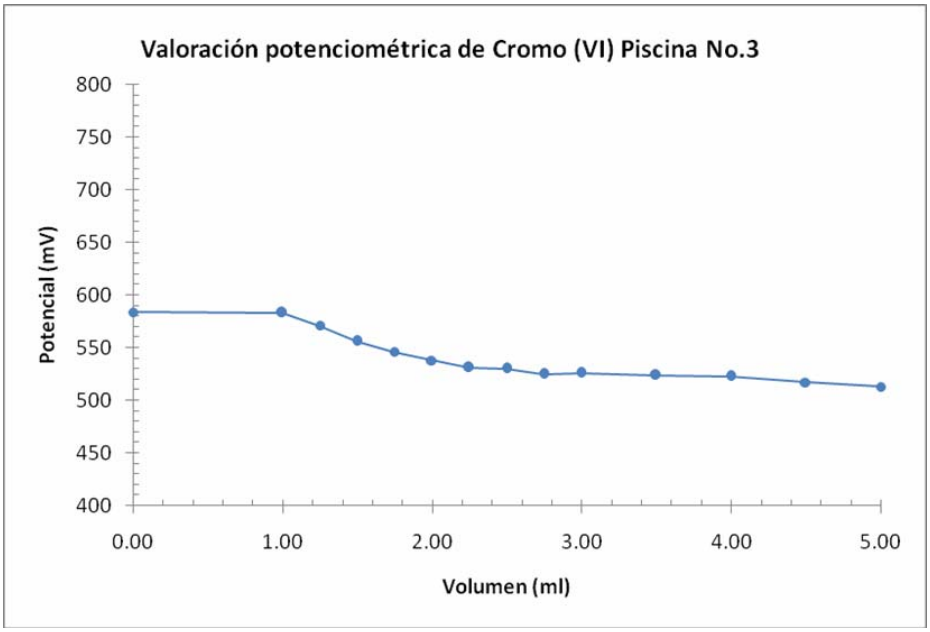


Fig. 7 : Valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 3.

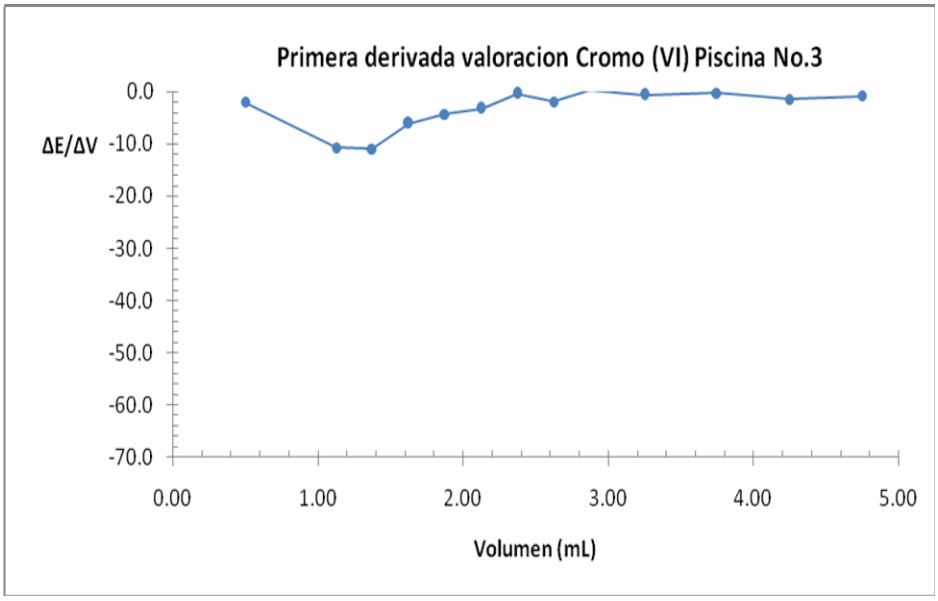


Fig. 8: Curva de la primera derivada de la piscina 3.

En la siguientes figuras, se presentan las curvas correspondientes a la valoración de una muestra de la piscina 4 la cual no contiene cromo (VI) detectable por la técnica utilizada.

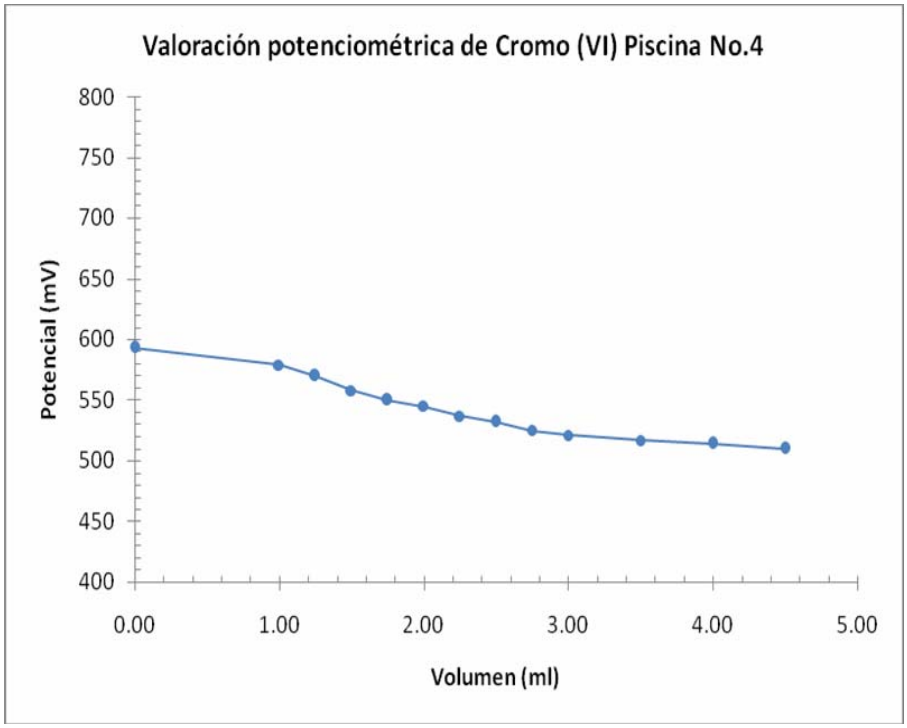


Fig 9: Valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 4.

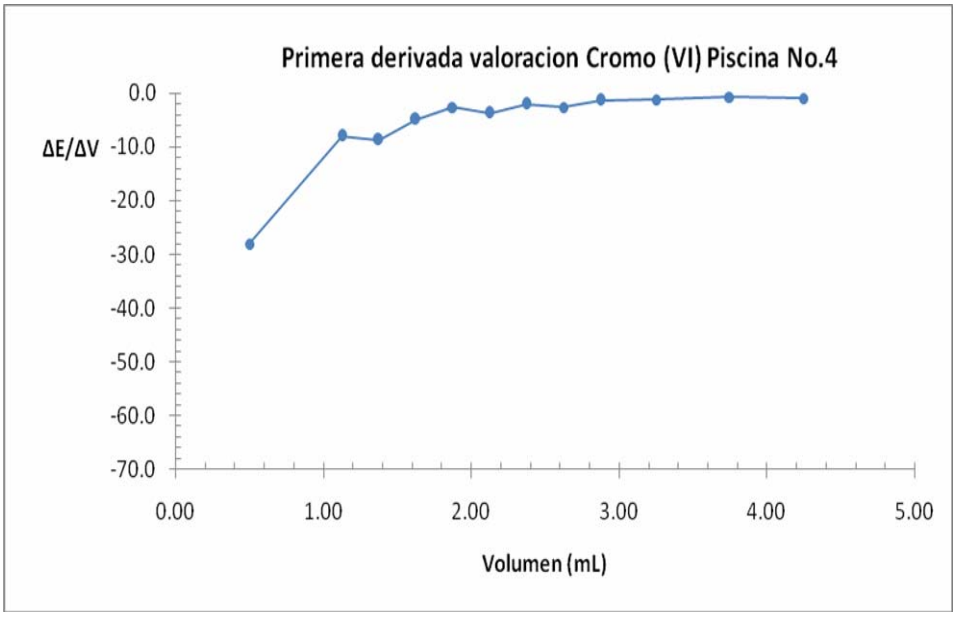


Fig. 10: Curva de la primera derivada de la piscina 4.

Como se puede apreciar en la figura 11 la piscina 5 no contiene cromo (VI) en cantidad detectable. La curva de la primera derivada lo reafirma en la figura 12.

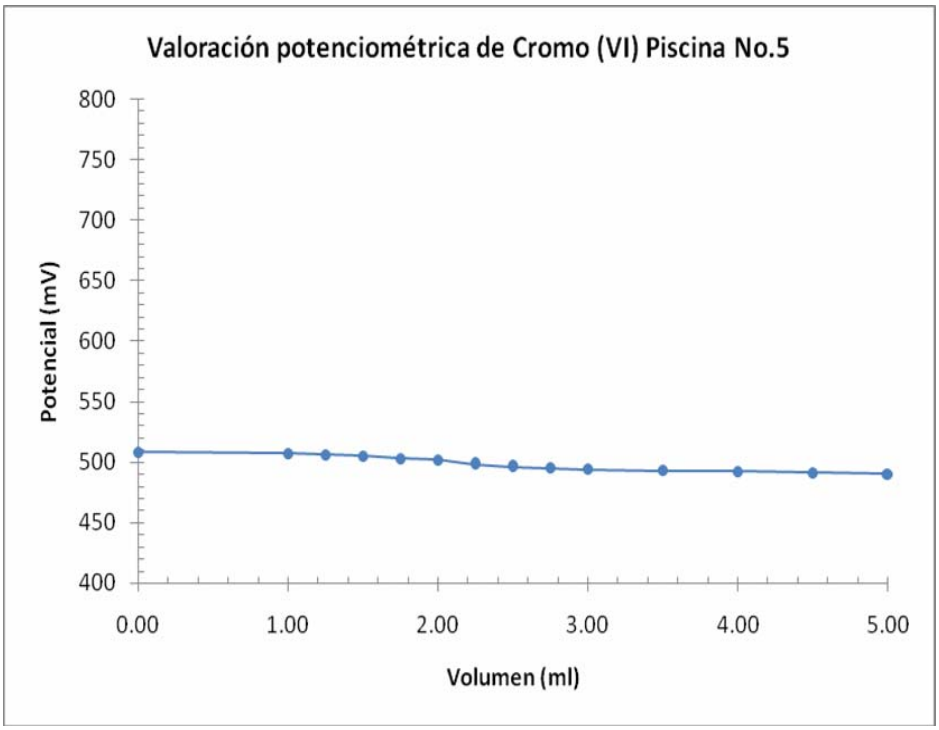


Fig. 11: Valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 5.

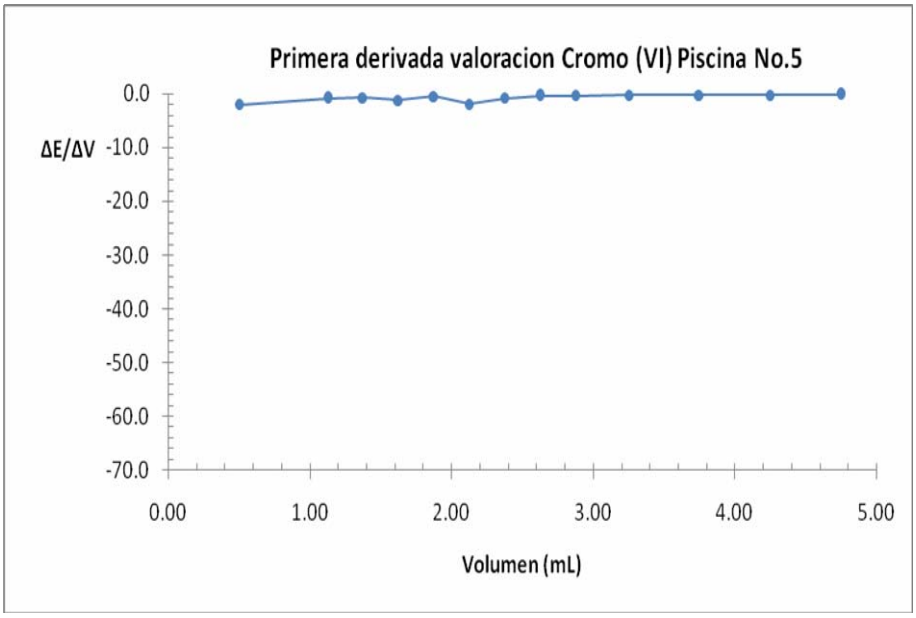


Fig. 12: Curva de la primera derivada de la piscina 5.

La figura 13 muestra la curva de valoración de una muestra de la piscina 6 la cual no contiene cromo (VI) detectable por la técnica utilizada.

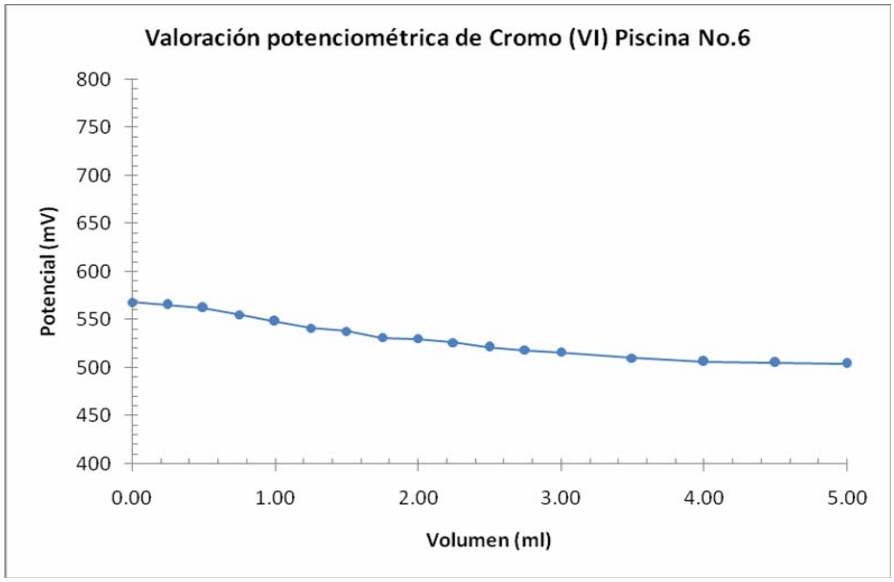


Fig. 13: Valoración potenciométrica de una muestra de la piscina 6.

La figura 14 muestra la curva de la primera derivada en la cual se observa que no presenta ningún salto de potencial.

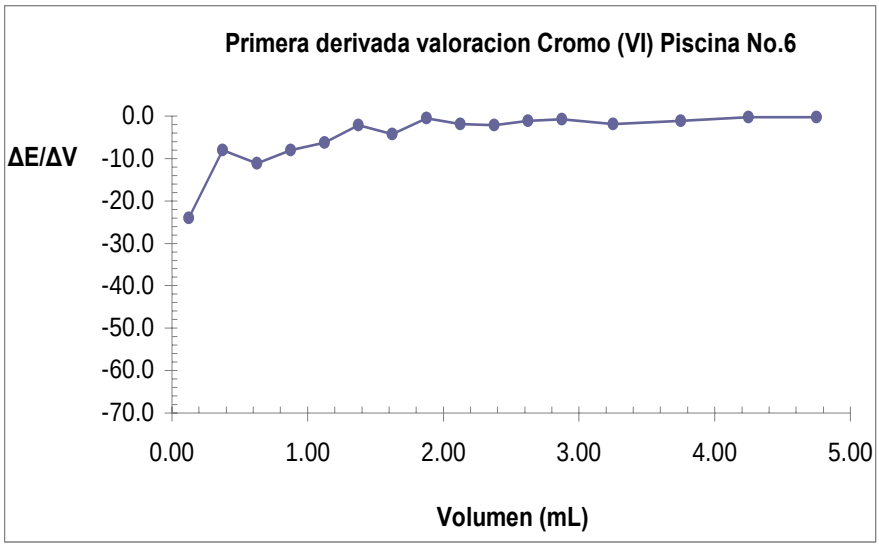


Fig. 14: Curva de la primera derivada de la piscina 6.

3.2.2 Determinación de cromo (VI) por Absorción Atómica

La curva de calibración de Cr(VI) mediante espectrometría de absorción atómica se muestra a continuación, en la cual se obtiene un coeficiente de correlación lineal superior a 0.99.

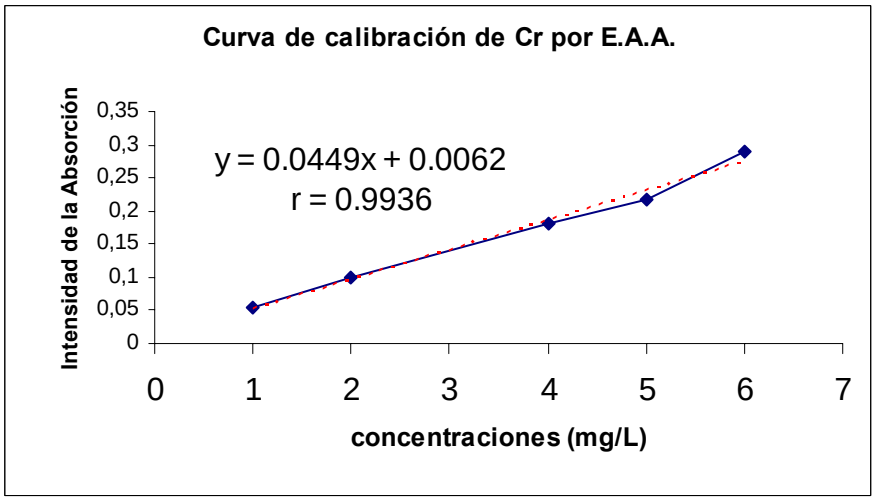


Fig. 15: Curva de calibración de Cr (IV) por Espectrometría de absorción atómica.

Los resultados de las determinaciones por absorción atómica en cada piscina se presentan a continuación conjuntamente con los resultados obtenidos mediante la valoración potenciométrica de los mismos residuales.

Tabla 6: Resultados de las determinaciones iniciales de Cromo (VI) en las piscinas.

Piscina	C(Cr VI) por E.A.A. (mg/L)	Veq (método potenciométrico (mL)	C(Cr VI) potenciométrico (mg/L)
1	NC	0.00	NC
2	489.8	2.38	490.2
3	NC	0.00	NC
4	NC	0.00	NC
5	NC	0.00	NC
6	NC	0.00	NC
Leyenda NC = No cuantificable			

En la tabla 7 y el anexo 1 se presentan los datos de las réplicas de las determinaciones por los dos métodos y su comparación estadística mediante el software Statgraphic versión 5.1.

Tabla 7: Resultados de las determinaciones de Cr (VI) en la piscina 2 por los métodos de Valoración potenciométrica y Espectrometría de Absorción Atómica.

Replicas	Valoración Potenciom. (mg/L)	Estadística	Espec. de Abs.Atóm. (mg/L)	Estadística
		C_{prom} =489.8		C_{prom} = 490.2
1	489.9	S = 0.2751	490.2	S =0.4320
2	489.5	C.V. =0.05 %	490.7	C.V. = 0.08 %
3	489.9		489.7	
4	489.5		490.8	
5	490.1		490.1	
6	489.7		489.7	
7	490.2		490.2	

Como se observa no existen diferencias significativas en los resultados de ambos métodos por lo que se deduce que el contenido de Cr (VI) en la piscina 2 es superior al límite permisible (< 0.5 mg/L) para el vertimiento de dicho residual según la NC-27:1999.

3.2.3 Resultados de otras determinaciones realizadas en las diferentes piscinas

Los resultados que se presentan a continuación permiten obtener una caracterización mas completa de los residuales existentes en las piscinas y tener criterios para su posible vertimiento

Tabla 8: Resumen de los resultados iniciales**.**

Piscina	**pH**	**Conduc-tividad ($\mu S/cm^2$)**	**Sólidos sedimen. (mL/L)**	**Sólidos Totales (mg/L)**	**Sólidos Fíjos (mg/L)**	**Sólidos Volátiles (mg/L)**	**C(Cr VI) Potenciom. (mg/L)**
1	9.52	1000	NC	673	529	144	NC
2	7.51	2500	NC	2735	2505	230	490.2
3	9.44	1000	NC	577	548	29	NC
4	10.17	2700	NC	2044	1694	350	NC
5	9.52	350	NC	222	217	5	NC
6	9.17	420	NC	254	173	81	NC
NC.= No cuantificable							

Tabla 8: Continuación.

Piscina	**Oxigeno disuelto (mg/L)**	**DQO (mg/L)**	**DBO_5 (mg/L)**
1	1.03	17	6
2	-	NC	NC
3	2.22	215	80
4	1.62	17	7
5	3.40	15	5
6	6.36	43	17
NC.= No cuantificable			

Se observa que el pH de todas las piscinas (excepto la 2) es ligeramente superior al valor máximo permisible por la Norma Cubana 27 (Valores en el rango de 6-9).

Los valores de conductividad están por debajo del límite de vertimiento (<4000 μS/cm).

El cromo (VI) determinado por las técnicas de Espectrofotometría de absorción atómica y de Valoración Potenciométrica coinciden en que las concentraciones de las piscinas 1, 3, 4, 5 y 6 están por debajo del limite de vertimiento. La piscina 2 no cumple dicho parámetro para este contaminante metálico.

Los valores de sólidos sedimentables resultan no cuantificables debido a que los residuales se encontraban almacenados por un tiempo prolongado, razón por la cual los sólidos totales

son no sedimentables o filtrables, con un contenido menor de sólidos volátiles, lo que se corresponde con los resultados de la DQO y DBO_5 con relación al contenido de materia orgánica y reductores, cumpliéndose los valores que señala la NC 27:99 para los tres parámetros mencionados anteriormente (tabla 1, Límites máximos permisibles Promedio para residuales líquidos).

Teniendo en cuenta el análisis anterior se procedió a ajustar el pH de cada piscina mediante adición de HCl concentrado, después de lo cual se repiten los análisis, cuyos resultados se muestran a continuación.

Tabla 9: Resumen de los resultados analíticos después del ajuste de pH.

Piscina	**pH**	**Conduc-tividad (μS/cm)**	**Sólidos Totales (mg/L)**	**Sólidos Fíjos (mg/L)**	**Sólidos Volátiles (mg/L)**	**Sólidos Sediment. (mL/L)**	**Oxígeno disuelto (mg/L)**
1	9.31	1040	666	631	35	N.C.	2.22
2	**7.68**	**2500**	**2646**	**2489**	**157**	N.C.	**X**
3	9.5	1700	1570	1159	411	N.C.	3.50
4	9.8	2850	2002	1909	93	N.C.	4.70
5	**8.86**	**465**	**268**	**245**	**23**	N.C.	**4.73**
6	9.17	1000	715	672	43	N.C.	4.73
N.C.= No cuantificable							

Después del ajuste de pH en las piscinas se observó que la tendencia general es un aumento de la conductividad debido a la adición de un reactivo ácido que aporta iones H^+ de elevada movilidad, a pesar de lo cual en todos los casos este parámetro se encuentra dentro del límite permisible según la NC-27:1999 (< 4000).

El contenido de sólidos totales resulta mayor que el permisible para aguas potables (1000 mg/L) en las piscinas 2, 3 y 4 (no se dispone de este dato para aguas residuales).

El oxígeno disuelto en las piscinas está por debajo del límite para aguas potables (7 mg/L), lo que es de esperar debido al largo período de estancia en reposo y al sol (Díaz, 2006). Este índice está relacionado con la presencia de materia orgánica, por lo que se corrobora mediante los resultados de DQO y DBO_5, ambos dentro de los límites permisibles para aguas residuales (tabla 8, continuación).

Teniendo en cuenta la disminución del pH en la piscina 5, se recomienda a la dirección de la empresa su vertimiento, ya que cumple con todos los parámetros de vertimiento según la

norma referida. La piscina 2 no puede ser vertida debido a su alto contenido de cromo (VI).

Los resultados que se exponen a continuación corresponden al tercer muestreo efectuado después de un segundo ajuste de pH a las piscinas 1,3,4 y 6.

Tabla 10: Valores de pH medidos en las piscinas después del segundo ajuste.

Muestras	pH	Observaciones
1	8.95	Cumple pH entre 6-9
2	7.68	No cumple por el Cromo VI
3	8.90	Cumple
4	8.92	Cumple
5	-	*Fue vertida*
6	8.60	Cumple

Ya que el pH en las piscinas se encuentra en los límites permisibles (6-9), se recomendó a la dirección de la empresa, su posible vertimiento, exceptuando la piscina 2 en la cual el contenido de cromo no cumple los limites de vertimiento. En este caso se recomienda tratar con metabisulfito de sodio u otro reductor adecuado, que permita reducir el contenido de Cr (VI) por debajo de 0.5 mg/L.

3.2.4 Resultados de la evaluación microbiológica inicial de las diferentes piscinas

A continuación se presentan los resultados de la evaluación microbiológica que se obtuvo con el primer muestreo realizado en las piscinas, antes de la adición del ácido para el ajuste de pH.

Tabla11: Resultados de la evaluación microbiológica inicial.

Muestras	Coliforme total nmp/100mL	Coliforme fecal nmp/100mL	Pseudomonas
1	1100	23	N.O.

2	< 3	< 3	N.O.
3	43	< 3	N.O.
4	2400	23	N.O.
5	2400	< 3	N.O.
6	2400	< 3	N.O.

Leyenda: N.O.= no observable.

Se puede observar que la piscina 2 donde se determina el cromo (VI) en exceso es la que presenta un menor contenido microbiológico, debido a su acción oxidante.

El contenido de coliformes totales y coliformes fecales no excede el límite permisible para su vertimiento según la NC-27:99. Dicha norma no establece límites para el contenido pseudomonas, no obstante no se observó su presencia en las muestras analizadas.

Conclusiones

1. La técnica de valoración potenciométrica de cromo hexavalente cumple los criterios de aceptación de la precisión y exactitud, siendo adecuada para la determinación de contenidos elevados de esta especie en residuales acuosos.
2. Se comprobó que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos mediante el método de valoración potenciométrica de cromo (VI) y la determinación por espectrometría de absorción atómica.
3. Se comprobó que los valores de pH, conductividad, sólidos sedimentables, sólidos totales, sólidos fijos, sólidos volátiles, oxígeno disuelto, DQO, DBO_5 y cromo (VI) en los residuales contenidos en las piscinas 1,3,4,5 y 6 de la Empresa Electromecánica de Fomento provincia de Sancti Spiritus, cumplen los parámetros de vertimiento establecidos en la NC-27:1999, después de realizados los ajustes de pH.
4. Se comprobó que la piscina No.2, contiene cromo (VI) por encima del límite de vertimiento, cumpliendo los demás indicadores mencionados en la conclusión número 3.
5. El contenido de coliformes totales y fecales en los residuales de todas las piscinas no sobrepasan los valores establecidos para su vertimiento.

Recomendaciones

1. Las aguas de las piscinas 1,3,4,5 y 6 pueden ser vertidas a cuerpos receptores del tipo C, por lo que se recomienda a la Empresa Electromecánica de Fomento realizar una consulta con los organismos encargados de aprobar su vertimiento.
2. La dirección de la Empresa debe efectuar el tratamiento de las aguas residuales de la piscina 2 con un reductor a fin de alcanzar los contenidos de cromo (VI) permisibles para su vertimiento.

Bibliografía

1. Catalán, J. G. Química del agua. 2ª ed. Madrid: Editorial Bellisco; 1990.
2. CECMED. Validación de Métodos Analíticos. Regulación No. 41; 2007.
3. Comité Nórdico de Análisis de Alimentos (NMKL). Procedimiento Nº 4, Versión (1) "Validation of Chemical Analytical Methods"; 1996.
4. CITMA, Taller Medio Ambiente y Desarrollo. Consulta Nacional Rio+5; 1997.
5. CITMA. Estrategia Ambiental Nacional; 1997.
6. Díaz, C; Borges, T. Cuba: Establecimiento de una política ambiental a tono con los nuevos tiempos. CITMA; 1997.
7. Díaz Lázaro-Carrasco, J. Depuración de aguas residuales. Madrid: MOPT; 1991.
8. Díaz Betancourt, R. Tratamiento de aguas y aguas residuales. La Habana: Editorial Félix Varela; 2006.
9. Dickson, T. R. Química: Enfoque Ecológico. México: Editorial Noriega-Limusa; 1990.
10. Eaton, A.; Clesceri, L.; Rice, E.; Greenberg, A. Standard Methods for the examination of water and wastewater. Centennial Edition; 2005.
11. EcoPortal. Crisis Mundial del Agua. [en línea]. 12 de febrero de 2005. [Consultado agosto 2007]. URL disponible en: http://www.ecoportal.net/noti02/n922.htm.
12. EURACHEM, Working Group. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. First Internet Version; 1998.
13. Gaceta Oficial de la República de Cuba. Ley 81: Del Medio Ambiente .MINJUS; 1997.
14. Gary W. Van Loon. , Stephen J. Duffy. Environmental Chemistry. A Global Perspective. Oxford University Press; 2001.
15. Germain, L. Tratamiento de aguas. Barcelona: Ediciones Omega; 1982.
16. Galarraga, E. Algunos aspectos relacionados con microorganismos en agua potable. Revista Politécnica de información técnica científica. 9(3) p. 135-43; 1984
17. Goez, M., Vásquez M. Determinación y diferenciación de E. Coli y Coliformes Totales usando un mismo sustrato cromogénico. Textos Completos. CEPIS; 1999.

18. Gómez, Adela. Contaminación del Agua. [en línea] 19 de noviembre de 2004. [Consultado en agosto, 2007] URL disponible en:.http://eureka.ya.com/ecositio/cont_agua.htm.
19. Guzmán, A.; Fernández, G. Industria, medio ambiente y salud Notas sobre el impacto del cromo en el poblado de Las Toscas, Argentina. Aleph Zero, 25, [En línea], 2007, [Consultado 20 de nov. de 2007]. URL disponible en: http://aleph.cs.buap.mx.
20. Harris, D. Análisis Químico Cuantitativo. 2da. Edición. México: Editorial Reverté; 2001.
21. Harrison, R. M. Pollution. Causes. Effects and control. Fourth Edition. U.K.: Royal Society of Chemistry; 2001.
22. Hernández Muñoz, Aurelio. Depuración de aguas residuales. 3ª ed. Madrid: Colegio de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos; 1994.
23. Holguín, S.; Zaxarovich, G. Métodos Químicos y Fotométricos de Análisis. México: Editorial de la División de Ciencias Básicas e Ingeniería de la UAM; 2005.
24. Joachim, E., et.al. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA; 2005.
25. Marchand P., Edgard O. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. [en línea] 2005. [Consultado, Diciembre 2007] URL Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtual/Tesis/Basic/Marchand_P_E/anteced.htm.
26. Metcalf, L. Tratamiento y depuración de las aguas residuales. 2ª ed. Barcelona: Editorial Labor; 1981.
27. Manual de Ingenería Sostenible del Agua/Contaminación Industrial. (MIS. CI.) [en línea], 2004. [Consultado, Junio 2007] URL Disponible en: http://es.wikibooks.org/wiki/Manual_de_Ingener%C3%ADa_Sostenible_del_Agua/CONTAMINACI%C3%93N_INDUSTRIAL.
28. Misch, A. Riesgos ambientales para la salud. Bilbao: Ediciones Bakeaz; 1994.
29. Morea, L. Contaminación del Agua. [en línea]. 2005, 12 de febrero. [Consultado en Agosto, 2007]. Disponible en:http://www.monografias.com/trabajos/contamagua/contamagua.shtml.

30. Myers, N. El futuro de la Tierra. Madrid: Ediciones Celeste; 1992.
31. NC-27: 99. Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones. (Oblig-exp h/2001.01.01).
32. NC 93-01-033: 89 PMA. Hidrósfera. Determinación de residuos totales, fijos y volátiles en aguas.
33. NC 93-01-121: 88 PMA. medio ambiente. Hidrósfera. Determinación de cromo hexavalente.
34. NC 93-01-128: 88 PMA. Hidrósfera. Determinación del número más probable de coliformes totales y fecales.
35. NC 93-01-129: 88 PMA. Hidrósfera. Determinación del número más probable de pseudomonas aeruginosa.
36. NC 93-21: 86 Higiene comunal. Determinación de color en aguas de consumo y residuales. Método de ensayo.
37. NC 93-24: 87 Higiene comunal. Determinación de la demanda química de oxigeno en aguas residuales. Método de análisis.
38. NC 44-14-3: 84. Minerales. Cromita refractaria. Determinación volumétrica del trióxido de cromo. método de control.
39. NC TS-368: 2004. Guía para la validación de métodos de ensayos químicos para alimentos.
40. Pombo, R. Manual de Análisis Instrumental. La Habana: Editorial Félix Varela; 2004.
41. Poschenrieder, Ch.; Barcelo, J.; Gunse, B. El impacto del cromo en el medio ambiente. Circular Farmacéutica 290: 23-38, 1986.
42. Bruce, M.; Whiteside, P. Introduction to Atomic Absorption Spectrophotometry. Third Edition. Pye Unicam Ltd; 1984.
43. Rubinson, J. Química Analítica Contemporánea. Primera Edición. México; 2000.
44. Seoanez, M. Aguas residuales urbanas. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 1995.

Anexo 1 : Datos de la comparación de medias de las determinaciones de Cr(VI) por los métodos de Valoración potenciométrica y Espectrometría de Absorción Atómica.

Réplicas	Val.Potenciométrica (mg/L) (datos col.1)	Espectrometría de Abs.Atóm. (mg/L) (datos col.2)
1	489.9	490.2
2	489.5	490.7
3	489.9	489.7
4	489.5	490.8
5	490.1	490.1
6	489.7	489.7
7	490.2	490.2

Datos del procesamiento por Statgraphic versión 4.1:

Two-Sample Comparison - Col_1 & Col_2

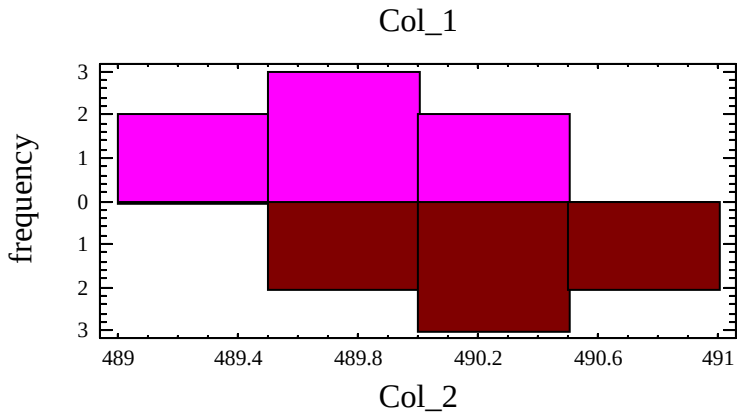
Analysis Summary

Sample 1: Col_1
Sample 2: Col_2

Sample 1: 7 values ranging from 489.5 to 490.2
Sample 2: 7 values ranging from 489.7 to 490.8

The StatAdvisor

This procedure is designed to compare two samples of data. It will calculate various statistics and graphs for each sample, and it will run several tests to determine whether there are statistically significant differences between the two samples.

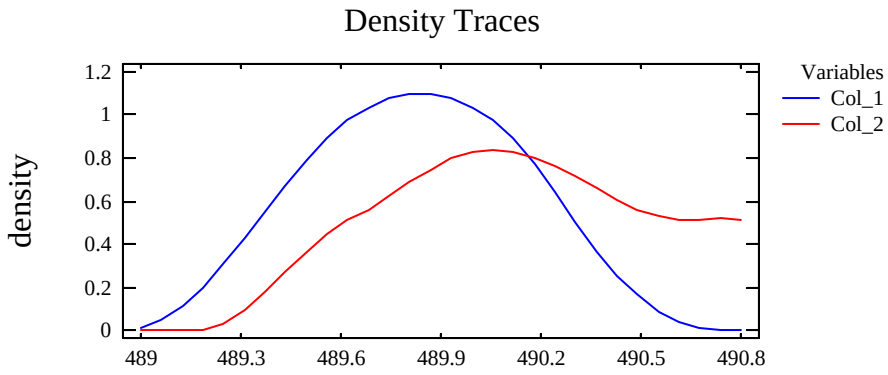


Summary Statistics

	Col_1	Col_2
Count	7	7
Average	489.829	490.2
Variance	0.0757143	0.186667
Standard deviation	0.275162	0.432049
Minimum	489.5	489.7
Maximum	490.2	490.8
Range	0.7	1.1
Stnd. skewness	-0.0133316	0.28125
Stnd. kurtosis	-0.801845	-0.622035

The StatAdvisor

This table shows summary statistics for the two samples of data. Other tabular options within this analysis can be used to test whether differences between the statistics from the two samples are statistically significant. Of particular interest here are the standardized skewness and standardized kurtosis, which can be used to determine whether the samples come from normal distributions. Values of these statistics outside the range of -2 to +2 indicate significant departures from normality, which would tend to invalidate the tests which compare the standard deviations. In this case, both standardized skewness values are within the range expected. Both standardized kurtosis values are within the range expected.



Comparison of Means

95.0% confidence interval for mean of Col_1: 489.829 +/- 0.254483 [489.574,490.083]
95.0% confidence interval for mean of Col_2: 490.2 +/- 0.39958 [489.8,490.6]
95.0% confidence interval for the difference between the means
assuming equal variances: -0.371429 +/- 0.421831 [-0.793259,0.050402]

t test to compare means

Null hypothesis: mean1 = mean2
Alt. hypothesis: mean1 NE mean2
assuming equal variances: t = -1.91848 P-value = 0.0791485

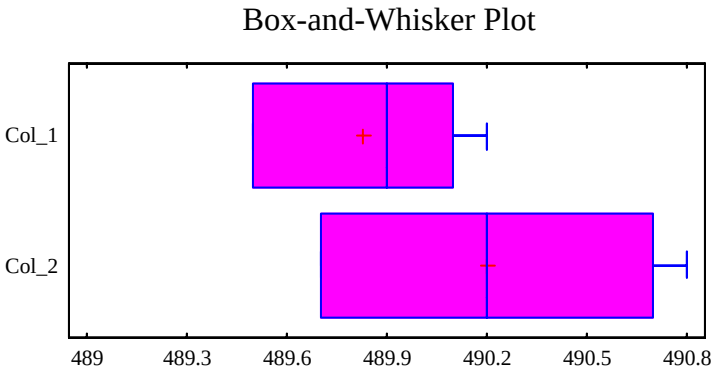
The StatAdvisor

This option runs a t-test to compare the means of the two samples. It also constructs confidence intervals or bounds for each mean and for the difference between the means. Of particular interest is the confidence interval for the difference between the means, which extends from -0.793259 to 0.050402. Since the interval contains the value 0.0, there is not a statistically significant difference between the means of the two samples at the 95.0% confidence level.

A t-test may also be used to test a specific hypothesis about the difference between the means of the populations from which the two samples come. In this case, the test has been constructed to determine whether the difference between the two means equals 0.0 versus the alternative hypothesis that the difference does not equal 0.0. Since the computed P-value is not less than 0.05, we cannot reject the null hypothesis.

NOTE: these results assume that the variances of the two samples

are equal. In this case, that assumption appears to be reasonable based on the results of an F-test to compare the standard deviations. You can see the results of that test by selecting Comparison of Standard Deviations from the Tabular Options menu.



Comparison of Standard Deviations

	Col_1	Col_2
Standard deviation	0.275162	0.432049
Variance	0.0757143	0.186667
Df	6	6

Ratio of Variances = 0.405612

95.0% Confidence Intervals
Standard deviation of Col_1: [0.177313,0.605925]
Standard deviation of Col_2: [0.27841,0.9514]
Ratio of Variances: [0.0696957,2.36057]

F-test to Compare Standard Deviations

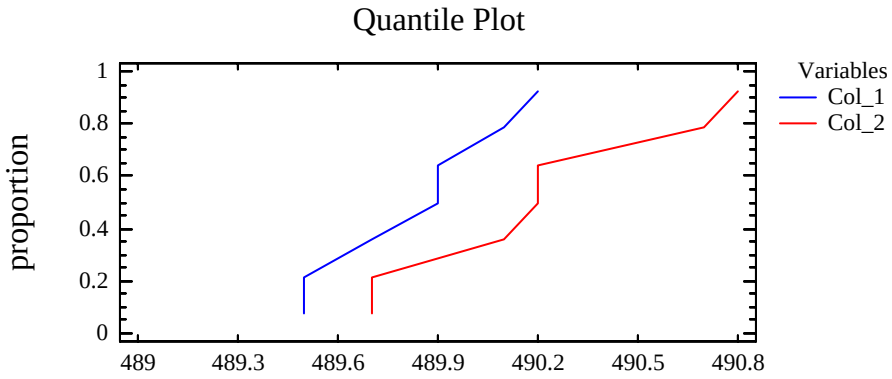
Null hypothesis: sigma1 = sigma2
Alt. hypothesis: sigma1 NE sigma2
F = 0.405612 P-value = 0.296573

The StatAdvisor

This option runs an F-test to compare the variances of the two samples. It also constructs confidence intervals or bounds for each standard deviation and for the ratio of the variances. Of particular interest is the confidence interval for the ratio of the variances, which extends from 0.0696957 to 2.36057. Since the interval contains the value 1.0, there is not a statistically significant difference between the standard deviations of the two samples at the 95.0% confidence level.

An F-test may also be used to test a specific hypothesis about the standard deviations of the populations from which the two samples come. In this case, the test has been constructed to determine whether the ratio of the standard deviations equals 1.0 versus the alternative hypothesis that the ratio does not equal 1.0. Since the computed P-value is not less than 0.05, we cannot reject the null hypothesis.

Important note : the F-tests and confidence intervals shown here depend on the samples having come from normal distributions. To test this assumption, select Summary Statistics from the list of Tabular Options and check the standardized skewness and standardized kurtosis values.



Comparison of Medians

Median of sample 1: 489.9
Median of sample 2: 490.2

Mann-Whitney (Wilcoxon) W test to compare medians

Null hypothesis: median1 = median2
Alt. hypothesis: median1 NE median2

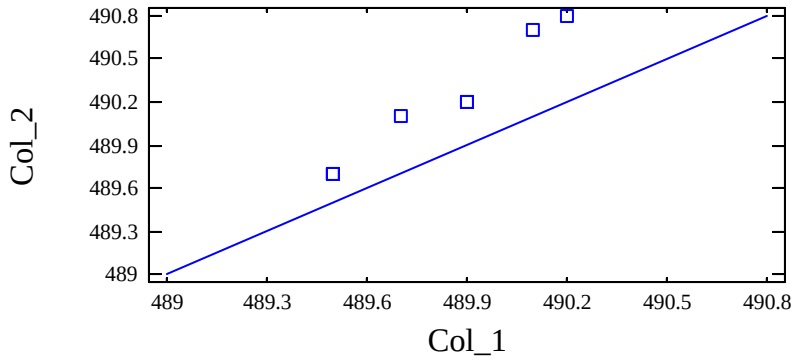
Average rank of sample 1: 5.64286
Average rank of sample 2: 9.35714

W = 37.5 P-value = 0.105909

The StatAdvisor

This option runs a Mann-Whitney W test to compare the medians of the two samples. This test is constructed by combining the two samples, sorting the data from smallest to largest, and comparing the average ranks of the two samples in the combined data. Since the P-value is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the medians at the 95.0% confidence level.

Quantile-Quantile Plot



Kolmogorov-Smirnov Test

Estimated overall statistic DN = 0.571429
Two-sided large sample K-S statistic = 1.06904
Approximate P value = 0.20351

The StatAdvisor

This option runs a Kolmogorov-Smirnov test to compare the distributions of the two samples. This test is performed by computing the maximum distance between the cumulative distributions of the two

samples. In this case, the maximum distance is 0.571429, which you can see visually by selecting Quantile Plot from the list of Graphical Options. Of particular interest is the approximate P-value for the test. Since the P-value is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the two distributions at the 95.0% confidence level.

Anexo 2: 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
520	50	20	170
521	70	30	210
522	90	40	250
530	80	30	250

Combinación de positivos	**Índice NMP/100**	**LCI**	**LCS**
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	-	-