

241.0 88AN

UNIVERSIDAD DEL VALLE - FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE PROCESOS QUIMICOS Y BIOLÓGICOS
SECCION DE SANEAMIENTO AMBIENTAL

LIBRARY
INTERNATIONAL REFERENCE CENTRE
FOR COMMUNITY WATER SUPPLY AND
SANITATION (IRC)

CONTROL DE CALIDAD FISICO-QUIMICO Y BACTERIOLOGICO
DE AGUA POTABLE

METODOS NORMALIZADOS DE ANALISIS

SANTIAGO DE CALI JULIO DE 1988

241.0-88AN-8076

PROGRAMA NACIONAL DE CALIDAD DE AGUA

ANALISIS FISICO-QUIMICO DE AGUAS
METODOS NORMALIZADOS

UNIVERSIDAD DEL VALLE - FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE PROCESOS QUIMICOS Y BIOLÓGICOS
SECCION DE SANEAMIENTO AMBIENTAL

OLGA ROJAS CH.
Química

UN 8076
241.0 88AN

SANTIAGO DE CALI JULIO DE 1988

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION	1
ANALISIS FISICO-QUIMICOS - METODOS NORMALIZADOS	
ALCALINIDAD	4
ALUMINIO	14
CLORO RESIDUAL	26
1 METODO COLORIMETRICO DEL DPD	26
2 METODO DE LA ORTOTOLIDINA	36
CLORUROS	42
1 METODO ARGENTOMETRICO	43
2 METODO DEL NITRATO MERCURICO	47
COLOR	55
CONDUCTANCIA	60
DUREZA TOTAL	71

	Página
DUREZA CALCICA	77
FLUORUROS	82
FOSFORO	92
1 METODO DEL CLORURO ESTANNOSO	92
2 METODO DEL ACIDO ASCORBICO	100
HIERRO	106
MANGANESO	118
NITROGENO AMONICAL	126
NITRATOS	135
NITRITOS	146
pH	155
SILICE	164
SOLIDOS	175
SULFATOS	183
TURBIEDAD	190
1 METODO NEFELOMETRICO	191
2 TURBIDIMETRIAS VISUALES	192

	Página
2.1 METODO DEL TURBIDIMETRO DE BUJIA	192
2.2 METODO DE LAS BOTELLAS PATRON	200
2.3 TURBIDIMETRO DE HELLIGE	202
BIBLIOGRAFIA	208
ANALISIS BACTERIOLOGICOS - METODOS NORMALIZADOS	
TECNICA DE LOS TUBOS MULTIPLES DE FERMENTACION	209
BIBLIOGRAFIA	222
RECuento ESTANDARD EN PLACA	223
BIBLIOGRAFIA	227
TECNICA DEL FILTRO DE MEMBRANA PARA ORGANISMOS COLIFORMES	228
TECNICA DEL FILTRO DE MEMBRANA UTILIZANDO EQUIPO DE CAMPO	233
BIBLIOGRAFIA	241
ANEXOS	
INTRUCCIONES ACERCA DE LA MANERA DE LLENAR LOS MARBETES QUE DEBEN ACOMPAÑAR A LOS FRASCOS DE LAS MUESTRAS	242
APLICACION DE LA ECUACION DE REGRESION A LA ESPECTROFOTOMETRIA	245

LISTA DE TABLAS

		Página
No. 1	CALCULOS ESTEQUIOMETRICOS DE LA FORMA DE ALCALINIDAD PRESENTE EN UN AGUA	13
No. 2	CONCENTRACION Y VOLUMEN RESPECTIVO DE PATRONES DE Cl_2	33
No. 3	CALCULOS DE LAS DIFERENTES FORMAS DE CLORO	36
No. 4	PREPARACION DE LOS TESTIGOS ARTIFICIALES DE CLORO - METODO DE LA ORTOTOLIDINA	40
No. 5	CONDUCTIVIDAD DE SOLUCIONES DE KCl A 25°C	67
No. 6	INTERFERENCIAS AL METODO DE SPANDS	84
No. 7	CONCENTRACION DE FOSFORO <u>vs</u> VOLUMEN DE SOLUCION PATRON - METODO DEL CLORURO ESTANNOSO	99
No. 8	CONCENTRACION DE FOSFORO <u>vs</u> VOLUMEN DE SOLUCION PATRON - METODO DEL ACIDO ASCORBICO	104
No. 9	CONCENTRACION DE HIERRO <u>vs</u> VOLUMENES DE SOLUCION PATRON	116

		Página
No.10	CONCENTRACION DE MANGANESO <u>vs</u> VOLUMENES DE SOLUCION PATRON	124
No.11	CONCENTRACION DE NITRITOS <u>vs</u> VOLUMENES DE SOLUCION PATRON	153
No.12	VARIACION DE LOS VALORES DE pH DE LAS SOLUCIONES BUFFER PATRON EN FUNCION DE LA TEMPERATURA	162
No.13	TRAYECTORIA DE PASO DE LUZ (cm) <u>vs</u> RANGO DE CONCENTRACION DE SiO ₂	170
No.14	CONCENTRACION DE SiO ₂ <u>vs</u> VOLUMEN DE SOLUCION PATRON	171
No.15	PATRONES PERMANENTES PARA ANALISIS DE SILICE	172
No.16	CONCENTRACION DE SULFATOS <u>vs</u> VOLUMEN DE SOLUCION PATRON	188
No.17	ALTURA DE LA MUESTRA <u>vs</u> UNIDADES DE TURBIEDAD JACKSON	198
No.18	INDICE DEL NUMERO MAS PROBABLE Y LIMITES DE CONFIANZA DEL 95%	217
No.19	SELECCION DEL CODIGO DE RESULTADOS-SERIE DE CINCO TUBOS	219
No.20	RESULTADOS DE CURVAS DE CALIBRACION	248

LISTA DE FIGURAS

	Página
No. 1 CURVAS PARA CORRECCION DE LA CONCENTRACION DE ALUMINIO EN PRESENCIA DE FLUORUROS	16
No. 2 DIAGRAMA DEL EQUIPO PARA DESTILACION DE FLUORUROS	88
No. 3 DIAGRAMA DEL EQUIPO PARA REDUCCION DE NITRATOS	138
No. 4 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA PRUEBA DE NMP DE COLIFORMES TOTALES	213
No. 5 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA PRUEBA DE NMP DE COLIFORMES FECALES	221
No. 6 ILUSTRACION DEL METODO DE DILUCION Y SIEMBRA PARA RECuento ESTANDARD EN PLACA	225
No.7-9 ILUSTRACION PARA EL MONTAJE DEL FILTRO DE MEMBRANA	225
No.10-13 INSTRUCCIONES PARA MUESTREO Y MONTAJE	225
No.14-21 INSTRUCCIONES PARA LA FILTRACION	225-227
No.22-25 INSTRUCCIONES PARA INCUBACION	238

INTRODUCCION

La óptima calidad del agua para consumo humano, debe ser una meta para cualquier entidad encargada de la producción de agua potable. Esta óptima calidad se logra controlando tanto los diferentes procesos de tratamiento a los cuales es sometida el agua como a la vigilancia de la calidad de los efluentes con énfasis en el producto final.

El agua es un recursos natural del cual el hombre jamás podrá prescindir, todas sus actividades giran alrededor de este elemento que en cualquier momento puede convertirse en un agente propagador de enfermedades, de allí la necesidad de realizar un control estricto de sus características, previo a su distribución a la comunidad.

Este control de calidad del agua abarca una serie de parámetros físico-químicos y bacteriológicos de relativa fácil ejecución pero cuya validez dependerá del grado de capacitación del personal a cuyo cargo está la ejecución de los análisis, así como del cuidado que se tenga al realizar los.

En este manual se presentan los métodos analíticos, que a criterio de la autora, se deben utilizar para un buen control de la calidad del agua.

Se incluyen los análisis de nitrógeno de nitratos y de nitritos, por la incidencia de estos compuestos nitrogenados en la salud pública, principalmente en la población infantil, así mismo se incluye la metodología para la cuantificación del nitrógeno amoniacal por considerar este compuesto como indicador de posible contaminación por aguas residuales domésticas.

La metodología aquí expuesta se basa en los "Métodos normalizados para el análisis de aguas y aguas residuales" de la APHA, AWWA, WPCF, actualizados en la 15ava. edición.

La selección de las técnicas analíticas se ha hecho considerando una fácil y mínima dotación de equipos y materiales de laboratorio, que permitan desarrollar adecuadamente programas de control de calidad del agua.

Algunas de estas técnicas, deberán realizarse rutinariamente, diaria y aún horariamente, de acuerdo con las disposiciones del Decreto 2105 de julio 26 de 1983, emanado del Ministerio de Salud, los demás análisis, deberán hacerse semanal o quincenalmente, según sea el patrón de comportamiento en cuanto a calidad físico-química y bacteriológica del agua tratada.

En la segunda parte del manual, se da la metodología conducente a la determinación de la calidad bacteriológica del agua.

En esta sección además de presentar la técnica normalizada de los tubos

múltiples de fermentación, para la cuantificación del número más probable de bacterias en 100 ml, NMP/100 ml, para coliformes totales y coliformes fecales, y el recuento en placa, se incluye la metodología para el análisis microbiológico del agua por la técnica de filtro de membrana, así como la técnica para el uso del equipo Millipore, especialmente adecuado para análisis en plantas de tratamiento pequeñas y en zonas rurales.

La parte III del manual comprende 2 anexos, en el primero se dan las instrucciones para diligenciar correctamente el marbete que debe acompañar todo recipiente en el cual se toman muestras de agua para análisis físico químico o bacteriológico y el segundo es un ejemplo de aplicación de las ecuaciones de regresión en mediciones espectrofotométricas.

Se espera que este material contribuya a suplir el déficit de información que en el campo del control de calidad de agua potable existe en nuestro medio.



OLGA ROJAS CH.

ALCALINIDAD

La alcalinidad de un agua, se debe a la presencia de aniones como bicarbonatos, carbonatos, hidroxilos, provenientes de la disociación de sales de ácidos débiles y bases fuertes, también contribuyen a ella los fosfatos, boratos y silicatos, aunque muchas veces los últimos; silicatos; es tan presentes en forma coloidal y no contribuyen significativamente al balance de aniones. Estos compuestos constituyen el sistema amortiguador del agua que impide los cambios bruscos de pH por la adición de vertimientos ácidos o alcalinos.

Analíticamente, la alcalinidad de un agua se define como la capacidad que tiene de neutralizar un ácido fuerte, hasta un determinado pH.

1 METODO TITRIMETRICO - FUNDAMENTO GENERAL

Los iones hidroxilo presentes en una muestra de agua, como resultado de la disociación o hidrólisis de sales, son neutralizados por reacción cuantitativa, con un ácido de concentración conocida.

Cuando el método escogido es la titulación potenciométrica, la medida de la alcalinidad varía, de acuerdo con el pH final seleccionado.

En muestras de agua potable, la alcalinidad puede determinarse volumétricamente, utilizando indicadores internos para detectar el punto final de la valoración. Los indicadores utilizados son la fenolftaleína, cuyo viraje se produce a un pH de 8.3 y el indicador mixto que presenta su viraje en un rango de pH entre 4.6-5.2.

2 INTERFERENCIAS

La turbiedad y el color interfieren por enmascarar la tonalidad de viraje del indicador. Para la realización del análisis no se debe filtrar la muestra.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras se deben recolectar en recipientes de polietileno o de vidrio borosilicato y almacenar a baja temperatura. El recipiente se debe llenar completamente y ajustar bien la tapa.

Como las muestras de agua, principalmente aguas residuales, sufren cambios químicos debidos a acción microbiana y pérdida o ganancia de gases disueltos como el CO_2 es necesario analizar las muestras inmediatamente después de su recolección. Máximo tiempo de almacenamiento 1 día. Si las muestras tienen alta actividad microbiana, deben analizarse dentro de las 6 horas siguientes a su recolección.

4 MATERIALES

4.1 Bureta de 50 ml con su respectivo soporte

4.2 Erlenmeyer de 250, 300, 500 y 1000 ml

4.3 Pipetas volumétricas

4.4 Probetas de 50, 100, 500, 1000 ml

4.5 Agitador magnético.

5 REACTIVOS

5.1 SOLUCION DE CARBONATO DE SODIO (aproximadamente 0.05 N)

Se secan a 250°C, durante 4 horas, 3 a 5 g de Na_2CO_3 , patrón primario y se enfrían en un desecador.

Se pesan 2.5 ± 0.2 g del reactivo seco y se disuelven en un poco de agua destilada, luego se transfiere la solución a un balón aforado de 1 litro, se completa a la marca con agua destilada y se homogeneiza bien.

Esta solución no dura más de una semana.

5.2 SOLUCION VALORADA DE ACIDO SULFURICO O ACIDO CLORHIDRICO, 0.1 N

Se diluyen 3.0 ml de H_2SO_4 concentrado u 8.3 ml de HCl concentrado a 1 litro con agua destilada o deionizada y se valora de la manera siguiente :

Se vierten en un beaker 40.0 ml exactos de la solución de $Na_2CO_3 \approx 0.05N$, anteriormente preparada (numeral 5.1), se agregan 60 ml de agua destilada o deionizada y se titula potenciométricamente hasta un pH = 5.0.

Se sacan los electrodos, se lavan recogiendo el agua de lavado en el mismo beaker, se retira el beaker, se cubre con un vidrio de reloj y se somete a ebullición suave por 3-5 minutos. Se enfría a temperatura ambiente y se termina la titulación hasta el punto de inflexión.

La normalidad se calcula de la siguiente manera :

$$N = \frac{A \times B}{53.0 \times C}$$

donde :

A = g de Na_2CO_3 disueltos en 1 litro de agua (2.5 ± 0.2 g)

B = ml de solución de Na_2CO_3 , tomados para la titulación (40 ml)

C = volumen total de ácido gastado en la titulación.

Una vez determinada la normalidad, N, exacta, se ajusta a 0.1N por medio de la siguiente relación :

$$V \times N = V' \times N'$$

1 ml de esta solución equivale a 5.0 mg de CaCO_3 .

5.3 SOLUCION DE ACIDO SULFURICO O CLORHIDRICO 0.02 N

Se miden 200.0 ml de la solución valorada de ácido 0.1N y se diluye a 1 litro con agua destilada o deionizada.

Se valora por titulación potenciométrica, utilizando 15.0 ml de la solución de Na_2CO_3 0.05N de acuerdo con el procedimiento dado en el numeral 5.2.

1 ml de esta solución equivale a 1.0 mg de CaCO_3 .

5.4 INDICADOR MIXTO DE VERDE DE BROMOCRESOL-ROJO DE METILO

Se puede utilizar la solución acuosa o la solución alcohólica :

5.4.1 Solución acuosa

Se pesan 100 mg de sal sódica de verde de bromocresol y 20 mg de sal sódica de rojo de metilo y se disuelven en 100 ml de agua destilada o deionizada.

5.4.2 Solución alcohólica

Se pesan 100 mg de verde de bromocresol y 20 mg de rojo de metilo y se disuelven en 100 ml de alcohol etílico o isopropílico al 95%.

5.5 SOLUCION ALCOHOLICA DE FENOLFTALEINA

Se pesan 5.0 g de fenolftaleína y se disuelven en 500 ml de alcohol etílico o isopropílico al 95%, se completa a 1 litro con agua destilada.

Si es necesario se agrega gota a gota solución de NaOH 0.02N hasta una coloración levemente rosada.

5.6 SOLUCION INDICADORA DE NARANJA DE METILO

Se disuelven 500 mg del colorante naranja de metilo en agua destilada y se completa a 1 litro (este indicador puede utilizarse en lugar del indicador mixto, pero su viraje no es tan nítido).

5.7 SOLUCION DE TIOSULFATO DE SODIO 0.1 N

Se disuelven 25.0 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, se transfieren a un balón aforado de 1 litro y se enrasa con agua destilada o deionizada.

6 PROCEDIMIENTO

Antes de proceder a la titulación se deben tener en cuenta las siguientes

tes observaciones :

La muestra debe estar a temperatura ambiente.

La concentración de la solución titulante debe escogerse, de acuerdo con la alcalinidad de la muestra, si esta es alta, mayor que 1000 mg CaCO_3/l , se debe titular con la solución de ácido 0.1N, si es baja, menor que 1000 mg CaCO_3/l , con la solución de ácido 0.02N.

Se debe evitar al máximo hacer diluciones de la muestra.

El volumen de muestra que se tome, no debe consumir más de 25.0 ml de la solución titulante.

La titulación debe hacerse sobre una superficie blanca.

6.1 TITULACION DE LA MUESTRA

Se toma con pipeta volumétrica el volumen de muestra seleccionado y se descarga en un erlenmeyer, teniendo cuidado de colocar la punta de la pipeta cerca al fondo del matraz.

Si la muestra tiene cloro residual libre, se adiciona 1 gota de solución de tiosulfato de sodio.

Se agrega 2-3 gotas de indicador de fenolftaleína.

Si la muestra toma una coloración rojiza, se adiciona lentamente y con agitación constante la solución de ácido elegida para la titulación, hasta que la muestra se torne incolora. Se anota este volumen como F.

Se adicionan, enseguida, a la misma muestra, 2 ó 3 gotas de indicador mixto, lo que le dá un color azul-verdoso, se continúa agregando ácido hasta el virage del indicador a un color gris-rosáceo. El pH de la muestra en este punto es aproximadamente 4.6. Se anota el volumen total de ácido gastado como T.

NOTA: Si al adicionar la fenolftaleína la muestra no cambia de color, es porque el pH es menor que 8.3, en este caso se adiciona a la misma muestra el indicador mixto y se titula como se indicó antes.

7 CALCULOS

7.1 ALCALINIDAD A LA FENOLFTALEINA

$$\text{mg CaCO}_3/\text{l} = \frac{A \times N}{B} \times 50 \times 10^3$$

donde :

A = ml de ácido gastado en la titulación hasta el virage de la fe

fenolftaleína.

N = normalidad del ácido

B = volumen de muestra tomado

7.2 ALCALINIDAD TOTAL

$$\text{mg CaCO}_3/\text{l} = \frac{A \times N}{B} \times 50 \times 10^3$$

donde :

A = ml totales de ácido gastados en la titulación hasta el viraje del indicador mixto (incluye el volumen gastado a la fenolftaleína)

N = normalidad del ácido

C = volumen de muestra tomado

7.3 CALCULOS ESTEQUIOMETRICOS DE LAS FORMAS DE ALCALINIDAD PRESENTES

De acuerdo con la relación de volúmenes de ácido gastados en la titulación, para el viraje de los indicadores, se puede deducir la clasificación estequiométrica de los iones alcalinos presentes en el agua : bicarbonatos, carbonatos e hidroxilos.

La siguiente Tabla, permite calcular la concentración de cada una de las especies iónicas :

TABLA No. 1

RELACION VOLUMENES EN LA TITULACION	ALCALINIDAD DE HIDROXIDOS mg CaCO ₃ /l	ALCALINIDAD DE CARBONATOS mg CaCO ₃ /l	ALCALINIDAD DE BICARBONATO mg CaCO ₃ /l
F = 0	0	0	T
F < ½ T	0	2 F	T - 2 F
F = ½ T	0	2 F	0
F > ½ T	2 F - T	2(T - F)	0
F = T	T	0	0

F = alcalinidad a la fenolftaleína

T = alcalinidad total

ALUMINIO

El aluminio es el tercer elemento más abundante en la corteza terrestre, se le encuentra en minerales, rocas y arcillas. Esta amplia distribución explica la presencia del aluminio en la mayoría de los abastecimientos de aguas naturales como una sal soluble, un colide o un compuesto insoluble. Cuando el proceso de coagulación se hace con una sal de aluminio, el aluminio residual puede aparecer en alguna de estas 3 formas.

Hay afirmaciones contradictorias en la literatura, acerca de la concentración de dicho residual, pero trabajos recientes indican que el agua filtrada de una moderna planta de filtros rápidos de arena, puede contener una concentración de aluminio entre 20-50 $\mu\text{g Al}^{+++}/\text{l}$ o sea entre 0.020 - 0.050 $\text{mg Al}^{+++}/\text{l}$.

1 METODO DEL ERIOCROMO CIANINA R - FUNDAMENTO GENERAL

El aluminio soluble, en presencia de una solución buffer que controle el pH a 6.0, produce con el Eriocromo Cianina R un complejo de coloración roja que presenta una máxima absorbancia a una $\lambda = 535 \text{ nm}$. En la intensidad del color desarrollado influyen la concentración de aluminio, el tiempo, el pH, la temperatura, la alcalinidad y la con

centración de otros iones presentes en la muestra. Para corregir las interferencias causadas por color y turbiedad, se toma un volumen de terminado de la muestra, se agrega EDTA para que forme un complejo con el aluminio y esta solución se utiliza como blanco.

Las interferencias de hierro y manganeso, dos elementos de común ocurrencia en el agua, se eliminan por la adición de ácido ascórbico.

El rango óptimo para leer aluminio está entre 20 y 300 $\mu\text{g Al}^{+++}/\text{l}$ o sea entre 0.020-0.300 $\text{mg Al}^{+++}/\text{l}$ pero en muestras con mayores concentraciones, el aluminio puede determinarse por dilución.

2 INTERFERENCIAS

Los fluoruros y los fosfatos interfieren causando errores negativos. Cuando la concentración de fluoruros es constante, el porcentaje de error decrece a medida que aumentan las cantidades de aluminio. Cuando la concentración de fluoruros es conocida o puede ser fácilmente determinada, se pueden obtener resultados bastante precisos, añadiendo la cantidad conocida de fluoruros al conjunto de patrones. Si no se necesita mucha precisión se puede hacer una corrección a partir de la familia de curvas de la Figura No. 1.

Se ha encontrado un procedimiento para la remoción de fosfatos complejos. Los ortofosfatos en concentraciones inferiores a 10 mg/l no interfieren. La interferencia causada por pequeñas cantidades de al

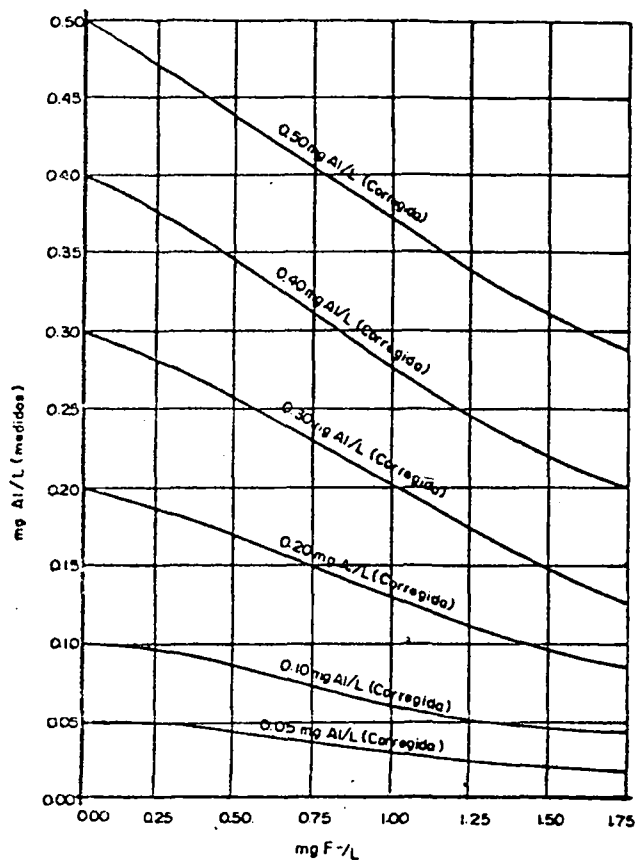


Figura No 1

CURVAS PARA CORRECCION DE LA CONCENTRACION DE ALUMINIO EN PRESENCIA DE FLUORUROS

COMO UTILIZAR LAS CURVAS

Se localiza en las abscisas la concentración de fluoruros presentes, en mg F-/L.

Se localiza en las ordenadas la concentración aparente de aluminio en mg Al/L (medidos). Desde este punto se interpola hacia las curvas de corrección y esta será la concentración verdadera de aluminio en la muestra. Si el punto no cae sobre una de las curvas, se lee directamente en el eje de las ordenadas que corresponde a 0.00 mg F-/L. Si la muestra no tiene fluoruros no hay interferencia y por lo tanto no se necesita corrección.

calinidad es eliminada acidificando la muestra hasta el punto de neutralización del metil-naranja. Los sulfatos no interfieren hasta una concentración mayor que 2.000 mg $SO_4^{=}$ /l.

Concentración mínima detectable.- La mínima concentración detectable de aluminio por este método en ausencia de fluoruros y fosfatos complejos es aproximadamente 6 μ g/l o sea 0.006 mg Al^{+++} /l.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras deben ser recolectadas en frascos limpios lavados con ácido, preferiblemente de plástico y deben ser examinadas tan pronto como sea posible después de la recolección.

Si la determinación deseada es de aluminio soluble solamente, debe filtrarse una porción de la muestra a través de un filtro de membrana de 0.45 μ y el filtrado se usa para la determinación. El papel de filtro, algodón absorbente y fibra de vidrio son completamente impropios para filtrar una solución a la cual se le va a determinar aluminio, ya que ellos absorben el aluminio soluble.

4 EQUIPOS

Se necesita uno de los siguientes equipos colorimétricos :

4.1 ESPECTROFOTOMETRO

Para usar a una $\lambda = 535 \text{ nm}$ y utilizando una celda de paso de luz de 1 cm o mayor.

4.2 FOTOMETRO DE FILTRO

Provisto de una celda de paso de luz de 1 cm o mayor y equipado con un filtro verde que tenga una máxima transmitancia entre 525 - 535 nm.

4.3 TUBOS NESSLER

Pareados de 50 mls de forma alta.

NOTA: Toda la vidriería debe ser tratada con HCl 1+1 caliente, y enjuagada con agua destilada libre de aluminio para evitar errores debidos a materiales que se absorben sobre el vidrio. Se enjuaga suficientemente para quitar todo el ácido.

5 REACTIVOS

Deben usarse reactivos de calidad analítica con bajo contenido de aluminio y agua destilada exenta de aluminio.

5.1 SOLUCION MADRE DE ALUMINIO

El metal (5.1.1) o la sal (5.1.2) pueden ser usados para la prepara

ción de la solución madre la cual contiene 500 µg de Al por ml.

5.1.1 Se disuelven 500.0 mg de aluminio metálico en 10 ml de HCl concentrado calentando suavemente. Se diluye a 1 litro en un matraz aforado con agua destilada.

5.1.2 Se disuelven 8.792 gr de sulfato de aluminio y potasio (llamado también alumbre potásico) $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ en agua destilada y se diluye hasta la marca en un balón aforado de 1 litro.

5.2 SOLUCION PATRON DE ALUMINIO

Se diluyen 10 mls de la solución madre de aluminio en un balón aforado de 1 litro con agua destilada; 1.00 ml = 5.00 µg Al o sea 1.00 ml = 0.005 mg de Al. Esta solución se debe preparar diariamente.

5.3 ACIDO SULFURICO 0.002 N y 6 N

5.4 SOLUCION DE ACIDO ASCORBICO

Se disuelven 0.1 g de ácido ascórbico, en agua destilada y se lleva a 100 ml en un balón aforado. Se debe preparar diariamente.

5.5 SOLUCION BUFFER

Se disuelven 136 gr de acetato de sodio, $NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$ en agua destilada, se añaden 40 ml de ácido acético 1N y se diluye a 1 litro.

5.6 SOLUCION COLORANTE

Existen en el mercado varias sales de eriocromo cianina R. De acuerdo con el reactivo que esté disponible en el mercado se prepara la solución colorante.

Las siguientes son las instrucciones para la obtención de la solución colorante madre a partir de cada una de ellas :

5.6.1 Solocromo Cianina R-200 o Eriocromo Cianina R[†] [C₂₂H₁₈O₉S]

Se disuelven 100 mg del producto en agua destilada y se diluye a 100 ml en balón aforado. Esta solución debe tener un pH aproximado de 2.9.

5.6.2 Eriocromo Cianina R[‡] [C₂₂H₁₅Na₃O₉S]

Se disuelven 300 mg del producto, en unos 50 ml de agua destilada, se ajusta el pH aproximadamente a 2.9 con ácido acético 1+1 (se requieren más o menos 3 ml). Se pasan a un balón aforado de 100 ml y se enrasa a la marca con agua destilada.

5.6.3 Eriocromo Cianina R[§]

Se disuelven 150 mg del producto en unos 50 ml de agua destilada. Se ajusta el pH a 2.9 con ácido acético 1+1 (se requieren aproximadamente 2 ml). Se pasa a un balón aforado de 100 ml y se enrasa a la marca con agua destilada.

Estas soluciones son muy estables y pueden conservarse bien tapadas por muchos años.

5.7 SOLUCION COLORANTE DE TRABAJO

Se diluyen 10 ml de solución madre a 100 ml con agua destilada en balón aforado.

Esta solución es estable al menos por 6 meses.

5.8 INDICADORES

Solución indicadora de metil-naranja o indicador mixto de verde de bromocresol y rojo de metilo. (los mismos utilizados para alcalinidad).

5.9 EDTA 0.01 M (SAL DISODICA DEL ETILENDIAMINA-TETRA-ACETATO)

Se disuelven 3.7 g del reactivo en un poco de agua destilada y se lleva a 1 litro. (Es la misma solución utilizada para determinación de dureza).

5.10 HIDROXIDO DE SODIO 1 N y 0.01 N

6 PROCEDIMIENTO

6.1 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Se preparan una serie de patrones de aluminio de 0.00-300 $\mu\text{g Al}^{+++}/\text{l}$

midiendo exactamente los volúmenes calculados de la solución patrón de aluminio, en los tubos de Nessler. Se agrega agua destilada hasta 25 ml aproximadamente.

Se adiciona 1 ml de H_2SO_4 0.02 N a cada patrón y se mezcla.

Se agrega 1 ml de la solución de ácido ascórbico y se mezcla.

Se añaden 10 ml de solución buffer y se homogeneiza. Se agrega a cada patrón 5 ml exactos de solución colorante de trabajo y se homogeneiza.

Inmediatamente se completa a 50 ml con agua destilada. Se homogeneiza y se deja en reposo entre 5-15 minutos. (El color empieza a decrecer después de 15 minutos).

Se lee la transmitancia o absorbancia en un espectrofotómetro usando una longitud de onda de 535 nm.

Se ajusta el instrumento a 100 %T o "cero" de absorbancia con el patrón que no contiene aluminio.

Se grafica una curva $\mu g Al^{+++}$ en el volumen de muestra analizada versus %T.

6.2 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA EN AUSENCIA DE FLUORUROS Y FOSFATOS COMPLEJOS

Se colocan 25.0 ml de muestra o una alícuota diluida a 25.0 ml en una cápsula de porcelana o en un erlenmeyer, se añaden unas gotas de indicador mixto y se titula con H_2SO_4 0.02 N hasta el viraje a gris perla.

Se toman 2 muestras iguales a 25.0 ml cada una, se adiciona la misma cantidad de H_2SO_4 0.02 N usada en la anterior titulación más 1 ml de exceso.

A una de estas muestras se agrega 1 ml de solución de EDTA. Esta muestra se utiliza como blanco. (El EDTA forma un complejo con el aluminio presente en la muestra y compensa por color y turbiedad). Se añade 1 ml de ácido ascórbico al blanco y a la otra muestra, luego 10 ml de solución buffer y 5 ml de solución colorante de trabajo. Se completa a 50 ml, se homogeneiza y se continúa igual que se hizo con los patrones.

Se lleva el aparato a "cero" de absorbancia o 100%T usando el blanco de EDTA. Después de 5-15 minutos de contacto se lee el %T de la muestra y se determina la concentración de aluminio de la curva de calibración previamente preparada o de la ecuación de regresión si se la ha calculado.

6.3 COMPARACION VISUAL

Si no hay disponible un equipo espectrofotométrico, se preparan y tratan los patrones como se indicó anteriormente en los tubos de Nessler de 50.0 ml, se lleva hasta la marca con agua destilada y se compara el color de la muestra con los patrones, después de 5-15 minutos de tiempo de contacto.

Si se usan los tubos de Nessler no se necesita la muestra tratada con EDTA. Si la muestra presenta color y turbiedad el uso de colorimetría visual en tubos Nessler, puede tener mucho error.

6.4 REMOCION DE INTERFERENCIAS POR FOSFATOS

Se añaden 1.7 ml de H_2SO_4 6N a 100 ml de muestra contenidos en un erlenmeyer de 200-300 ml. Se calienta al menos por 90 minutos, se mantiene la temperatura de la solución justamente por debajo del punto de ebullición (sin hervir). Al final del período de calentamiento el volumen de la solución debe estar alrededor de 25.0 ml, se agrega agua destilada siempre que sea necesario para mantenerlo en este volumen o encima de él. Se enfría y se neutraliza la solución a un pH entre 4.3 - 4.5 con NaOH 1N al principio y con NaOH 0.1N para hacer el ajuste final del pH usando un pH-metro.

Se lleva a 100 ml con agua destilada, se homogeneiza y se usa una alícuota de 25.0 ml para la determinación de aluminio.

Se corre un blanco de la misma manera, usando 100 ml de agua destilada y 1.7 ml de H₂SO₄ 6N, se resta el blanco de la muestra o se usa para llevar el instrumento a "cero" de absorbancia o 100%T antes de leer la muestra.

6.5 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA EN PRESENCIA DE FLUORUROS

Se mide la concentración de fluoruros en la muestra por el método de SPANDS o por el método del electrodo y se hace uno de los 2 pasos siguientes :

6.5.1 Se añade la misma concentración de ión fluoruro a cada uno de los patrones de aluminio.

6.5.2 Se determina la corrección de fluoruros a partir del conjunto de curvas de la Figura No. 1 . Este método puede ser usado cuando no se requiere mucha precisión.

7 CALCULOS

$$\text{mg Al}^{+++}/\text{l} = \frac{A}{B} \times F$$

donde :

A = μg de Al⁺⁺⁺ en el volumen de muestra analizado

B = volumen de muestra tomado

F = factor de dilución.

CLORO RESIDUAL

1 METODO COLORIMETRICO DEL DPD - FUNDAMENTO GENERAL

El cloro libre, Cl_2 , reacciona instantáneamente con la N-N-dietil fenilendiamina, DPD, formando un compuesto de color rosado-violeta que puede medirse espectrofotométricamente.

Con este método, se puede determinar también el cloro combinado, por adición de una pequeña cantidad de ión yoduro que actúa catalítica mente sobre la monocloramina, permitiendo su cuantificación. De igual manera por adición de un exceso de KI se pueden determinar la dicloramina y el tricloruro de nitrógeno.

La concentración mínima detectable es $10 \mu\text{g Cl}_2/\text{l}$.

1.1 INTERFERENCIAS

La mayor interferencia la presenta el manganeso en sus formas oxidadas. Para evitarla se adicionan a 100 ml de la muestra, 0.5 ml de solución de arsenito de sodio al 0.5%. Se agregan los reactivos para el desarrollo de color, se lee el %T, se determinan los $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ y se resta este valor a los resultados de Cl_2 libre y Cl_2 residual total.

Los metales pesados también interfieren, pero su acción es eliminada por el EDTA involucrado en los reactivos que se adicionan.

La interferencia por color y turbiedad se contrarresta, calibrando el fotómetro a (0) cero de absorbancia, 100%T, con la muestra, sin adición de ningún reactivo.

1.2 EQUIPO

Se requiere uno de los siguientes equipos colorimétricos :

1.2.1 Espectrofotómetro

Para usar a una longitud de onda de 515 nm y provista con celdas de paso de luz de 1 cm o mayor.

1.2.2 Fotómetro de filtros

Equipado con un filtro que tenga su máxima transmisión de luz en una longitud de onda entre 490-530 nm y con celdas de paso de luz de 1 cm o mayor.

1.3 REACTIVOS

1.3.1 Solución buffer de fosfato

Se disuelven 24.0 g de fosfato ácido de sodio, Na_2HPO_4 y 46 g de fosfato diácido de potasio, KH_2PO_4 , en unos 400 ml de agua destilada.

Se disuelven 800 mg de EDTA en 100 ml de agua destilada y se combinan con la solución anterior.

Se transfiere la solución anterior a un balón aforado de 1 litro y se enrasa con agua destilada.

NOTA: Para prevenir el crecimiento de hongos, pueden agregarse 20 mg de HgCl_2 /l.

1.3.2 Solución de N-N-dietil-p-fenilendiamina, D.P.D.

Se disuelve 1.0 g de oxalato de DPD, 1.5 g de sulfato pentahidratado de DPD, o 1.1 g de sulfato anhidro de DPD en agua destilada, libre de cloro y a la cual se han agregado los siguientes reactivos : 8 ml de H_2SO_4 1+3 y 200 mg de EDTA.

Se pasa la solución a un balón aforado de 1 litro y se enrasa con agua destilada libre de Cl_2 . Se almacena en botella oscura con tapón de vidrio esmerilado y se descarta cuando la solución se de colore.

NOTA: El oxalato de DPD es tóxico, se debe tener mucho cuidado al pipetearlo.

1.3.3 Cristales de yoduro de potasio, KI.

1.3.4 Solución de KI

Se disuelven 500 mg de KI en unos 50 ml de agua destilada, se enrasa a 100 ml con agua destilada recién hervida y fría. Se almacena en botella oscura con tapón de vidrio esmerilado y se mantiene en refrigerador. La solución se descarta cuando se torne de color amarillo.

1.3.5 Solución de arsenito de sodio

Se disuelven 5.0 g de NaAsO_2 en agua destilada y se diluye a 1 litro (Este reactivo es tóxico, se debe evitar su ingestión).

1.3.6 Solución de tioacetamida

Se disuelven 250 mg de CH_3CSNH_2 en 100 ml de agua destilada exenta de cloro.

1.3.7 Solución de ácido sulfúrico de 20 ml/l

A unos 700 ml de agua destilada se agregan 20 ml de H_2SO_4 conc. de calidad analítica, se mezcla bien. Se diluye a 1.000 en un balón aforado y de nuevo se mezcla, se espera a que la solución esté fría para el enrase final.

1.3.8 Solución indicadora de almidón

Se pesan 5 g de almidón soluble y se trituran en un mortero con un poco de agua destilada hasta formar una pasta fluida, que se vierte en un litro de agua destilada hirviendo. Se deja ebullición

el agua por 5 minutos agitando constantemente con una varilla de vidrio; la solución se deja reposar durante la noche. Se preserva por la adición de 1 ml de cloroformo.

Como indicador se utiliza el sobrenadante claro.

1.3.9 Solución de tiosulfato de sodio 0.025 N

Se disuelven 6.205 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada recién hervida y fría y se diluye a un litro en balón aforado. Esta solución se debe titular contra una solución de dicromato de potasio 0.025 N preparada a partir de reactivos de calidad analítica superior, grado estándar primario.

Titulación del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.- Se toman 100 ml de agua destilada y se disuelven en ellos 1 gr de KI exento de yodato, se adicionan 5 ml de H_2SO_4 1+9 y 10 ml de solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 0.025 N, se diluye a 200 ml con agua destilada, se mezcla bien y se deja en reposo y en la oscuridad por 5 minutos. El Iodo liberado se titula con la solución de tiosulfato de sodio y se la lleva hasta un color amarillo pajizo, se adiciona aproximadamente 1 ml de solución indicadora de almidón y se continúa titulando hasta la desaparición del color azul formado.

Se calcula la normalidad de la solución y se hacen los ajustes necesarios para que el tiosulfato quede exactamente 0.025 N, o se

calcula el factor de corrección de normalidad.

1.4 PROCEDIMIENTO

1.4.1 Curva de calibración

La curva de calibración puede hacerse con patrones de cloro o de permanganato de potasio.

Solución patrón de cloro.- Se puede preparar burbujeando cloro gaseoso, a través de agua destilada. La solución se titula luego con tiosulfato de sodio como se indica más adelante, numeral 1.4.2.

Esta solución se debe titular diariamente y almacenar en frasco oscuro con tapón esmerilado.

También se puede preparar la solución patrón de Cl_2 a partir de una solución de hipoclorito casero, que tiene aproximadamente 30.000 - 50.000 mg Cl_2 equivalente/l o hipoclorito de calcio, se disuelve 1 pastilla o aproximadamente 5.0 g y se determina su concentración exacta por titulación con tiosulfato de sodio. Estas soluciones son un poco más estables que las de cloro gaseoso. Sin embargo se deben titular semanalmente y guardar en frasco oscuro con tapón esmerilado.

Una vez conocida la concentración de cualquiera de estas solu

ciones, se prepara a partir de élla una solución de referencia de 100 mg Cl₂/l o de 500 mg Cl₂/l de acuerdo con el rango de concentración que se vaya a usar para los patrones.

1.4.2 Valoración de la solución madre de cloro

Se vierten en un erlenmeyer, aproximadamente 500 ml de agua destilada, se agregan 10 ml de solución de H₂SO₄ de 20 ml/l y más o menos 1 gr de KI, se mezcla bien y se adicionan 10 ml de solución de cloro. Se titula con la solución valorada de tiosulfato de sodio 0.025 N, hasta color amarillo pajizo, se añaden 1-2 ml de solución indicadora de almidón y se titula hasta desaparición del color azul.

La concentración de cloro será :

$$\text{mg Cl}_2/\text{ml} = \frac{\text{ml de sol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 0.025 \times 35.5}{\text{Vol de solución de Cloro}}$$

A partir de esta solución madre de cloro se prepara otra solución que contenga 500 mg Cl₂/l, o 100 mg Cl₂/l.

1.4.3 Preparación de patrones de cloro

a. A partir de la solución de referencia de cloro de 100 mg Cl₂/l

En balones aforados de 100 ml se preparan los siguientes patro

nes, Tabla No.2 . Se enrasa a la marca con agua destilada libre de cloro.

TABLA No.2 CONCENTRACION Y VOLUMEN RESPECTIVO DE PATRONES DE Cl₂

CONCENTRACION PATRON (mg Cl ₂ /l)	VOLUMEN DE SOLUCION DE 100 mg Cl ₂ /l (ml)
0.00	0.00
0.05	0.05
0.10	0.10
0.20	0.20
0.30	0.30
0.40	0.40

Para el desarrollo del color, se colocan 5 ml de solución buffer de fosfato y 5 ml de solución de DPD en balones aforados o tubos de Nessler de 100 ml, se adicionan luego en cada uno de los tubos Nessler, los patrones preparados antes y se mezclan bien. Se pueden usar otros volúmenes, teniendo en cuenta de adicionar en forma proporcional los reactivos. Se transfiere parte de la solución coloreada a la celda del espectrofotómetro o del colorímetro, según sea el equipo disponible y se lee el %T o la absorbancia a 515 nm.

b. Patrones a partir de permanganato de potasio

Se pesan 891 mg de KMnO_4 y se diluyen a 1 litro con agua destilada. Se toman 10.0 ml de esta solución y se transfieren a un balón aforado de 1 litro y se enrasa a la marca.

Se preparan los patrones exactamente en la forma indicada para los patrones de cloro; numeral 1.4.3, Tabla No.2 , y se desarrolla el color de la siguiente manera :

Se colocan en recipientes aforados de 100 ml 5 ml de solución buffer y 5 ml de solución de DPD, se adicionan a cada recipiente cada uno de los patrones de KMnO_4 preparados antes y se lee el %T o la absorbancia a 515 nm.

1.4.4 Tratamiento de la muestra

Se usa un volumen apropiado de muestra, de acuerdo con el volumen de la celda del equipo. Si se toman 10.0 ml de muestra, el procedimiento es el siguiente :

a. Determinación de cloro residual libre

Se colocan en la celda del espectrofotómetro 0.5 ml de solución buffer de fosfato, 0.5 ml de solución de DPD y 10.0 ml de muestra, se mezcla bien y se lee inmediatamente el color, absorbancia o %T (lectura A).

b. Monocloramina

A la muestra anterior, numeral 1.4.4 (a), se le agregan unos pocos cristales de KI (aproximadamente 0.1 g) y se mezcla. Se lee %T o absorbancia inmediatamente (lectura B).

Si se espera que la concentración de dicloramina sea alta, en lugar de cristales de KI, se deben adicionar 2 gotas de solución de KI fresca, al 0.1% (0.1 gr KI/100 ml).

c. Dicloramina

Se continúa agregando más cristales de KI (alrededor de 0.1 g) y se mezcla para disolver. Se deja en reposo 2 minutos y se lee el %T o absorbancia (lectura C).

d. Tricloruro de nitrógeno

Se colocan unos pocos cristales de KI, en una celda del espectrofotómetro, limpia y seca. Se añaden 10.0 ml de muestra y se mezcla.

En otra celda se colocan 0.5 ml de solución buffer de fosfato y 0.5 ml de solución de DPD y se mezcla.

Se adiciona el contenido del anterior tubo, a la primera celda y se mezcla bien. Se lee inmediatamente el %T o la absorbancia (lectura N).

1.5 TABLA No.3 CALCULOS DE LAS DIFERENTES FORMAS DE Cl_2

LECTURA	NCl_3 AUSENTE	NCl_3 PRESENTE
A	Cloro libre (Cl_2)	Cloro libre (Cl_2)
B - A	NH_2Cl	NH_2Cl
C - B	NHCl_2	$\text{NHCl}_2 + \frac{1}{2} \text{NCl}_3$
N	-	Cloro libre + $\frac{1}{2} \text{NCl}_3$
2(N-A)	-	NCl_3
C - N	-	NHCl_2

En el caso supuesto, que la monocloramina se encuentre presente junto con el NCl_3 , se debe incluir en la lectura N en cuyo caso el NCl_3 es igual a $2(N-B)$.

2 METODO DE LA ORTOTOLIDINA - FUNDAMENTO GENERAL -

Este método valora las formas libres y combinadas del cloro disponible.

La ortotolidina es un compuesto orgánico que en medio ácido es fácilmente oxidada por el cloro, las cloraminas y otros agentes oxidantes, produciendo a pH menores que 1.8 holoquinonas, compuesto de color amarillo cuya intensidad de color es proporcional a la cantidad de holoquinoma formada.

La reacción de la ortotolidina con el cloro libre es rápida, pero es lenta con el cloro combinado, por esta razón cuando se trata de cuantificar cloro residual total, se recomienda que el tiempo de contacto sean 5 minutos y la temperatura 20°C.

Para el desarrollo correcto del color entre el cloro y la ortotolidina se deben tener en cuenta las siguientes precauciones :

- . La muestra debe tener un pH menor o igual que 1.3 durante el tiempo de contacto.
- . La relación en peso ortotolidina a cloro debe ser por lo menos 3:1.
- . La concentración de cloro no debe ser superior de 10 mg/l.

Para lograr cumplir las 2 primeras condiciones, se debe verter primero en el tubo de Nessler el reactivo de ortotolidina y luego la muestra.

2.1 INTERFERENCIAS

Interfieren los nitritos, los compuestos férricos, los compuestos mangánicos y, posiblemente, compuestos orgánicos de hierro, ligno celulosa y algas. El efecto de estas sustancias es aumentar aparentemente el contenido de cloro residual de la muestra analizada. Los sólidos suspendidos también interfieren y deben eliminarse por centrifugación; si la turbiedad no es muy alta, se puede emplear un

colorímetro compensador que corrija, a la vez, por color y turbiedad. En aguas cloradas que no contengan más de 0.3 mg/l de hierro, 0.01 mg/l de manganeso mangánico, 0.1 mg/l de nitrógeno de nitritos, se puede aceptar que toda la coloración amarilla, característica de la transformación de la ortotolidina, se debe al cloro.

2.2 COMPARACION DEL COLOR

Todas las lecturas se deben verificar observando a través de las muestras hacia una superficie blanca iluminada. Esta superficie blanca puede ser opaca e iluminada por reflexión, o puede ser un vidrio opalino disufo con iluminación inferior.

2.3 REACTIVOS

2.3.1 Solución clorhídrica de ortotolidina

Se disuelven 1.35 g de diclorhidrato de ortotolidina en 500 ml de agua destilada. Se agrega esta solución con agitación constante a una mezcla de 350 ml de agua destilada y 150 ml de ácido clorhídrico concentrado. No se recomienda el uso de la ortotolidina básica para la preparación de este reactivo.

Se deben tener los siguientes cuidados con la solución de ortotolidina :

- a. Conservarla en frascos ámbar o en la oscuridad.

- b. Protegerla en cualquier momento de la luz solar directa.
- c. No usarla por más de 6 meses.
- d. Conservarla libre de contacto con el caucho ya que la ortotolidina extrae cantidades apreciables de sustancias reductoras de algunos tipos de caucho, y
- e. Mantenerla a temperaturas normales.

2.3.2 Solución de sulfato cúprico para los testigos permanentes

Disolver 1.5000 g de sulfato cúprico, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua destilada acidulada con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado.

2.3.3 Solución de dicromato potásico para los testigos permanentes

Disolver 0.2500 g de dicromato de potasio, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, en agua destilada acidulada con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se transfiere a un balón aforado de 1 litro y se enrasa con agua destilada.

2.4 PROCEDIMIENTO

- 2.4.1 Se preparan los tubos pareados de Nessler de 100 ml, marcados de 0 a 8, con los testigos artificiales que a continuación se indican mediante el vertimiento, al correspondiente tubo, de las solu

ciones que se señalan en la Tabla No.4 ,completando en cada caso a 100 ml con agua destilada y mezclando bien el contenido de cada uno.

TABLA No.4

TUBO No.	SOL. CuSO_4 ml	SOL. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ml	EQUIVALENCIA mg/l de cloro
0	0.0	0.0	0.0
1	0.4	5.5	0.05
2	1.8	10.0	0.10
3	1.9	20.0	0.20
4	1.9	30.0	0.30
5	2.0	38.0	0.40
6	2.0	45.0	0.50
7	2.0	58.0	0.70
8	2.0	72.0	1.00

2.4.2 Colocar 1 ml del reactivo de ortotolidina en un tubo de Nessler de 100 ml pareado con los que sirvieron para la preparación de los testigos anteriores.

2.4.3 Agregar la muestra al tubo con la ortotolidina hasta la marca de los 100 ml. Mezclar. Si la temperatura de la muestra es menor que 20°C se lleva a esta temperatura mediante inmersión del tubo en baño de agua tibia.

2.4.4 Dejar el tubo en reposo durante 5 minutos.

2.4.5 Comparar el color desarrollado con el de los testigos permanentes artificiales mirando a través de los tubos hacia abajo contra fondo blanco.

El valor del cloro residual de la muestra, en mg/l, será el del testigo que más se asemeja al color de la muestra.

CLOURUROS

Los cloruros son aniones inorgánicos, comúnmente encontrados en las aguas. Las aguas residuales domésticas los contienen en una concentración más o menos alta ya que el cloruro de sodio, NaCl, forma parte de la dieta diaria de las personas y luego son eliminados del organismo, casi en la misma concentración en que son ingeridos, de allí que antiguamente se los utilizara como rastreadores de contaminación.

Las aguas residuales contienen cloruros como resultado de diferentes actividades industriales, igualmente las aguas subterráneas son ricas en este anión, por las propiedades disolventes del agua y las condiciones especiales del medio que favorecen la disolución de compuestos salinos presentes en la región, finalmente las aguas superficiales aunque contienen cloruros en menor concentración, su aporte es apreciable como para tenerlos en cuenta en el equilibrio químico de aniones y cationes.

Para la cuantificación de los cloruros, hay varios métodos, en este aparte, se exponen 2 métodos sencillos principalmente aplicables al análisis de este anión en agua potable. La selección de cualquiera de ellos es criterio del analista y disponibilidad de reactivos.

1 METODO ARGENTOMETRICO - FUNDAMENTO GENERAL -

Los cloruros se precipitan cuantitativamente como cloruro de plata, AgCl , por la adición de una solución de nitrato de plata, AgNO_3 , en medio neutro o ligeramente alcalino.

El cloruro de plata inicialmente formado es un compuesto insoluble de color blanco que le comunica al agua opalescencia (turbidez).

El punto final de la titulación se determina agregando al agua como indicador una pequeña cantidad de cromato de potasio, K_2CrO_4 . El ión cromato, $\text{CrO}_4^{=}$, forma con los iones Ag^+ , agregados en exceso, el Ag_2CrO_4 , que es un precipitado de color rojizo que se forma después que todo el cloruro ha precipitado como AgCl .

1.1 INTERFERENCIAS

Los iones disueltos a las concentraciones que normalmente se encuentran presentes en el agua potable no interfieren con el método.

Los bromuros, ioduros y cianuros interfieren a concentraciones similares a la de los cloruros.

Iones como el sulfito, tiosulfato y sulfuros se pueden eliminar tratando el agua con peróxido de hidrógeno, H_2O_2 , los ortofosfatos y el hierro interfieren a concentraciones mayores que $25 \text{ mg P-PO}_4^{=}/\text{l}$

y 10 mg Fe/l respectivamente ya que por co-precipitación enmascaran el punto final.

1.2 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Se pueden utilizar recipientes de vidrio o de plástico resistentes muy limpios. No se necesita ningún preservativo especial para almacenar la muestra.

1.3 MATERIALES

1.3.1 Erlenmeyer de 250 ml

1.3.2 Buretas de 50 ml.

1.4 REACTIVOS

1.4.1 Solución indicadora de cromato de potasio

Se disuelven 50.0 g de cromato de potasio, K_2CrO_4 , en 1 litro de agua destilada. Se añade solución de nitrato de plata hasta la formación de un precipitado rojizo. Se deja en reposo por 12 horas, después de las cuales se filtra y se diluye a 1 litro con agua destilada.

1.4.2 Solución valorada de nitrato de plata, 0.0141N

Se disuelven 2.395 g de $AgNO_3$ en agua destilada y se diluye a 1

litro. Se titula con una solución de NaCl 0.0141 N en igual forma que se procede para la titulación de una muestra como se indicará en procedimiento (numeral 1.5.2). 1 ml = 500 $\mu\text{g Cl}^-$.

La solución se debe almacenar en frasco oscuro con tapón esmerilado.

1.4.3 Solución titulante de cloruro de sodio, 0.0141 N

Se disuelven 825.0 mg de NaCl, previamente secados a 140°C, en agua destilada, se diluye a 1 litro. 1 ml = 500 $\mu\text{g Cl}^-$.

1.4.4 Reactivos especiales para remoción de interferencias

a. Suspensión de hidróxido de aluminio

Se disuelven 125 g de sulfato aluminico potásico, $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ o sulfato de aluminio y amonio, $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ en 1 litro de agua destilada.

Se calienta la solución a 60°C y se añaden lentamente y con agitación constante 55 ml de hidróxido de amonio, NH_4OH concentrado. Se deja reposar por 1 hora, se transfiere a una botella grande y se lava el precipitado varias veces por decantación y adiciones sucesivas de agua destilada, hasta que las aguas de lavado estén exentas de cloruros.

La suspensión fresca ocupa un volumen aproximado de 1 litro.

- b. Solución de indicador de fenolftaleína
- c. Solución de hidróxido de sodio, NaOH, 1N
- d. Solución de ácido sulfúrico, H₂SO₄, 1N
- e. Peróxido de hidrógeno, H₂O₂, al 30%.

1.5 PROCEDIMIENTO

1.5.1 Pretratamiento de la muestra

El tratamiento preliminar de las muestras depende de las interferencias que se desean eliminar. Si la muestra presenta mucha coloración, se toman 100 ml, se le agregan 3 ml de suspensión de hidróxido de aluminio (numeral 1.4.4-a), se mezcla bien, se deja sedimentar y se filtra.

Si la interferencia se debe a la presencia de sulfuros, sulfitos y tiosulfatos, a 100 ml de muestra se adiciona 1 ml de peróxido de hidrógeno, H₂O₂, al 30% y se agita bien por 1 minuto.

1.5.2 Titulación

Se toman 100 ml de muestra o una alícuota diluida a 100 ml. Se ajusta el pH entre 7 y 10, adicionando NaOH 0.02N o ácido sulfúrico 0.02N según sea el pH de la muestra original, ácido o básico.

Se añade 1 ml de solución indicadora de cromato de potasio,

K_2CrO_4 y se titula con solución valorada de $AgNO_3$, hasta la aparición de un color amarillo-rojizo.

Se corre un blanco, utilizando 100 ml de agua destilada como muestra y siguiendo exactamente el mismo procedimiento indicado para la titulación. Comúnmente la titulación de este blanco consume 0.2-0.3 ml de $AgNO_3$.

1.6 CALCULOS

$$\text{mg } Cl^-/l = \frac{(A-B) \times N}{\text{Volumen de muestra}} \times 35.45 \times 10^3$$

donde :

A = volumen de $AgNO_3$ gastados en la titulación de la muestra

B = volumen de $AgNO_3$ gastados en la titulación del blanco

N = normalidad del $AgNO_3$.

2. METODO DEL NITRATO MERCURICO - FUNDAMENTO GENERAL -

El ión cloruro forma con el mercurio, Hg^{++} , cloruro mercurico, $HgCl_2$, ligeramente soluble, cuando se titula con una solución de nitrato mercurico, a un rango de pH entre 2.3 y 2.8.

La difenil-carbazona es utilizada como indicador del punto final de la ti

titulación porque forma con los iones Hg^{++} en exceso, un complejo de color púrpura. El xileno-cianol F.F. se lo utiliza como indicador de pH y a la vez para mejorar la visualización del momento de culminación de la valoración.

Si se desea aumentar el rango de cuantificación de cloruros se puede utilizar una solución titulante de nitrato mercúrico más concentrada y modificar la relación de mezcla de los indicadores.

2.1 INTERFERENCIAS

Los iones bromuro y ioduro son titulados con nitrato mercúrico junto con los cloruros. Los iones cromato, sulfito, hierro férrico, interfieren a concentraciones mayores que 10 mg/l.

2.2 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Se pueden utilizar recipientes de vidrio o plástico resistentes, bien limpios. No se requiere preservación ninguna durante el almacenamiento.

2.3 MATERIALES

2.3.1 Erlenmeyer de 250 ml

2.3.2 Microbureta de 5-10 ml con precisión de 0.01 ml

2.4 REACTIVOS

2.4.1 Solución titulante de cloruro de sodio, NaCl, 0.0141 N

Se pesan 0.825 g de NaCl, previamente secados a 140°C, se disuelven en agua destilada y se diluyen a 1 litro. 1 ml = 500 µg Cl⁻.

2.4.2 Solución de ácido nítrico, HNO₃, 0.1 N

2.4.3 Solución de hidróxido de sodio, NaOH, 0.1 N

Reactivos para la determinación de cloruros a concentraciones menores que 100 mg Cl⁻/l.

2.4.4 Solución indicadora ácida

La concentración de HNO₃ en este reactivo, es un factor importante en el buen resultado de la determinación y puede variar como se indica en los literales a y b, de acuerdo con el rango de alcalinidad de la muestra.

El reactivo a, contiene suficiente HNO₃, como para neutralizar 150 mg CaCO₃/l, en 100 ml de muestra y ajustar el pH al rango adecuado. La cantidad de HNO₃ se varía en concordancia para muestras con alcalinidades mayores que 150 mg CaCO₃/l.

- a. En 100 ml de alcohol etílico o isopropílico, se disuelven en el orden dado : 250 mg de difenil carbazona, 4.0 ml de HNO₃

concentrado, y 30 mg de xileno-cianol FF. Se almacena en frasco oscuro y se mantiene refrigerado.

Esta solución no es estable, su deterioro produce cambios lentos en el punto final dando resultados altos.

- b. Puesto que el control del pH es crítico, el ajuste de este parámetro a un valor de $\text{pH} = 2.5 \pm 0.1$ en muestras ácidas o alcalinas se realiza, mediante la adición de NaOH 0.1N o HNO_3 0.1N respectivamente, (no se debe utilizar carbonato de sodio, Na_2CO_3) utilizando un pH-metro cuyo electrodo de referencia no sea tipo cloruro.

Si el pH-metro disponible es de este tipo, se determina en 100 ml de muestra la cantidad de ácido o base necesarios para obtener el pH de 2.5 ± 0.1 y se descarta. Se toma otra porción igual de muestra y se adiciona la cantidad de ácido o base que se necesitó anteriormente para el ajuste del pH.

Si la muestra se ha tratado de acuerdo con las indicaciones del literal b, no se necesita adicionar HNO_3 a la solución indicadora.

2.4.5 Solución valorada de nitrato mercúrico, 0.0141 N

Se disuelven 2.3 g de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ o 2.5 g de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, en 100 ml de agua destilada acidulada con 0.25 ml de HNO_3 concentrado. Se

diluye a 1 litro.

Se hace una titulación preliminar en la forma como se indica en procedimiento (numeral 2.5.1). Se hacen duplicados utilizando 5 ml de solución de referencia de NaCl y 10.0 mg de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) diluïdos a 100 ml con agua destilada.

Se ajusta la solución titulante de tal manera que 1 ml = 500 $\mu\text{g Cl}^-$.

Se almacena en recipiente oscuro y se mantiene en la oscuridad.

Reactivos para concentraciones de cloruros, mayores que 100 mg/l.-

2.4.6 Solución indicadora mixta

En 75 ml de alcohol etílico o isopropílico de 95%, se disuelven 0.50 g de difenil-carbazona y 0.05 g de azul de bromofenol se diluye a 100 ml con el alcohol correspondiente de 95% .

2.4.7 Solución valorada de nitrato de mercurio concentrado, 0.141 N

Se disuelven 25.0 g de $\text{HgNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 900 ml de agua destilada acidulada con 5.0 ml de HNO_3 concentrado y se diluye a 1 litro. Se titula de acuerdo con las indicaciones dadas para la titulación de las muestras (numeral 2.5.2).

Se corren duplicados que contienen 25.0 ml de solución titulante

de NaCl y 25.0 ml de agua destilada.

Se ajusta la solución valorada de nitrato de mercurio para que sea exactamente 0.141 N. 1 ml = 5.0 mg Cl⁻.

2.5 PROCEDIMIENTO

2.5.1 Titulación de cloruros a concentraciones menores que 100 mg Cl⁻/l

Se miden 100 ml de muestra o una porción alicuota, de tal manera que el contenido en el volumen sea menor que 10 µg Cl⁻.

Se agrega 1.0 ml de solución indicadora ácida (al adicionar el indicador, la muestra toma una coloración azul verdosa. Si la coloración es verde es porque el pH es menor que 2.0, si es azul el pH es mayor que 3.8).

Las muestras de agua potable generalmente quedan con un pH entre 2.5 ± 0.1 , después de la adición del indicador.

En muestras de aguas ácidas o alcalinas se debe ajustar el pH antes de la adición del indicador.

Enseguida se titula la muestra con Hg(NO₃)₂ 0.0141N hasta obtener una coloración púrpura. La solución vira de color azul-verdoso a azul, un poco antes de obtener el punto final.

Se corre un blanco, titulando 100 ml de agua destilada a la que se han adicionado 10.0 mg de NaHCO_3 .

2.5.2 Titulación de cloruros a concentraciones mayores que 100 mg Cl^-/l

Se debe utilizar una alicuota de muestra, tal que se requieran menos de 5 ml de solución titulante de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ para obtener el punto final y se vierten en un beaker de 150 ml.

Se añaden 0.5 ml de solución indicadora mixta y se mezcla bien.

El color de la solución debe ser púrpura. Se añade gota a gota solución de HNO_3 0.1N hasta que el color vire a amarillo.

Se titula con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0.141 N hasta obtener una coloración púrpura oscura permanente.

Se corre un blanco, titulando agua destilada con el mismo procedimiento.

2.6 CALCULOS

$$\text{mg Cl}^-/l = \frac{(A-B) \times N \times 35.45}{\text{Volumen de muestra}} \times 10^3$$

donde :

A = volumen de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ gastados en la titulación de la muestra

B = volumen de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ gastados en la titulación del blanco

N = normalidad del $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$

COLOR

El término color se emplea aquí para significar el "color verdadero", esto es, el color del agua a la cual se le ha separado la turbiedad.

La expresión "color aparente" incluye no solamente el color debido a sustancias en solución sino también el originado por materias en suspensión. El color aparente se determina en la muestra original sin centrifugarla o filtrarla.

1 COLORIMETRIA VISUAL - FUNDAMENTO GENERAL

La determinación del color se basa en la comparación de la muestra con soluciones coloreadas de concentración conocida. La comparación puede hacerse también con discos coloreados de vidrio especial siempre y cuando éstos hayan sido adecuadamente calibrados. El método que emplea la escala de platino-cobalto para la medición del color es el aceptado como método normativo. En él la unidad de color es la producida por 1 miligramo de platino - en forma de ión cloroplatinato, por litro de solución. La proporción de cobalto puede cambiar en algunos casos para poder igualar el matiz de ciertas aguas. La proporción que se indica más adelante es comúnmente satisfactoria pa

ra hallar el color de las aguas naturales.

2 INTERFERENCIA

Aún una pequeña turbiedad ocasiona una coloración aparente considerablemente más alta que la coloración real, en consecuencia, antes de determinar el color verdadero por el procedimiento aquí descrito, es necesario eliminar la turbiedad.

El método recomendado para la eliminación de la turbiedad es la centrifugación, la filtración no debe emplearse porque puede quitar algo del color verdadero además de la turbiedad.

3 RECOLECCION DE LA MUESTRA

Las muestras para la investigación del color han de ser bien representativas de la fuente, y se deben tomar en recipientes muy limpios. La determinación del color debe realizarse dentro de un período de tiempo razonable ya que la demora en hacerlo puede dar lugar a que se verifiquen en la muestra fenómenos biológicos que afectan su color.

4 EQUIPOS

Una serie de tubos de Nessler, equiparados, de 50 ml, de forma alta.

5 PREPARACION DE LOS TESTIGOS

Disolver 1.246 g de cloroplatinato de potasio, K_2PtCl_6 , y 1 g de cloruro cobaltoso cristalizado, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, en un poco de agua destilada a la cual se añaden 100 ml de ácido clorhídrico, HCl, concentrado.

Mezclar bien y diluir a 1 litro con agua destilada. Homogenizar la mezcla. Esta solución corresponde a 500 unidades de color. A partir de este patrón preparar testigos que tengan colores de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 45, 50, 60 y 70 unidades de color, agregando mediante pipeta volumétrica, a tubos de Nessler debidamente rotulados, el volumen necesario de la solución madre de platino-cobalto para obtener, en cada caso, 50 ml de solución testigo. Luego completar a los 50 ml con agua destilada y homogenizar la mezcla.

6 PROCEDIMIENTO PARA LA COMPARACION DEL COLOR

Llenar uno de los tubos de Nessler de la serie, hasta la marca de los 50 ml, con el agua que se va a examinar y compararla con los testigos en cuanto a color. Para el efecto mirar verticalmente hacia abajo a través de los tubos contra una superficie blanca o especular colocada en tal posición que refleje la luz hacia arriba a través de las columnas de líquido. Si la turbiedad está presente y no ha sido eliminada, se informa el color como "color aparente". Si el color excede de 70 unidades, se diluye la muestra con agua destilada en proporción adecuada hasta que su color quede dentro de la concentración de color de los

testigos, y se multiplica el resultado por el factor de dilución apropiado.

Para determinar el color verdadero si la muestra está turbia, se coloca primero la muestra en uno o más tubos de centrifuga convenientes y se centrifuga hasta que el sobrenadante aparezca transparente. El tiempo de centrifugación requerido depende de la naturaleza de la muestra, de la velocidad a que se centrifugue y del radio del aparato. Se transfiere el centrifugado claro al tubo de Nessler, llenándolo hasta la marca de 50 ml, y se busca la solución testigo con la cual la muestra iguale o se asemeje más en color.

Los resultados de las determinaciones del color se expresan en unidades aproximando en la siguiente forma :

Unidades de color	Se aproxima
1 a 50	a la unidad más cercana
51 a 100	al múltiplo de 5 más cercano
101 a 250	al múltiplo de 10 más cercano
251 a 500	al múltiplo de 20 más cercano

7 METODO DEL AQUA-TESTER DE HELLIGE

7.1 PRINCIPIO

Básicamente es un colorímetro visual, donde el color de la muestra

se compara con el color de unos discos de vidrio previamente calibrados.

Consiste de una caja metálica que tiene en su interior una fuente de luz constante, y dos tubos de Nessler de idénticas características apoyados en un vidrio especial que actúa como filtro de luz. Un disco que aloja vidrios coloreados de acuerdo con la escala estándar de platino-cobalto, puede girar en la parte superior de la caja en forma tal que un filtro de vidrio central esté en la vía de los rayos luminosos que atraviesan la muestra, y los vidrios periféricos coloreados estén en la vía de los rayos luminosos que atraviesan el agua destilada.

Un sistema de prismas permite yuxtaponer media imagen de cada uno de los tubos de Nessler sobre un mismo ocular facilitando la comparación.

7.2 PROCEDIMIENTO

En el tubo Nessler del lado izquierdo se pone agua destilada en la cantidad apropiada y en el de la derecha la muestra por analizar previamente centrifugada si es del caso. Se compara el color de la muestra con el del disco haciéndolo girar hasta lograr en el campo visual colores similares. Se anota entonces la cifra en unidades de color.

CONDUCTANCIA

1 CONSIDERACIONES GENERALES

La conductividad es una expresión numérica de la capacidad de una solución acuosa para transportar la corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la existencia en el agua de sales solubles, presentes en forma de iones, de la concentración total de estas sales, de su movilidad, estado de valencia y de la temperatura a la cual se hace la medición.

Por regla general, las soluciones acuosas que contienen sales, ácidos y bases de origen inorgánico son buenas conductoras de la corriente eléctrica. Por el contrario, soluciones acuosas de compuestos orgánicos la conducen muy pobremente.

A nivel de laboratorio, lo que realmente se determina es la resistencia, la cual se expresa en ohmios. La resistencia de un conductor es inversamente proporcional a su sección transversal y directamente proporcional a su longitud. Por lo tanto la magnitud de la resistencia en una solución acuosa, depende de las características de la celda de conductividad usada y no es significativa si no se conocen es

tas características.

Se define la resistencia específica como la resistencia de un cubo de 1 cm de lado. En soluciones acuosas estas medidas son laboriosas, a causa de la dificultad de fabricación de los electrodos.

En la práctica el electrodo mide una fracción dada de la resistencia específica y representa la constante de la celda, C :

$$C = \frac{\text{Resistencia medida } (R_m)}{\text{Resistencia específica } (R_s)}$$

La conductancia es el recíproco de la resistencia, mide la capacidad de conducción de la corriente eléctrica y se expresa en mhos o μmhos . En análisis de agua la unidad más conveniente es μmhos y los resultados se expresan en $\mu\text{mhos/cm}$ o en milisiemens (mS) por metro, mS/m, unidades internacionales (SI), $1 \text{ mS/m} = 10 \mu\text{mhos/cm}$.

El agua recién destilada, presenta una conductividad entre 0.5-2.0 $\mu\text{mhos/cm}$ o 0.05-0.2 mS/m. Después de unas pocas semanas de almacenamiento esta conductividad aumenta debido principalmente a la absorción de bióxido de carbono atmosférico y en menor extensión a la de amoníaco.

La conductividad del agua potable, varía dependiendo de la fuente de suministro, las aguas subterráneas poseen una alta concentración de

sales, lo que hace que tengan una conductancia específica alta, las aguas superficiales son menos cargadas en iones solubles y presentan una conductividad menor, de hecho, el agua de mar posee alta conductividad.

Las mediciones continuas de conductividad son usadas en tuberías, canales, corrientes y lagos. Los equipos se instalan en estaciones de vigilancia acoplados a registradores continuos, estos sistemas son eficientes si se les hace mantenimiento continuo, evitando en todo momento la obstrucción del electrodo por recubrimiento con suciedad que imposibilita la adecuada circulación de la muestra en el sensor.

En el laboratorio las medidas de conductividad pueden ser utilizadas con múltiples fines :

- . Establecer el grado de mineralización de un agua, para determinar el efecto de la concentración iónica total sobre los equilibrios químicos, efectos fisiológicos en plantas y animales, tasas de corrosión, etc.
- : Determinar el grado de mineralización del agua destilada y el agua desionizada.
- . Evaluar las variaciones en sales minerales disueltas de aguas crudas y aguas residuales. Las aguas de reservorio presentan menos variaciones estacionarias, las aguas de ríos polifásicas generalmente

presentan grandes fluctuaciones diarias.

- . Calcular el tamaño de las muestras para análisis químicos comunes y controlar el resultado de los mismos.
- . Determinar la cantidad de reactivos químicos necesarios en algunas reacciones de precipitación y neutralización. El punto final estará dado por un brusco cambio en la pendiente de la curva resultante al graficar conductividad contra volumen de reactivo adicionado.
- . Calcular el residuo filtrable, multiplicando la conductividad (expresada en $\mu\text{mhos/cm}$) por un factor empírico. Este factor puede variar entre 0.55 y 0.90, dependiendo de los compuestos solubles de la muestra y de la temperatura del agua. Las aguas salinas y aguas de caldera generalmente tienen un factor alto, mientras que soluciones ácidas o básicas presentan valores de factor bajos.

Cuando se trabaja con la misma agua por ejemplo en una planta de tratamiento, es fácil hallar el factor multiplicador, basta determinar varias veces, a la misma muestra, la conductividad y los sólidos disueltos, después de unos 20 análisis es posible determinar el valor promedio y no será necesario entonces realizar análisis rutinarios de sólidos disueltos, bastará con determinar la conductancia. Lógicamente el factor debe ser controlado esporádicamente para comprobar que las relaciones se mantienen.

2 EQUIPOS

2.1 INSTRUMENTO DE CONDUCTIVIDAD AUTO-RETENIDO

Usar un equipo consistente de una fuente de corriente alterna, un puente de Wheaststone, un indicador nulo y una celda de conductividad. Este equipo tiene la ventaja de dar lecturas lineales de conductividad. El instrumento elegido debe ser capaz de medir la conductividad con un error no mayor del 1% o 1 $\mu\text{mhos/cm}$.

2.2 TERMOMETRO

Con una precisión de 0.1°C y que cubra el rango de 23°C - 27°C.

2.3 CELDA DE CONDUCTIVIDAD

2.3.1 Celda tipo electrodo de platino

Las celdas de conductividad que tienen electrodo platinizado se encuentran en forma de pipeta o de electrodo de inmersión. La elección de la clase de celda depende del rango de conductividad esperado y del rango de resistencia del equipo utilizado.

Para verificar el correcto funcionamiento del sistema, se preparan soluciones de cloruro de potasio, KCl de concentraciones conocidas y se compara la lectura contra la conductividad que debe tener la solución de referencia. La Tabla No.4 recopila los datos de conductividad y conductividad equivalente para diferentes con

centraciones de KCl a 25°C.

Las celdas nuevas deben limpiarse, con una mezcla sulfo-crómica y el electrodo debe ser platinizado antes de su uso. La limpieza y el re-platinizado de la celda deben realizarse cuando el equipo empieza a dar lecturas erráticas o cuando la capa de negro de platino de la celda se haya deteriorado.

Platinizado de la celda.- Se prepara una solución de 1 g de ácido cloroplatínico, $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ y 12 mg de acetato de plomo en 100 ml de agua destilada. Se sumergen los electrodos en esta solución y se conectan ambos cables al terminal negativo de una batería seca de 1.5 voltios. El terminal positivo de la batería se conecta a un alambre de platino y se sumerge en la solución. Se utiliza la cantidad de corriente adecuada para producir una pequeña cantidad de gas, el platinizado se continúa hasta que ambos electrodos estén recubiertos de negro de platino, se lavan muy bien los electrodos y cuando no estén en uso se deben mantener sumergidos en agua destilada.

NOTA: La solución planitizadora se puede guardar para posteriores usos.

2.3.2 Celda tipo electrodo diferente al platino

Para control continuo de conductividad o para estudios de campo se

pueden utilizar celdas de conductividad con electrodos contrufdos de metales durables (como acero inoxidable u otros). Estas celdas se calibran por comparación de los resultados de conductividad, obtenidos en una muestra, con las lecturas encontradas para esas mismas muestras en el laboratorio.

3 REACTIVOS

3.1 AGUA SIN CONDUCTIVIDAD

Se pasa agua destilada a través de un deionizador. Se descarta el primer litro. La conductividad de esta agua debe ser menor que $1 \mu\text{mhos/cm}$ o 0.1 mS/m .

3.2 SOLUCION DE REFERENCIA DE KCl, 0.0100 N

Se disuelven en 1 litro de agua sin conductividad a 25°C , 745.6 mg de KCl anhidro. La solución se almacena en botellas de vidrio de borosilicato con tapa esmerilada.

Cuando la constante de la celda está entre 1 y 2, se puede usar esta solución de referencia que a 25°C presenta una conductividad de $1413 \mu\text{mhos/cm}$.

Para celdas con constantes diferentes a las anteriores, se deben utilizar soluciones de KCl más concentradas a menos concentradas según sea el caso. (Véase Tabla No.5).

TABLA No.5 CONDUCTIVIDAD DE SOLUCIONES DE KCl a 25°C*

CONCENTRACION N	CONDUCTIVIDAD EQUIVALENTE mhos/cm/equiv	CONDUCTIVIDAD μ mhos/cm
0.	149.85	-
0.0001	149.43	14.94
0.0005	147.81	73.90
0.001	146.95	147.0
0.005	143.55	717.8
0.01	141.27	1413
0.02	138.34	2767
0.05	133.37	6668
0.1	128.96	12900
0.2	124.08	24820
0.5	117.27	58640
1	111.87	111900

* Datos tomados de Robinson & Stokes.

4 PROCEDIMIENTO

4.1 DETERMINACION DE LA CONSTANTE DE LA CELDA

Se lava la celda de conductividad, al menos con 3 porciones de solución de KCl 0.0100 N, se toman unos 100-250 ml de solución y se ajusta la temperatura a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, se mide la resistencia de la muestra y se anota la temperatura. La constante, C, de la celda se calcula de la manera siguiente :

$$C = (0.001413) (R_{\text{KCl}}) [1 + 0.0191 (t - 25)]$$

donde :

R_{KCl} = Resistencia medida en ohms

t = temperatura de la muestra en $^{\circ}\text{C}$

4.2 MEDIDAS DE CONDUCTIVIDAD

Se lava la celda con varias porciones de la muestra, se toman unos 100-250 mls de muestra, se ajusta la temperatura a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, se mide la resistencia o la conductividad y se anota la temperatura.

5 CALCULOS

El coeficiente de temperatura de la mayoría de aguas es aproximadamente igual al de la solución de referencia de KCl. Entre mayor sea la

desviación de la temperatura de la muestra de agua de 25.0°C, mayor será la incertidumbre al aplicar la corrección de temperatura. Las lecturas de conductividad deben ser informadas a 25.0°C.

5.1 MEDIDA DE RESISTENCIA

Cuando se mide resistencia, la conductancia a 25.0°C es :

$$K = \frac{C \times 10^6}{R_m [1 + 0.0191 (t - 25)]}$$

donde :

K = conductividad $\mu\text{mhos/cm}$

C = constante de la celda, cm^{-1}

R_m = Resistencia de la muestra, medida en ohms

t = temperatura de la muestra, °C.

NOTA: Si se lee la resistencia en μohms , no se multiplica por 10^6 .

5.2 MEDIDA DE CONDUCTIVIDAD

Cuando se mide la conductividad de la muestra, el resultado a 25°C será :

$$K = \frac{K_m C \times 10^6}{1 + 0.0191 (t - 25)}$$

donde :

K_m = conductividad medida en mhos

t = temperatura de la muestra, °C.

NOTA: K y C tienen igual significado que en el numeral 5.1.

Si se lee la conductancia en $\mu\text{mhos/cm}$, no se multiplica por 10^6 .

DUREZA TOTAL

La dureza de un agua está representada por la presencia en ella de cationes divalentes, M^{++} , como calcio, magnesio, hierro (II), manganeso (II), cobre (II), etc. Sin embargo por razón de mayores concentraciones de los iones Ca^{++} y Mg^{++} en relación con los demás, corrientemente se la define como la suma de estos 2 cationes, expresada en $mg\ CaCO_3/l$.

1 METODO COMPLEXOMETRICO DEL EDTA - FUNDAMENTO GENERAL

El ácido etilen-diamino.tetra-acético y sus sales disódicas, EDTA, forman quelatos solubles, poco disociados, cuando se adicionan a una solución que contiene cationes divalentes como Ca^{++} y Mg^{++} . Para detectar el punto final de la titulación se utiliza el colorante negro de eriocromo-T, el cual tiene la propiedad de formar con los iones calcio y magnesio un complejo de color rojo vino tinto, menos estable que el complejo que forma el EDTA con estos mismos iones. Al desaparecer de la solución acuosa los iones libres de Ca^{++} y Mg^{++} que originan la dureza, el complejo de color rojo vino tinto cede los iones calcio y magnesio al EDTA, quedando libre el colorante negro de eriocromo-T, de color azul.

La precisión del virage mejora cuando aumenta el pH, pero este debe

ser controlado para evitar que se precipite el CaCO_3 y el Mg(OH)_2 .

Para reducir la tendencia de precipitación del carbonato de calcio, se aconseja un tiempo límite de 5 minutos de duración de la titulación.

2 INTERFERENCIAS

Algunos iones metálicos interfieren, produciendo desvanecimiento en la coloración o enmascarando el punto final, estas interferencias se reducen, adicionando ciertos inhibidores antes de la titulación.

La materia orgánica suspendida o coloidal también interfiere con el método, se elimina evaporando la muestra a sequedad en un baño de vapor y calcinando en una mufla a 550°C para oxidar la materia orgánica. El residuo de la calcinación se disuelve con 20 ml de HCl 1N, se neutraliza a $\text{pH} = 7.0$ con NaOH 1N y se completa a 50 ml con agua destilada, se enfría a temperatura ambiente y se continúa de acuerdo con las instrucciones dadas en el procedimiento (numeral 6.1).

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Se almacena en recipiente de vidrio o de plástico a 4°C por un tiempo máximo de 7 días.

4 MATERIALES

- 4.1 Bureta de 50 ml con su soporte
- 4.2 Erlenmeyer de 250 ml
- 4.3 Pipetas volumétricas de 50.0, 10.0, 5.0 y 1.0 ml
- 4.4 Cucharilla de 0.2-0.3 g de capacidad.

5 REACTIVOS

5.1 SOLUCION AMORTIGUADORA

Se pesan 0.644 g de cloruro de magnesio, $MgCl_2$ o 0.780 g de sulfato de magnesio, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y 1.179 g de sal disódica de EDTA y se disuelven en 50 ml de agua destilada.

Se pesan 16.9 g de cloruro de amonio, NH_4Cl y se diluye en 143 ml de hidróxido de amonio, NH_4OH , se mezclan bien las dos soluciones y se diluyen a 250 ml. Se almacena el reactivo en un frasco herméticamente cerrado para evitar la pérdida de NH_3 o la absorción de CO_2 .

Después de 1 mes la solución se ~~debe descartar.~~

5.2 INDICADOR NEGRO DE ERIOCROMO T

Se pesan 0.5 g de colorante negro de eriocromo-T, y se mezclan muy bien en un mortero de vidrio con 100 g de NaCl, previamente secado a 100°C.

Se debe guardar en recipiente de vidrio bien tapado y colocar en lugar seco, para evitar el deterioro del reactivo por la humedad.

5.3 SOLUCION VALORADA DE EDTA, 0.01 M (0.02N)

Se pesan 3.723 g de sal disódica del EDTA, se disuelven en un poco de agua destilada y se diluye a 1 litro. Se titula contra una solución patrón de carbonato de calcio como se indica en el numeral 6.1 de procedimiento.

Se almacena preferiblemente en recipiente de polietileno o vidrio de borosilicato. Se comprueba periódicamente la concentración.

5.4 SOLUCION PATRON DE CARBONATO DE CALCIO

Se pesan 1.0000 g, exacto de carbonato de calcio, CaCO_3 anhidro, calidad analítica (patrón primario) y se pasa a un erlenmeyer de 500 ml. Se coloca en el cuello del matraz un embudo y se agrega poco a poco HCl 1+1, hasta que todo el CaCO_3 se haya disuelto. Se agregan 200 ml de agua destilada y se hierve durante unos minutos para expeler el CO_2 . Se enfría, se adicionan unas pocas gotas de indicador

rojo de metilo y se agrega gota a gota HCl 1+1 o NH_4OH 3N hasta obtener un virage de color naranja mediano. Se transfiere a un balón aforado de 1 litro y se completa a la marca con agua destilada.

5.5 HIDROXIDO DE SODIO 0.1N

Se disuelven 20.0 g de NaOH en 500 ml de agua destilada.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 MUESTRAS CON MEDIANO A ALTO CONTENIDO DE DUREZA

Se toman 50.0 ml de la muestra o una porción alicuota diluida a 50.0 ml de tal manera que no se requieran más de 15 ml de solución titulante de EDTA y que el tiempo invertido en la titulación no sea superior a 5 minutos, contados a partir de la adición de la solución buffer.

Se añade una medida del indicador sólido, negro de eriocromo-T y se titula con la solución de EDTA, agitando continuamente hasta que el color rojizo desaparezca. Las últimas gotas de EDTA se adicionan a intervalos de 3-5 segundos hasta que la solución vire a color azul.

6.2 MUESTRAS CON BAJO CONTENIDO DE DUREZA

Para muestras con bajo contenido de dureza, como efluentes de intercambiadores iónicos, agua destilada y aguas suavizadas por cualquier

otro método o aguas superficiales con bajas concentraciones de calcio y magnesio, se debe tomar un volumen mayor de muestra, entre 500-1000 ml. La cantidad de solución buffer e indicador se aumentan proporcionalmente.

La solución titulante de EDTA se adiciona lentamente desde una microbureta. Se debe correr un blanco utilizando el mismo volumen de agua desmineralizada, o redestilada e idénticas cantidades de solución buffer e indicador usados en la muestra.

Para los cálculos de la dureza se resta del volumen de EDTA gastado en la titulación de la muestra el volumen de EDTA gastado en el blanco.

7 CALCULOS

$$\text{mg CaCO}_3/\text{l} = \frac{A \times B}{\text{Volumen de muestra}} \times 1000$$

donde :

A = ml de EDTA gastados en la titulación

B = título del EDTA o sea mg CaCO₃ equivalentes a 1 ml de EDTA.

DUREZA CALCICA

Como su nombre lo indica la dureza cálcica es la parte de la dureza total ocasionada por la presencia en el agua de iones de calcio.

Existen 3 métodos para determinación de calcio en el agua, la espectroscopia de absorción atómica, titulación con permanganato y titulación con EDTA. Este último método es el más utilizado rutinariamente por su simplicidad.

1 METODO TITRIMETRICO DEL EDTA - FUNDAMENTO GENERAL

El calcio puede cuantificarse con EDTA en aguas que contienen calcio y magnesio, si el pH se mantiene suficientemente alto, por encima de 12.0, para precipitar el magnesio como $Mg(OH)_2$ y en presencia de un indicador selectivo a la presencia de iones de calcio.

2 INTERFERENCIAS

Los siguientes iones interfieren a las condiciones de la prueba, a concentraciones mayores que las estipuladas a continuación :

2 mg Cu^{++} /l, 20 mg Fe^{++} /l, 20 mg Fe^{+++} /l, 10 mg Mn/l, 5 mg Zn/l,

5 mg Al/l, 5 mg Ti/l.

Los ortofosfatos, al pH que se realiza el análisis, precipitan como ortofosfatos de calcio; la alcalinidad a concentraciones mayores que 300 mg CaCO₃/l interfiere enmascarando el punto final.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

La muestra se almacena en recipiente de vidrio o plástico y se guarda a 4°C. Máximo tiempo de almacenamiento 7 días.

4 MATERIALES

4.1 Bureta de 50 ml y su respectivo soporte

4.2 Erlenmeyer de 250 ml

4.3 Pipetas de 50, 20, 10, 5, 1 ml

4.4 Cucharilla de 0.2-0.3 g de capacidad.

5 REACTIVOS

5.1 SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO, 1N

Se disuelven 20.0 g de NaOH en 500 ml de agua destilada.

5.2 SOLUCION VALORADA DE EDTA, 0.01 M

Se utiliza la misma solución preparada y titulada para la determinación de la dureza total.

5.3 INDICADOR MUREXIDA (PURPURATE DE AMONIO)

Se puede preparar sólido o en solución. El sólido es más estable.

5.3.1 Se disuelven 200.0 mg del colorante y se mezclan muy bien en un mortero, con 100.0 g de NaCl, tamiz 40-50 mallas, secado a 105°C.

5.3.2 Se disuelven 150.0 mg del colorante en 100.0 g de etilen-glicol absoluto.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 PREPARACION DE LA MUESTRA

Debido al alto pH usado, en este procedimiento, la muestra se debe titular inmediatamente después de adicionar el álcali y el indicador.

Se mide un volumen de 50.0 ml de muestra o una porción alicuota diluída a 50.0, de tal manera que el contenido de calcio esté entre 5 y 10 mg en el volumen de muestra tomado. Si el agua a analizar es dura y presenta una alcalinidad mayor que 300 mg CaCO₃/l, se debe hacer una dilución de una alicuota a 50.0 ml o neutralizar la alcali

nidad con ácido, hirviendo la muestra por 1 minuto y enfriando antes de comenzar la titulación.

6.2 TITULACION CON EDTA

A la muestra preparada de acuerdo con el numeral 6.1 se agregan 2.0 ml de solución de NaOH o el volumen suficiente para llevar el pH entre 12 y 13. Se agita muy bien.

Se adiciona una medida del indicador sólido (o 1 ó 2 gotas de la solución indicadora). La muestra se torna de color rosado.

Se titula lentamente con EDTA, agitando continuamente hasta el viraje del indicador a un color púrpura.

7 CALCULOS

$$7.1 \quad \text{Dureza Cálctica - mg CaCO}_3/\text{l} = \frac{A \times B}{\text{Volumen de muestra}} \times 1000$$

$$7.2 \quad \text{mg Ca}^{++}/\text{l} = \frac{A \times B}{\text{Volumen de muestra}} \times 400.8$$

donde :

A = ml de EDTA gastados en la titulación

B = título del EDTA (mg CaCO₃/ml de EDTA)

También se pueden hacer los cálculos utilizando la normalidad de la solución titulante EDTA :

$$\text{mg CaCO}_3/\text{l} = \frac{A \times N}{B} \times 50 \times 10^3$$

donde :

A = ml de EDTA consumidos en la titulación

N = normalidad del EDTA

B = volumen de muestra tomado

NOTA: La dureza magnésica se determina por sustracción de la dureza cálcica, expresada como mg CaCO₃/l, de la dureza total.

$$\text{Dureza Mg}^{++} = \text{Dureza total} - \text{Dureza Ca}^{++}$$

$$\text{mg Mg}^{++}/\text{l} = \text{Dureza Mg}^{++} \times 0.243$$

FLUORUROS

1 METODO ESPECTROFOTOMETRICO DE SPANDS - FUNDAMENTO GENERAL

El análisis de fluoruro en el agua se relaciona con la determinación de la cantidad del ión fluoruro presente en la solución, independiente de la fuente de tal ión. Es posible que el ión fluoruro provenga de compuestos de fluoruro que se encuentren en el agua en forma natural, o de los compuestos agregados al agua. No hay un método que permita distinguir un fluoruro de otro.

En general, los mejores métodos analíticos para la determinación del fluoruro en el agua son los métodos colorimétricos. Estos métodos son sensibles a cantidades mínimas de fluoruro y se aplican con facilidad.

La base de un buen método analítico colorimétrico, es la formación de un color que revelará la cantidad del compuesto investigado. Se necesita por lo tanto disponer de un reactivo que forme un color cuando se agregue a una muestra, la intensidad de este color indica la concentración del ión presente.

El método de SPANDS se basa en la reacción entre el reactivo Spands (disulfonato de sodio 2-(p-sulfofenilazo)-1.8-dihidroxi-3.6-naftaleno) y el circonio en presencia de una apreciable concentración de ácido formando una taca de color rojo intenso. El fluoruro presente en la muestra elimina parte del circonio de la reacción, disminuyendo la intensidad del color. Este método es muy conveniente debido a que su reacción es instantánea y, en consecuencia, las muestras pueden leerse inmediatamente después de que se agregan los reactivos.

La velocidad de la reacción entre los iones de fluoruro y el circonio, se ve influenciada enormemente por la acidez de la mezcla de reacción. Aumentando la proporción del ácido en el reactivo la reacción puede hacerse instantánea. El método tiene una sensibilidad de 0.05 mg F⁻/l si se sigue minuciosamente el procedimiento.

2 INTERFERENCIAS

En la Tabla No.6 se enumeran los efectos de interferencia que normalmente están presentes en el agua. Dichas interferencias pueden manejarse de diferentes formas pero la más segura es destilar la muestra.

Como se indica en la Tabla el método de SPANDS no es tan tolerante a los SO₄⁼, pero es resistente a los efectos de la alcalinidad y de los cloruros.

TABLA No. 6

PARAMETRO	SPANDS
Alcalinidad	5.000 (-)
Al ⁺³	0.1 (-)
Cl ⁻	7.000 (-)
Fe ⁺³	10 (-)
(NaPO ₃) ₆	1.0 (+)
PO ₄ ⁻³	16 (+)
SO ₄ ⁼	200 (+)
Cloro	Debe eliminarse completamente con arsenito.
Color y turbidez	Deben eliminarse o compensarse.

3 EQUIPO

Espectrofotómetro para utilizarlo a $\lambda = 570$ nm, con celda de trayectoria de luz de 1 cm.

4 REACTIVOS

4.1 SOLUCION NORMAL DE FLUORURO DE SODIO

Se disuelven 0.2210 g de NaF en 1 litro de agua destilada.

(1 ml = 0.1 mg F⁻).

4.2 SOLUCION DE SPANDS

Se disuelven 0.958 g de SPANDS (disulfonato de sodio 2-(p-sulfofenilazo)-1,8-dihidroxi-3,6-naftaleno) en agua destilada y se afora a 500 ml. Esta solución es estable indefinidamente si se protege de la luz solar.

4.3 SOLUCION DE OXICLORURO DE CIRCONIO

Se disuelven 0.133 g de $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ en aproximadamente 25 ml de agua destilada, se agregan 350 ml de HCl concentrado y se diluye a 500 ml con agua destilada. Pueden mezclarse volúmenes iguales de solución SPANDS y de oxiclорuro de circonio, para producir un sólo reactivo. La mezcla es estable al menos por 2 años.

4.4 SOLUCION DE REFERENCIA

Se agregan 10 ml de solución SPANDS a 100 ml de agua destilada. Se diluyen 7 ml de HCl concentrado a 10 ml y se agrega a la primera muestra. La solución resultante se utiliza para establecer el punto de referencia (cero) del espectrofotómetro. Esta solución es estable y puede usarse indefinidamente.

4.5 SOLUCION DE ARSENITO DE SODIO

Aproximadamente 0.1N. Se disuelven 5.0 g de $NaAsO_2$ en 1 litro de agua destilada.

5 PROCEDIMIENTO

Se preparan una serie de patrones dentro de un rango de 0.00 a 1.40 $\mu\text{g/ml}$, en la forma que se indicará más adelante, con el fin de elaborar una curva de calibración de %T vs $\mu\text{g/ml}$. Al analizar la muestra se adicionan los reactivos y se mide la transmitancia en la misma forma que para los patrones; se lee en la curva de calibración la concentración correspondiente a dicha muestra.

5.1 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Se preparan una serie de patrones pipeteando las cantidades calculadas de la solución madre de fluoruro para llevar a un volumen final de 50 ml con agua destilada; el rango debe estar entre 0.0 y 1.40 $\mu\text{g F}^-/\text{ml}$. Se agregan 5 ml de la solución de circonio y 5 ml de solución SPANDS o 10 ml del reactivo mezclado a los patrones y se mezclan bien. Se ajusta el espectrofotómetro a 100 %T con la solución de referencia, y se toma de inmediato las lecturas de % transmitancia de los patrones. Se hace la gráfica de la curva de %T versus $\mu\text{g F}^-$ en 50 ml.

5.2 PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Si la muestra contiene cloro, se elimina agregando 1 gota de solución de arsenito por cada 0.1 mg de Cl_2 . Cuando el análisis de una muestra no se conoce y se presentan dudas sobre las posibles interferencias, se debe destilar (numeral 5.4).

5.3 ANALISIS DE LA MUESTRA

Utilice 50 ml de la muestra o una alícuota diluida a ese volumen. Se agregan 5 ml de cada una de las soluciones, SPANDS y de oxiclورو de circonio, o bien, 10 ml del reactivo combinado. Se mezcla y se toman las medidas de %T, estableciendo como primera medida el punto de referencia del espectrofotómetro, como antes se indicó. Si la transmitancia queda fuera del margen de la curva normal, el procedimiento se debe repetir con una alícuota de la muestra diluida a 50 ml.

Se calculan los $\mu\text{g F}^-/\text{ml}$ en la curva de calibración.

5.4 DESTILACION DIRECTA PARA ELIMINAR INTERFERENCIAS

La destilación se debe realizar en la forma siguiente :

- 5.4.1 Se prepara el alambique vertiendo en el matraz 400 ml de agua destilada, unas cuantas perlas de vidrio o trozos de porcelana y 200 ml de ácido sulfúrico concentrado. El ácido se agrega lentamente enfriando la muestra al grifo o sobre hielo y se mezcla con especial esmero. Una vez agregado el ácido, se agita de nuevo la mezcla para homogenizarla bien.
- 5.4.2 Se conecta el aparato como se indica en la Figura No.2 y se empieza a calentar suavemente. Si se presenta una ebullición tumultuosa, el ácido y el agua no han sido mezclados suficientemente. Después

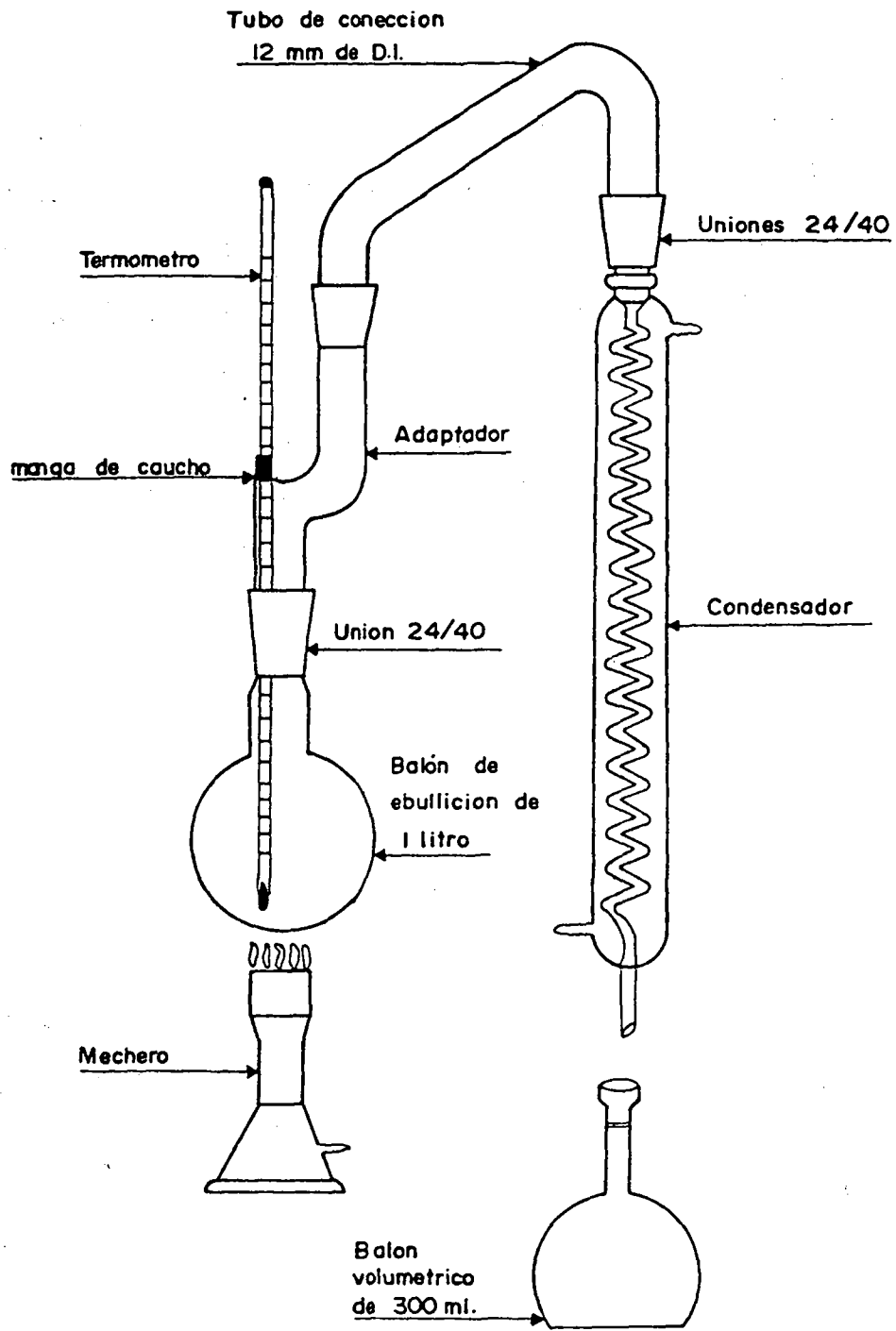


Figura No 2 EQUIPO PARA DESTILACION DE FLUORUROS

de iniciada la ebullición se aumenta el calentamiento siempre que la refrigeración sea suficiente para producir un destilado frío.

5.4.3 Se sigue calentando hasta que la temperatura llegue a 180°C, e inmediatamente se interrumpe el vacío aflojando la unión de cristal esmerilado situada en el tope del condensador. Si no se hace así, el vacío producido por el enfriamiento del matraz de destilación, provocará que el destilado aprisionado en el condensador refluya al matraz y por lo tanto salpique.

5.4.4 Se deja enfriar el matraz hasta que la temperatura descienda a 120°C o menos. Se vierten en el matraz 300 ml de la muestra. Se homogeniza bien.

5.4.5 Se destila la muestra como se hizo anteriormente hasta que la temperatura llegue a 180°C y se interrumpe inmediatamente el vacío conforme se describió en el numeral 5.4.3. Se conserva el destilado para las comprobaciones colorimétricas.

El proceso de destilación se debe realizar con particular cuidado, puesto que hay varias fuentes posibles de error y se pueden presentar muchas dificultades :

. La llama situada debajo del matraz de destilación nunca debe tocar las paredes del mismo por encima del nivel del líquido, el sobrecalentamiento del vapor produce un elevado arrastre de sul

fatos, los cuales interfieren en el análisis.

- . Los tapones y juntas esmeriladas deben quedar bien ajustados para evitar pérdida de fluoruros. No se debe permitir la ebullición tumultuosa del contenido del matraz, asegurando una buena homogenización.
- . Se detiene la destilación cuando la temperatura llegue a 180°C. Temperaturas mayores dan por resultado un arrastre excesivo de sulfatos como se dijo antes.
- . Cuando las muestras tienen alto contenido de fluoruro, se debe agregar sulfato de plata.
- . Cuando se destilan muestras con alto contenido de fluoruro, se debe repetir la destilación utilizando 300 ml de agua destilada. Los análisis del destilado indicarán cuan completa ha sido la recuperación del fluoruro. Si se encuentran concentraciones altas de fluoruros, en la segunda destilación, se mezcla con el destilado inicial y se analiza de nuevo. Pueden despreciarse concentraciones menores que $0.1 \mu\text{g F}^-/\text{ml}$.
- . Debido a la simplicidad del equipo y del procedimiento la técnica puede ser fácilmente automatizada. Las modificaciones comprenden un agitador magnético y un termostato que interrumpa el calor cuando se ha alcanzado la temperatura indicada.

6 CALCULOS

6.1 Se grafica en papel semilog, la curva normal de $\mu\text{g F}^-$ en 50 ml vs %T o en papel milimetrado $\mu\text{g F}^-$ en 50 ml vs absorbancia.

6.2 Se calculan los $\mu\text{g F}^-/\text{ml}$ de la forma siguiente :

$$\mu\text{g F}^-/\text{ml} = \frac{A}{B} \times F$$

donde :

A = $\mu\text{g de F}^-$, determinados a partir de la curva de calibración o de la ecuación de regresión.

B = volumen total de muestra (60 ml)

F = factor de dilución.

FOSFORO

Existen varios métodos para la cuantificación del fósforo de ortofosfatos presente en las aguas. La selección del método depende de la disponibilidad de equipo y reactivos y de la sensibilidad que se desea.

En este manual se presentan 2 métodos sencillos para el análisis de los fosfatos, cualquiera de ellos es suficientemente sensible para la cuantificación de este anión en agua potable.

1 METODO DEL CLORURO ESTANNOSO - FUNDAMENTO GENERAL

El método de reducción del cloruro estannoso, se basa en la reacción del ión fosfato con el molibdato de amonio en un medio ácido para formar un complejo, el ácido fosfomolibdico, que se reduce a otro complejo intensamente coloreado, el azul de molibdeno, por acción del cloruro estannoso. La reacción no es instantánea ni el color azul desarrollado es estable por mucho tiempo.

Este método sirve para la determinación de los ortofosfatos los cuales representan la forma más común en que el fósforo se halla en las aguas y la única derivada de fuentes naturales. Los ortofosfatos incluyen

Los tres productos de ionización del ácido fosfórico, H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} y PO_4^{3-} , cuyas concentraciones relativas en el agua están en relación con el pH. El PO_4^{3-} no puede existir en aguas cuyo pH esté por debajo de 9.4; a un pH alrededor de 6.8 el H_2PO_4^- y el HPO_4^{2-} están en igual proporción, mientras que a un pH de 4.4 la mayoría del ortofosfato está presente en forma de H_2PO_4^- .

Las diferentes formas de ionización no son diferenciables por el método de análisis, y no tienen significación química ni fisiológica para los usos del agua. El resultado se informa en $\text{mg P-PO}_4^{3-}/\text{l}$.

La concentración mínima determinable es $0.003 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{l}$.

El método es muy adecuado para concentraciones de fosfato en el rango de $0.30 - 2.00 \text{ mg P-PO}_4^{3-}/\text{l}$ usando celdas de 0.5 cm de paso de luz.

1.1 INTERFERENCIAS

El bario, el plomo, el mercurio y la plata interfieren por formar precipitados. La sílice da un color azul pálido que se suma al color producido por el fosfato y, por lo tanto, hay necesidad de hacer una corrección cuando aquella está presente. El cloro residual debe ser eliminado por ebullición de la muestra. También interfieren el color y la turbiedad. Los cromatos y otros agentes fuertemente oxidantes, como el peróxido, decoloran el complejo azul. La interferencia por el nitrito (que también decolora el azul) se puede eliminar

por la adición de 0.1 g de ácido sulfámico a la muestra, antes de agregar el molibdato.

1.2 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Si se desea determinar fosfato soluble, se debe filtrar la muestra, en el sitio de muestreo. Si el análisis no se puede realizar inmediatamente la muestra puede ser preservada por congelación a -10°C o mediante la adición de 40 mg HgCl_2/l .

Si lo que se desea determinar es fosfatos totales, simplemente se acidifica la muestra en el sitio de muestreo por adición de 1 ml de HCl concentrado por litro o por congelación a -10°C .

Las muestras se deben recolectar en recipientes de vidrio, ya que los fosfatos tienden a adsorberse en las paredes de recipientes de plástico.

Se lava el recipiente de vidrio con HCl al 10% y se enjuaga con abundante agua. Nunca se deben utilizar detergentes para la limpieza del material de vidrio en el cual se va a almacenar o a procesar la muestra para el análisis de fosfatos.

1.3 EQUIPOS Y MATERIALES

Se requiere uno de los siguientes colorímetros :

1.3.1 Espectrofotómetro

Para usar a una $\lambda = 690$ nm con celda de paso de luz de 1 cm. Si el equipo no está acondicionado para lecturas a una $\lambda = 690$ nm puede usarse $\lambda = 650$ nm con menor sensibilidad.

1.3.2 Fotómetro de filtro

Provisto de un filtro violeta o azul que tenga su máxima transmisión a λ de 650-690 nm.

1.3.3 Vidriería lavada con ácido

Toda la vidriería que se vaya a utilizar en el análisis debe lavarse con HCl al 10% caliente y enjuagarse muy bien con agua corriente y agua destilada.

De ser posible reserve para esta sola determinación la vidriería que se va a utilizar en análisis de fosfatos. Después de usarla se lava bien y se mantiene llena con agua acidulada.

1.3.4 Equipo de filtración y papel Whatman No.42 o equivalente.

1.4 REACTIVOS

1.4.1 Solución acuosa de fenolftaleína

Se disuelven 5.0 g de sal disódica de fenolftaleína en agua desti

lada y se completa a 1 litro.

1.4.2 Solución ácida fuerte

A 600 ml de agua destilada se agregan 300 ml de H_2SO_4 concentrado, se homogeneiza y se deja enfriar. Una vez fría se añaden 4.0 ml de HNO_3 concentrado y se diluye a 1 litro.

1.4.3 Solución de molibdato de amonio I

Se disuelven 25.0 g de molibdato de amonio $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ en 175.0 ml de agua destilada.

Aparte se añaden cuidadosamente 280 ml de H_2SO_4 concentrado a 400.0 ml de agua destilada y se enfría. En un balón aforado de 1 litro se agrega la solución de molibdato a la solución acidulada (nunca al contrario) y se completa a 1 litro.

1.4.4 Solución de cloruro estannoso

Se disuelven 2.5 g de $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ en 100 ml de glicerol. Se calienta en baño de vapor y se agita con varilla de vidrio hasta completa disolución.

Este reactivo es estable por mucho tiempo y no necesita la adición de preservativos ni almacenamiento especial.

1.4.5 Solución patrón de fosfatos I

Se disuelven 219.5 mg de KH_2PO_4 anhidro en agua destilada, se pasa a un balón aforado de 1 litro y se enrasa a la marca con agua destilada. $1 \text{ ml} = 50 \mu\text{g P-PO}_4^{\equiv}$.

1.5 PROCEDIMIENTO

1.5.1 Limpieza de la vidriería

Se lava y enjuaga completamente la vidriería con abundante agua, sin usar detergentes.

Se llena cada recipiente con agua destilada, se agregan 2 ml de solución de molibdato de amonio y se mezcla. Se agrega 1 ml de solución de ácido sulfúrico diluido y 1 ml de la solución de cloruro estannoso. Se mezcla bien y se deja en reposo por 15 minutos. Se bota la mezcla y se enjuaga muy bien el material de vidrio con agua destilada.

Si al correr los patrones o las muestras estas toman una coloración azul opalescente es porque la vidriería está mal lavada y debe repetirse la operación hasta que la coloración del agua de lavado con los reactivos, quede completamente transparente.

1.5.2 Tratamiento preliminar de la muestra

Se toman 100 ml de muestra o una porción alicuota libre de color y

turbiedad y se añade una gota de indicador de fenolftalefina. Si la muestra se torna rosada, se agrega gota a gota solución ácida fuerte, hasta la desaparición del color.

Se agregan 4.0 ml de solución de molibdato de amonio y 0.5 ml (10 gotas) de solución de cloruro estannoso y se homogeneiza bien después de la adición de cada reactivo.

Como la velocidad y el desarrollo del color dependen de la temperatura de la solución final, es necesario controlar este parámetro en un rango entre 20 y 25°C de diferencia máxima entre una muestra y otra.

Se deja en reposo por 10 minutos, máximo 12 minutos para obtener la mayor intensidad de color y se lee la absorbancia o el % de transmitancia en un espectrofotómetro a una $\lambda = 690 \text{ nm}$.

Se corre un blanco para los reactivos y el agua destilada.

1.5.3 Preparación de la curva de calibración

Se preparan una serie de patrones en un rango entre 0.00-2.00 mg $\text{P-PO}_4^{3-}/\text{l}$, agregando los volúmenes adecuados de solución patrón y enrasando a 100 ml con agua destilada, Tabla No.7.

Los pasos para la adición de los reactivos son exactamente iguales

TABLA No. 7

$\mu\text{g P-PO}_4^{\equiv}$ en 100 ml	CONCENTRACION mg P- PO_4^{\equiv} /l	ml SOLUCION PATRON 50 $\mu\text{g P-PO}_4^{\equiv}$ /ml
0.0	0.0	0.0
20.0	0.2	0.4
40.0	0.4	0.8
60.0	0.6	1.2
80.0	0.8	1.6
100.0	1.0	2.0
150.0	1.5	3.0
200.0	2.0	4.0

a los estipulados para las muestras.

Cada que se analiza un lote de muestras se deben correr 1 ó 2 patrones, para comprobar la linealidad de la curva.

1.6 CALCULOS

$$\text{mg P-PO}_4^{\equiv}/\text{l} = A \times F$$

donde :

A = $\mu\text{g de P-PO}_4^{\equiv}$ por mililitro, calculados a partir de la curva de calibración o de la ecuación de regresión.

F = factor de dilución

2 METODO DEL ACIDO ASCORBIDO - FUNDAMENTO GENERAL

El molibdato de amonio y el tartrato de amonio y potasio, reaccionan con el ortofosfato, en un medio fuertemente ácido para formar un ácido heteropoli, el ácido fosfomolibdico, que por acción del ácido ascórbico se reduce a un compuesto intensamente coloreado, el azul de molibdeno.

2.1 INTERFERENCIAS

Los arsenatos a concentraciones tan bajas como 0.1 mg As/l reaccionan con el molibdato de amonio, produciendo una coloración azul similar a la formada con el ión ortofosfato. El cromo +6 y el nitrito, NO_2^- , interfieren dando resultados más bajos. La sílice interfiere a concentraciones mayores que 10 mg SiO_2 /l.

La mínima concentración detectable por este método es 10 $\mu\text{g P-PO}_4^{3-}$ /l (0.010 mg P-PO_4^{3-} /l).

2.2 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Similar a lo indicado en el numeral 1.2.

2.3 EQUIPOS Y MATERIALES

Uno de los siguientes puede utilizarse :

2.3.1 Espectrofotómetro

Con fototubo infrarrojo para utilizar a una $\lambda = 880$ nm provisto de celdas de trayectoria de luz de 1 cm o mayor.

2.3.2 Fotómetro de filtro

Equipado con una filtro rojo y celda con paso de luz de 0.5 cm o mayor.

2.3.3 Vidriería lavada con ácido

Todo el material de vidrio que se vaya a usar para este análisis debe ser lavado con HCl al 10% caliente y enjuagarse muy bien primero con agua corriente y luego con abundante agua destilada.

De ser posible reserve la vidriería para esta sola determinación. Después de usar, se lava muy bien y se mantiene llena con agua acidulada.

2.4 REACTIVOS

2.4.1 Acido sulfúrico, H_2SO_4 , 5N

Se diluyen 70.0 ml de H_2SO_4 concentrado a 500 ml con agua destilada.

2.4.2 Solución de tartrato de antimonio y potasio

Se disuelven 1.3715 g de $K(SbO)C_4H_4O_7 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ en unos 400 ml de agua destilada, se pasan a un balón aforado de 500 ml y se enrasa a la marca. Se almacena en frasco de vidrio con tapa esmerilada.

2.4.3 Solución de molibdato de amonio

Se disuelven 20 g de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ en 500 ml de agua destilada. Se almacena en frasco de vidrio con tapa esmerilada.

2.4.4 Solución de ácido ascórbico, 0.01M

Se disuelven 1.76 g de ácido ascórbico en 100 ml de agua destilada. Esta solución es estable aproximadamente 1 semana a 4°C.

2.4.5 Solución combinada

Se mezclan los siguientes reactivos en las proporciones y orden dados : (los reactivos deben estar a temperatura ambiente)

50 ml de H_2SO_4 5N, 5 ml de tartatro de antimonio y potasio, 15 ml de solución de molibdato de amonio y 30 ml de solución de ácido ascórbico. Se homogeiniza bien después de la adición de cada reactivo.

Si la solución combinada se torna turbia, se agita y se deja en reposo por unos minutos, hasta que la turbiedad desaparezca.

Este reactivo sólo es estable por 4 horas.

2.4.6 Solución madre de fosfato

Se disuelven 219.5 mg de KH_2PO_4 anhidro en agua destilada y se diluye a 1 litro en balón aforado. 1 ml = 50 μg P- PO_4^{\equiv} .

2.4.7 Solución patrón de fosfato

Se diluyen 50.0 ml de la solución de referencia a 1 litro con agua destilada. 1 ml = 2.50 μg de P- PO_4^{\equiv} .

2.5 PROCEDIMIENTO

2.5.1 Tratamiento de las muestras

Se pipetea 50.0 ml de muestra y se vierten en un erlenmeyer o tubo de Nessler bien limpio, se agrega 1 gota de indicador de fenolftaleína, si aparece una coloración rojiza, se adiciona gota a gota, solución de H_2SO_4 5N, hasta la desaparición del color rosa.

Se añaden 8.0 ml del reactivo combinado y se mezcla vigorosamente, se deja en reposo por 10 minutos. Después de este tiempo y no más de 30 minutos se lee en el espectrofotómetro a una $\lambda = 880$ nm la absorbancia o la transmitancia de la muestra.

Se corre un blanco y se lo usa como patrón de referencia.

2.5.2 Preparación de la curva de calibración

Se preparan una serie de patrones en un rango entre 0.00-1.30 mg P-PO₄[≡]/l de acuerdo con las especificaciones de la Tabla No.8.

TABLA No.8

$\mu\text{g P-PO}_4^{\equiv}$ en 50 ml	CONCENTRACION mg P-PO ₄ [≡] /l	ml DE SOLUCION PATRON 2.5 $\mu\text{g P-PO}_4^{\equiv}$ /ml
0.0	0.0	0.0 *
10.0	0.2	4.0
20.0	0.4	8.0
30.0	0.6	12.0
40.0	0.8	16.0
50.0	1.0	20.0
65.0	1.3	26.0

* blanco de reactivos y agua destilada

NOTA: Volumen final 50 ml.

y se adicionan los reactivos exactamente en la misma forma que se indica para las muestras.

Con cada lote de muestras se debe preparar 1-2 patrones para comprobar la linealidad de la curva.

Se grafica mg P-PO₄[≡]/l contra lectura de absorbancia (papel milimetrado) o mg P-PO₄[≡]/l contra %T (papel semi-log).

2.6 CALCULOS

$$\text{mg P-PO}_4^{\equiv}/\text{l} = A \times F$$

donde :

A = mg P-PO₄[≡]/l, calculados a partir de la curva de calibración o de la ecuación de regresión.

F = factor de dilución.

HIERRO

Los compuestos de hierro, se encuentran naturalmente en las aguas en forma soluble o insoluble. La forma soluble, hierro en estado de oxidación +2, Fe^{++} , sólo es posible bajo condiciones anóxicas y de bajo pH, de aquí que las aguas subterráneas, contengan por regla general concentraciones apreciables de hierro (II), igualmente los drenajes ácidos de minas de carbón.

La exposición al aire o la presencia de agentes oxidantes, transforman el hierro, en hierro férrico, el cual fácilmente se hidroliza, produciendo óxidos hidratados de hierro, insolubles. La mayoría de muestras de agua llevadas a los laboratorios, contienen el hierro en esta última forma, salvo el caso que se conserven en medio anaeróbico para evitar la oxidación.

1 METODO DE LA 1-10 FENANTROLINA - FUNDAMENTO GENERAL

El hierro se disuelve y se reduce al estado ferroso por ebullición con ácido e hidroxilamina, haciéndose reaccionar posteriormente con 1-10 fenantrolina, a valores de pH entre 2.9 - 3.3.

Tres moléculas de fenantrolina forman con cada ión de hierro ferroso, un quelato de color rojo-anaranjado. La solución coloreada obedece la ley de Beer. La intensidad del color del complejo formado es independiente del pH en el rango de 3 a 9 y es estable cuando menos por 6 meses, sin embargo, es bueno recordar que la colorimetría se desarrolla con mayor rapidez en presencia de un exceso de fenantrolina a un pH entre 2.9 y 3.5.

Por este método se pueden determinar directamente concentraciones de hierro ya sea disuelto, total o ferroso entre 0.02 y 4.00 mg Fe⁺⁺/l. Concentraciones mayores pueden cuantificarse por dilución de la muestra.

La concentración mínima detectable es 50 µg a una longitud de onda de 510 nm y con una celda de 1 cm de paso de luz.

2 INTERFERENCIAS

Entre los iones interferentes se cuentan los fosfatos (más los polifosfatos que los ortofosfatos); el cromo, el zinc en concentraciones que excedan diez veces la del hierro; el cobre y el cobalto en exceso de 5 mg/l; el níquel en exceso de 2 mg/l; el bismuto, la plata, el cadmio, el mercurio y el molibdato, que precipitan con la fenantrolina. La ebullición inicial con ácido revierte los polifosfatos a ortofosfatos y elimina nitritos y cianuros que interferirían en otra forma. La adición de exceso de hidroxilamina elimina los errores que

se pudieran derivar de concentraciones excesivas de sustancias intensamente oxidantes.

Si se tiene presente mucho color o materia orgánica, puede ser necesario evaporar la muestra, calcinar suavemente el residuo y redissolver en ácido. La calcinación se debe verificar en crisoles de sílice, porcelana o platino que previamente se han hervido, por varias horas, con HCl 1+1.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras para análisis de hierro, deben recolectarse en recipientes de vidrio, bien limpios, lavados con ácido y enjuagados con abundante agua destilada.

Si se va a analizar hierro soluble, es necesario llevar equipo de campo para filtración por membrana. La precisión de esta determinación depende mucho del cuidado que se tenga al hacer el muestreo.

Para el análisis de hierro total, la muestra se acidifica en el sitio de muestreo por la adición en el recipiente de 2 ml de HCl concentrado por cada 100 ml de muestra.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

Todo el material de vidrio se debe lavar con HCl concentrado y enjua

gar muy bien con agua destilada antes de su uso, para eliminar la fina película de hierro adsorbido, que con frecuencia está presente en la vidriería, como resultado de su uso para otros propósitos.

4.1 EQUIPO COLORIMETRICO

Se puede utilizar cualquiera de los siguientes :

4.1.1 Espectrofotómetro

Para usar a una longitud de onda de 510 nm, provisto con celda de 1 cm de paso de luz o mayor.

4.1.2 Fotómetro de filtro

Equipado con un filtro verde que tenga su máxima capacidad de transmitancia a 510 nm y con celda de paso de luz de 1 cm o mayor.

4.2 TUBOS DE NESSLER

Los tubos de Nessler deben ser iguales, de 100 ml de capacidad y de forma alta.

5 REACTIVOS

Todos los reactivos deben tener un bajo contenido de hierro, e igualmente se necesita agua destilada exenta de hierro.

Para el almacenamiento se recomiendan frascos con tapón esmerilado, el HCl, la solución de acetado de amonio, y las soluciones madre de hierro son estables indefinidamente si están herméticamente tapadas. Las soluciones patrón de hierro no son estables y se deben usar recientemente preparadas a partir de la solución madre. Los patrones para colorimetría visual en tubos de Nessler son estables por 3 meses.

5.1 ACIDO CLORHIDRICO

Se debe utilizar HCl concentrado de calidad analítica, que contenga menos de 0.00005% de Fe.

5.2 REACTIVO DE HIDROXILAMINA

Se disuelven 10 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 100 ml de agua destilada.

5.3 SOLUCION AMORTIGUADORA DE ACETADO DE AMONIO

Se disuelven 250 g de $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ en 150 ml de agua destilada, se agregan 700 ml de ácido acético glacial y se diluye a 1 litro.

Como aún las mejores calidades de acetato de amonio, contienen cantidades apreciables de hierro, se deben preparar nuevos patrones de referencia y nueva curva de calibración, cada que se prepara la solución buffer.

5.4 SOLUCION DE FENANTROLINA

Se disuelve 0.1 g de 1-10 fenantrolina monohidratada, $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$, en 100 ml de agua destilada acidulada por la adición de 2 gotas de HCl concentrado.

1 ml de este reactivo es suficiente máximo para 100 μ g de hierro.

5.5 SOLUCION MADRE DE HIERRO

Se puede preparar de cualquiera de las dos formas siguientes :

5.5.1 Solución I

Para preparar esta solución se utiliza, alambre de hierro electrolítico, o "alambre de hierro para titulaciones".

Si es necesario se limpia el alambre con un papel de lija fino, para eliminar la película de óxido y producir una superficie brillante.

Se pesan 0.2000 g de alambre y se colocan en un matraz aforado de 1 litro, se disuelve en 20 ml de H_2SO_4 6N y se diluye hasta la marca con agua destilada exenta de hierro. Se homogeniza bien.

1 ml de esta solución contiene 200 μ g de hierro.

5.5.2 Solución II

Si se prefiere el sulfato ferroso amoniacal, se agregan lentamente 20 ml de H_2SO_4 concentrado a 50 ml de agua destilada y se disuelven en esta agua acidulada 1.4040 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, se agrega gota a gota KMnO_4 0.1N, hasta que persista una leve coloración rosada. Se transfiere a un balón aforado de 1 litro y se enrasa a la marca con agua destilada exenta de hierro. Se homogeiniza bien.

1 ml de esta solución contiene 200 μg de hierro.

5.6 SOLUCIONES PATRON DE HIERRO

Estas soluciones se preparan el día que se van a utilizar.

5.6.1 Solución patrón I

Se pipetea 50.00 ml de la solución madre, y se transfieren a un matraz aforado de 1 litro. Se diluye a la marca con agua destilada exenta de hierro.

1 ml de esta solución es igual a 10.0 μg de hierro.

5.6.2 Solución patrón II

Se pipetea 5.00 ml de la solución madre, se transfieren a un balón aforado de 1 litro y se enrasa con agua destilada exenta de hierro.

1 ml de esta solución es igual a 1.00 µg de hierro.

5.7 SOLUCION DE ACETATO DE SODIO

Se disuelven 200 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 800 ml de agua destilada.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 HIERRO TOTAL

Se mezcla cuidadosamente la muestra, se miden 50.0 ml y se pasan a un erlenmeyer de 125 ml.

Se agregan 2 ml de HCl concentrado y 1 ml del reactivo de hidroxilamina, se agregan unas cuantas perlas de vidrio y se calienta a ebullición. Para tener la seguridad de la total disolución del hierro, la ebullición se debe continuar hasta que el volumen se haya reducido a 15-20 ml. Si la muestra se calcina se disuelve el residuo con 2 ml de HCl concentrado y 5 ml de agua destilada.

Se enfría la muestra a la temperatura ambiente y se pasa a un balón aforado o a tubos de Nessler de 50 ó 100 ml. Se agregan 10 ml de solución amortiguadora de acetato, 2 ml de solución de 1-10 fenantrolina y se diluye hasta la marca con agua destilada.

Se mezcla bien y se deja en reposo entre 10 y 15 minutos, para permitir el máximo desarrollo de color.

Si las muestras están coloreadas o turbias, se prepara un segundo juego de porciones alicuotas idénticas a las muestras y se llevan por todos los pasos del procedimiento, con excepción de la adición de fenantrolina. A continuación, los testigos preparados se usan en lugar del agua destilada para ajustar el fotómetro a 100 por 100 de transmitancia y cada muestra desarrollada con fenantrolina se lee contra el correspondiente testigo sin fenantrolina. Las lecturas fotométricas registradas se convierten a valores de hierro por medio de la curva de calibración.

6.2 HIERRO DISUELTO

Inmediatamente después de recolectada la muestra (en el sitio de muestreo) se filtra al vacío una porción de la misma a través de un filtro de membrana de 45 μm . El erlenmeyer en el cual se recibe el filtrado debe contener 1 ml de HCl concentrado por cada 100 ml de muestra.

Se analiza el filtrado como se indicó anteriormente, para hierro total (numeral 6.1).

El hierro suspendido se calcula por sustracción del hierro filtrable del total.

6.3 HIERRO FERROSO

Cuando se requiere el análisis de hierro ferroso, la muestra debe ser acidificada en el sitio de muestreo, por la adición de 2 ml de HCl concentrado por cada 100 ml de muestra. El recipiente se debe llenar y tapar herméticamente.

Para el análisis, se miden en tubos Nessler o balones aforados de 100 ml, 50.0 ml de la muestra acidificada, se añaden 20 ml de solución de 1-10 fenantrolina y 10 ml de la solución buffer de acetato de amonio. Se agita fuertemente. Se diluye a 100 ml y se lee la intensidad del color desarrollado entre 5-10 minutos, evitándose la exposición a la luz solar.

Si el contenido de hierro ferroso es muy alto, se debe utilizar un volumen mayor de solución de 1-10 fenantrolina o una solución más concentrada.

6.4 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Se preparan una serie de patrones, entre 0.0 y 1.5 μg de hierro por ml, pipeteando exactamente, los volúmenes de solución patrón I, indicados en la Tabla No.9 y vertiéndolos en erlenmeyer de 150 ml, se completa a 50 ml y se continúa con los pasos indicados en el procedimiento para hierro total, numeral 6.1.

TABLA No.9 CONCENTRACION DE HIERRO VERSUS VOLUMENES DE
SOLUCION PATRON

μg Fe en 50 ml	CONCENTRACION HIERRO mg Fe/l	VOL. DE SOL. PATRON I 1 ml = 10.0 μg Fe
0.0	0.0	0.0
10.0	0.2	1.0
20.0	0.4	2.0
30.0	0.6	3.0
40.0	0.8	4.0
50.0	1.0	5.0
75.0	1.5	7.5

NOTA: Volumen final 50 ml.

Se elabora una curva de calibración de concentración de hierro contra %T (papel semilog) o de concentración contra absorbancia (papel milimetrado) o se calcula la ecuación de regresión correspondiente.

Para comparación visual es recomendable preparar un juego de patrones entre 0-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1-100 μg de Fe en 100 ml). Las comparaciones se deben hacer en tubos de Nessler de 100 ml de forma alta.

Para mediciones fotométricas los patrones se deben leer, ajustando el equipo a 100% de transmitancia con agua destilada.

Cuando se leen las muestras se debe incluir un patrón para comprobar la linealidad de la curva de calibración.

7 CALCULOS

$$\text{mg Fe/l} = \frac{A}{B} \times F$$

donde :

A = μg de hierro en el volumen de muestra analizado

B = volumen de la muestra

F = factor de dilución.

MANGANESO

1 METODO DEL PERSULFATO - FUNDAMENTO GENERAL

El manganeso +2, que es la forma iónica soluble de los compuestos de manganeso en el agua, se oxida a ión permanganato en presencia de nitrato de plata. El color resultante puede medirse espectrofotométricamente y es estable por 24 horas si hay exceso de persulfato.

La concentración mínima detectable es 210 $\mu\text{g Mn/l}$ (0.210 mg Mn/l) cuando se utiliza celda de 1 cm de trayectoria de luz. Si la celda es de 5 cm de espesor el mínimo detectable es 42 $\mu\text{g Mn/l}$ (0.042 mg Mn/l).

2 INTERFERENCIAS

Trazas de cloruros interfieren en la determinación, pero esta puede eliminarse por la acción de HgSO_4 que va incluido en la solución especial, igualmente interfieren los iones bromuro y yoduro.

La materia orgánica también interfiere pero se puede eliminar por calentamiento, cuando está en concentraciones pequeñas, como en agua

potable. Si la determinación se va a realizar en aguas residuales con alto contenido de materia orgánica es necesario hacer una digestión de la muestra con H_2SO_4 y HNO_3 .

La exposición al aire de las muestras, puede dar bajos resultados de manganeso, por favorecer la precipitación del MnO_2 . Para evitarlo se puede añadir a la muestra 1 gota de peróxido de hidrógeno, H_2O_2 al 30%, después de la adición de la solución especial.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Debido a la facilidad de oxidación del manganeso, por el cambio de condiciones naturales en el muestreo, el análisis debe realizarse inmediatamente después de la recolección. Si el almacenamiento es inevitable, la muestra se puede preservar por la adición de HNO_3 hasta un pH menor que 2, generalmente se requieren 2 ml por litro de muestra. Muestras con gran capacidad buffer pueden necesitar más de 5 ml.

Se debe utilizar HNO_3 de calidad analítica para no aumentar las interferencias de otros iones en las muestras.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

Se requiere uno de los siguientes equipos colorimétricos :

4.1 ESPECTROFOTOMETRO

Para usar a 525 nm, provisto con celda de 1 cm o más de paso de luz.

4.2 FOTOMETRO DE FILTRO

Con un filtro verde que tenga su máxima transmitancia a 525 nm y provisto de celda con trayectoria de luz de 1 cm o mayor.

4.3 TUBOS DE NESSLER

De 100 ml de forma alta.

5 REACTIVOS

5.1 SOLUCION ESPECIAL

A 200 ml de agua destilada se agregan 400 ml de HNO_3 concentrado y se mezclan bien, se disuelven en ella 75.0 g de HgSO_4 , se adicionan 200 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85% y 35 mg de nitrato de plata (AgNO_3). La mezcla fría se diluye a un litro con agua destilada.

5.2 PERSULFATO DE AMONIO

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ sólido

5.3 SOLUCION PATRON DE MANGANESO

Se prepara una solución 0.1N de permanganato de potasio, KMnO_4 , di

solviendo 3.2 g de la sal y diluyendo a un litro. Se madura la solución por varias semanas a la luz solar o por calentamiento durante varias horas cerca al punto de ebullición, después se filtra a través de un crisol de filtración de vidrio fritado fino y luego se valora la solución contra oxalato de sodio de la siguiente manera :

Se pesan 3 ó 4 porciones de 100.00 mg de oxalato de sodio y se transfieren a sendos beakers de 400 ml, se agrega a cada beaker 100 ml de agua destilada y se agita bien para disolver. Se agregan a cada uno 10 ml de H_2SO_4 1+1 y se calienta hasta 90-95°C y se titula rápidamente y con agitación constante con la solución de $KMnO_4$ que se va a valorar, hasta obtener una débil coloración rosada que persista al menos por 1 minuto.

No se debe permitir que durante la titulación la temperatura baje de 85°C. Si es necesario, se calienta durante la titulación.

100 mg de oxalato de sodio, $Na_2C_2O_4$ consumen aproximadamente 15 ml de solución de permanganato. Se debe correr un blanco de agua destilada y H_2SO_4 .

$$\text{Normalidad del } KMnO_4 = \frac{g \text{ } Na_2C_2O_4}{(A-B) \times 0.06701}$$

donde :

A = ml de KMnO_4 gastados en la titulación de la muestra

B = ml de KMnO_4 gastados en la titulación del blanco.

La normalidad de la solución de KMnO_4 será el promedio de los resultados de las titulaciones.

Una vez conocida la concentración del KMnO_4 se prepara a partir de ella un litro de una solución en la cual 1 ml = 50 μg Mn.

El volumen de KMnO_4 que se debe tomar para preparar esta solución se calcula así :

$$\text{Vol de } \text{KMnO}_4 = \frac{4.55}{\text{Normalidad } \text{KMnO}_4}$$

Se adicionan a este volumen 2 a 3 ml de H_2SO_4 concentrado y gotas de solución de NaHSO_3 con agitación constante hasta la desaparición del color del permanganato. Se hierve para la remoción del exceso de SO_2 , se enfría y se diluye a 1 litro con agua destilada.

5.4 PEROXIDO DE HIDROGENO

(H_2O_2) al 30%

5.5 ACIDO NITRICO CONCENTRADO, HNO_3

5.6 ACIDO SULFURICO CONCENTRADO, H_2SO_4

5.7 SOLUCION DE NITRITO DE SODIO

Se disuelven 5.0 g de $NaNO_2$ en 95.0 ml de agua destilada.

5.8 OXALATO DE SODIO

$Na_2C_2O_4$ de calidad analítica, estandar primario.

5.9 SOLUCION DE BISULFITO DE SODIO

Se disuelven 10.0 g de $NaHSO_3$ en 100 ml de agua destilada.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

A 100 ml de muestra o una alícuota de élla, se agregan 5.0 ml de la solución especial y 1 gota de H_2O_2 al 30%.

Si se tomaron 100 ml de muestra se concentran a 90.0 ml por ebullición, si se tomó una alícuota se diluye a 90.0 ml con agua destilada. Se añade 1.0 g de persulfato de amonio y se somete a ebullición por 1 minuto. Se retira del calor, se deja en reposo por 1 minuto y luego se enfría al grifo (el calentamiento excesivo así como el lento enfriamiento producen la descomposición del exceso de persulfato y consecuentemente pérdida del color del permanganato).

Se diluye a 100.0 ml con agua destilada y se mezcla.

Se lee la absorbancia o la transmitancia de la muestra en el espectro fotómetro utilizando celda de 1 cm de paso de luz y se determina la concentración de manganeso a partir de la curva de calibración o de la ecuación de regresión si se ha calculado.

También se puede determinar la concentración por comparación visual con patrones de manganeso preparados en tubos de Nessler de 100 ml.

6.2 CURVA DE CALIBRACION

Se preparan patrones de manganeso entre 0.0 y 1.5 mg Mn/l, pipeteando los volúmenes de solución patrón correspondiente y llevando a 100.0 ml con agua destilada, de acuerdo con la siguiente tabla :

TABLA No.10

μg de Mn^{++} en 100 ml	CONCENTRACION $\text{mg Mn}^{++}/\text{l}$	VOLUMEN DE SOLUCION PATRON DE $50.0 \text{ g Mn}^{++}/\text{ml}$ (ml)
0.0	0.0	0.0*
20.0	0.2	0.4
40.0	0.4	0.8
60.0	0.6	1.2
80.0	0.8	1.6
100.0	1.0	2.0
150.0	1.5	3.0

* Se usa como blanco agua destilada.

7 CALCULOS

$$\text{mg Mn}^{++}/\text{l} = \frac{A}{B} \times F$$

donde :

A = μg de manganeso contenidos en un volumen de 100 ml

B = ml de muestra tomados

F = factor de dilución (si se ha necesitado).

NITROGENO AMONIAL

El nitrógeno amoniacal se encuentra presente en concentraciones variables, en aguas superficiales y en aguas profundas. Siendo un producto de la actividad microbiana, cuando se halla en aguas superficiales se acepta a veces que el nitrógeno amoniacal es una evidencia química de la contaminación sanitaria. Su presencia en aguas profundas es bastante general, como resultado de procesos naturales de reducción.

En algunas plantas de tratamiento se agrega amoníaco para la cloración residual combinada del agua, formación de cloraminas. Cuando se emplea la cloración a residual libre, la presencia de amoníaco en las aguas puede inducir a un consumo elevado de cloro, para llegar a producir cloro libre residual.

Si la muestra contiene cloro residual, se pueden tener presentes mono cloramina, dicloramina y tricloramina; la decloración, previa al análisis, las convierte en amoníaco.

1 METODO DE LA NESSLERIZACION DIRECTA - FUNDAMENTO GENERAL

En muestras que contengan más de 0.1 mg/l de nitrógeno amoniacal y

que hayan sido apropiadamente clarificadas por un pretratamiento con sulfato de zinc e hidróxido de sodio, es posible medir directamente la cantidad de nitrógeno amoniacal mediante la adición del reactivo de Nessler el cual es una solución fuertemente alcalina de yodomercuriato de potasio, HgI_4K_2 . Este compuesto se combina con el amoníaco en medio alcalino para formar un producto amarillo-parduzco que permanece en dispersión coloidal y cuya intensidad de color es proporcional a la cantidad de amoníaco originalmente presente.

El color que se desarrolla por la acción del reactivo de Nessler sobre el amoníaco es fácilmente comparable a simple vista y muchas personas prefieren la comparación visual a la fotométrica.

El reactivo de Nessler preparado por diferentes procedimientos y en diversas ocasiones varía algo en cuanto a su sensibilidad para con el amoníaco. Es aconsejable, en consecuencia, preparar testigos visuales nuevos cada vez que se cambie el reactivo de Nessler. Cuando éste se prepara cuidadosamente puede responder, en condiciones óptimas, a cantidades tan pequeñas como 0.001 mg de nitrógeno amoniacal en 50 ml de la muestra.

La relativa simplicidad y rapidez del método lo hacen recomendable para operaciones de control, cuando se demuestra la ausencia de interferencias significativas por iones coloreados o por otras materiales.

La sensibilidad del método es hasta $20 \mu\text{g N-NH}_3/\text{l}$ ($0.020 \text{ mg N-NH}_3/\text{l}$).

2 INTERFERENCIA

Se ha encontrado que algunas aminas alifáticas y aromáticas, cloraminas orgánicas, acetona, aldehídos y alcoholes, entre otros compuestos orgánicos indefinidos, producen tonos desusados amarillentos o verdosos, o dan lugar a cierta turbiedad al agregarse el reactivo de Nessler, durante la práctica de la nesslerización directa. En estos casos la muestra se debe destilar antes de la nesslerización.

Algunas sustancias volátiles como el formaldehído, se pueden eliminar por ebullición a bajo pH, terminada la cual se puede nesslerizar la muestra.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Los resultados más confiables se obtienen en muestras recién recolectadas. Si la muestra tiene cloro residual, es necesario eliminarlo inmediatamente después de la toma de la muestra, para impedir su posterior reacción con el amoníaco. Si el análisis no puede realizarse rápidamente, la muestra se debe preservar por la adición de 0.8 ml de H_2SO_4 por litro y almacenarla a 4°C . El pH de las muestras preservadas por acidificación debe estar entre 1.5-2.0. Si la muestra ha sido preservada con ácido es necesario neutralizar con NaOH o KOH antes de la realización del análisis.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

4.1 EQUIPO COLORIMETRICO

Se puede utilizar cualquiera de los siguientes :

4.1.1 Espectrofotómetro

Para usar a una longitud de onda, λ , de 400 nm provisto de celdas de 1 cm de paso de luz o mayor.

4.1.2 Fotómetro de filtros

Provisto de celdas de 1 cm o más de paso de luz y equipado con un filtro violeta cuya máxima transmitancia esté en un rango de longitud de onda de 400 a 425 nm.

Para altas concentraciones de nitrógeno amoniacal se puede utilizar un filtro azul.

4.2 TUBOS DE NESSLER

Los tubos de Nessler deben ser iguales, de 50 cm de longitud y de tamaño largo.

4.3 MEDIDOR DE pH

pH-metro equipado con un electrodo para medidas de pH altas.

5 REACTIVOS

5.1 REACTIVO DE NESSLER

Se disuelven 100 g de yoduro mercúrico anhidro, HgI_2 y 70 g de yoduro de potasio anhidro, KI , en un pequeño volumen de agua exenta de amoníaco; esta mezcla se agrega lentamente, con agitación a una solución fría de 160 g de hidróxido de sodio en 500 ml de agua exenta de amoníaco y diluyendo a 1 litro. Se almacena en cristalería de borosilicato y se preserva de la luz solar, en condiciones normales de laboratorio.

Este reactivo es estable por períodos hasta de un año. El reactivo debe producir el color característico con 0.1 mg N-NH_3 /l dentro de los 10 minutos siguientes a su adición.

5.2 SOLUCION MADRE DE CLORURO DE AMONIO

Se disuelven 3.819 g de cloruro de amonio, NH_4Cl , previamente secado a 100°C , en agua destilada exenta de amoníaco y se diluye a 1 litro. 1 ml de esta solución es igual a 1 mg de nitrógeno o 1.22 mg de NH_3 .

5.3 SOLUCION PATRON DE CLORURO DE AMONIO

Se diluyen 10 ml de la solución madre de cloruro de amonio en 1 litro de agua destilada exenta de amoníaco. 1 ml de esta solución es igual a 10 μg de nitrógeno, o a 12.2 μg de NH_3 .

5.4 AGENTE DECLORADOR

Es satisfactoria la solución de tiosulfato de sodio 1/70 N, la cual se obtiene disolviendo 3.5 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua exenta de amoníaco y diluyendo a 1 litro. 1 ml de esta solución neutraliza 0.5 mg Cl_2/l . La solución de tiosulfato de sodio es inestable y se debe preparar el día que se va a utilizar.

5.5 SOLUCION DE SULFATO DE ZINC

Se disuelven 100 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua exenta de amoníaco y se diluye a 1 litro.

5.6 SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO, 6 N

Se disuelven 120 g de NaOH en 500 ml de agua exenta de amoníaco y se diluye a 1 litro.

5.7 SOLUCION ESTABILIZADORA DE EDTA

Se disuelven 50 g de etilendiamino-tetra-acetato de sodio di-hidratado, en 60 ml de agua exenta de amoníaco que contenga 10 g de hidróxido de sodio. Si es necesario se calienta ligeramente para completar la disolución. Se enfría a la temperatura ambiente y se diluye a 100 ml.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Si la muestra contiene cloro residual, se neutraliza con la cantidad equivalente de solución del agente de clorador (recuerde 1 ml de agente de clorador, neutraliza 0.5 mg Cl_2/l).

Se agrega 1 ml de la solución de sulfato de zinc a 100 ml de la muestra y se mezcla bien; a continuación se añaden 0.5 ml de solución de hidróxido de sodio para obtener un pH alrededor de 10.5. Se deja reposar la muestra tratada por unos minutos, para que se sedimente el precipitado, dejando un líquido sobrenadante claro e incoloro, que se puede separar por centrifugación o filtración.

Si se aplica la filtración, se debe comprobar que el papel de filtro se encuentre libre de amoníaco, lo que se verifica haciendo pasar agua exenta de amoníaco y nesslerizando el filtrado. Se filtra la muestra desechando los primeros 25 ml.

6.2 COLORIMETRIA VISUAL

Se preparan una serie de testigos vertiendo 0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 y 6.0 ml de solución patrón de cloruro de amonio en tubos de Nessler de 50, ajustando al volumen a la marca con agua destilada exenta de amoníaco.

En otro tubo de Nessler de 50, se colocan 50 ml del filtrado o centrifugado de la muestra, o una porción alícuota diluída a 50 ml con agua destilada exenta de amoníaco.

Se añaden 2 gotas de la solución estabilizadora de EDTA a la muestra y se mezcla bien.

Se agrega 1 ml del reactivo de Nessler a cada uno de los testigos y a la muestra, y se mezcla cuidadosamente, tapando los tubos de Nessler con tapones de caucho limpios e invirtiendo los tubos por seis veces, cuando menos, para lograr su mezcla completa.

Se deja en reposo por 10 minutos y se compara el color desarrollado en la muestra con el de los testigos.

Si el color resultante en la muestra es más intenso que en el testigo de mayor concentración, se mezcla bien el contenido del tubo de la muestra, se bota la mitad y el resto se ajusta a 50 ml con agua libre de amoníaco. Luego se hace la comparación. Si el color es todavía muy fuerte puede seguirse repitiendo la dilución hasta que se pueda hacer la lectura. El resultado se multiplica por el factor de dilución.

6.3 COLORIMETRIA FOTOELECTRICA

Se determina el % de transmitancia o la absorbancia de la muestra

y los patrones a una λ entre 400 y 425 nm, usando una celda de 1 cm de trayectoria de luz.

Se corre un blanco, con el cual se ajusta el equipo a 100 %T, frecuentemente se debe vigilar la reproducibilidad de la curva de calibración, corriendo con cada muestra uno o dos patrones, preferiblemente en el rango de concentración de la muestra.

Se debe correr una curva de calibración cada que se prepare nueva solución de reactivo de Nessler.

7 CALCULOS

$$\text{mg N-NH}_3/\text{l} = \frac{A}{B}$$

donde :

A = μg de N-NH₃ en el volumen de muestra analizado

B = volumen de muestra.

NOTA: Si se desea expresar el resultado como mg NH₃/l, se multiplica el anterior resultado por 1.216.

NITRATOS

1 METODO DE REDUCCION CON CADMIO - FUNDAMENTO GENERAL

Este método de análisis químico es altamente sensible para la determinación cuantitativa de nitratos y es especialmente recomendado cuando la concentración está por debajo de $0.1 \text{ mg NO}_3^-/1$. Se basa en la reducción de los nitratos presentes en una muestra de agua a nitritos, haciendo pasar la solución acuosa a través de una columna empacada con gránulos de cadmio cuprizado.

El efluente contiene nitritos totales conformados por los nitritos provenientes de la reducción de los nitratos más los nitritos presentes como tales en la muestra.

Los nitritos totales se pueden cuantificar por diazotación con sulfanilamida y posterior acoplamiento con N-(α -naftil) etilendiamina. Se forma un azo-compuesto altamente coloreado, que puede medirse espectrofotométricamente.

Para informar el contenido de nitratos se debe restar la concentración de nitritos originalmente presentes en la muestra.

2 INTERFERENCIAS

Los sólidos suspendidos alteran el flujo de la muestra en la columna, por lo cual se deben eliminar por filtración a través de un filtro de fibra de vidrio o una membrana con poro de 0.45 μm . El aceite y la grasa, reducen la eficiencia de la columna de reducción, por recubrir los gránulos de cadmio cuprizado. Se pueden remover por extracción con un solvente orgánico.

El cloro residual, también interfiere por oxidación del cadmio de la columna y se puede eliminar adicionando a la muestra solución de tío sulfato de sodio.

3 PRESERVACION Y ALMACENAMIENTO

El análisis debe realizarse lo más pronto posible después de recolectada la muestra. Si es absolutamente necesario el almacenamiento, se agregan 40 mg HgCl_2/l y se refrigera a -4°C . También puede almacenarse por congelación a -20°C .

NOTA: Es importante recordar que el ión mercurio, Hg^{++} , acelera el deterioro de la columna de reducción de cadmio.

4 EQUIPOS

4.1 COLUMNA DE REDUCCION

Se construye de acuerdo con las especificaciones de la Figura No.3. Para la copa de la parte superior se puede utilizar el bulbo de una pipeta volumétrica de 100 ml que esté dañada, el cuerpo de la columna de reducción puede ser también una bureta de 100 ml o 50 ml desechada. Se unen las dos partes teniendo en cuenta las dimensiones drescritas. El tubo delgado, por donde saldrá el efluente puede unirse a la columna por medio de una manguera flexible, tipo aplicación de suero, de esta manera puede colocarse allí una pinza de mhor con la cual se regule el flujo.

4.2 EQUIPO COLORIMETRICO

Puede usarse uno de los siguientes :

4.2.1 Espectrofotómetro

Para usar a una longitud de onda de 543 nm, provisto de celdas de un (1) cm de paso de luz o mayor.

4.2.2 Fotómetro de filtros

Con celda de paso de luz de un (1) cm, o mayor y con filtro verde-amarillo que tenga máxima transmitancia cerca a 540 nm.

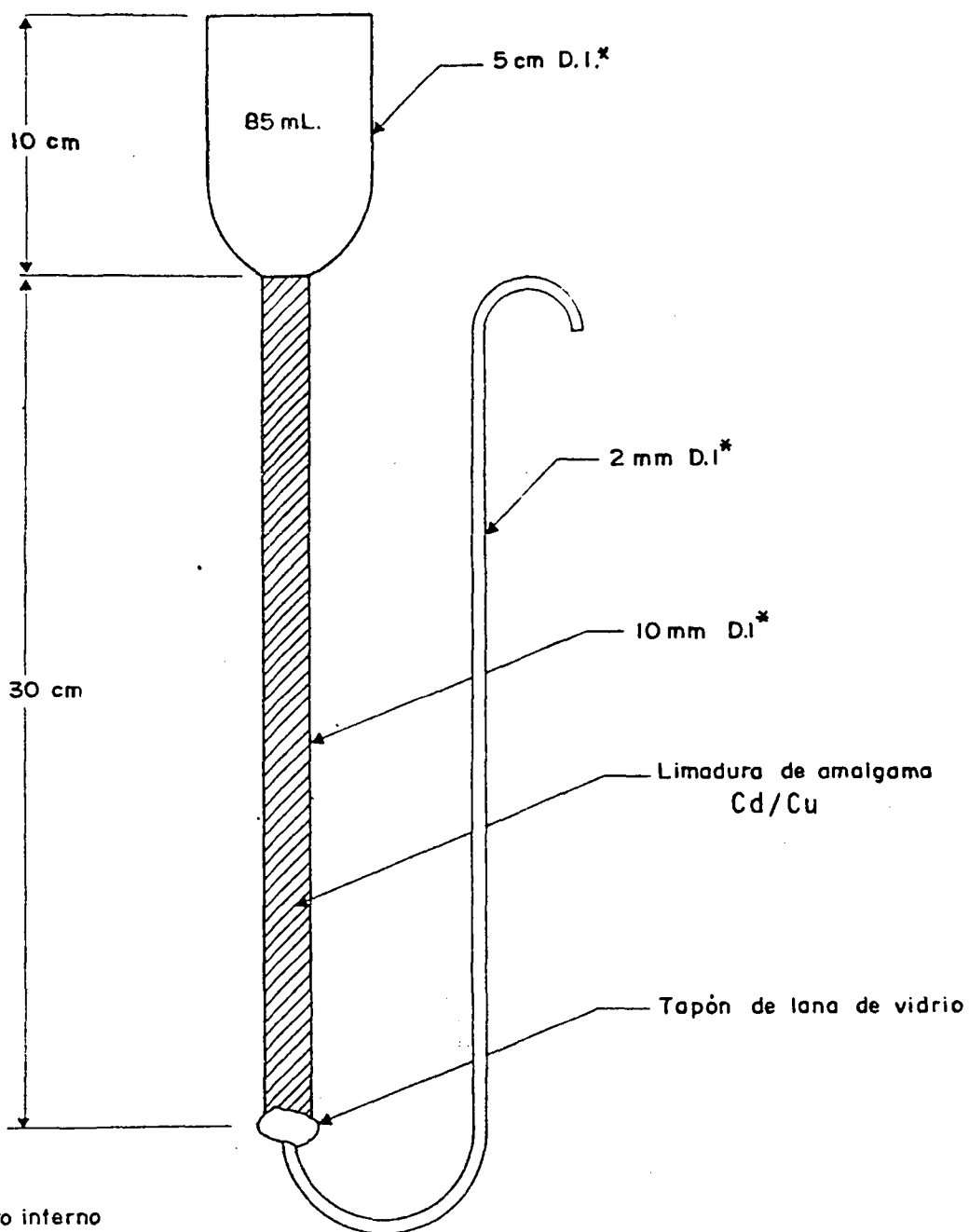


Figura No 3 COLUMNA DE REDUCCION EQUIPO PARA ANALISIS DE NITRATOS

5 REACTIVOS

5.1 AGUA LIBRE DE NITRATOS

La absorbancia del blanco, preparado con esta agua no debe sobrepasar 0.01. Se utiliza esta agua en la preparación de soluciones y para diluciones.

5.2 GRANULOS DE CADMIO CUPRIZADO

Se lavan 25 g de gránulos de cadmio, malla 40-60, con HCl 6N y se enjuagan con agua, se bota el agua de lavado y se agregan 100 ml de solución de sulfato cúprico al 2%, se agita durante 5 minutos o hasta que el color azul desvanezca parcialmente. Se decanta y se repite varias veces la operación con solución de sulfato cúprico fresca, hasta que se forme un precipitado coloidal de color marrón. Se enjuagan los gránulos de Cd-Cu, con abundante agua, (al menos 10 veces) para remover todo el precipitado de cobre formado.

5.3 REACTIVO DE SULFANILAMIDA

Se disuelven 5 g de sulfanilamida en una mezcla de 50 ml de HCl y 300 ml de agua. Se diluye con agua exenta de nitratos a 500 ml. Esta solución es estable por varios meses.

5.4 SOLUCION DE DI-CLORHIDRATO DE N-(α -NAFTIL) ETILENDIAMINA

Se disuelven 500 mg de di-clorhidrato de N-(α -Naftil) Etilendiamina.

5.4 SOLUCION DE DI-CLORHIDRATO DE N-(α -NAFTIL) ETILENDIAMINA
(DI-CLORHIDRATO NED)

Se disuelven 500 mg de di-clorhidrato NED en 500 ml de agua. Se almacena en botella oscura. Esta solución se debe reemplazar cuando tome una coloración marrón.

NOTA IMPORTANTE: La curva de calibración debe repetirse cada que se prepare este reactivo.

5.5 SOLUCION DE CLORURO DE AMONIO - EDTA

Se disuelven 13 g de NH_4Cl y 1.7 g de EDTA en 900 ml de agua destilada libre de nitratos. Se ajusta el pH de esta solución a 8.5 con hidróxido de amonio, NH_4OH y se diluye a un litro.

5.6 SOLUCION DILUIDA DE CLORURO DE AMONIO - EDTA

Se diluyen 300 ml de la solución anterior, 4.5, a 500 ml con agua destilada.

5.7 ACIDO CLORHIDRICO

Se prepara HCl 6N.

5.8 SOLUCION DE SULFATO CUPRICO AL 2%

Se disuelven 20 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua destilada y se di

luye a un litro.

5.9 SOLUCION MADRE DE NITRATO

Se seca por 24 horas nitrato de potasio (KNO_3) en un horno a 105°C . Se disuelven 0.7218 g en agua y se diluye a un litro. Se preserva con 2 ml de cloroformo CHCl_3 /l.

1 ml de esta solución = 100.0 μg de N-NO_3^- .

La solución es estable por seis meses.

5.10 SOLUCION PATRON DE NITRATO

Se diluyen 50 ml de la solución madre a 500 ml con agua destilada.

1 ml = 10.0 μg N-NO_3^- .

5.11 SOLUCION MADRE DE NITRITO

Se disuelven 0.6072 g KNO_2 , previamente secados por 24 horas a 105°C , en agua destilada libre de nitritos y se diluye a un litro. 1 ml = 100.0 μg N-NO_2^- . Se preserva adicionando 2 ml de cloroformo, CHCl_3 /l y refrigerando. Esta solución es estable al menos 3 meses.

5.12 SOLUCION PATRON DE NITRITO

Se diluye a 500 ml con agua destilada libre de nitritos, 50 ml de solución madre. 1 ml = 10.0 μg de N-NO_2^- .

6 PROCEDIMIENTO

6.1 PREPARACION DE LA COLUMNA DE REDUCCION

Se inserta un tapón de lana de vidrio en el fondo de la columna de reducción y se llena con agua destilada libre de nitratos y nitritos. Se agregan gránulos de Cd-Cu, suficientes para formar una columna de 18.5 cm de longitud. Se debe mantener el nivel de agua sobre los gránulos, para prevenir atrapamiento de aire. Se lava la columna con 200 ml de solución diluida de NH_4Cl -EDTA.

Para activar la columna, se preparan 100 ml de una solución compuesta de 25 ml de solución patrón de nitratos (numeral 5.10) más 75 ml de solución de NH_4Cl -EDTA (numeral 5.5) y se pasan por la columna a un flujo entre 7 ml - 10 ml / min.

NOTA: El control del flujo a través de la columna es muy importante.

6.2 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

6.2.1 Remoción de turbiedad

Si la muestra presenta turbiedad, se filtra a través de un filtro de fibra de vidrio a una membrana de poro 0.45 μm .

6.2.2 Ajuste de pH

Si la muestra tiene un pH menor que 5 o mayor que 9, se lleva a pH entre 7 y 9, agregando HCl o NaOH diluidos según sea el caso y comprobado el pH obtenido en un pH-metro. Se comprueba que el pH de la muestra esté en 8.5 después de la adición de la solución de $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$.

6.2.3 Reducción de los NO_3^-

Se toman 25.0 ml de la muestra o una alícuota de ella llevada a 25.0 ml y se le agregan 75.0 ml de solución de $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$ y se mezcla bien.

Se pasa la muestra mezclada por la columna a un flujo entre (7-10) ml/min.

Se descartan los primeros 25.0 ml y se recoge la muestra restante.

No es necesario lavar la columna entre una muestra y otra, pero si la columna no se va a utilizar por varias horas o largo tiempo, se agrega solución diluida de $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$ hasta el tope y se cierra el flujo a través del sistema.

La columna de Cd-Cu siempre debe ser almacenada así, no se debe permitir que se seque.

6.2.4 Desarrollo de la colorimetría

La muestra debe ser analizada inmediatamente después de la reducción. Nunca se deben sobrepasar 15 minutos después de colectada la muestra.

Se toman 50.0 ml del efluente de la columna de reducción y se adicionan 2.0 ml de sulfanilamida. Se deja la muestra en reposo entre 2 min y 8 min. Se agrega luego 2.0 ml de di-clorhidrato de N-(α -naftil) etilendiamina y se mezcla. Después de 10 minutos y no más de 2 horas de adicionado el reactivo de color se determina la absorbancia o el % de transmitancia a una longitud de onda de 540 nm, utilizando agua destilada como blanco.

NOTA: Si la concentración de NO_3^- , excede la curva normalizada, 1 mg N- NO_3^- /l, se utiliza el remanente para hacer una dilución y repetir la colorimetría.

6.3 CURVA NORMALIZADA

Se preparan patrones de 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 y 1.00 mg N- NO_3^- /l, diluyendo con agua destilada, volúmenes apropiados de la solución patrón de nitratos, en balones aforados de 100 ml.

Se realiza la reducción de los nitratos de las soluciones patrón, siguiendo exactamente las instrucciones dadas para el tratamiento de la muestra. No se debe olvidar que el pH es un parámetro muy

importante de controlar.

Se verifica la eficiencia de la columna, comparando al menos un patrón de nitritos y uno de nitratos de igual concentración pasado por la columna de reducción.

7 CALCULOS

7.1 Se grafica en papel semi-log, la curva normal de mg $\text{N-NO}_3^-/1$ contra % T, o en papel milimetrado mg $\text{N-NO}_3^-/1$ contra absorbancia.

7.2 Se calculan los mg de nitrógeno de nitritos totales en la gráfica
$$\text{mg N-NO}_3^-/1 = \text{mg (N-NO}_3^-/1 + \text{N-NO}_2^-) / 1 - \text{mg N-NO}_2^-/1$$

NOTA: Los mg $(\text{N-NO}_2^-)/1$ se determinan en muestra aparte. Véase la guía para análisis de nitrógeno de nitritos.

NITRITOS

1 METODO DE DIAZOTACION - FUNDAMENTO GENERAL

Los nitritos pueden ser determinados cuantitativamente a un pH entre 2.0 - 2.5, por la formación de un azo compuesto de color rojo-púrpura, que proviene del acoplamiento del ácido sulfanílico diazotado con la N-(α -naftil) etilendiamina.

El método permite cuantificar nitritos en el rango de 1-25 $\mu\text{g N-NO}_2^-/\text{l}$.

2 INTERFERENCIAS

Interfieren con el método el cloro libre y el tricloruro de nitrógeno, por impartir un falso color rojo cuando se sigue el orden normal de los reactivos; el efecto puede ser minimizado adicionando primero la solución de N-(α -naftil) etilendiamina y enseguida la sulfanilamida.

Los sólidos suspendidos también interfieren, por lo tanto la muestra debe ser filtrada a través de un filtro de fibra de vidrio o de membrana con poro de 0.45 μm .

Interfieren también metales como el antimonio, oro, plata, bismuto, hierro, mercurio, vanadio y cobre porque tienden a precipitara las condiciones de la prueba.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras deben ser analizadas lo más pronto posible después de su recolección para evitar la acción bacterial que puede llevar los nitritos a nitratos o a amoniaco según sea el medio en que se encuentre, oxidante o reductor.

El máximo tiempo de almacenamiento son 2 días en los cuales se debe mantener la muestra en congelación a -20°C o a 4°C si se le adicionan 40 mg de HgCl_2/l .

Nunca se debe utilizar la acidificación para preservar la muestra.

4 EQUIPOS

Se puede utilizar cualquiera de los equipos siguientes :

4.1 ESPECTROFOTOMETRO

Para usar a una longitud de onda de 543 nm y con celda de 1 cm de paso de luz o mayor.

4.2 FOTOMETRO DE FILTROS

Provisto de un filtro verde cuya máxima transmitancia esté cerca de 540 nm y con celda de 1 cm de paso de luz o mayor.

4.3 TUBOS NESSLER

De tallo largo y 50 cm de capacidad.

5 REACTIVOS

5.1 Agua destilada y desmineralizada libre de nitritos.

5.2 Reactivo de sulfanilamida. A 300 ml de agua destilada y desmineralizada se agregan 50 ml de HCl concentrado y se mezcla bien. Se pesan 5.0 g de sulfanilamida y se disuelven en el agua acidulada anteriormente preparada. Se diluye a 500 ml con agua destilada libre de nitritos.

Esta solución es estable por varios meses.

5.3 Di-clorhidrato de N-(α -naftil) etilendiamina. Se disuelven 500 mg de Di-clorhidrato de NED en 500 ml de agua destilada y desmineralizada libre de nitritos.

La solución debe reemplazarse cuando adquiera una coloración marrón fuerte.

- 5.4 Acido clorhídrico. Se prepara HCl 1+3, diluyendo el ácido en agua destilada libre de nitritos.
- 5.5 Solución de oxalato de sodio. Se disuelven 3.35 g de $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ calidad analítica en un litro de agua destilada libre de nitritos.
- 5.6 Solución de sulfato ferroso amoniacal 0.05 N. A 300 ml de agua destilada se adicionan 20 ml de H_2SO_4 concentrado y se disuelven en esta agua acidulada, 19.607 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Se transfiere la solución a un balón aforado y se diluye a un litro con agua destilada y desmineralizada. Se debe estandarizar contra una solución de dicromato de potasio 0.05 N.
- 5.7 Solución madre de nitritos. Se disuelven 1.232 g de NaNO_2 grado calidad analítica en agua destilada y desmineralizada, libre de nitritos. 1 ml de esta solución = 250 μg N. Se preserva la solución adicionando 1 ml cloroformo/l.

Estandarización de la solución madre.- Se pipetea 50.0 ml de solución de KMnO_4 , 0.05 N y se transfieren a una botella con tapón esmerilado, se agregan 20 ml H_2SO_4 concentrado y 50.0 ml de solución madre de nitritos, teniendo la precaución de sumergir la punta de la pipeta en la solución que contiene el frasco y se mezcla bien.

Se adiciona solución valorada de sulfato ferroso amoniacal 0.05 N, en porciones de 10 ml cada vez, hasta decoloración de la solución.

Se deja en reposo durante 5 minutos y se titula el exceso de agente reductor con una solución de KMnO_4 0.05 N hasta la aparición del color violeta.

Se analiza un blanco utilizando agua destilada y desmineralizada.

La concentración de nitrógeno de nitritos de la solución se calcula de la manera siguiente :

$$A = \left[\frac{(B \times C) - (D \times E)}{F} \right] \times 7$$

donde :

- A = mg N-NO_2^- /ml en la solución madre de nitrito
- B = volumen total de solución de KMnO_4 usado
- C = normalidad del KMnO_4
- D = volumen total del sulfato ferroso amoniacal
- E = normalidad del $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- F = volumen de la solución madre tomada para la titulación
(50.0 ml en este caso).

5.8 Solución intermedia de nitritos. A partir de la concentración exacta de la solución madre de nitritos, se calcula el volumen que se debe tomar para preparar 250 ml de una solución que contenga 50 μg

de N-NO_2^- por ml (1 ml = 50 $\mu\text{g N-NO}_2^-$).

Se puede utilizar la expresión :

$$V \times C = V' \times C'$$

donde :

V = volumen de solución madre que se debe tomar

C = concentración de la solución madre calculada con la estandarización expresada en $\mu\text{g/ml}$

V' = volumen que se va a preparar (en este caso 250 ml)

C' = concentración que se desea obtener (en este caso 50 $\mu\text{g/ml}$).

NOTA: Esta solución se debe preparar diariamente.

5.9 Solución patrón de nitrito. Se diluyen 10.0 ml de la solución intermedia (numeral 5.8) a un (1) litro, con agua destilada y desmineralizada, libre de nitritos. 1 ml = 0.500 $\mu\text{g N-NO}_2^-$.

Esta solución sólo es estable por un día. Se debe preparar cada que se necesite.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 REMOCION DE TURBIEDAD

Si la muestra contiene sólidos suspendidos, se debe filtrar a través de una membrana de 0.45 μm de tamaño de poro.

6.2 DESARROLLO DEL COLOR

6.2.1 Tratamiento de la muestra

Se neutraliza a $\text{pH} = 7.0$, 50.0 ml de la muestra o una porción alícuota diluida a 50.0 ml y se adiciona 1 ml de solución de sulfanilamida.

Se deja en reposo por 5 minutos para que reaccione.

Se agrega un (1) ml de solución de diclorhidrato de N-(α -naftil) etilendiamina y se mezcla inmediatamente.

Se deja en reposo 15 minutos y se lee en el espectrofotómetro el %T o la absorbancia a una longitud de onda de 543 nm.

NOTA: El máximo tiempo para la lectura del color, después de la adición de los reactivos es 2 horas, a partir de este momento el color comienza a desvanecerse.

6.2.2 Preparación de la curva normal

A partir de la solución patrón de nitritos (numeral 5.9), se preparan una serie de patrones de acuerdo con la gafa que se dá en la Tabla No.11.

Para la preparación de los testigos se pueden utilizar tubos Nessler de 50.0 ml.

TABLA No.11

μg de N-NO_2^- en 50 ml	CONCENTRACION $\text{mg N-NO}_2^-/\text{l}$	VOLUMEN SOLUCION PATRON DE $0.50 \mu\text{g N-NO}_2^-/\text{ml}$
0.00	0.0	0.0
0.05	0.001	0.1
0.10	0.002	0.2
0.20	0.004	0.4
0.35	0.007	0.7
0.50	0.010	1.0
0.75	0.015	1.5
1.00	0.020	2.0
1.25	0.025	2.5

Se adiciona a cada patrón los reactivos en la misma secuencia y volumen utilizados para el desarrollo del color en las muestras.

7 CALCULOS

- 7.1 Se elabora una curva de calibración, graficando concentración de nitritos contra %T (papel semilog) o contra absorbancia (papel milimetrado).
- 7.2 Se determina la concentración de nitritos a partir de la curva normal o de la ecuación de regresión si se la ha calculado.
- 7.3 Si se hace colorimetría visual, la concentración de nitritos en la muestra, será aquella del patrón que presente igual coloración.

pH

1 METODO POTENCIOMETRICO - FUNDAMENTO GENERAL

El principio básico de la medición electrométrica de pH, es la de terminación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas, usando un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia. El método del electrodo de vidrio es universalmente aceptado, puesto que es mucho más fácil de manejar y menos susceptible a envenenamiento que el electrodo de hidrógeno.

El pH se define como el logaritmo negativo de la actividad de iones hidrógeno : $\text{pH} = -\log A_{\text{H}^+}$. Para efectos prácticos, en soluciones diluidas se asumen aproximadamente equivalentes la actividad del ión hidrógeno y su concentración molar, por lo tanto :

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

2 INTERFERENCIAS

La temperatura influye en la medida del pH, por esta razón la mayoría de estos instrumentos vienen equipados con un compensador de tem

peratura.

Las mediciones de pH en soluciones acuosas con electrodo de vidrio, están libres de interferencia por color, turbiedad, partículas coloidales y agentes oxidantes o reductores.

3 EQUIPOS

3.1 pH-METRO

Consiste de un potenciómetro, un electrodo sensor de vidrio, un electrodo de referencia y un compensador de temperatura. Existen equipos muy precisos, como los pH-metros de escala expandida, que dan lecturas de pH con aproximaciones a 0.0001 unidad. Para trabajos de rutina en el laboratorio, se puede utilizar un equipo, con una precisión a 0.1 unidad de pH, escala entre 0-14 y compensación de temperatura.

3.2 ELECTRODO DE REFERENCIA

Consiste de una media celda que posee un potencial de electrodo normalizado, los más corrientemente usados son el electrodo de calomel y el electrodo de Ag/AgCl. Ambos pueden utilizarse con diferentes tipos de uniones líquidas.

La unión líquida es importante en el electrodo de referencia, pues

to que es allí, donde el electrodo forma un puente salino con la muestra o la solución buffer, lo cual genera un potencial que a su vez afecta el potencial producido por los iones hidrógeno.

Se deben seguir las instrucciones del fabricante para el cuidado y mantenimiento de los electrodos.

3.3 ELECTRODO DE VIDRIO

El electrodo sensor es un bulbo de un vidrio especial que contiene una concentración fija de ácido clorhídrico o una solución buffer de cloruro, en contacto con un electrodo interno de referencia.

El vidrio es un material intercambiador de iones, especialmente de iones hidrógeno, que actúa como una membrana selectiva de iones H^+ , cuando los electrodos se sumergen en una solución, la cara exterior del bulbo comienza a hidratarse e intercambiar iones sodio por iones hidrógeno, creando una capa superficial en el bulbo del electrodo de iones hidrógeno. Esta carga se opone evidentemente al movimiento de más iones hidrógeno y rápidamente se alcanza el equilibrio, se produce entonces en la interfase, solución-vidrio una diferencia de potencial, que es función de la actividad de los iones hidrógeno en solución.

El electrodo de vidrio es aconsejable para rangos de pH entre 1 y 9, a valores de pH por encima de 10 se debe utilizar un electrodo

especial que corrija el error del sodio.

Existen también electrodos combinados, en los cuales se incorporan en un sólo probador, el electrodo de vidrio y el de referencia.

4 REACTIVOS

Preparación de soluciones Buffer Patrón.- El pH-metro se calibra, con soluciones amortiguadoras de pH conocido. Como estas soluciones se deterioran fácilmente por crecimiento de hongos o por contaminación, se deben preparar soluciones frescas cuando sea necesario, disolviendo en agua destilada o desionizada, a 25°C, la cantidad estipulada de reactivos químicos de alta pureza, standard primario, calidad analítica comprobada. Se aconseja preparar estas soluciones cada 4 semanas.

4.1 AGUA DESTILADA

Se hierve por 15 minutos y se enfría agua destilada con una conductividad menor que 2 μ hos/cm. Se comprueba su pureza agregando a 50 ml de esta agua, una gota de solución saturada de KCl, (se puede utilizar la solución que se usa en los electrodos de referencia). Si el pH de esta solución está en 6 y 7, se puede usar para la preparación de soluciones buffer.

En el mercado existen disponibles, tabletas, polvos y concentra

dos de calidad probada, que permiten preparar fácilmente soluciones buffer de diferentes pH, por disolución de los compuestos en agua destilada.

4.2 SOLUCIONES BUFFER

4.2.1 Solución buffer de pH 6.86 (a 25°C)

Se seca por 2 horas, en una estufa a 110°C - 130°C, fosfato diácido de potasio, KH_2PO_4 , se enfría en un desecador y se mantiene allí hasta el momento de pesar para evitar la absorción de humedad.

Preparación.- Se pesan en balanza analítica 0.8470 g de KH_2PO_4 y 0.8832 g de Na_2HPO_4 , se disuelven bien en unos 100 ml de agua destilada hervida y fría (libre de dióxido de carbono).

Se pasan a un balón aforado de 250 ml, se enjuagan varias veces el recipiente donde se disolvieron las sales y se completa el volumen, con agua destilada (numeral 4.1).

4.2.2 Solución buffer de pH 4.008 (a 25°C)

Preparación.- Se pesan en una balanza analítica 2.53 g de biftalato de potasio ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) y se disuelven en unos 100 ml de agua destilada hervida y fría. Se transfiere la solución a un balón aforado de 250 ml, se enjuaga varias veces el beaker don

de se disolvió la sal y se enrasa a la marca.

4.2.3 Solución buffer de pH 9.180 (a 25°C)

Preparación.- Se pesan en una balanza analítica 0.95 g de borato de sodio decahidratado, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (bórax) y se disuelven en unos 100 ml de agua destilada hervida y fría. Se transfiere la solución a un balón aforado de 250 ml, se enjuaga varias veces el beaker donde se disolvió la sal y se enrasa a la marca.

5 PROCEDIMIENTO

Como existen tantas variedades de pH-metros, es necesario ajustarse a las instrucciones dadas por el fabricante para su uso, en cuanto al almacenamiento y preparación de los electrodos

Las siguientes consideraciones generales son una guía para el uso correcto del pH-metro :

- 5.1 Para usar, se sacan los electrodos de la solución de almacenamiento y se lavan bien con agua destilada o agua desmineralizada.
- 5.2 Se secan los electrodos con un papel suave que no produzca rayaduras o abrasión que puedan estropear la delicada membrana del bulbo sensor.

- 5.3 Se enciende el medidor de pH y se permite que se caliente, durante 1 minuto o más.
- 5.4 Se calibra el equipo con la solución buffer de pH 6.86 ó 7.0 si está disponible, para lo cual se pasan a un beaker unos 100 ml de la solución amortiguadora y se sumergen en ella los electrodos.
- 5.5 Se toma la temperatura de la solución y se ajusta el equipo con el dial de compensación de temperatura.
- 5.6 Se lleva el dial selector a la posición de normalización o estandarización y se ajusta con el botón apropiado al valor del pH del buffer de acuerdo con la temperatura (Ver Tabla No.12).
- 5.7 Se sacan los electrodos de la solución amortiguadora patrón, se lavan muy bien con agua destilada o desionizada y se sumergen en la solución buffer para comprobación de linealidad, que puede ser la de pH 4.0 si el pH de la muestra está por debajo de 7.0 y 9.18 si el pH de la muestra está por encima de 7.0.
- 5.8 Se oprime el botón selector de pH. Si el equipo está funcionando bien la lectura en la escala de pH debe ser 4.0 ± 0.1 si la solución buffer es pH 4.0 y 9.18 ± 0.1 si la solución buffer es la de bórax. Una desviación mayor de 0.1 unidad de pH indica daños en los electrodos o en el potenciómetro.

TABLA No.12 VARIACION DE LOS VALORES DE pH DE LAS SOLUCIONES BUFFER PATRON EN FUNCION DE LA TEMPERATURA

TEMPERATURA °C	VALORES DE pH DE LAS SOLUCIONES BUFFER PATRON		
	$\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$
0	4.003	6.984	9.464
5	3.999	6.951	9.395
10	3.998	6.923	9.332
15	3.999	6.900	9.276
20	4.002	6.881	9.225
25	4.008	6.865	9.180
30	4.015	6.853	9.139
35	4.024	6.844	9.102
38	4.030	6.840	9.081
40	4.035	6.838	9.068
45	4.047	6.834	9.038
50	4.060	6.833	9.011

NOTA: Es importante recordar que cuando se comprueba la calibración del equipo con soluciones de pH 4.0 y 9.0, NO se debe mover el dial de normalización (estandarización), pues lo que se está haciendo es una comprobación de linealización y no una calibración.

5.9 Análisis de la muestra.- Una vez calibrado el equipo y comprobado su buen funcionamiento, se procede a leer el pH de las muestras.

En primer lugar se lleva la muestra a la temperatura de las soluciones buffer, se sacan los electrodos de la solución amortiguadora, se lavan muy bien con agua destilada o agua desionizada, se secan con un papel muy suave y se sumergen en la muestra cuyo pH se desea conocer. Se oprime el botón selector de lectura de pH, se agita suavemente la muestra y se lee directamente en la escala correspondiente, teniendo la precaución de ubicarse correctamente, de tal manera que los ojos queden exactamente al frente del panel de lectura. Si se ubica en ángulo con relación a la escala de pH, las lecturas serán erradas.

SILICE

La sílice es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre. Se encuentra como bióxido de sílice, SiO_2 , en el cuarzo y la arena y combinado en forma compleja con muchos metales principalmente en rocas ígneas.

La presencia de la sílice en aguas naturales, se debe a la descomposición de las rocas que liberan entre otros compuestos, los silíceos, los cuales se encuentran presentes en forma soluble, coloidal, de partículas suspendidas, en formas poliméricas y como ácido silícico o como silicatos.

Las aguas naturales generalmente tienen entre 1 y 30 mg SiO_2/l . La sílice es indeseable en aguas para usos industriales, por ejemplo calderas operadas a alta presión, por la facilidad que tienen de formar a las condiciones de presión y temperaturas que allí se dan, incrustaciones silíceas de naturaleza vítrea muy difíciles de remover.

Existen varios métodos analíticos que permiten la cuantificación de la sílice, la selección del método depende del origen del agua y sobre todo del uso que se le vaya a dar a la misma. Para el análisis de sílice en agua potable es suficiente la colorimetría con molibdato de amonio que

detecta aproximadamente 1 mg SiO₂/l, cuando se usan tubos de Nessler de 50 ml.

1 METODO DEL MOLIBDO-SILICATO - FUNDAMENTO GENERAL

El molibdato de amonio a un pH aproximado de 1.2, reacciona con la sílice y algunos fosfatos presentes produciendo un compuesto complejo el ácido de heteropoli. La adición de ácido oxálico permite destruir el ácido fosfomolibdico pero no actúa sobre el ácido molibdo-silícico.

Aún, conociendo que los fosfatos estén ausentes, es importante y conveniente agregar el ácido oxálico.

La intensidad del color amarillo desarrollado, es proporcional a la concentración de la "sílice reactiva al molibdato" presente.

2 INTERFERENCIAS

En lo posible se debe evitar el uso de material de vidrio ya que éste puede aportar sílice, igualmente los reactivos deben ser de calidad analítica comprobada y con bajo contenido de sílice.

Siempre se debe correr un blanco para corregir la sílice adicionada.

Interfieren también el tanino, altas concentraciones de hierro, el co

lor, la turbiedad, los sulfuros y los fosfatos. El tratamiento con ácido oxálico elimina la interferencia de los fosfatos y disminuye la del tanino. Si es necesario se debe usar compensación fotométrica para anular la interferencia por color o turbiedad.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Las muestras deben colectarse en recipientes de polietileno, u otros materiales plásticos o caucho resistente, especialmente si se van a mantener almacenadas por algún tiempo antes del análisis.

Los recipientes de vidrio de borosilicato, son los menos adecuados para la recolección de muestras puesto que aguas con pH mayores que 8.0 y el agua de mar disuelven fácilmente el vidrio, aumentando considerablemente el contenido de sílice en la muestra.

El procedimiento de congelación de la muestra no se recomienda, porque el valor de la sílice soluble puede dar entre 20% y 40% menos en aguas cuyo pH está por debajo de 6.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

4.1 EQUIPO COLORIMETRICO

Se puede usar uno de los siguientes :

4.1.1 Espectrofotómetro

Para usar a una longitud de onda, λ , de 410 nm, provisto con celda de paso de luz de 1 cm o mayor.

4.1.2 Fotómetro de filtro

Equipado con un filtro violeta, que tenga su máxima transmitancia cerca a una longitud de onda de 410 nm y con celda de paso de luz de 1 cm o mayor.

4.2 TUBOS DE NESSLER

Los tubos de Nessler deben ser iguales, de 50 ml y de forma alta.

5 REACTIVOS

Se deben usar reactivos con bajo contenido de sílice y almacenar en recipientes de plástico.

5.1 ACIDO CLORHIDRICO, HCl, 1+1

5.2 SOLUCION DE MOLIBDATO DE AMONIO

Se disuelven 10 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada, se agita constantemente para disolver y se calienta suavemente. Se diluye a 100 ml en balón aforado.

Si es necesario se filtra, luego se ajusta el pH entre 7 y 8 con NH_4OH o NaOH exentos de sílice y se almacena en botella de polietileno.

5.3 SOLUCION DE ACIDO OXALICO

Se disuelven 7.5 g de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y se completa a 100 ml.

5.4 SOLUCION MADRE DE SILICE

Se disuelven 4.73 g de metasilicato de sodio nonahidratado, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, en agua destilada recientemente hervida y fría y se diluye aproximadamente a 900 ml.

Se analiza una porción de esta solución por espectrofotometría de absorción atómica y se ajusta el resto de la solución de tal manera que 1 ml sea igual a 1000 μg de SiO_2 .

Se almacena en recipiente de polietileno bien tapado.

5.5. SOLUCION PATRON DE SILICE I

Se diluyen 10.0 ml de la solución madre, a 1 litro con agua destilada recién hervida y fría.

1 ml de esta solución es igual a 10.0 μg de SiO_2 .

Se almacena en recipiente de plástico bien tapado.

5.6 SOLUCION PATRON DE SILICE II

Se disuelven 100.0 ml de la solución madre a 1 litro con agua destilada recién hervida y fría. Se almacena en recipiente de plástico bien cerrado.

1 ml de esta solución es igual a 100 µg de SiO₂.

5.7 SOLUCION DE COLOR PERMANENTE

5.7.1 Solución de cromato de potasio

Se disuelven 630 g de K₂CrO₄ en agua destilada y se diluye a 1 litro.

5.7.2 Solución de Borax

Se disuelven 10.0 g de borato de sodio, decahidratado Na₂B₄O₇·10H₂O en agua destilada y se diluye a 1 litro.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 DESARROLLO DEL COLOR

Se toman 50.0 ml de la muestra, se añaden en rápida sucesión 1.0 ml de HCl 1+1 y 2.0 ml de solución de molibdato de amonio. Se mezclan

varias veces por inversión y se dejan en reposo entre 5 y 10 minutos. Transcurrido el tiempo, se añaden 2.0 ml de solución de ácido oxálico y se mezcla vigorosamente.

La intensidad del color desarrollado se puede medir ya sea espectro fotométricamente a una $\lambda = 410 \text{ nm}$ o por comparación visual, entre 2 minutos, máximo 15 minutos después de la adición del ácido oxálico.

6.2 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Se preparan una serie de estándares cuyo rango varía de acuerdo con la disponibilidad de celdas de diferentes trayectorias de luz, como se indica en la Tabla No.13:

TABLA No.13 TRAYECTORIA DE PASO DE LUZ (cm) CONTRA RANGO DE CONCENTRACION DE SiO_2

$\lambda = 410 \text{ nm}$ Vol final = 55 ml

PASO DE LUZ cm	$\mu\text{g SiO}_2$ en 55 ml	CONCENTRACION mg SiO_2 /l
1	200 - 1300	3.6 - 23.6
2	100 - 700	1.8 - 12.7
5	40 - 250	0.7 - 4.5
10	20 - 130	0.4 - 2.4

Se detallan a continuación los volúmenes de solución patrón que se

deben medir para preparar una curva entre 3.6 - 23.6 mg SiO₂/l y usando una celda de 1 cm de paso de luz. Tabla No.14.

TABLA No.14 CONCENTRACION DE SiO₂ CONTRA VOLUMEN DE SOLUCION PATRON

$\mu\text{g SiO}_2$ en 55 ml	CONCENTRACION mg SiO ₂ /l	VOL. DE SOL. PATRON II 1 ml = 100 $\mu\text{g SiO}_2$
0.0	0.0	0.0 *
200	3.6	2.0
400	7.3	4.0
800	14.5	8.0
1000	18.2	10.0
1300	23.6	13.0

* blanco de reactivos.

Se completa el volumen a 50 ml y se continúa de acuerdo con las instrucciones dadas para el desarrollo de color, numeral 6.1.

El espectrofotómetro se lleva a 100% T con agua destilada.

Se grafica $\mu\text{g SiO}_2$ en el volumen final (55 ml) contra las lecturas %T o absorbancia.

Con cada lote de muestras, se debe correr un blanco de reactivos y al menos 1 patrón para comprobar la linealidad de la curva.

6.3 COMPARACION VISUAL

Se hacen un conjunto de estándares permanentes, de color artificial usando las soluciones de K_2CrO_4 y la de Borax.

Se mezclan los volúmenes de las soluciones, especificados en la Tabla No.15 y se colocan en tubos de Nessler de 50.0 ml bien tapados y marcados claramente con la concentración del patrón respectivo.

TABLA No.15 PATRONES PERMANENTES PARA ANALISIS DE SILICE

CONCENTRACION mg SiO_2 /l	VOL. K_2CrO_4 ml	VOL. BORAX ml	VOL. AGUA DESTILADA ml
0.0	0.0	25	30
2.0	1.0	25	29
4.0	2.0	25	28
8.0	4.0	25	26
10.0	5.0	25	25
16.0	8.0	25	22
20.0	10.0	25	20

La estabilidad de estos patrones, se debe comparar esporádicamente contra patrones de SiO_2 preparados a partir de sílice y en los cuales se ha desarrollado la colorimetría.

Los patrones artificiales se usan únicamente para colorimetrías vi

suales.

6.4 CORRECCION POR COLOR Y TURBIEDAD

Se prepara un blanco especial para cada muestra que necesite corrección por color o turbiedad.

Se toman 2 porciones iguales de cada muestra.

A una de las muestras se la trata exactamente en la forma indicada para el desarrollo del color, numeral 6.1.

La otra muestra se la utiliza como blanco, por lo tanto se le adiciona 1 ml de HCl 1+1 y 2.0 ml de ácido oxálico (no se agrega molibdato).

Cada blanco se utiliza para ajustar el espectrofotómetro a 100 %T o "0" de absorbancia, enseguida se lee la respectiva muestra.

7 CALCULOS

$$\text{mg SiO}_2/\text{l} = \frac{A}{B}$$

donde :

A = $\mu\text{g SiO}_2$ hallados en el volumen de muestra analizado (55 ml)

B = volumen de muestra.

SOLIDOS

1 METODO GRAVIMETRICO - FUNDAMENTO GENERAL

Se da el nombre de "sólidos totales" o "residuo total" al material que queda en el recipiente después de la evaporación o sequedad de la muestra en baño de vapor y su subsiguiente secamiento completo en un horno a temperatura definida.

El residuo total incluye el "residuo no filtrable" - esto es, la porción del residuo total retenida por filtración, y el "residuo filtrable" - o sea la porción del residuo total que pasa a través del filtro.-

También se utilizan los términos "sólidos en suspensión" y "sólidos disueltos" para indicar, respectivamente, el residuo no filtrable y el residuo filtrable. La separación más o menos completa de los sólidos en suspensión depende de varios factores, tales como la naturaleza física y química del material en suspensión, el tamaño de los poros del filtro, el área y espesor de la capa filtrante y la cantidad y estado físico de los materiales depositados en dicha capa.

La temperatura a la cual el residuo es secado tiene mucha importancia

en relación con los resultados ya que las pérdidas de peso debidas a la volatilización de productos orgánicos, al desprendimiento de agua de cristalización o mecánicamente ocluída, y a la pérdida de gases por descomposición química debida al calor, así como las ganancias de peso por oxidación, depende de la temperatura y del período de secamiento. En general, la temperatura entre 103 y 105 °C es la escogida para el secamiento. A tal temperatura no sólo se retiene el agua de cristalización sino también la parte que está físicamente ocluída. La pérdida de materia orgánica por volatilización es muy pequeña, si acaso ocurre, en tales condiciones.

Se entiende por "residuo fijo total" o "sólidos fijos totales" el material remanente después de calcinación del residuo total por 1 hora a 600°C. Esta es la temperatura más baja a la cual la materia orgánica, particularmente los residuos carbonáceos resultantes de la pirólisis de los carbohidratos y de otros compuestos orgánicos, son oxidados a una velocidad razonable. La volatilización y descomposición de las sales minerales, con pocas excepciones, es muy escasa a esta temperatura.

La diferencia entre el peso del residuo total y el peso del residuo fijo total constituye el "residuo volátil total" o "sólidos volátiles totales".

2. MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

Como la muestra no se puede preservar, el análisis se debe realizar lo más pronto posible, después de la toma de muestra. Antes de efectuar el análisis se debe eliminar todo material flotante de gran tamaño así como aglomerados sumergidos de material no homogéneo.

El almacenamiento se debe realizar en material de vidrio resistente, para evitar la acción disolvente del agua sobre recipientes de vidrio ordinario. No se aconseja el uso de recipientes de plástico porque el material en suspensión que contiene la muestra tiende a quedar adherido a las paredes.

3. SOLIDOS TOTALES O RESIDUO TOTAL

Se vierte un volumen apropiado de la muestra en una cápsula de peso conocido, se calienta en baño de maría hasta que todo el líquido se haya evaporado y luego se seca el residuo en un horno a una temperatura entre 103 y 105°C, durante 1 hora. El aumento de peso sobre el de la cápsula vacía representa el residuo total.

3.1 PROCEDIMIENTO

Se lava muy bien una cápsula de porcelana (si no se dispone de una de platino) con capacidad entre 150 y 200 ml y se seca en un horno a la misma temperatura a que se va a secar el residuo. Si se han

de determinar también los sólidos fijos totales, se requiere secar la cápsula durante 30 minutos a 600°C en una mufla.

En la cápsula se vierte un volumen de la muestra bien mezclada, que deje un residuo entre 100 y 250 mg. Una apreciación preliminar aproximada del volumen que se ha de emplear puede lograrse a partir del dato de la conductancia específica de la muestra.

Se coloca en el baño de vapor la cápsula con la muestra y se deja evaporar completamente el agua. Luego se pasa a un horno de temperatura controlada y se seca entre 103 y 105°C durante 1 hora. Se deja reposar la cápsula brevemente al aire después de retirarla del horno y, se la pasa a un desecador para completar su enfriamiento en una atmósfera seca.

Se pesa la cápsula tan pronto como se haya enfriado.

Los resultados se expresan en mg/l y en números enteros.

3.2 CALCULOS

$$\text{mg de sólidos totales/l} = \frac{A - B}{C} \times 1000$$

donde :

A = peso de la cápsula más sólidos (mg)

B = peso de la cápsula vacía (mg)

C = volumen de muestra evaporada (ml).

NOTA: Es importante mantener el material secante del desecador en óptimas condiciones, de lo contrario, se corre el riesgo de que el material previamente secado absorba humedad del medio, lo que se traduce en resultados erróneos.

4. RESIDUO FIJO TOTAL O SOLIDOS FIJOS TOTALES

La cápsula anterior, con el residuo total se somete a calcinación durante 1 hora a 600°C. El aumento de peso sobre la cápsula vacía representa el residuo fijo.

4.1 PROCEDIMIENTO

Se introduce la cápsula con el residuo fijo en una mufla a la temperatura de 600°C durante 1 hora. Luego se deja enfriar la cápsula al aire hasta que la mayor parte del calor se haya disipado y entonces se transfiere al desecador para el enfriamiento final en atmósfera seca. Se pesa la cápsula tan pronto como esté completamente fría. Se informa el aumento de peso sobre la cápsula vacía como los "sólidos fijos totales" en términos de mg/l y en números enteros.

4.2 CALCULOS

$$\text{mg/l de sólidos fijos totales} = \frac{\text{mg de sólidos fijos}}{\text{volumen de muestra}} \times 1000$$

5 RESIDUO NO FILTRABLE O SOLIDOS EN SUSPENSION

Una apropiada porción de la muestra se pasa a través de un filtro tarado, y éste con el residuo de la filtración se seca en un horno entre 103 y 105°C. El aumento de peso sobre el filtro vacío representa los sólidos en suspensión o no filtrables.

5.1 PROCEDIMIENTO

La filtración de la muestra se realiza generalmente utilizando un crisol de Gooch de 25 ó 30 ml de capacidad, y con capa filtrante de asbesto o filtro de fibra de vidrio, acelerando la operación mediante vacío.

Para la formación de la capa filtrante de asbesto se prepara con anticipación lo que se llama "crema de asbesto" agitando 10 g de asbesto lavado con ácido y de fibra mediana, con 1 litro de agua destilada.

El crisol se alista llenándolo con la crema de asbesto de 1 a 2 minutos para permitir que las partículas más pesadas sedimenten; luego se hace la succión. Es importante que la succión empleada para pre

parar la capa filtrante sea de igual magnitud a la que se ha de utilizar en la filtración de la muestra. Después de que el agua ha pasado a través de la capa filtrante, se suspende la succión y se llena el crisol con agua destilada. Luego vuelve a hacerse la succión para que el agua pase. El procedimiento del lavado de la capa filtrante con agua destilada debe repetirse dos veces más.

La capa filtrante debe pesar alrededor de 0.3 g y poseer un espesor de unos 2 mm y no deben observársele espacios vacíos al ser mirada contra la luz.

El crisol se seca en el horno a 103°C durante 1 hora, luego se deja enfriar a la temperatura ambiente en un desecador y se pesa.

Como la cantidad de sólidos en suspensión de las aguas potables es usualmente muy pequeña, debe filtrarse un volumen relativamente grande de la muestra para asegurar un residuo pesable. La cantidad mínima de residuo que se considera significativa es de 2.5 mg. Un criterio razonable para elegir la cantidad de muestra puede hallarse en la medida de la turbiedad. Si la muestra tiene una turbiedad de 50 o menos, se filtra 1 litro; si la turbiedad está sobre 50 unidades, se filtra suficiente muestra para obtener entre 50 y 100 mg de residuo no filtrable.

Después de haber filtrado, con succión, el volumen apropiado de la muestra, se pasa el crisol con su contenido al horno y se seca a

103°C durante 1 hora. Se enfría un poco al aire y se pasa al desecador hasta enfriamiento total. Se pesa y se informa el aumento de peso en relación con el peso del crisol preparado, como "sólidos en suspensión" o "residuo no filtrable" en mg/l y en números enteros.

5.2 CALCULO

$$\text{mg S.S./l} = \frac{\text{mg de sólidos retenidos}}{\text{volumen de la muestra}} \times 1000$$

SULFATOS

1 METODO TURBIDIMETRICO - FUNDAMENTO GENERAL

El ión sulfato se precipita como sulfato de bario, BaSO_4 , por la adición de cloruro de bario, BaCl_2 , en un medio fuertemente acidificado con ácido clorhídrico, HCl . Los cristales de BaSO_4 formados son de tamaño uniforme y tienen propiedades ópticas. La luz absorbida por una suspensión de BaSO_4 , puede medirse en un nefelómetro, igualmente la luz transmitida por la suspensión se puede medir en un fotómetro, la intensidad de luz absorbida o transmitida es proporcional a la concentración del ión sulfato y puede por lo tanto determinarse, de cualquiera de las dos formas por comparación de las lecturas con curvas de calibración.

La mínima concentración detectable de $\text{SO}_4^{=}$ por este método, es 1 mg $\text{SO}_4^{=}$ /l.

2 INTERFERENCIAS

Altas concentraciones de sólidos suspendidos y el color interfieren con la prueba. El material suspendido puede removerse por filtración.

Si tanto el color como los sólidos en suspensión están en baja concentración en comparación con la concentración del ión sulfato la interferencia puede corregirse como se indicará más adelante.

Interfiere también la sílice en concentraciones mayores que 500 mg/l así como la presencia de grandes cantidades de materia orgánica.

El ión sulfito puede ser oxidado a sulfato, durante la realización del análisis, lo cual dará un error positivo.

En agua potable, donde no deben existir otros iones que precipiten con el BaCl_2 en medio ácido, únicamente se forma el BaSO_4 insoluble.

El control de temperatura es muy importante para la reproducibilidad de los resultados, por lo tanto es necesario ajustar la temperatura de las muestras y los patrones en un rango entre 20-25°C.

Se debe tener cuidado en la preparación de la solución acondicionadora, en el sentido de utilizar reactivos con bajo contenido de sulfatos.

Si la vidriería se ha lavado con mezcla sulfocrónica, es necesario lavar muy bien el material, para remover cualquier traza de sulfatos.

3 MUESTREO Y ALMACENAMIENTO

En presencia de materia orgánica, ciertas bacterias pueden reducir el

sulfato, para evitarlo, las muestras muy contaminadas se deben almacenar a baja temperatura.

4 EQUIPOS Y MATERIALES

4.1 AGITADOR MAGNETICO

Se debe usar un agitador magnético de velocidad constante y barras de agitación de la misma forma y tamaño. No hay una velocidad específica recomendada, pero sí es necesario que la velocidad de agitación, cuando se procesan los patrones y las muestras, sea uniforme.

4.2 FOTOMETROS

Cualquiera de los siguientes equipos, puede ser utilizado, con preferencia en el orden citado :

4.2.1 Nefelómetro

4.2.2 Espectrofotómetro

Para usar a una $\lambda = 420$ nm, provista de celda, con trayectoria de luz de 4-5 cm.

4.2.3 Fotómetro de filtro

Con un filtro violeta que tenga su máxima absorción a 420 nm y con celda de trayectoria de luz de 4-5 cm.

4.3 MATERIAL AUXILIAR

4.3.1 Reloj de detención o alarma eléctrica

4.3.2 Cucharilla con capacidad para medir 0.2-0.3 g.

5 REACTIVOS

5.1 SOLUCION ACONDICIONADORA

A 300 ml de agua destilada se agregan 30 ml de HCl concentrado, 100 ml de alcohol etílico (o isopropílico) de 95% y 75 g de NaCl y se mezclan con 50 ml de glicerol.

5.2 CLORURO DE BARIO, BaCl₂

Se requiere utilizar cristales uniformes de BaCl₂, para trabajo en turbidimetría*.

Se debe construir nueva curva de calibración con cada frasco nuevo de cristales de BaCl₂, para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

5.3 SOLUCION PATRON DE SULFATO

Se puede preparar una de las siguientes :

* Baker No.0974 o equivalente.

5.3.1 Se diluyen 10.41 ml de solución valorada de H_2SO_4 0.02N, a 100 ml con agua destilada. 1 ml = 100 $\mu\text{g SO}_4^{=}$.

5.3.2 Se disuelven 147.9 mg de Na_2SO_4 anhidro en agua destilada, se vierte en un balón aforado de 1 litro y se enrasa a la marca con agua destilada. 1 ml = 100 $\mu\text{g SO}_4^{=}$.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 PREPARACION DE LOS PATRONES

Se preparan una serie de patrones de $\text{SO}_4^{=}$ entre 0-50 mg $\text{SO}_4^{=}/\text{l}$, utilizando la solución patrón que se haya preparado, se toman los volúmenes de acuerdo con las especificaciones de la Tabla No.16 y se completa el volumen en balón aforado a 100 ml.

Se pasan las soluciones patrón a erlenmeyers de 250-300 ml. Se agrega a cada uno 5.0 ml de solución acondicionadora y se mezcla en agitador magnético a velocidad constante. Mientras se agita se añade una cucharadita de cristales de BaCl_2 y a partir de este momento se cuenta 1 minuto de agitación.

Inmediatamente después de finalizada la agitación, se coloca la muestra en la celda y se lee rápidamente en el fotómetro la absorción entre 2 y 10 minutos. La máxima lectura de turbiedad generalmente ocurre a los 2 minutos y se mantiene constante hasta los 10 minutos.

TABLA No.16

$\mu\text{g SO}_4^{=}$ en 100 ml	CONCENTRACION mg $\text{SO}_4^{=}/\text{l}$	VOLUMEN DE SOLUCION PATRON $100 \mu\text{g SO}_4^{=} / \text{ml}$
0.0	0.0	0.0
500.0	5.0	5.0
1000.0	10.0	10.0
1500.0	15.0	15.0
2000.0	20.0	20.0
3000.0	30.0	30.0
4000.0	40.0	40.0
5000.0	50.0	50.0

A partir de los datos obtenidos se grafica la curva correspondiente de $\text{mg SO}_4^{=} / \text{l}$ contra lectura del fotómetro.

El cero del fotómetro o del nefelómetro se calibra utilizando agua destilada.

Periódicamente se revisa la celda portamuestra y se lava para evitar interferencias por deposición de precipitado de BaSO_4 .

6.2 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se toman 100 ml de muestra o una porción alicuota diluida a 100 ml y se la trata exactamente igual que los patrones de la curva de calibración (6.1)

Se comprueba la linealidad de respuesta del equipo, leyendo un patrón cada 3 ó 4 muestras.

Si la muestra analizada contiene color o turbiedad, se corre un blanco, al cual no se adicionan cristales de BaCl_2 . El resultado de este blanco debe restarse de los $\text{mg SO}_4^{=}/\text{l}$ de la muestra.

7 CALCULOS

$$\text{mg SO}_4^{=}/\text{l} = A \times F$$

donde :

A = $\text{mg de SO}_4^{=}/\text{l}$, calculados a partir de la curva de calibración y corregidos por interferencia

F = factor de dilución.

TURBIEDAD

La turbiedad es el efecto óptico causado por la dispersión y absorción de los rayos luminosos que pasan a través de un líquido que contiene pequeñas partículas en suspensión. La turbiedad en el agua resulta de la presencia de materiales sólidos u opacos que dicho líquido, transparente de por sí, mantiene en suspensión.

Según el grado de finura del material suspendido y la menor o mayor abundancia del mismo, la turbidez se presenta al observador bajo diversos aspectos. Para que la turbiedad aparezca es necesario que las partículas o micelas en suspensión sean a la vez de un cierto tamaño y suficientemente numerosas.

Las impurezas en suspensión en el agua pueden ser de origen mineral : arcilla, sílice, carbonato de calcio, azufre, hidróxido férrico, etc., o de origen orgánico : materiales animales o vegetales finamente divididos, microorganismos del plancton, etc.

A través del tiempo se han ido perfeccionando los métodos para las medidas de turbiedad del agua. Las primeras técnicas de análisis eran más que todo una aproximación a la cantidad de material sedimentable presente en el

agua y por lo tanto no tenía en cuenta las partículas de tamaño coloidal que permanecen suspendidas en el agua por largos períodos.

Los primeros métodos que realmente cuantificaron la turbiedad de una muestra de agua fueron el de bujía de Jackson y el de Hellige, sin embargo, ambos métodos son muy subjetivos respecto a la persona que realiza el análisis, pues depende de la habilidad de observación en cuanto a la desaparición de la llama en el primer caso y a la igualdad de 2 campos visuales en el segundo.

Ultimamente se ha desarrollado el campo de la turbidimetría nefelométrica, que obvia el error humano por cuanto la comparación con los patrones de turbiedad no es visual.

Por considerar que no todos los laboratorios tienen acceso a un nefelómetro, en esta guía se consignan las metodologías para las lecturas de turbiedad por nefelometría y turbidimetría.

1 METODO NEFELOMETRICO

El método se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra a unas condiciones dadas y la intensidad de la luz dispersada por una solución patrón bajo las mismas condiciones. A mayor intensidad de luz dispersada, mayor turbiedad se encontrará en la muestra.

La formazina es un polímero utilizado como patrón de referencia y es fácil de preparar. Una solución patrón de formazina de 40 UTN es equivalente a 40 unidades de turbiedad Jackson, UTJ, cuando se lee en un turbidímetro de vela, esto significa que las unidades de turbiedad nefelométricas, UTN, se derivan del método de Jackson pero no son iguales a ellas.

1.1 INTERFERENCIAS

La turbiedad se puede determinar en muestras libres de desechos y material rápidamente sedimentable, el polvo en el material de vidrio, las burbujas y las vibraciones perturban el análisis y producen resultados errados. El color verdadero, causado por sustancias que absorben luz, interfieren con la determinación, dando resultados de turbiedad bajos, este efecto no es significativo en el caso de aguas tratadas.

1.2 EQUIPOS

1.2.1 Turbidímetro

El turbidímetro HACH o uno equivalente es adecuado para estas determinaciones.

1.3 REACTIVOS

1.3.1 Agua libre de turbiedad

Se filtra el agua destilada a través de un filtro de membrana de

0.2 μm de tamaño de poro. Se enjuaga el erlenmeyer de recolección al menos 2 veces con agua destilada filtrada. Se descartan los primeros 200 ml.

Se puede utilizar también agua destilada y desmineralizada, libre de partículas.

1.3.2 Solución madre de turbiedad de 4000 UTN

- a. Se disuelve en un poco de agua destilada y desmineralizada, 1.00 g de sulfato de hidrazina, $(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ y se diluye a 100 ml en un balón aforado.
- b. Se disuelven 10.00 g de hexameten-tetra-amina, $\text{N}_4(\text{CH}_2)_6$, en agua destilada y desmineralizada y se diluye a 100 ml en un balón aforado.

Se mezclan volúmenes iguales de las soluciones a y b, se dejan en reposo en una incubadora a $25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$, durante 24 horas, obteniéndose un latex de aspecto lechoso que tiene 4000 UTN.

NOTA: Tanto las soluciones a y b como la suspensión lechosa sólo son estables por un mes.

1.3.3 Suspensión patrón de turbiedad

Se toman 10 ml de la suspensión de 4000 UTN y se diluyen a 100 ml

Con agua destilada y desmineralizada. Esta suspensión es estable por un mes.

1.4 PROCEDIMIENTO

1.4.1 Calibración del turbidímetro

Se deben seguir las instrucciones del fabricante.

Si no hay una escala precalibrada se prepara una curva de calibración con patrones de 100, 70, 40 y 10 UTN, diluyendo los volúmenes apropiados de suspensión patrón de 400 UTN.

Estas soluciones sólo son estables por una semana.

1.4.2 Lecturas de las muestras

Se coloca la muestra en la celda teniendo la precaución de no dejar burbujas, lo cual se obtiene fácilmente si se adiciona la muestra lentamente al tubo inclinado.

Se limpia bien la celda con un papel muy suave para evitar rayaduras y se toma por la parte superior, cuidando de no tocar con los dedos la superficie de la celda que estará en el camino del haz luminoso.

Se coloca la celda en el porta-muestra, se tapa con el tubo correspondiente y se lee directamente o a partir de la curva de calibra

ción las unidades de turbiedad nefelométricas, UTN.

Si la muestra está muy turbia y se sale de la escala del equipo, se puede diluir, tomando una alícuota y llevando a un volumen de terminado con agua destilada y desmineralizada. En los cálculos se debe tener en cuenta el factor de dilución.

1.5 CALCULOS

$$UTN = A \times \frac{(B+C)}{C}$$

donde :

UTN = unidades de turbiedad nefelométricas

A = UTN encontradas en la muestra

B = volumen de agua destilada agregada para la dilución (ml)

C = volumen de muestra tomado.

1.6 INFORME DE RESULTADOS

Los resultados se expresan de la manera siguiente :

RANGO DE TURBIEDAD UTN	SE APROXIMA A UTN
0.0 - 1.0	0.05
1 - 10	0.1
10 - 40	1
40 - 100	5
100 - 400	10
400 - 1000	50
> 1000	100

2 - TURBIDIMETRIAS VISUALES

2.1 METODO DEL TURBIDIMETRO DE BUJIA

Es un aparato sumamente sencillo cuyo funcionamiento se basa en la observación de la llama de una bujía a través del líquido en examen y la determinación del espesor de la capa bajo la cual el ojo deja de distinguir la llama. Consta de un pie metálico tastrado que lleva en su centro un candelero, que sostiene, por medio de tres columnetas, un porta-tubo metálico vertical. El tubo de medida es de vidrio y existe en dos modelos de diferentes longitudes: uno de 25 cm y el otro de 75 cm que dan, respectivamente, amplitudes de lectura de 100 a 5000 y de 25 a 5000 unidades de turbiedad. Cada uno de los tubos lleva dos graduaciones, la una en milímetros y centímetros, la otra en unidades de turbiedad.

La bujía o vela que utiliza este turbidímetro es una bujía tipo lla

mada "patrón inglés", y está compuesta de cera de abejas y espermaceti (blanco de ballena) en proporción tal que la bujía al arder consume de 7.4 a 8.2 gramos por hora de su propio material.

Para obtener medidas correctas es necesario :

- . Que la llama conserve el mismo tamaño, lo que se obtiene despidiendo frecuentemente la bujía y no dejándola arder sino algunos minutos cada vez.
- . Manteniendo una distancia constante entre la bujía y el fondo del tubo (76 mm), y constatando de vez en cuando que el resorte interior del candelero empuje bien la bujía hasta el vértice del soporte.

Las observaciones deben hacerse en cámara oscura o con un manto negro sobre la cabeza.

2.1.1 Procedimiento

Se vierte un poco de la muestra en el tubo de vidrio del turbidímetro y se coloca en el tubo metálico. Se prende la bujía y se mira la llama por encima del tubo y según su eje. Si la muestra no es demasiado turbia, la llama se distingue bien a través del líquido. Entonces se sigue añadiendo poco a poco, más muestra al tubo : la luz de la llama se atenuará progresivamente. Se suspende la adi

de la muestra en el momento en que la llama de la bujía deje de verse. La graduación del tubo correspondiente al nivel de enrase del agua indica ahora el valor de la turbiedad en unidades. Tabla No.17:

TABLA No.17 ALTURA DE LA MUESTRA CONTRA UNIDADES DE TURBIEDAD JACKSON

ALTURA (cm)	TURBIEDAD (UTJ)	ALTURA (cm)	TURBIEDAD (UTJ)
2.3	1.000	10.3	210
2.6	900	10.8	200
2.9	800	11.4	190
3.2	700	12.0	180
3.5	650	12.7	170
3.8	600	13.5	160
4.1	550	14.4	150
4.5	500	15.4	140
4.9	450	16.6	130
5.5	400	18.0	120
5.6	390	19.6	110
5.8	380	21.5	100
5.9	370	22.6	95
6.1	360	23.8	90
6.3	350	25.1	85
6.4	340	26.5	80
6.6	330	28.1	75
6.8	320	29.8	70
7.0	310	31.8	65
7.3	300	34.1	60
7.5	290	36.7	55
7.8	280	39.8	50
8.1	270	43.5	45
8.4	260	48.1	40
8.7	250	54.0	35
9.1	240	61.8	30
9.5	230	72.9	25
9.9	220		

Después de que se ha hecho desaparecer la imagen, la extracción del 1% de la muestra debe volver a hacer visible la imagen de la llama. Es conveniente emplear una pipeta para agregar o sacar pequeñas cantidades de la muestra al final.

Si la turbiedad es superior a 1000, se diluye la muestra con uno o más volúmenes de agua destilada hasta que la turbiedad caiga por debajo de 1000. La turbiedad de la muestra original se calcula entonces de la turbiedad de la muestra diluida y el factor de dilución. Por ejemplo, si 5 volúmenes de agua destilada fueron añadidos a 1 volumen de muestra, y la muestra diluida presentó una turbiedad de 500 unidades, la turbiedad de la muestra original era de 3000 unidades.

El tubo de medida debe mantenerse siempre limpio. En particular, el hollín depositado por la bujía sobre el fondo del tubo debe eliminarse completamente antes de cada medida.

La turbidimetría de bujía no puede utilizarse cuando las turbiedades son inferiores a 25 unidades.

A fin de eliminar los inconvenientes del empleo de la bujía, se reemplaza a menudo ésta por una bombilla eléctrica calibrada correspondientemente : el aparato se llama entonces turbidímetro de Scott.

2.1.2 Informe de resultados

Las lecturas de turbiedad, realizadas visualmente se deben expresar en la forma siguiente :

RANGO DE TURBIEDAD UTJ	SE APROXIMA A UTJ
25 - 40	1
40 - 100	5
100 - 400	10
400 - 700	50
> 700	100

2.2 METODO DE LAS BOTELLAS PATRON

Para esta comparación visual, se utilizan un conjunto de botellas iguales de borosilicato o de vidrio resistente.

Este método se utiliza para turbiedades entre 5-100 unidades de turbiedad Jackson, UTJ.

2.2.1 Preparación de suspensiones patrón

Los patrones de turbiedad pueden prepararse a partir de aguas naturales muy turbias o de kaolín.

a. A partir de agua natural

Se determina la turbiedad de la fuente de agua que se va a usar como patrón, en un turbidímetro de vela de Jackson y a partir de élla se preparan los patrones con los valores de turbiedad deseada, utilizando para diluír agua destilada y desmineralizada.

Para óptimos resultados la suspensión patrón se puede preparar a partir de la misma fuente de agua que va a ser analizada.

Esta suspensión es estable sólamente por una semana.

b. A partir de caolín

Se añaden aproximadamente 5.0 g de caolín a 1 litro de agua destilada y desmineralizada, se agita fuertemente y se deja en reposo por 24 horas.

Después del período de reposo, se retira el sobrenadante, cuidando de no perturbar el sedimento y se le determina la turbiedad con el turbidímetro de bujía. La suspensión se preserva por la adición de 1 g $HgCl_2/l$.

Antes de usar se debe agitar fuertemente y comprobar mensualmente la linealidad de su respuesta.

Se preparan patrones, diluyendo la suspensión madre con agua destilada.

da y desmineralizada a los valores de turbiedad deseada.

2.2.2 Comparación de las muestras

Se colocan la muestra y los patrones en botellas de igual clase, forma y tamaño. Las botellas no deben llenarse completamente para permitir una buena agitación, antes del análisis.

Para la comparación visual, se colocan detrás de las botellas, objetos, cartulina rayada o papel periódico y se mira de frente al costado de las botellas, notando la claridad a la cual el objeto, rayas o periódico pueden verse a través de ellas.

Se pueden iluminar artificialmente las botellas, por encima o por debajo, cuidando que la luz no llegue directamente a los ojos del analista.

La turbiedad de la muestra será la del patrón que produzca un efecto visual muy semejante al que ella produce.

2.3 TURBIDIMETRO DE HELLIGE

Este equipo sirve para determinar turbiedades en rangos muy amplios. Consta de una caja metálica dentro de la cual se halla una bombilla opaca, un reflector de esmalte vítreo y blanco, y una ranura de precisión que se regula mediante un cuadrante graduado que sobresale de la

caja en la parte lateral derecha de la misma.

Una plataforma en el compartimiento frontal del turbidímetro sostiene un espejo circular perforado en el centro sobre el cual se coloca el vaso que lleva la muestra por analizar. Un marco con dos vidrios circulares más o menos oscuros se mantienen bajo la plataforma, y un reflector de vidrio opaco está situado aún más bajo. Un ocular con lentes y diafragma está montado en la parte superior del instrumento. Para facilitar las comparaciones en presencia de luces extrañas, el ocular está dotado de un ensanchamiento en su ápice que se adapta a la curvatura del ojo. No se necesita cuarto oscuro para su funcionamiento.

Los vasos están provistos de émbolos de vidrio que ajustan automáticamente el líquido a una altura exacta.

Las medidas en el turbidímetro de Hellige están basadas en el efecto de Tyndall. Un rayo luminoso que viaja hacia arriba a través de la muestra turbia se compara con la luz que difunden hacia arriba las partículas suspendidas al ser iluminadas lateralmente.

Los rayos luminosos de la bombilla esmerilada son desviados por un reflector y van a iluminar lateralmente al líquido turbio contenido en el vaso de vidrio. La luz difundida hacia arriba por las partículas suspendidas se ve a través del ocular y constituye la porción circular externa del campo luminoso total. Los rayos luminosos de la bombilla pasan a través de una ranura graduable e inciden contra un reflector

que está debajo del vaso que contiene la muestra. Este reflector envía luz hacia el líquido turbio, a través del filtro y de la abertura circular del espejo. Estos rayos luminosos, cuando se observa a través del ocular, se ven en el centro del campo luminoso total. Dicho centro del campo aparecerá más claro o más oscuro que la porción externa circundante, dependiendo de la cantidad de luz que se permita pasar a través de la ranura graduable. Girando el cuadrante graduado es posible regular la intensidad de la luz hasta que las dos porciones formen un campo uniformemente iluminado. En este punto se lee el valor indicado en el cuadrante, y la turbiedad de la muestra se determina directamente en la correspondiente curva de calibración.

2.3.1 Procedimiento

Se selecciona la curva de calibración para el rango de turbiedad dentro del cual puede estar la muestra y se coloca el marco de los filtros de tal manera que el filtro indicado en la gráfica de la calibración quede en la vía de los rayos luminosos. Si la inscripción "LIGHT" queda dando frente al operador, ello indica que el filtro claro está en el camino del haz luminoso, si es el nombre "DARK" el que se lee, el filtro oscuro está ocupando tal posición. Si no se ve ningún nombre, una de las dos aberturas sin filtro está en la vía de la luz y cualquiera de las dos posiciones puede emplearse para turbiedades que no requieran filtro de luz.

Se lava y seca cuidadosamente el vaso del turbidímetro de la profundi

dad señalada en la curva de calibración (los hay de 50, 20 y 10 mm de profundidad). Se llena el vaso hasta la marca con la muestra después de haberla mezclado bien. Se limpia el émbolo y se sumerge en el líquido, ligeramente inclinado para impedir que aprisione burbujas de aire. Si, a pesar de todo, quedan burbujas adheridas al fondo del émbolo, se pueden eliminar fácilmente levantando y volviendo a colocar el émbolo. Se seca cuidadosamente el vaso por los lados y por el fondo, y se coloca en la muesca circular sobre el espejo del aparato. Se cierra la puerta del instrumento y se enciende la luz.

Se equilibra inmediatamente la intensidad luminosa de la porción central del campo de observación con el resto que lo circunda mediante el giro apropiado del cuadrante respectivo el cual controla, como ya se indicó, la intensidad del campo central. En general, hay un intervalo definido en el cual los dos campos luminosos aparecen equilibrados, y este intervalo de intensidad luminosa es más grande en turbiedades más altas. No debe pretenderse calcular el punto medio del intervalo de intensidad luminosa uniforme sino que deben hacerse todas las lecturas girando el cuadrante hacia valores más altos hasta que el círculo negro del centro justamente desaparezca. En otras palabras, al intervalo de iluminación uniforme se llega subiendo del lado más bajo (oscuro) y se hace la lectura en el punto en que la parte central oscura se confunde con el resto del campo circundante. Una vez hecha la lectura en el cuadrante, se determina la turbiedad en la curva de calibración correspondiente.

Cuando se trabaja con muestras de turbiedad alta, todas las operaciones deben realizarse tan rápidamente como sea posible para mantener las partículas en suspensión. Para determinaciones exactas se redispersan las partículas con un agitador y se hace una segunda lectura. Las muestras que tienen turbiedades mayores que 150 mg SiO_2/l pueden analizarse diluyendo la muestra con agua de turbiedad cero y multiplicando el resultado final por el factor de dilución. Por ejemplo, si 10 ml de la muestra se diluyeron a 50 ml, el resultado debe multiplicarse por 50/10 o sea 5.

Cuando se emplea el vaso de 50 mm de profundidad de visión debe seleccionarse la curva apropiada ya que se dispone de varias para este vaso : una para la zona más baja, 0 a 1 de ppm de SiO_2 , que usa el filtro oscuro (ésta es la única zona para la cual se descubre el espejo rectangular situado en la cara interna de la tapa del turbidímetro); una para la zona de 0 a 4 ppm, que usa el filtro oscuro; una para 0 a 15 ppm con el filtro claro, y una para 0 a 50 ppm que no utiliza filtro.

Con relación al criterio para escoger los vasos y los filtros puede decirse lo siguiente : los líquidos muy poco turbio (aguas tratadas, por ejemplo) requieren un espesor mayor para que se haga ostensible el fenómeno de Tyndall, y una disminución de la intensidad del rayo luminoso central para que pueda lograrse el equilibrio de las dos zonas luminosas, haciéndose necesario en estos casos los vasos de mayor profundidad de visión (50 mm) y filtros que oscurezcan el rayo

luminoso. En cambio, los líquidos muy turbios necesitan un espesor pequeño que permita el paso del rayo luminoso central y permita apreciar el fenómeno de Tyndall, para lo cual se usarán los vasos de menor profundidad de visión (20 ó 10 mm) y no se usarán filtros.

Es conveniente : a) que la bombilla permanezca encendida solamente durante el tiempo requerido para balancear los campos, lo cual aumentará la duración de la bombilla; b) retirar el vaso con la muestra inmediatamente después de la prueba ya que la humedad que se condensa fuera del vaso puede mojar el espejo circular con el consiguiente deterioro del mismo; c) que los vasos y los émbolos estén perfectamente limpios pues aún las huellas digitales o rayaduras en los vasos o en el fondo de los émbolos o en el espejo ocasionan medidas inexactas y d) para medir las rayaduras de los fondos pulidos de los émbolos y vasos debe colocárselos siempre sobre una tela limpia y suave.

2.3.2 Resultados

La turbiedad de la muestra, expresada como $\text{mg SiO}_2/\text{l}$, se determina a partir de la curva de calibración correspondiente a las condiciones usadas para el análisis :

Tipo de bombilla usada en el equipo : A o B

Volumen del vaso

Posición del espejo

Posición del filtro.

BIBLIOGRAFIA

- APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for the Examination Water and Wastewater, 15th ed., Boston, M.A., 1980.
- CANADA, INLAND WATER DIRECTORATE. Water Quality Branch. "Analytical Methods Manual", Ottawa, 1974.
- DAVIES, O.L. & GOLDMITH, P.L., editors. Statistical methods in research and production, 4th, revised edition. Edimburgh, Oliver and Boyd, 1972.
- GEMS/AGUA. Gufa operacional, Capitulo IV. Water Research Centre, England, 1983.
- SANTAMARIA, L. Quimica Sanitaria. Guías de laboratorio. Material di dactico policopiado, Universidad del Valle, Cali.
- UNITED STATE. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Handbook for sampling, and sample preservation of water and wastewater. Milwaukee, Wisconsin, Envrirez Inc. 1976.
- . Methods for Chemical analysis of water and wastes. Cincinnati, 1973.

ANALISIS BACTERIOLOGICOS

METODOS NORMALIZADOS

María Yolanda Ramírez

Microbióloga

TECNICA DE LOS TUBOS MULTIPLES DE FERMENTACION

PRUEBA NORMALIZADA

1 CONCEPTOS GENERALES

El agua puede ser perfectamente clara, libre de olores y sabores indeseables y sin embargo estar contaminada. Esta contaminación puede ser por microorganismos patógenos o dañinos que llegan al agua y que en un momento dado la hacen peligrosa para consumo humano o animal. La potabilidad de un agua se puede determinar por pruebas de laboratorio tanto fisicoquímicas como bacteriológicas.

Podría pensarse que la manera más adecuada de determinar si un agua está contaminada por microorganismos patógenos sería el aislamiento de dichas bacterias, sin embargo esto no es lo recomendado debido a varias causas:

- Se necesitan varios días para obtener los resultados de los exámenes de laboratorio que determinen con exactitud la presencia de un microorganismo patógeno específico.

Muchas personas podrían haber tomado agua antes de conocerse los resultados y así haberse expuesto a la infección.

- Los organismos patógenos llegan al agua en forma esporádica y no sobreviven mucho tiempo, por tanto, pueden no estar o no detectarse en una muestra que se envíe al laboratorio.
- Por el contrario es más sencillo y rápido determinar la presencia o no, de otros microorganismos no patógenos que comparten algunas veces el mismo habitat con los patógenos. Por consiguiente el hallazgo de los saprófitos indicaría la posible presencia de un patógeno.

Se sabe que los microorganismos patógenos llegan al agua procedentes de las descargas intestinales de los humanos y los animales. Ciertos tipos de bacterias tales como Escherichia coli y varios

microorganismos afines denominados Coliformes (además de los *Streptococos* fecales etc) son habitantes normales del intestino y en consecuencia siempre están en las materias fecales: de tal manera que la presencia de estos coliformes, indica que el agua está contaminada con materia fecal, existiendo por tanto la probabilidad que cualquier patógeno haya llegado a ella.

Se ha usado por mucho tiempo el grupo de bacterias coliformes como indicadores de la contaminación del agua con excretas, éstos gozan de algunas ventajas al compararlos con otros indicadores.

Los microorganismos coliformes particularmente la *Escherichia coli* se encuentran en número muy grande en el intestino y generalmente sobreviven en el agua durante más tiempo que los patógenos.

Por lo regular una persona sana no elimina microorganismos patógenos; pero puede desarrollar una infección intestinal y esos microorganismos aparecerán en materia fecal. Así, la presencia de coliformes en el agua, se toma como señal de alarma, pues, ha sido contaminada peligrosamente.

El grupo coliforme comprende todas las bacterias en forma de bacilos GRAM NEGATIVAS. que son aeróbicas o anaeróbicas facultativas, no formadoras de esporas y fermentadoras de la lactosa en un tiempo de 24 - 48 horas a temperatura de 35°C. Para bacteriología de aguas y en relación con la familia ENTEROBACTERIACEAE este grupo comprende los siguientes generos: ESCHERICHIA - CITROBACTER, ENTEROBACTER y KLEBSIELLA.

Varias investigaciones hechas en el campo de la microbiología acuática han demostrado que los organismos coliformes presentes en el tracto intestinal y por tanto en las heces de animales de sangre caliente, generalmente incluyen organismos capaces de producir gas a partir de lactosa en un medio de cultivo apropiado a temperatura de $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$. Organismos coliformes procedentes de otras fuentes (suelo, vegetación) no puede producir gas bajo las anteriores condiciones.

Esto lleva a concluir que podemos hablar de dos tipos de origen para organismos coliformes; los de origen fecal, es decir provenientes de materia fecal; y los de origen no Fecal (a partir del suelo y la vegetación).

La suma de los coliformes de origen fecal más los de origen no fecal constituye los denominados Coliformes totales.

2 RECOLECCION PRESERVACION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

La recolección, preservación y almacenamiento de la muestra son muy importantes, a tal punto que los resultados de los análisis dependen en gran parte de la forma correcta como se tome la muestra.

Un muestreo debe ser programado de tal forma que satisfaga los objetivos del estudio, claro está teniendo en cuenta limitaciones de mano de obra, tiempo y costo.

Deben utilizarse frascos de vidrio preferiblemente de borosilicato de Sodio que sean resistentes a las condiciones de esterilización. Estos frascos deben ser de boca ancha, con tapa de rosca o tapón esmerilado; o también pueden usarse botellas de plástico, resistentes al calor y que no produzcan sustancias tóxicas.

Los frascos deben lavarse y enjuagarse varias veces con agua destilada antes de la esterilización. Si la muestra de agua que se va a tomar es tratada con cloro u otros halógenos debe agregarse al frasco un agente reductor tal como el tiosulfato de sodio. Este debe añadirse al frasco, antes de la esterilización. A un frasco de 120 ml, añada 0.1 ml de una solución al 10% de tiosulfato de sodio (esta neutralizará una muestra que contenga cerca de 15 mg/litro de cloro residual).

En el momento de la toma de muestra deben tenerse en cuenta las siguientes recomendaciones:

- . Mantener el frasco cerrado hasta el momento de tomar la muestra.
- . Al llenar el frasco dejar un espacio suficiente de aire (2.5 cm aproximadamente) para facilitar la mezcla por agitación, antes de proceder a la siembra.
- . Remover con cuidado la tapa sin tocar el cuello del frasco y los alrededores, con los dedos y protegerse de la contaminación.
- . Una vez tomada la muestra se debe proceder a tapar el frasco inmediatamente, y trasladarlo al laboratorio con la identificación respectiva anotando la fecha, hora, sitio de recolección localidad y persona responsable del muestreo.

Si la muestra no se procesa dentro de una hora después de la toma, debe utilizarse transporte refrigerado por debajo de 10°C durante un máximo tiempo de 6 horas.

Una vez recibidas en el laboratorio pueden refrigerarse hasta por dos horas, antes de su procesamiento. Si las condiciones locales obligan a retraso mayor de 6 horas, debe considerarse la posibilidad

de hacer un examen de laboratorio, en el sitio de toma de la muestra, utilizando equipo de campo especial o usar procedimientos de incubación retardada.

En ningún caso el tiempo, entre la recolección y el examen debe exceder de 30 horas. Es necesario anotar en los registros, el tiempo y la temperatura del transporte y del almacenamiento como información importante para la interpretación de los resultados.

3 MATERIALES

Tubos de 175 x 22 mm
Tubos de 150 x 16 mm
Tubos de Durham
Pipetas de 10 ml y 1 ml
Gradillas
Mechero
Incubadora a 35.5°C
Baño maría a 44.5°C
Asas de inoculación
Colorantes para la coloración de Gram
Microscopio
Láminas portaobjetos

Medios de Cultivo así: - Caldo lauril triptosa
- Caldo lactosado bilis verde brillante
- EMB (eosina azul de metileno)
- Caldo E.C.
- Agar nutritivo

4 PROCEDIMIENTO

4.1 Método para Determinar el Número más probable de Coliformes Totales

Este método consta de tres partes (Ver Figura 4).

4.1.1 Prueba Presuntiva

Consiste en sembrar diferentes volúmenes de muestra en escala de múltiplos y submúltiplos de 1 ml (10, 1, 0.1, 0.01 ml etc). Es

PRUEBA PRESUNTIVA

PRUEBA CONFIRMATIVA

PRUEBA COMPLEMENTARIA

PRUEBA

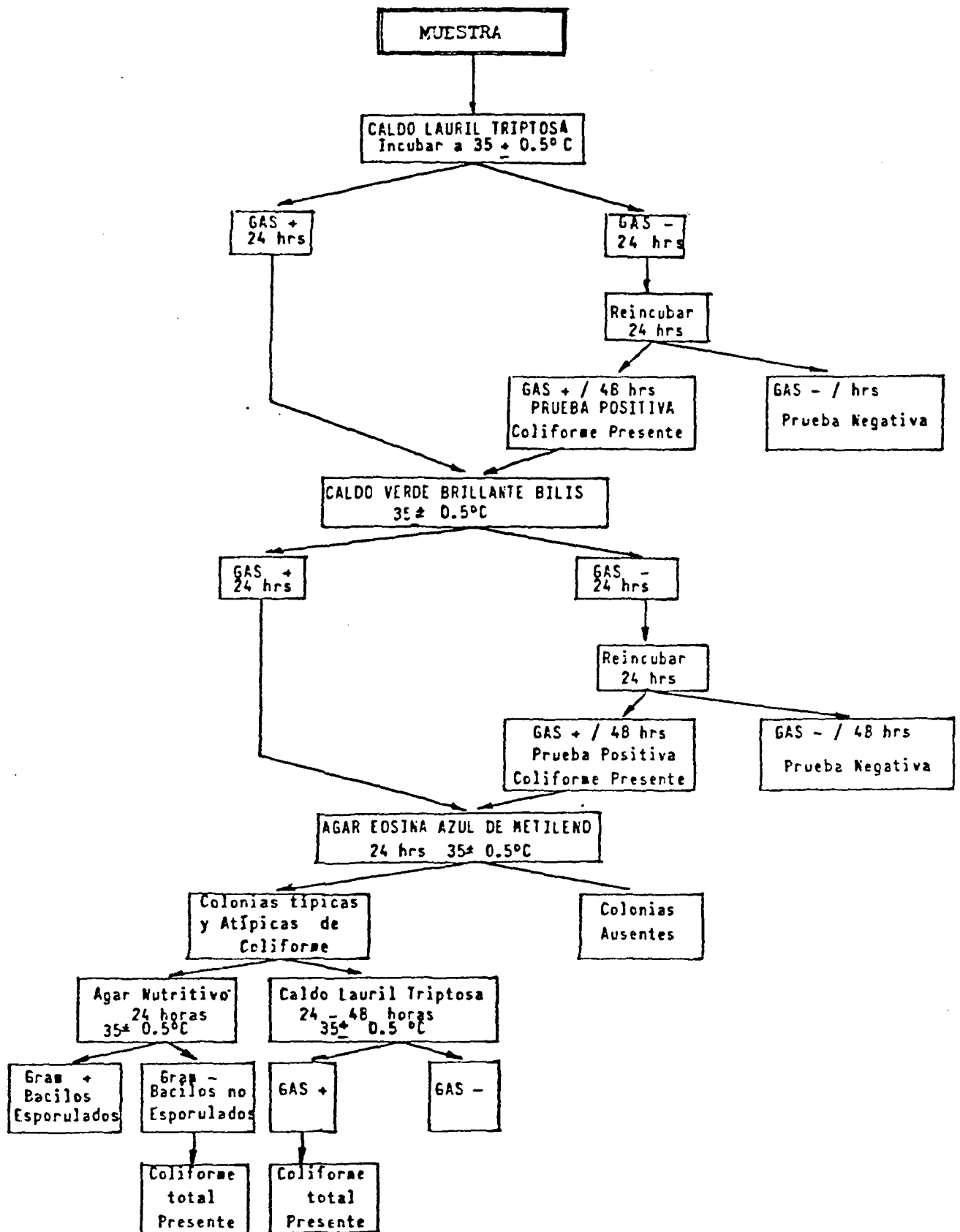


FIGURA No.4

DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA PRUEBA DE NMP DE COLIFORMES TOTALES (TOMADO DE OPS/OMS/CEPIS. METODOS SIMPLIFICADOS DE ANALISIS MICROBIOLOGICOS DE AGUAS RESIDUALES. BORRADOR PARA REVISION PREPARADO POR CARMEN VARGAS DE MAYO 1983).

necesario sembrar 5 tubos por cada volumen de muestra.

La escogencia de los volúmenes depende de la muestra que se va a procesar. Como guía para lo anterior se puede recomendar lo siguiente:

Si se trata de aguas potables debe sembrarse 10, 1 y 0.1 ml (5 replicas de cada una).

Para aguas relativamente no poluidas los volúmenes de muestra deben ser 1, 0.1 y 0.01 ml.

Para aguas poluidas desconocidas los volúmenes deben ser 0.1, 0.01, 0.001 ml etc).

- . Agitar los tubos vigorosamente alrededor de unas 25 veces e incubar a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por $24 - 48 \pm 3$ h.
- . Al cabo de 24 horas de incubación, examinar la presencia de gas y turbiedad
- . En caso negativo, reincubar por un período adicional de 24 h.
- . Reexaminar. Si no hay cambios, reportar la prueba presuntiva como negativa.
- . En caso contrario todos los tubos positivos de la prueba presuntiva deben someterse a la prueba confirmativa.

4.1.2 Prueba Confirmativa

Consiste en inocular a partir de cada uno de los tubos positivos de la prueba presuntiva, por medio de un asa bacteriológica o un aplicador, un tubo con caldo lactosado bilis verde brillante.

- . Agitar los tubos cuidadosamente e incubar a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante $24-48 \pm 3$ h.
- . Después de 24 ± 2 h, examinar la presencia de gas y turbiedad.
- . En caso negativo reincubar por un período adicional de 24 ± 3 h.
- . Reexaminar. Si no hay cambio, la prueba confirmativa se reporta como negativa.
- . En caso contrario, o sea si hay presencia de gas y turbiedad (prueba positiva) se procederá a efectuar la prueba completa con cada uno de los tubos.

En análisis de rutina la mayoría de las muestras se procesan hasta la prueba confirmativa. Sin embargo estos datos deben verificarse llevando a cabo la prueba completa en el 5% de las muestras, con un mínimo de 1 muestra con prueba completa.

4.1.3 Prueba Completa

Consiste en sembrar a partir de cada uno de los positivos de la prueba confirmativa, una caja de Petri que contenga agar EAM (eosina azul de metileno) también llamado EMB.

- . Sembrar el inóculo (1 asada) por el método de agotamiento en superficie (método de estría).
- . Incubar durante 24 ± 2 horas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- . En general pueden desarrollarse varios tipos de colonias. Las típicas del grupo coliforme (positivas) son nucleadas, con o sin brillo metálico. Las atípicas son pocas, no nucleadas, mucoides, rosadas. Las negativas son transparentes.
- . Escoger tres colonias (dos típicas y una atípica y sembrar cada una de ellas en un tubo con caldo lauril triptosa y otra con agar nutritivo inclinado).
- . Incubar el caldo lauril triptosa durante $24-48 \pm 3\text{h}$ y el agar nutritivo inclinado durante 24 ± 2 h. ambas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- . Examinar los tubos de caldo lauril triptosa después de la incubación para determinar producción de gas con la consiguiente turbiedad.
- . Hacer extendidos y colorear con Gram, a partir de las colonias crecidas con el agar nutritivo inclinado que correspondan a los tubos de caldo lauril triptosa que hayan revelado presencia de gas a partir de las colonias del EMB.

NOTA: La coloración de Gram puede omitirse de la prueba completa que se haga, solamente para aguas potables.

4.1.4 Cálculo de los Resultados

El cálculo de la densidad probable de coliformes totales en una determinada muestra está basado en la combinación de los resultados de los tubos positivos y negativos obtenidos de cada dilución o volumen sembrado.

Esta densidad se expresa como NMP (número más probable) de coli formes totales por 100 ml.

El NMP se obtiene a partir de la comparación de los resultados obtenidos de la muestra, con las tablas especialmente diseñadas las cuales tienen límites de confianza del 95%.

Es indispensable disponer de tres series de diluciones o volúmenes de muestra (múltiplos y submúltiplos de 1) para obtener el código con el cual se debe buscar el número correspondiente al NMP, en la tabla. 6.1.

Ejemplo: Si hemos sembrado 5 porciones o réplicas de 10 ml, 5 de 1 ml. y 5 de 0.1 ml, de los cuales resultaron positivos 5 de 10 ml, 2 de 1 ml y 1 de 0.1 ml. El código resultante será 5- 2 -1.

Al buscar en la Tabla 6.1, éste código corresponde a un índice de 70/100 ml con un límite inferior de 23 y superior de 170.

Aunque la tabla 6.1 se refiere específicamente a la combinación de resultados positivos obtenidos, cuando son inoculados volúmenes de 10, 1 y 0.1 ml de muestra, ésta puede ser usada cuando se siembran volúmenes mayores o menores de muestra.

En este caso se busca el número de la tabla correspondiente al código, teniendo cuidado de aplicar la siguiente fórmula:

Valor del NMP de la tabla x $\frac{10}{\text{mayor volumen sembrado}} = \text{NMP}/100 \text{ ml.}$

Ejemplo: Si hemos sembrado 5 porciones o réplicas de 0.01 ml, 5 de 0.001 ml y 5 de 0.0001 ml, de las cuales resultaron positivas 5 de 0.01 ml, 2 de 0.001 ml y 0 de 0.0001 ml, el código será 5-2-0.

Al buscar en la Tabla 18, éste código corresponde a un índice de 49/100 ml.

aplicando la fórmula tendremos:

$$\text{NMP} = \frac{49 \times 10}{0.01} = 49.000/100 \text{ ml}$$

Cuando se inoculan más de tres diluciones o volúmenes de muestra, se deben determinar las tres diluciones significativas, de acuerdo con las siguientes reglas:

TABLA 18 INDICE DEL NUMERO MAS PROBABLE Y LIMITES DE CONFIANZA DEL 95% PARA 5 TUBOS Y TRES SERIES DE DILUCION

Número de tubos que dan reacción positiva		Indice NMP /100ml	Límite de confianza del 95%		# de tubos que dan reacción positiva			Indice NMP /100ml	Límite de confianza del 95%	
5 de 10 ml	5 de 1 ml		Inferior	Superior	5 de 10 ml	5 de 1 ml	5 de 0.1ml		Inferior	Superior
0	0	< 2	< 0.5	7	4	2	1	26	9	78
0	0	2	< 0.5	7	4	3	0	27	9	80
0	1	2	< 0.5	11	4	3	1	33	11	93
1	0	2	< 0.5	7	4	4	0	34	12	96
1	0	4	< 0.5	11	5	0	0	23	7	70
1	1	4	< 0.5	11	5	0	1	31	11	89
1	1	6	< 0.5	15	5	0	2	43	15	110
1	2	6	< 0.5	15	5	1	0	33	11	93
2	0	5	< 0.5	13	5	1	1	46	16	120
2	0	7	1	17	5	1	2	63	21	150
2	1	7	1	17	5	2	0	49	17	130
2	1	9	2	21	5	2	1	70	23	170
2	2	9	2	21	5	2	2	94	28	220
2	3	12	3	28	5	3	0	79	25	190
3	0	8	1	19	5	3	1	110	31	250
3	0	11	2	25	5	3	2	140	37	340
3	1	11	2	25	5	3	3	180	44	500
3	1	14	4	34	5	4	0	130	35	300
3	2	14	4	34	5	4	1	170	43	490
3	2	17	5	46	5	4	2	220	57	700
3	3	17	5	46	5	4	3	280	90	850
4	0	13	3	31	5	4	4	350	120	1.000
4	0	17	5	46	5	5	0	240	68	750
4	1	17	5	46	5	5	1	350	120	1.000
4	1	17	5	46	5	5	2	540	180	1.400
4	1	21	7	63	5	5	3	920	300	3.200
4	2	26	9	78	5	5	4	1600	640	5.800
4	2	22	7	67	5	5	5	>2400	-	-

- Solamente deben usarse tres diluciones en el código, para calcular el valor del NMP.
- Como primer número del código, seleccionar los volúmenes de muestra más pequeños en los cuales todos los tubos resultaron positivos (5) y los dos volúmenes o diluciones menores que le sucedan. (Ver tabla 19, pruebas 1 y 2).
- Si menos de tres diluciones muestran tubos con resultados positivos, se seleccionarán los tres mayores volúmenes de muestra incluyendo las diluciones con los tubos positivos (Tabla 18 prueba 3).
- Si resultaran tubos positivos en diluciones más altas o mayores que en aquellas escogidas para el código, dichos positivos se suman a la dilución más alta de las tres seleccionadas en la primera ocasión (Tabla 19, prueba 4).
- No debe haber resultados negativos en volúmenes de muestra superiores a aquellos escogidos. Sin embargo si aparecen tubos negativos. Ejemplo: 4/5, 3/5, y 0/5 . Debe usarse el mayor volumen de muestra con todos los tubos positivos, junto con los dos siguientes volúmenes de muestra más bajos (Tabla 19, Prueba 5).
- Si todos los tubos son positivos se escogen las tres diluciones más altas (Tabla 19, prueba 6).
- Si todos los tubos son negativos, escoger para el código, las tres diluciones más bajas (Tabla 19, prueba 7).
- Si no resultaran tubos positivos en una dilución intermedia, seleccionar para el código, la dilución más alta con tubos positivos y las dos diluciones más bajas (Tabla 19, prueba 8).
- Si solamente la dilución intermedia es positiva. Escoger para el código ésta dilución, la siguiente más alta y la anterior más baja. (Tabla 19, prueba 9).

TABLA 19 SELECCION DEL CODIGO DE RESULTADOS. SERIE DE CINCO TUBOS

Prueba	10	1.0	0.1	0.01	0.001	0.0001	CODIGO
1	<u>5</u>	<u>3</u>	<u>0</u>	0	0	0	5-3-0
2	5	<u>5</u>	<u>4</u>	<u>0</u>	0	0	5-4-0
3		<u>4</u>	<u>1</u>	<u>0</u>	0	0	4-1-0
4	5	<u>5</u>	<u>4</u>	<u>1</u>	1	0	5-4-2
5	4	<u>5</u>	<u>3</u>	<u>0</u>	0		5-3-0
6		5	5	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	5-5-5
7		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	0	0	0-0-0
8		<u>4</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	0	0	4-0-2
9		<u>0</u>	<u>1</u>	<u>0</u>	0	0	0-1-0

4.1.5 Reporte de los Resultados

El reporte del valor del NMP (número más probable) de coliformes totales en las muestras de agua, se expresa con base en 100 ml de muestra: NMP de coliformes totales/100 ml.

4.2 Método para determinar el Número más Probable de Coliformes Fecales

La prueba para determinar el NMP (número más probable) de coliformes fecales es aplicable a investigaciones de fuentes de agua cruda, corrientes de agua poluída, sistemas de tratamiento para aguas residuales, aguas recreacionales, aguas marinas.

Este procedimiento no es recomendado como un sustituto para la prueba de coliformes en el examen de agua potable, ya que no se tolera ningún tipo de coliforme en aguas tratadas.

- . Esta prueba consiste en transferir inóculo a partir de los tubos positivos de caldo lauril triptosa de la prueba presuntiva para coliformes, a tubos con caldo E.C. (Ver figura 5).
- . Incubar a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ durante $24 \pm 2\text{h}$ en baño maría, teniendo cuidado que el tiempo transcurrido entre la siembra y la colocación en baño maría no exceda de 30 minutos.

El nivel del agua en el baño maría debe mantenerse por encima del nivel del medio de cultivo.

- . Cualquier cantidad de gas en el tubo de Durham del medio de cultivo constituye una prueba positiva para coliformes fecales.

4.2.1 Cálculo de los Resultados

El cálculo de la densidad probable de coliformes fecales se obtiene con base en la combinación de los resultados positivos y negativos obtenidos de los tubos con medio E.C. de acuerdo con la tabla del NMP utilizada para coliformes totales, teniendo en cuenta las reglas señaladas allí. La densidad de coliformes fecales se expresa como: NMP de coliformes fecales/100 ml.

4.2.2 Reporte de los Resultados

El reporte del valor del NMP (número más probable) de coliformes fecales en las muestras de agua, se expresa con base en 100 ml de muestra: NMP de coliformes fecales/100 ml.

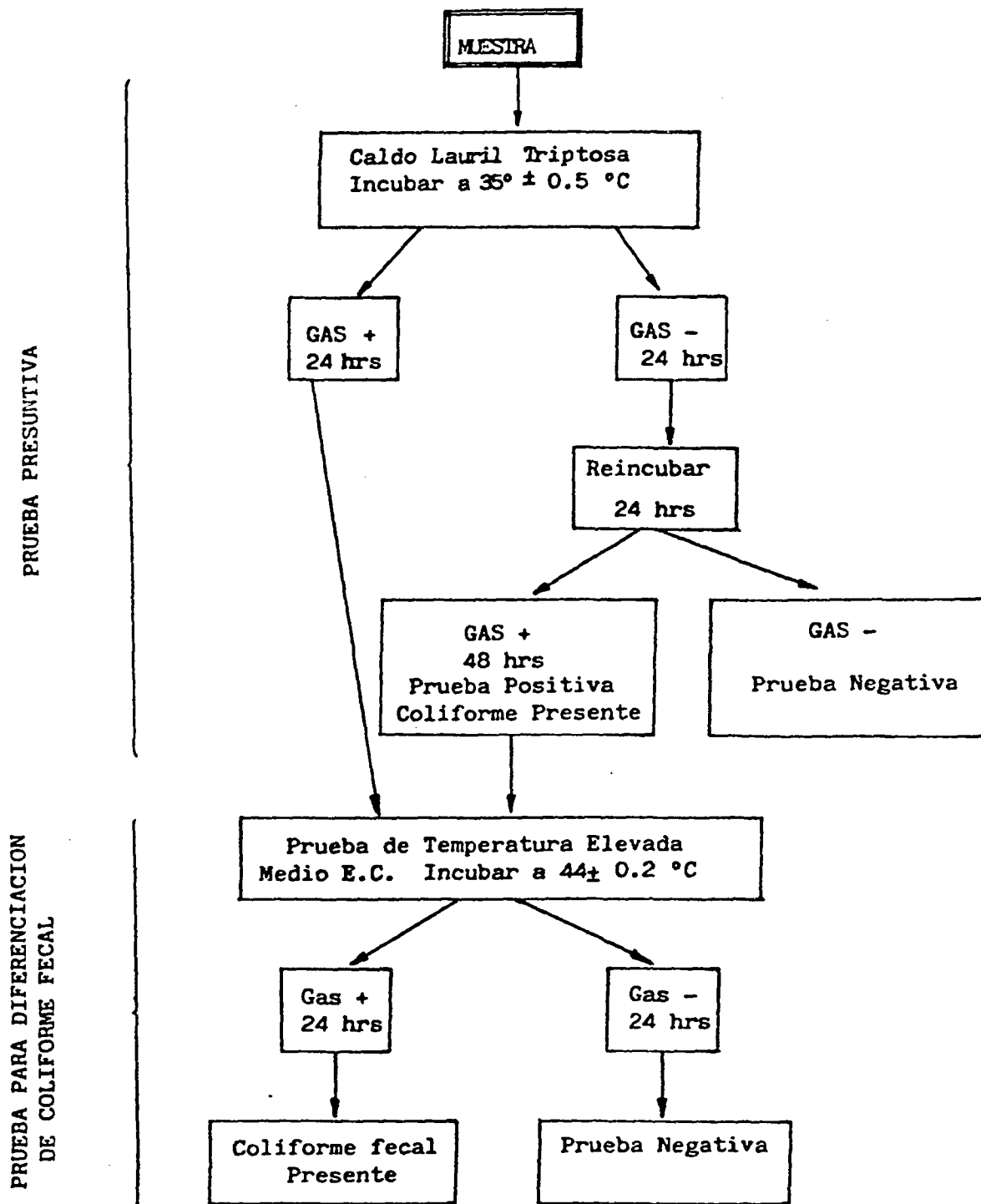


FIGURA No.5

DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA PRUEBA DE NMP DE COLIFORMES FECALES (TOMADO DE OPS/OMS/CEPIS. METODOS SIMPLIFICADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE AGUAS RESIDUALES. BORRADOR PARA REVISION PREPARADO POR CARMEN VARGAS. DE MAYO 1983)

BIBLIOGRAFIA

- American Public Health Association (APHA), A.W.W.A. y W.P.C.F. Standard methods For the examination of Water and Wastewater. 15 th edition. 1980.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, Microbiological methods for monitoring the environment. Water and Wastes. Bordner R. y Winter J. Editores E.P.A. Cincinnati 1978.
- MARA D.D. Bacteriology for Sanitary Engineers, Churchill Livingstone. Edinburgh, 1974.
- OPS/OMS/CEPIS Métodos simplificados de análisis microbiológicos de aguas residuales. Borrador para revisión preparado por Carmen Vargas de Mayo. Lima, 1983.
- PELCZAR M.J. Jr., REID R.D. Y CHAN E.C.S. Microbiología. Segunda edición española. Mc Graw - Hill, México. 1982.
- RAMIREZ M.Y. "Análisis bacteriológico de aguas utilizando la técnica de los tubos múltiples de fermentación (Prueba Estandar). Curso para operadores de plantas de Potabilización de aguas. A.C.O.D.A.L. Cali, 1985.

RECUESTO ESTANDAR EN PLACA

1 CONCEPTOS GENERALES

El recuento estandar en placa es un método empírico y relativamente poco preciso ya que trata de enumerar todas las bacterias presentes en el agua, con base en el número de colonias que logren desarrollarse en el medio de cultivo. Parte de la base teórica, que una colonia se origina a partir de una sola célula bacteriana, lo cual no es regularmente seguro ya que las bacterias se pueden presentar en pares, cadenas, grupos o paquetes.

Ningún medio de cultivo, ni condiciones físicas o químicas pueden satisfacer los requerimientos fisiológicos de todos los tipos de bacterias presentes en una muestra de agua.

La distribución de la muestra sobre el medio, el tiempo de incubación, la temperatura, el pH, el nivel de oxígeno, la antibiosis, la predación y en fin la competencia entre células bacterianas impedirán el logro de un recuento real o exacto de todos los tipos de bacterias presentes en la muestra.

Este procedimiento no permite a las bacterias aerobias exigentes o a las anaerobias obligadas, desarrollarse. Además algunas bacterias de importancia en el agua tales como CRENOTHRIX, SPHAEROTILUS, ACTINOMYCES no se desarrollarían dentro del período de incubación, especificado de rutina para esta prueba.

Los grumos de bacterias en la muestra de agua que no llegan a romperse por la agitación de ésta provocarán la producción de densidades bacterianas menores o sea subestimación de resultados pues cada agregado de bacterias dará origen a una sola colonia.

Esta técnica tiene utilidad relativa especialmente en aquellos casos en donde se requieren medidas de control de calidad del agua, con propósitos legales, comparativos o de monitoreo en situaciones especiales. Por ejemplo es una herramienta muy útil para efectuar el control de los procesos de tratamiento del sistema de agua potable especialmente cuando se emplea el cloro, y en general en todos los sistemas de tratamiento del agua. Sirve para detectar problemas en la red de distribución, tales como conexiones cruzadas y acúmulos de sedimentos.

La prueba consiste en pipetear alícuotas de la muestra en una caja de Petri, y luego agregar el medio de cultivo con agar, líquido o fundido. Se rota luego la caja para distribuir las posibles bacterias en la muestra y dejar solidificar el medio antes de llevar a la incubación. Densidades bacterianas totales mayores de 500 a 1000 organismos/ml pueden indicar supresión de coliformes o desensibilización de pruebas cuantitativas para coliformes.

2 MATERIALES

Cajas de Petri estériles
Pipetas estériles de 10 ml
Pipetas estériles de 1 ml
Agua peptonada tamponada estéril
Tubos con tapa de rosca para dilución
Cámara para recuento de colonias (Quebec)
Contadores de mano
Medio de cultivo agar cuentagérmenes estandar

3 PROCEDIMIENTO

La selección del número de diluciones que se deben sembrar dependerá del tipo de agua que se vaya a procesar (mientras más contaminada sea la muestra mayor será el número de diluciones. Para ésta práctica utilizaremos agua supuestamente potable. Cuando se va a procesar una muestra de agua residual no deben sembrarse directamente de la muestra 0.1, 0.01 ml, etc.

Debe procederse a sembrar a partir de las respectivas diluciones.

- Siembre en cajas de Petri y por duplicado los siguientes volúmenes de muestra:

1 ml sin diluir (2 cajas)
 0.1 ml sin diluir (2 cajas)
 1 ml de la dilución 10^{-2} (2 cajas)
 1 ml de la dilución 10^{-3} (2 cajas)
 1 ml de la dilución 10^{-4} (2 cajas)
 1 ml de la dilución 10^{-5} (2 cajas)
 1 ml del agua de diluyente que se usará como control.

NOTA: El método empleado para hacer las diluciones está indicado en la Figura 6. Debe usarse una pipeta diferente para cada dilución.

. Añada 12-15 ml de agar fundido y enfriado a 44- 46°C.

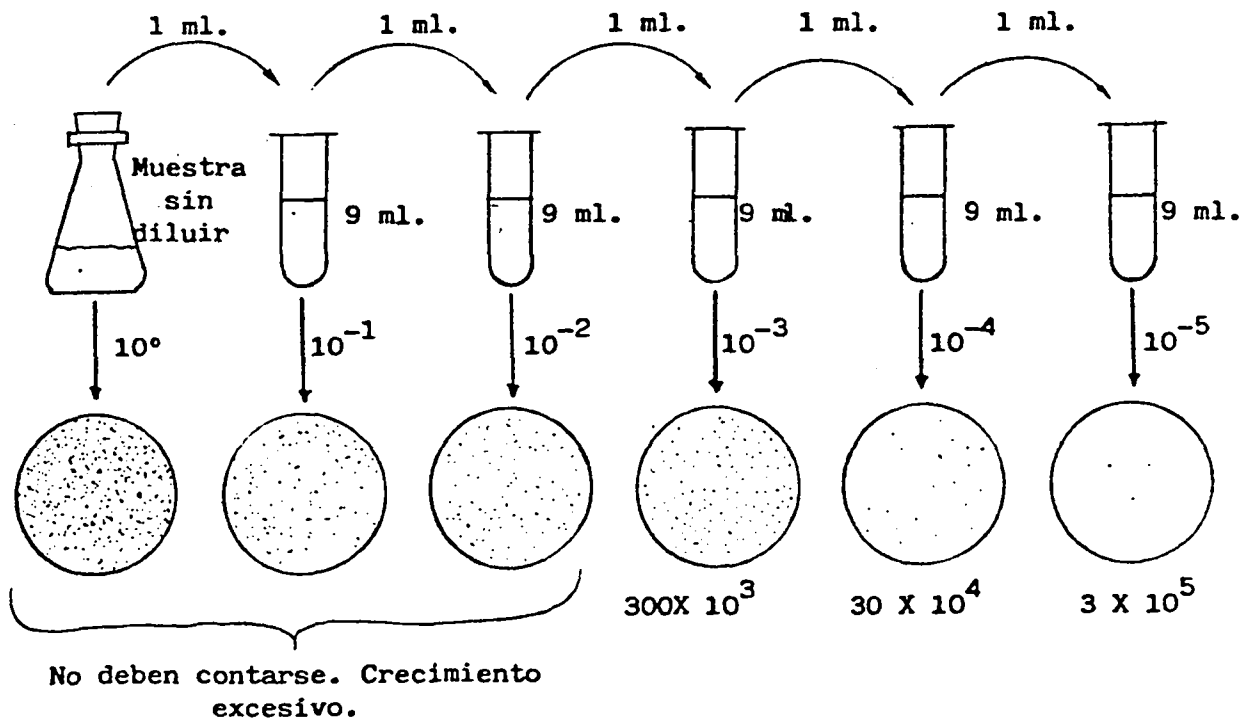


FIGURA 6 ILUSTRACION DEL METODO DE DILUCION Y SIEMBRA PARA RECUENTO ESTANDAR EN PLACA. (TOMADO DE TCHOBANOGLOUS G., y SCHROEDER E. WATER QUALITY 1985).

- . A cada caja de Petri. Mezcle cuidadosamente por rotación.
- . Deje solidificar durante 10 - 15 minutos.
- . Invierta las cajas e inmediatamente incube a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante $48 \pm 3\text{h}$.

4 RECUENTO O LECTURA DE LAS COLONIAS

- . Después del período de incubación, seleccione aquellas cajas que presenten entre 30 y 300 colonias utilizando el contador Quebec. Obtenga el promedio de cada una de las diluciones y multiplique los resultados por el respectivo factor de dilución.

5 REPORTE DE RESULTADOS

El reporte de resultados se hará como recuento estandar en placa por mililitro.

Si no se encuentran colonias, reporte el recuento como menor de una vez el recíproco de la correspondiente dilución más baja.

Si no hay ninguna caja exactamente entre 30 y 300, sino que todas superan las 300 colonias, use la o las cajas que estén más cercanas a 300. Multiplique el promedio del recuento en cada caja por el recíproco de la dilución utilizada y reporte el resultado como recuento estandar en placa estimado por mililitro.

BIBLIOGRAFIA

Tchobanoglous G., Schroeder E. Water quality. Characteristics - modeling - modifications, ADDISON - ESLEY Publishing company. Reading, Massachusetts. 1985.

American Public Health Association. A.W.W.A./ W.PCF. Standard methods for the examination of water and Wastewaters. 15th edition. American Public Health Association. Washington D.C.,1981.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY "Microbiological methods for monitoring the environmental Water and Wastes, Bordner R. and Winter J., Cincinnati Ohio. 1978.

TECNICA DEL FILTRO DE MEMBRANA PARA ORGANISMOS DEL GRUPO COLIFORME

1 CONCEPTOS GENERALES

Por muchos años el análisis clásico para examinar la densidad de coliformes en sistemas de suministro de agua y disposición de aguas residuales ha sido la técnica estandar de los tubos múltiples de fermentación. (Técnica del número más probable=N.M.P.), sin embargo durante los últimos veinte años se ha incrementado el número de laboratorios que han ido adoptando la técnica del "Filtro de membrana", la cual fué desarrollada en Alemania durante la segunda guerra mundial, cuando se empezó a pensar en la aplicación de filtros de membrana para efectuar análisis bacteriológicos de agua. Desde esa época han sido varias las investigaciones que se han hecho y de las cuales hay numerosos artículos disponibles en la literatura.

En 1955 la décima edición de los métodos estandar para el examen de agua, aguas residuales e industriales incluía éste método como tentativo en la determinación de coliformes. En la 11 y 12a ediciones del anterior manual, éste método se hizo oficial para la determinación de coliformes.

El uso rutinario de la técnica estandar de los tubos múltiples de fermentación (NMP) evidencia ciertas limitaciones entre las cuales se cuenta su inhabilidad para proveer información rápidamente.

El procedimiento completo requiere 4 - 5 días antes de obtener resultados. Aunque este tiempo tan largo no es un serio inconveniente en la investigación de la calidad bacteriológica de agua cruda para datos de historial biológico, si es un serio inconveniente, cuando la investigación es para agua de bebida especialmente cuando se presentan casos de emergencia.

A través de un suministro de agua, pueden adquirirse infecciones entéricas si la causa que ocasiona el problema no es descubierta, inmediatamente después que el microorganismo entérico contamine el sistema de suministro de agua.

Hay que ser conciente, que la técnica del filtro de membrana, aunque no se presenta como una panacea ya que tiene ciertas limitaciones en su aplicabilidad, si ofrece por lo menos una alternativa bastante rápida y viable sobre todo en caso de una emergencia.

El procedimiento de filtración consiste en pasar con ayuda del vacío la muestra de agua a través de una membrana de celulosa de 0.45 micrómetros. Luego incubar la membrana en el medio adecuado según el objetivo del análisis.

1.1 MATERIALES

Membranas de esteres de celulosa de 0.45 micrómetros
Cojinetes de filtración
Embudo de filtración
Matraz
Unidad de filtración
Incubadora
Bomba de vacío
Pinzas estériles
medios de cultivo - Caldo lauril triptosa
- Caldo Endo o Agar Endo (M)
- Caldo M-FC o el M-Fc Agar

1.2 PROCEDIMIENTO

Todo el equipo utilizado en la prueba debe esterilizarse previamente.

1.2.1 Determinación del Número de Coliformes Totales

- . Sujete el porta filtro al tapón de goma. Fíjelo al frasco de vacío y conéctelo a la bomba. Figura 7.
- . Usando pinzas estériles coloque un disco filtrante (membrana filtrante) esterilizada sobre la placa porosa de la unidad de filtración con la retícula hacia arriba.
- . Vierta la muestra a filtrar (usualmente 100 ml) sobre el embudo, haciendo la filtración a través de la membrana, por medio de una bomba de vacío.
- . Lave el embudo con agua destilada estéril (volumen 30 ml).
- . Añada 1.8 - 2 ml de medio de enriquecimiento (caldo lauril triptosa) para saturar la almohadilla colocada en la caja de Petri.
- . Separe la membrana filtrante del aparato de filtración y colóquela sobre la almohadilla saturada de medio, de tal manera que no existan burbujas de aire entre ambas. Figura 8.
- . Incube la membrana en el medio de enriquecimiento durante 1.5 - 2h a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en una atmósfera de humedad no menor de 90%.
- . Traslade la almohadilla absorbente y la membrana filtrante a la tapa de una caja de Petri, quitando con una pipeta el exceso de medio de enriquecimiento. Figura 9.
- . Ponga otra almohadilla absorbente estéril en una placa Petri y pipetee sobre, 1.8 - 2.0 ml de medio de Endo modificado.
- . Transfiera la membrana filtrante a la superficie de esta segunda almohadilla, con unas pinzas estériles, teniendo cuidado de excluir el aire entre ambas superficies.
Incube a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 20-22 horas.
- . Al final del período de incubación cuente las colonias coliformes; aparecen de un color rojizo oscuro con brillo metálico verdoso.

NOTA: Otra manera de efectuar el procedimiento es colocar la membrana filtrante enriquecida sobre una caja de Petri con medio básico de agar evitando que quede aire entre las dos superficies. La almohadilla puede en este caso, ser transferida al agar para ayudar a mantener la humedad.

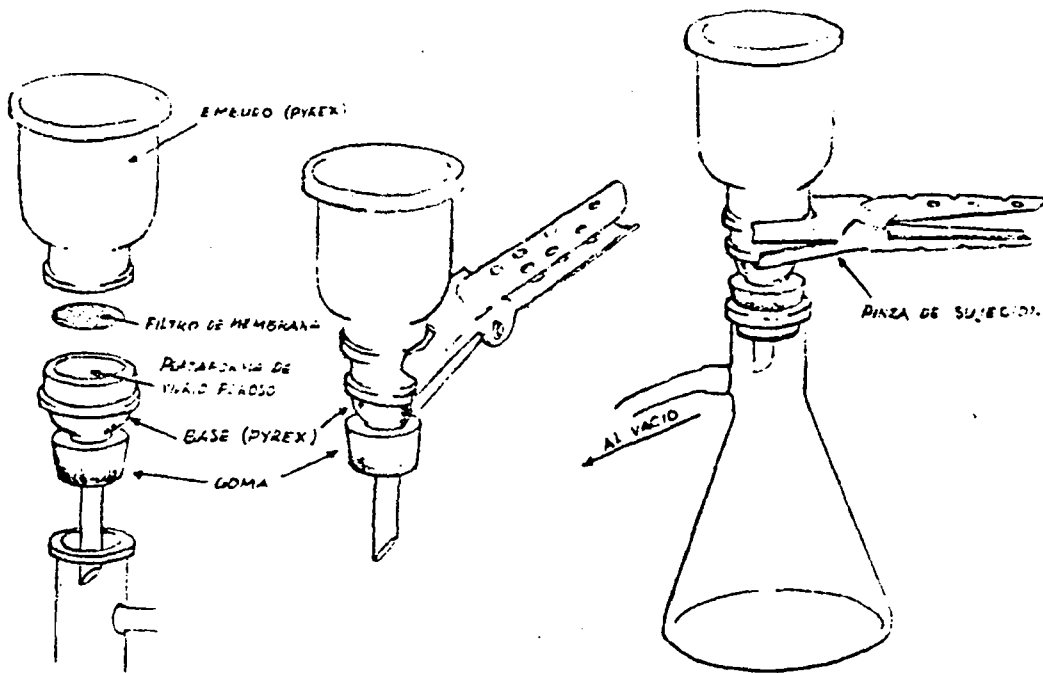


FIGURA 7 . APARATO CON FILTRO DE MEMBRANA. (TOMADO DE SEELEY H.W. Jr., y VANDEMARK P.J., MICROBIOS EN ACCION, 1973).

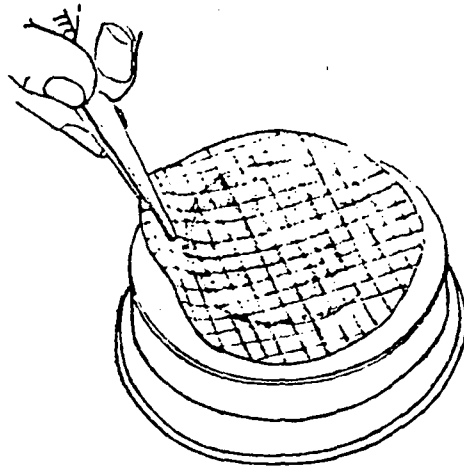


FIGURA 8 SEPARACION DEL FILTRO A PARTIR DEL APARATO DE FILTRACION. (TOMADO DE SEELEY H.W. Jr., y VANDEMARK P.J., MICROBIOS EN ACCION, 1973).

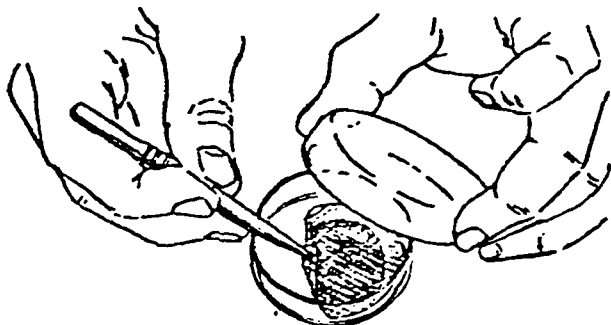


FIGURA 9 COLOCACION DEL FILTRO SOBRE UNA ALMOHADILLA EN UNA CAJA DE PETRI. (TOMADO DE SEELEY H.W. Jr., y VANDEMARK P.J., MICROBIOS EN ACCION, 1973).

1.2.1.1 Cálculo de la Densidad de Coliformes Totales

La densidad de Coliformes totales se expresa:

$$\text{Densidad de coliformes totales/100} = \frac{\text{Colonias coliformes T. Contadas}}{\text{ml. de muestra filtrada}} \times 100$$

1.2.2 Determinación del Número de Coliformes Fecales

Para la determinación del número de coliformes fecales usando la técnica del filtro de membrana se sigue el procedimiento utilizado en el punto 8.4.1 de la determinación de coliformes totales teniendo en cuenta las siguientes variaciones:

- . Utilice un medio enriquecido con lactosa denominado medio M - F.C.
- . Incube a $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante $24 \pm 2\text{h}$.
- . Se usa comunmente un baño de maría teniendo cuidado de colocar las cajas en bolsas de plástico a prueba de agua.
- . Las colonias de coliformes fecales aparecerán de un color azul.

1.2.2.1 Cálculo de la Densidad de Coliformes Fecales

La densidad de coliformes fecales se expresa:

Densidad de coliformes fecales/100 ml =

$$\frac{\text{Colonias coliformes F contadas}}{\text{ml de muestra filtrada}} \times 100$$

2 TECNICA DEL FILTRO DE MEMBRANA UTILIZANDO EQUIPO DE CAMPO

2.1 Introducción

El control de coliformes ha adquirido una creciente importancia en los últimos años, debido a que las normas para evaluar la calidad del agua, se basan en el nivel de concentración de estos organismos.

Para obtener mayor seguridad en los resultados de los análisis bacteriológicos las muestras de agua deben ser procesadas inmediatamente.

Las condiciones biológicas pueden cambiar cuando transcurre mucho tiempo entre la toma de muestra y la siembra de ella, no siendo entonces una muestra representativa porque pueden morir durante ese tiempo.

Actualmente la casa Millipore ha desarrollado un equipo portátil y sencillo que permite comenzar a efectuar el análisis en el mismo sitio de muestreo.

El equipo contiene cajas de Petri o (monitores) de plástico desechables que contienen una membrana filtrante.

Después de haber sido filtrada la muestra, el medio nutritivo es introducido por debajo del filtro Millipore. Posteriormente es colocado el monitor de campo en la incubadora portátil.

2.2 Materiales

Monitores de campo o Cajas de Petri
Incubadora portátil
Medios de cultivo en ampollas
Jeringa
Válvula
Vaso metálico
Tubo de plástico estéril

2.3. Instrucciones de Muestreo y Montaje

- . Enjuague completamente el recipiente de acero inoxidable en la corriente de agua que va a ser analizada (figura 10).
- . Llène el recipiente y luego vacíe cuidadosamente el agua en exceso, hasta tener el volumen de muestra requerido (generalmente el rango varía entre 20 y 200 ml, siendo 100 ml el volumen de muestra más común).
- . Retire el tapón rojo del orificio del fondo de la caja de Petri o monitor y colóquelo sobre una superficie limpia para poder utilizarlo posteriormente.
- . Cuidadosamente inserte la válvula de la jeringa en el orificio de fondo de la caja de Petri (como muestra la figura 11). La jeringa no necesariamente tiene que estar estéril. Tenga cuidado de no aplicar mucha presión, porque puede romper la caja, pero asegúrese que la conexión esté bien ajustada.
- . Retire el tapón azul del otro lado de la caja de Petri. Colóquelo en una superficie limpia para usarlo de nuevo.
- . Rompa la bolsa que contiene el tubo plástico estéril para muestreo (Figura 12) e inserte el adaptador de nylon con seguridad en el orificio superior (orificio que tenía el tapón azul) de la caja de Petri (veáse figura 13).
- . El montaje ya está listo.

2.4 Instrucciones de Filtrado

Mantenga "el montaje" a nivel como muestra la figura 14 con el tubo plástico de muestreo sumergido en la muestra de agua que se encuentra en el vaso de acero inoxidable.

- . Hale el émbolo de la jeringa muy lentamente de tal manera que el agua llene completamente la caja de Petri.
Precaución: Si el filtro se humedece antes de que el monitor o caja de Petri se llene completamente, pueden formarse burbujas de aire que harán imposible la filtración.



FIGURA 10

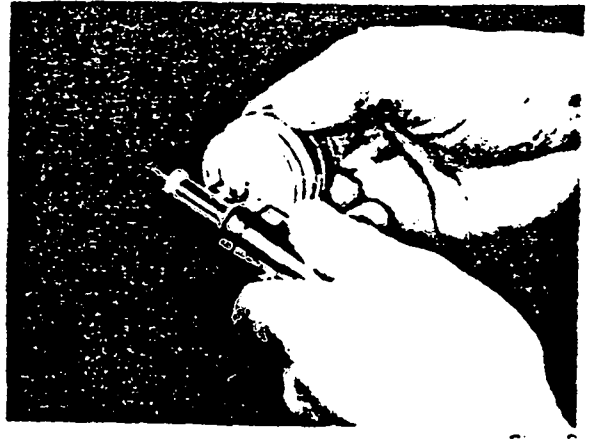


FIGURA 11



FIGURA 12



FIGURA 13



FIGURA 14



FIGURA 15

- . Cuando la jeringa esté llena, empuje el émbolo (figura 15). arrojando fuera el agua filtrada por la válvula frontal de la jeringa. Nota. Es una buena práctica recoger el agua filtrada en otro recipiente para determinar el volumen en caso que el filtro se tape antes que la muestra total sea filtrada.
- . Continúe bombeando con la jeringa hasta que la muestra haya sido filtrada completamente. Mantenga siempre la punta del tubo plástico dentro del agua.
- . Cuando haya terminado la filtración, invierta el montaje como muestra la figura 16 y bombee los últimos residuos de la caja de Petri. Hale por última vez el émbolo y manténgalo por lo menos 10 segundos hasta que esté seguro que todo el exceso de agua se ha expulsado.
- . Retire el tubo plástico y deséchelo.
- . Retire la caja Petri de la válvula de la jeringa y sacúdala fuertemente hasta estar seguro otra vez de que no quedan gotas de agua en el orificio inferior de donde fue retirada la jeringa.
- . Está terminada la filtración pero todavía no coloque los tapones rojo y azul.
- . Sostenga una ampolleta con el medio de cultivo en forma invertida entre el dedo pulgar y el índice. Una tapa de plástico cubre la parte superior de la ampolleta. Este elemento no debe ser retirado.
- . Golpee suavemente el extremo de la ampolla varias veces, como muestra la figura 17, para hacer que el medio migre hacia el cuerpo de la ampolla. Generalmente quedan algunas burbujas en la punta.
- . Doble la cubierta plástica como muestra la figura 18 hasta romper la ampolla cubierta por él. Deseche la parte rota.
- . Selle el extremo abierto con el dedo, como se muestra en la figura 19, luego rompa el otro extremo y descárguela.
- . Inserte el extremo de la ampolla (figura 20) en el orificio inferior de la caja de Petri (por este lado está la cuadrícula).
- . Presione la ampolleta suavemente contra la almohadilla absorbente. Afloje el dedo y permita que el medio fluya hasta que se distribuya homogéneamente. Rote lentamente la caja de Petri, mientras el medio fluye para una mejor distribución.
- . Coloque de nuevo los tapones rojo y azul en sus lugares, figura 21.

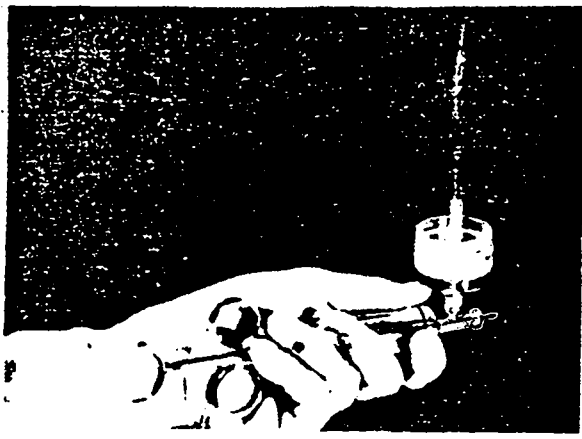


FIGURA 16

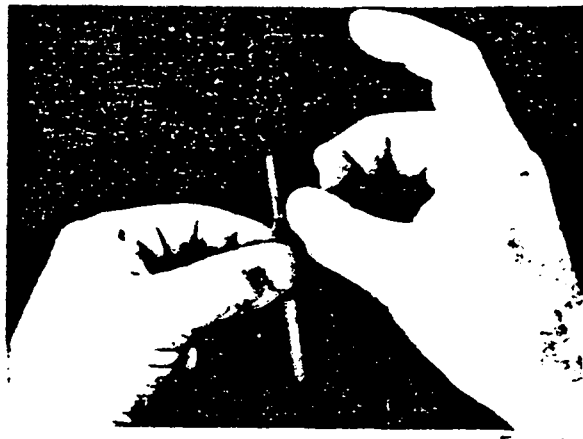


FIGURA 17

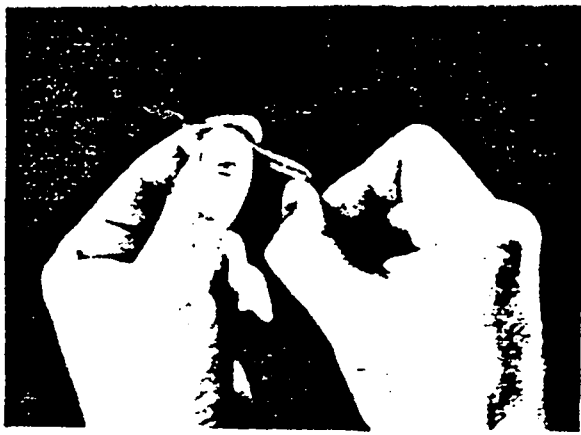


FIGURA 18



FIGURA 19

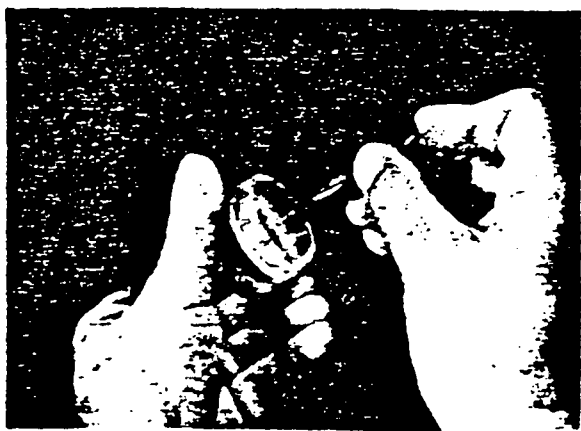


FIGURA 20

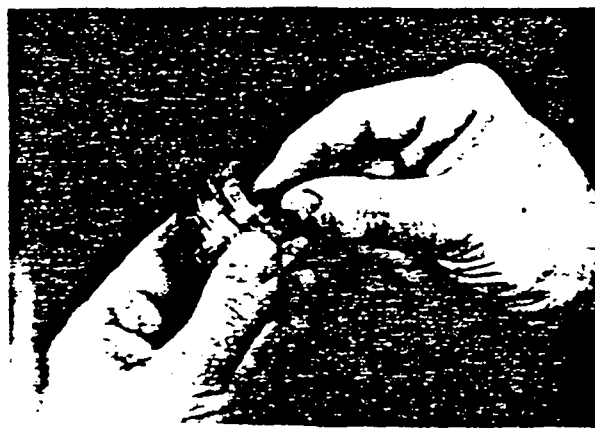


FIGURA 21

2.5 Instrucciones de Incubación

- . Invierta la caja de Petri (tapón rojo hacia arriba) y colóquelo en la rejilla de la incubadora portátil, como se muestra en la Figura 22.
- . Coloque la incubadora a una fuente apropiada de electricidad por lo menos 15 minutos antes de comenzar la prueba.
- . Incube la caja de Petri a $35^{\circ}\text{C} \pm$ por 18-24 horas. Las colonias de bacterias deben estar bien desarrolladas antes del recuento. Ver figura 23... pero no tan desarrolladas como en la figura 24.
- . Al terminar la incubación, abra la caja de Petri. (puede hacer ésto con una moneda), retire el filtro cuidadosamente y séquelo con la superficie sobre la cual crecieron las colonias, puesto hacia arriba, sobre una almohadilla absorbente, durante 30 minutos a 1 hora, figura 25.
Para retirar el filtro puede ayudarse empujando con un palillo a través del orificio. Esté seguro de descartar la almohadilla absorbente que está debajo del filtro.

2.6 Recuento de Colonias

- . Si es posible coloque la membrana filtrante entre dos láminas sujetas por una pinza.
- . Con la ayuda de una lupa y luz directamente colocada sobre la membrana filtrante, cuente solamente las colonias que aparecen con un brillo metálico verdoso que es característico de bacterias coliformes.
El medio de cultivo Caldo Endo-M suprime el crecimiento de la mayoría de bacterias no coliformes.
- . Relacione el número de colonias verde brillante con el volumen de muestra filtrado y calcule el recuento por 100 ml de agua (se asume que cada colonia se ha desarrollado a partir de una bacteria).

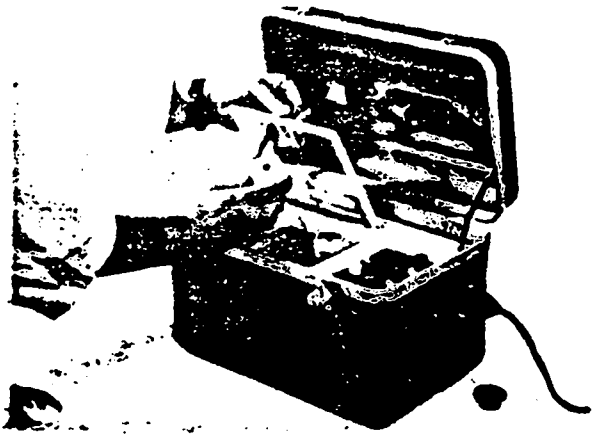


FIGURA 22

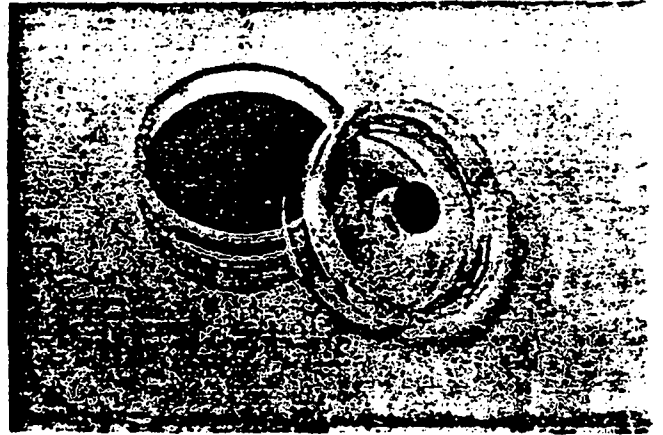


FIGURA 23

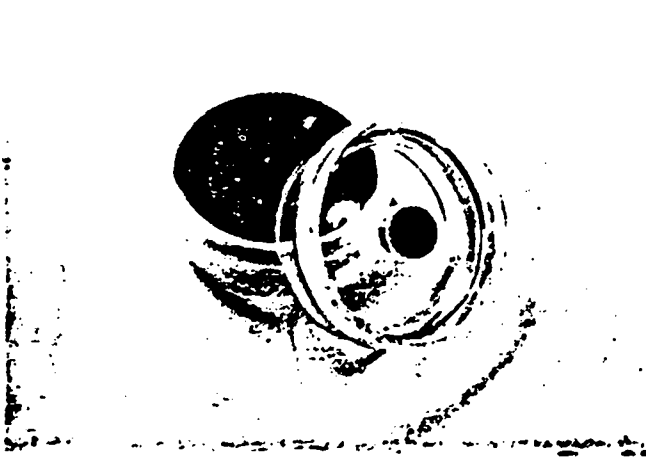


FIGURA 24

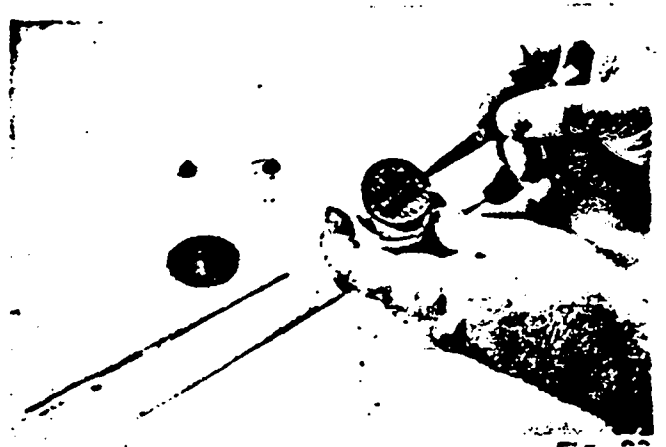


FIGURA 25

2.7 Reporte de Resultados

Fórmula : $\frac{\text{Número de colonias con brillo metálico}}{\text{Volumen de muestra}} \times 100$

= Bacterias/100 ml de muestra.

BIBLIOGRAFIA

A.P.H.A./ A.W.W.A./ W.P.C.F./ Standard methods for the examination of Water and WasteWater, 15th. edition. American Public Health Association, Washington D.C. 1980.

Millipore Corporation. Control Microbiológico. Comparación entre las técnicas del filtro de membrana y el número más probable. Millipore News Publicación B. México.

Millipore Corporation. Biological Analysis of Water and Waste Water. Application Manual AM 302. Bedford M.A. 1972.

Millipore Corporation. Recommended Procedure. Bacteriological testing in the field With Millipore field monitors MPR-3. Bedford, Massachusetts 1967.

Millipore Corporation. Field Procedures in Water Microbiology AB 314. Bedford, Massachusetts. 1974.

E.P.A. Microbiological methods for monitoring the Environment. Water and Wastes. Edited by Bordner R. and Winter J. Cincinnati Ohio. 1978.

ANEXOS

INSTRUCCIONES ACERCA DE LA MANERA DE LLENAR LOS MARBETES QUE DEBEN
ACOMPañAR A LOS FRASCOS DE LAS MUESTRAS

1. Los marbetes deben llenarse con lápiz de mina de grafito. No debe utilizarse tinta, pues esta, al humedecerse el marbete, se riega y vuelve confuso o ilegible lo escrito.
2. Si la muestra es para examen físico-químico, debe marcarse una (X) en el cuadro F.Q.; si es para el examen bacteriológico, se marca la (X) en la casilla B.T.
3. En el renglón correspondiente a la "Localidad" se ha de indicar la ciudad, pueblo, caserío, región o vereda en donde está ubicado el lugar del muestreo. Es conveniente anotar el municipio a que pertenece la zona de muestreo.
4. En el "Sitio de Recolección" debe indicarse el punto exacto en donde se tomó la muestra, por ejemplo, la dirección de la casa, el nombre de la finca, el sitio del río o acequia, etc.
5. En el renglón correspondiente a "Origen" debe señalarse si se trata de una muestra de aguas lluvias, o aguas de manantial, río, zan

jón, pozo, abastecimiento público, etc.

6. En "Clase" debe informarse si la muestra es cruda, sedimentada, filtrada, clorada, hervida, etc. En caso de algún otro tratamiento especial es bueno indicarlo.
7. En "Fecha de Recolección" escribir el mes en números romanos y el día y el año en números arábigos, por ejemplo : agosto 15 de 1986 indicarlo : VIII-15-86.
8. En "Hora de Recolección" precisar claramente la hora A.M. o P.M. en que se hizo la toma de la muestra.
9. Se debe tomar la temperatura de la muestra inmediatamente después de su recolección, e indicarla en °C o °F. Esto únicamente para la muestra físico-química.
10. Se debe determinar el pH de la muestra en el sitio o inmediatamente después de tomada e indicar el valor respectivo. Esto solamente para la muestra físico-química.

No se debe tomar la temperatura ni el pH en las muestras ya recogidas para exámenes bacteriológicos.

11. Con relación al "Aspecto" se debe informar si la muestra es clara, turbia, coloreada, etc.

12. En el renglón de "Observaciones" indicar cualquier hecho que se considere de importancia y que no haya sido anotado aún. Por ejemplo, si la muestra presentaba algún olor especial; si el muestreo coincidió con lluvias abundantes o fuerte sequía, etc.
13. Indicar, por último, el nombre completo, legible, de la persona que realizó la recolección de la muestra, no su firma.
14. El marbete debe colgarse al cuello del frasco por medio de una banda de caucho que brinde la suficiente seguridad.

APLICACION DE LA ECUACION DE REGRESION EN ESPECTROFOTOMETRIA

EJEMPLO ILUSTRATIVO

1 CONSIDERACIONES GENERALES

El análisis de correlación se usa para determinar el grado de asociación existente entre 2 variables.

Si se grafican los valores de 2 variables cualquiera, en un sistema de coordenadas cartesianas y los puntos en el diagrama se localizan en una línea recta o no muy dispersos de ella, es porque puede existir entre las 2 variables una relación lineal. En este caso la ecuación que representa esa línea recta es la siguiente :

$$y = a + bx$$

donde a es el intercepto y b es la pendiente.

Las constantes a y b, se determinan a partir de las siguientes ecuaciones :

$$\Sigma y = aN + b \Sigma x$$

$$\Sigma xy = a \Sigma x + b \Sigma x^2$$

por lo tanto, teniendo en cuenta que N = número de datos :

$$a = \frac{(\Sigma y) (\Sigma x^2) - (\Sigma x) (\Sigma xy)}{N \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$b = \frac{N \Sigma xy - (\Sigma x) (\Sigma y)}{N \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

El coeficiente de correlación " r^2 ", permite calcular el grado de ajuste de los puntos a la recta. Un coeficiente de correlación alto, indica una alta bondad de ajuste lineal de las 2 variables y la ecuación que define esa recta se puede utilizar para el cálculo de la variable dependiente.

El coeficiente de correlación puede calcularse, utilizando la siguiente expresión :

$$r = \frac{N(\Sigma xy) - (\Sigma x) (\Sigma y)}{([N \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2][N \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2])^{\frac{1}{2}}}$$

2 APLICACION A LA ESPECTROFOTOMETRIA

Los análisis espectrofotométricos, de complejos coloreados, que siguen la ley de Beer, se caracterizan porque la concentración es pro

porcional a la absorbancia.

Las determinaciones espectrofotométricas, se inician con la elaboración de una curva de calibración, para lo cual se preparan una serie de patrones de concentración conocida y se determina su % de transmitancia.

La relación entre estas 2 variables, en realidad es exponencial, pero puede transformarse en lineal usando una función logarítmica.

Si llamamos

y = concentración del compuesto en mg/l (o $\mu\text{g/ml}$)

x = $\log \frac{100}{\%T}$

$\%T$ = % transmitancia leído en el espectrofotómetro.

la ecuación que relaciona las 2 variables es del tipo $y = a + bx$.

Teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, el coeficiente de correlación, r^2 , para estas rectas debe ser alto, superior o igual a 0.98 (98%). Un coeficiente de correlación menor, indica que hubo fallas en la realización del análisis y por lo tanto deberá repetirse la curva de calibración, teniendo cuidado entre otras cosas de pipetear exactamente los volúmenes de solución patrón seleccionados para

hacer la curva, el pH al cual se realiza la colorimetría y el tiempo óptimo para la lectura de % de transmitancia.

Los pasos para llegar a obtener la ecuación de regresión, son cálculos estadísticos sencillos. Aunque actualmente hay en el mercado calculadoras que permiten obtener rápidamente los valores de a, b y r^2 , a continuación se ilustra con ejemplos, la forma de obtener estadísticamente la ecuación y su utilización para el cálculo de la concentración de un compuesto.

3 EJEMPLOS

Los siguientes datos son resultados obtenidos en el Laboratorio de Aguas de la Sección de Saneamiento Ambiental, Universidad del Valle.

TABLA No.20 RESULTADOS DE CURVAS DE CALIBRACION

HIERRO*			ALUMINIO**			FOSFORO***		
mg Fe ⁺⁺ /l (y)	%T	A (x)	mg Al ⁺⁺⁺ /l (y)	%T	A (x)	mg P-PO ₄ ⁼ /l (y)	%T	A (x)
0.0	100	0.000	0.0	100	0.00	0.0	100	0.000
0.2	89	0.051	0.1	69	0.16	0.5	84	0.076
0.5	76	0.119	0.3	31	0.51	1.0	70	0.155
0.8	65	0.187	0.5	14	0.85	1.5	58	0.237
1.0	58	0.236	0.7	10	1.00	2.0	49	0.310
1.2	52	0.283	-	-	-	-	-	-

- * Método de la 1-10 Fenantrolina
- ** Método del Eriocromo Cianina-R
- *** Método del Cloruro estannoso

3.1 MANEJO DE DATOS

3.1.1 Ecuación de regresión para hierro

x	y	x ²	y ²	xy
0.000	0.0	0.0000	0.00	0.0000
0.051	0.2	0.0026	0.04	0.0102
0.119	0.5	0.0142	0.25	0.0595
0.187	0.8	0.0349	0.64	0.1496
0.236	1.0	0.0557	1.00	0.2360
0.283	1.2	0.0801	1.44	0.3396
$\Sigma x = 0.876$	$\Sigma y = 3.7$	$\Sigma x^2 = 0.1875$	$\Sigma y^2 = 3.37$	$\Sigma xy = 0.7949$
$(\Sigma x)^2 = 0.767$	$(\Sigma y)^2 = 13.69$			

$$a = \frac{3.7 (0.1875) - 0.876 (0.7949)}{6 (0.1875) - 0.767} = a = \frac{-2.58 \times 10^{-3}}{0.358}$$

$$a = -7.2 \times 10^{-3}$$

$$b = \frac{6 (0.7949) - (0.876) (3.7)}{6 (0.1875) - 0.767} = b = \frac{1.5282}{0.358}$$

$$b = 4.27$$

$$r = \frac{6 (0.7949) - (0.876) (3.7)}{([6 (0.1875) - 0.767] [6 (3.37) - 13.69])^{1/2}} = r = \frac{1.5282}{1.53}$$

$$\%r^2 = 99.7$$

Por lo tanto la ecuación de regresión para el hierro es :

$$C = -7.2 \times 10^{-3} + 4.27 \lg \left(\frac{100}{\%T} \right) \quad (1)$$

donde C = concentración en mg Fe⁺⁺/l.

El factor de correlación tan alto, 99.7%, indica que se trabajó bien en la preparación de la curva de calibración.

Para calcular la concentración de hierro en una muestra, se desarrolla la colorimetría por el método de la 1-10 fenantrolina, se determina el %T y se calcula la concentración a partir de la ecuación (1).

Supongamos que en una muestra de agua traída al laboratorio, se analizó hierro, encontrándose un %T igual a 60; utilizando la ecuación (1) se halla una concentración de 0.94 mg Fe⁺⁺/l.

3.1.2 Ecuaciones de regresión para el aluminio y el fósforo

Procediendo en forma similar a la del numeral 3.1.1, se calcula el valor de las constantes, a y b y el de los coeficientes de correlación para los datos presentados en la Tabla No.26.

3.1.2.1 Para el aluminio

$$a = -0.013$$

$$b = 0.66$$

$$r^2 = 98\%$$

$$C = -0.013 + 0.66 \log \frac{100}{\%T} \quad \text{o también}$$

$$C = 0.66 \log \frac{100}{\%T} - 0.013$$

3.1.2.2 Para el fósforo

$$a = 4.7 \times 10^{-3}$$

$$b = 6.4$$

$$r^2 = 99.9\%$$

$$C = 4.7 \times 10^{-3} + 6.4 \log \frac{100}{\%T}$$

La utilización de la ecuación de correlación en este tipo de análisis, sustituye el uso de las curvas de calibración en pa
nel mi
temente usados en los labo
ratorios, agilizando y dando mayor precisión a los resultados.