



Resolución de Gerencia General

N° 002-2024-UESST/GG

Tumbes, 12 de enero de 2024

VISTO: El Informe N° 037-2024-UESST-GO de la Gerencia de Operaciones, el Informe N° 009-2024-UESST-CC de la Unidad de Control de Calidad;

CONSIDERANDO:

Que, el Organismo Técnico de la Administración de los Servicios de Saneamiento, como organismo público técnico especializado adscrito al Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, en marco de la Resolución Ministerial N° 374-2018-VIVIENDA, formaliza a través de la Resolución Directoral N° 095-2018-OTASS-DE, la creación de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes en el Pliego 207: Organismo Técnico de la Administración de los Servicios de Saneamiento, encargado a partir del 01 de diciembre de 2018, prestar los servicios de saneamiento en el ámbito de Tumbes, Zarumilla y Contralmirante villar;

Que, de acuerdo al Manual de Gestión Operativa de la Unidad Ejecutora 002 Servicio de Saneamiento Tumbes, aprobado por Resolución de Consejo Directivo N° 009-2018-OTASS/CD, el gerente general es el máximo órgano de gestión administrativa, de la referida unidad ejecutora, responsable de ejecutar las decisiones acordadas por la Dirección Ejecutiva del OTASS;

Que, el artículo 64 de la Resolución Directoral N° 009-2018-OTASS/CD, preceptúa que la Unidad de Control de Calidad, es la unidad orgánica dependiente de la Gerencia de Operaciones, responsable de planificar, formular, proponer, dirigir, ejecutar y controlar los programas de control de calidad de los servicios de agua potable, alcantarillado y efluentes de las PTAR en el marco del cumplimiento de la normatividad vigente;

Que, a través del Informe N° 037-2024-UESST-GO, la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes, sobre la base del Informe N° 009-2024-UESST-CC de la Unidad de Control de Calidad, solicita la aprobación del "Manual de los métodos de ensayos estandarizados del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad de la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes", que se detalla: i) Determinación de turbiedad por el método nefelométrico; ii) Determinación de pH por el método electrométrico; iii) Determinación de aluminio por el método colorimétrico del eriocromo cianina R; iv) Determinación de alcalinidad por el método de titulación; v) Determinación de conductividad por el método de laboratorio; vi) Determinación de salinidad por el método de conductividad eléctrica; vii) Determinación de dureza por el método titrimétrico EDTA; viii) Determinación de manganeso por el método de persulfato; ix) Determinación de sulfatos por el método turbidimétrico; x) Determinación de hierro por el método de la fenantrolina; xi) Determinación de cloruro por el método argentométrico; xii) Determinación de nitratos por el método de detección espectrofotométrica ultravioleta; xiii) Determinación de coliformes totales por el método de tubos múltiples (NMP); y, xiv) Determinación de coliformes termotolerantes por el método de tubos múltiples (NMP);





Resolución de Gerencia General

Que, la Gerencia General con proveído de fecha 10 de enero de 2024 deriva el referido expediente a la Oficina de Asesoría Jurídica para proyectar el acto resolutivo que aprueba el "Manual de los métodos de ensayos del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad de la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes";

Con el visado de la Gerencia de Operaciones y de la Oficina de Asesoría Jurídica;

De conformidad con lo dispuesto en de la Resolución Ministerial N° 374-2018-VIVIENDA, que declara la caducidad del contrato de concesión, la Resolución Directoral N° 095-2018-OTASS-DE, que crea la Unidad Ejecutora 002: denominada Servicios de Saneamiento Tumbes y la Resolución de Consejo Directivo N° 009-2018-OTASS/CD;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- Aprobar el "Manual de los métodos de ensayos estandarizados del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad de la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes", que se detalla: i) Determinación de turbiedad por el método nefelométrico; ii) Determinación de pH por el método electrométrico; iii) Determinación de aluminio por el método colorimétrico del eriocromo cianina R; iv) Determinación de alcalinidad por el método de titulación; v) Determinación de conductividad por el método de laboratorio; vi) Determinación de salinidad por el método de conductividad eléctrica; vii) Determinación de dureza por el método titrimétrico EDTA; viii) Determinación de manganeso por el método de persulfato; ix) Determinación de sulfatos por el método turbidimétrico; x) Determinación de hierro por el método de la fenantrolina; xi) Determinación de cloruro por el método argentométrico; xii) Determinación de nitratos por el método de detección espectrofotométrica ultravioleta; xiii) Determinación de coliformes totales por el método de tubos múltiples (NMP); y, xiv) Determinación de coliformes termotolerantes por el método de tubos múltiples (NMP), que en anexo adjunto forman parte integrante de la presente resolución.

Artículo 2.- Designar a él/la Jefe/Jefa de la Unidad de Control de Calidad de la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes, como responsable de lo dispuesto en el artículo 1 de la presente resolución, en el marco de sus competencias.

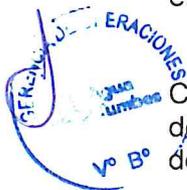
Artículo 3.- Comunicar la presente resolución a él/la Jefe/Jefa de la Unidad de Control de Calidad de la Gerencia de Operaciones de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes, a fin de que apliquen los contenidos de los presentes métodos de ensayo bajo responsabilidad.

Artículo 4.- Disponer la publicación de la presente resolución y el anexo en el Portal Institucional: www.aguatumbes.gob.pe.

Regístrese, comuníquese y archívese.



Miguel Gregorio Granda Chune
Gerente General
Unidad Ejecutora Servicios de
Saneamiento Tumbes





PERÚ

Ministerio
de Vivienda, Construcción
y Saneamiento

Organismo Técnico de la
Administración de los
Servicios de Saneamiento

Unidad Ejecutora 002
Servicios de
Saneamiento Tumbes

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

Agua
Tumbes
RECIBIDO GERENCIA GENERAL
09 ENE 2024
Hora: 3:05 pm Reg. 0132
03708 Folios: vs con mejor
al ensayo.
Folio Firma

INFORME N.º 037-2024-UESST-GO

A : **MIGUEL GRANDA CHUNE**
Gerente General
Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes

Asunto : Solicito aprobación de métodos de ensayos del laboratorio de la
Unidad de Control de Calidad.

Fecha : Tumbes, 09 de enero del 2024.

Mediante el presente se le saluda cordialmente y al mismo tiempo se traslada a usted el Informe N.º 009-2024-UESST-CC, en el cual se da cuenta los métodos de ensayos del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad, de la Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes.

Por lo que se remite a su despacho, para su aprobación correspondiente, así como la posterior emisión de la Resolución de la Gerencia General.

Es todo cuanto informo a usted para los fines pertinentes.

Atentamente.


Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes
Ing. David Francisco Sánchez Caray
Gerente de Operaciones (a)





PERÚ

Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento

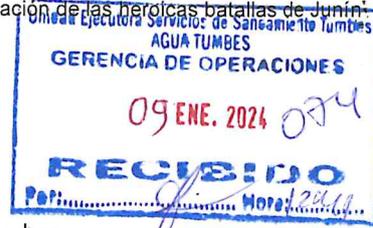
Organismo Técnico de la Administración de los Servicios de Saneamiento

Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes

Gerencia de Operaciones

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

INFORME N° 009-2023-UESST-CC



A : ING. David Francisco Sánchez Curay GERENTE DE OPERACIONES(e) Unidad Ejecutora 002 Servicios de Saneamiento Tumbes.

ASUNTO : Revisión y aprobación de métodos de ensayos del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad.

REFERENCIA : Decreto Supremo N° 031-2010-SA. Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano.

FECHA : Tumbes, 09 de enero del 2024.

Es grato dirigirme a usted. Respecto a los artículos del documento de referencia, se indica lo siguiente:

- El Decreto Supremo N° 031-2010-SA, en su Artículo 72°.- Pruebas Analíticas Confiable; establece que: "Las pruebas analíticas deben realizarse en laboratorios que tengan como responsables de los análisis a profesionales colegiados habilitados de ciencias e ingeniería, además deben contar con métodos, procedimientos y técnicas debidamente confiables y basados en métodos normalizados para el análisis de agua para consumo humano de reconocimiento internacional, en donde aseguren que los límites de detección del método para cada parámetro a analizar estén por debajo de los límites máximos permisibles señalados en el presente Reglamento".
Son infracciones graves según el artículo 77° del Decreto Supremo N° 031-2010-SA, en el ítem 2. f. "Proveedor que no cumpla con la presentación de resultados de laboratorio sustentado en pruebas analíticas confiables".

Cuadro N° 1. Lista de métodos de ensayos.

Table with 4 columns: CÓDIGO, VERSIÓN, MÉTODO DE ENSAYO, REFERENCIA. It lists 7 different water testing methods (MET-01 to MET-07) and their corresponding international standards.



**PERÚ****Ministerio
de Vivienda, Construcción
y Saneamiento**Organismo Técnico de la
Administración de los
Servicios de SaneamientoUnidad Ejecutora 002
Servicios de
Saneamiento TumbesGerencia de
Operaciones

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

MET-08	01	Determinación de manganeso por el método de persulfato	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 3500-Mn B. Persulfate Method.
MET-09	01	Determinación de sulfatos por el método turbidimétrico	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500-SO42- E. Turbidimetric Method.
MET-10	01	Determinación de hierro por el método de la fenantrolina	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 3500-Fe B. Phenanthroline Method.
MET-11	01	Determinación de cloruro por el método argentométrico	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500-Cl- B. Argentometric Method.
MET-12	01	Determinación de nitratos por el método de detección espectrofotométrica ultravioleta	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500-NO3-B. Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method.
MET-13	01	Determinación de coliformes totales por el método de tubos múltiples (NMP)	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 9221 B. Estándar Total Coliform Fermentation Technique.
MET-14	01	Determinación de coliformes termotolerantes por el método de tubos múltiples (NMP)	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 9221E. Thermotolerant- (Fecal) Coliform Procedure.

En virtud de lo antes señalado, se remite los métodos de ensayos estandarizados del laboratorio de la Unidad de Control de Calidad para su revisión y aprobación.

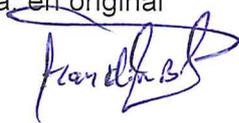
Atentamente,

Ing. Franklin Bravo Vidaurre
Jefe de Control de Calidad(e)
UE 002 SST/Agua Tumbes

CC.
Archivo.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-01 Versión: 01 Página: 1 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE TURBIEDAD POR EL MÉTODO NEFELOMÉTRICO

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p>	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p>	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p>
<p>Firma: en original</p> 	<p>Firma: en original</p> 	<p>Firma: en original</p>



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-01

Versión: 01

Página: 2 de 10

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-01 Versión: 01 Página: 3 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

1. OBJETIVO

Desarrollar el método nefelométrico para determinar la turbiedad en el agua para consumo humano, superficiales y subterráneas.

2. ALCANCE

Este método es apropiado y aplicado para tipo de agua potable, subterránea y superficial. También es aplicable a muestras de agua que estén libres de residuos y sedimentos que se depositen rápidamente.

El material de vidrio sucio y la presencia de burbujas de aire, las cuales pueden presentarse en la muestra durante la agitación, pueden dar resultados falsos. El color del agua debido a sustancias disueltas que absorben luz, da lugar a valores de turbiedad bajos. Este efecto, por lo general no resulta significativo en el caso de aguas tratadas.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 2130 B. Nephelometric Method".

5. INTRODUCCION

5.1 Fuentes y significados

La claridad del agua es importante en la producción de productos destinados al consumo humano y en muchas operaciones de fabricación.

Los productores de bebidas, los procesadores de alimentos y las plantas de tratamiento de agua potable que se extraen de una fuente de agua superficial comúnmente se basan en procesos de separación de partículas y fluidos, como la sedimentación y la

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-01 Versión: 01 Página: 4 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

filtración, para aumentar la claridad y garantizar un producto aceptable.

La claridad de un cuerpo de agua natural es un determinante importante de su condición y productividad.

La turbidez en el agua es causada por materia suspendida y coloidal, como arcilla, limo, materia orgánica e inorgánica finamente dividida, y plancton y otros organismos microscópicos. La turbidez es una expresión de la propiedad óptica que hace que la luz se disperse y absorba en lugar de transmitirse sin cambios en la dirección o el nivel de flujo a través de la muestra.

La correlación de la turbidez con el peso o la concentración del número de partículas de la materia suspendida son difícil porque el tamaño, la forma y el índice de refracción de las partículas afectan las propiedades de dispersión de la luz de la suspensión. Cuando están presentes en concentraciones significativas, las partículas que consisten en materiales que absorben la luz, como el carbón activado, causan una interferencia negativa. En bajas concentraciones, estas partículas tienden a tener una influencia positiva porque contribuyen a la turbidez.

La presencia de sustancias disueltas que causan color y que absorben la luz puede causar una interferencia negativa. Algunos instrumentos comerciales pueden tener la capacidad de corregir una leve interferencia de color o de borrar ópticamente el efecto de color.

5.2 Selección del método

Históricamente, el método estándar para la determinación de turbidez se ha basado en el turbidímetro de vela Jackson, sin embargo, el valor de turbidez más bajo que se puede medir directamente en este dispositivo es de 25 unidades de turbidez de Jackson (JTU). Debido a que las turbiedades del agua tratada por los procesos convencionales de separación de partículas y fluidos generalmente caen dentro del rango de 0 a 1 unidad. Los nefelómetros electrónicos son los instrumentos preferidos para la medición de turbidez. La mayoría de los turbidímetros comerciales diseñados para medir turbiedades bajas proporcionan indicaciones comparativamente buenas de la intensidad de la luz dispersada en una dirección particular, predominantemente en ángulos rectos a la luz incidente. Los turbidímetros con detectores de luz dispersa ubicados a 90° del haz incidente se llaman nefelómetros. Los nefelómetros no se ven afectados por las pequeñas diferencias en los parámetros de diseño y, por lo tanto, están especificados como el instrumento estándar para la medición de turbidez baja. Los instrumentos de

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-01 Versión: 01 Página: 5 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

diferentes marcas y modelos pueden variar en respuesta.

Sin embargo, la variación entre instrumentos puede ser efectivamente despreciable si se usan buenas técnicas de medición y las características de las partículas en las suspensiones medidas son similares. Una técnica de medición deficiente puede tener un mayor efecto sobre el error de medición que las pequeñas diferencias en el diseño del instrumento. Los turbidímetros de diseño no estándar, como los dispositivos de dispersión directa, pueden ser más sensibles que los nefelómetros a la presencia de partículas más grandes. Si bien puede no ser apropiado comparar su salida con la de los instrumentos de diseño estándar, todavía pueden ser útiles para el monitoreo de procesos.

Una causa adicional de discrepancias en el análisis de turbidez es el uso de suspensiones de diferentes tipos de partículas para la calibración de instrumentos. Al igual que las muestras de agua, las suspensiones preparadas tienen diferentes propiedades ópticas según las distribuciones de tamaño de las partículas, las formas y los índices de refracción. Se especifica una suspensión de referencia estándar con propiedades de dispersión de luz reproducibles para la calibración del nefelómetro.

Su precisión, sensibilidad y aplicabilidad en un amplio rango de turbidez hacen que el método nefelométrico sea preferible a los métodos visuales. Reportar los resultados de las mediciones nefelométricas como unidades de turbidez nefelométricas. (NTU)

5.3 Almacenamiento de muestra

Determine la turbidez tan pronto como sea posible después de tomar la muestra. Agite suavemente todas las muestras antes del examen para garantizar una medición representativa. La conservación de la muestra no es práctica; comenzar el análisis rápidamente. Refrigere o enfríe a 4°C, para minimizar la descomposición microbiológica de los sólidos, si se requiere almacenamiento. Para obtener los mejores resultados, mida la turbidez inmediatamente sin alterar las condiciones de la muestra original, como la temperatura o el pH.

6. METODOLOGÍA

6.1 Discusión general

- a) Principio: este método se basa en una comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas con la intensidad de la luz dispersada por una suspensión de referencia estándar en las mismas condiciones.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-01 Versión: 01 Página: 6 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

Cuanto mayor es la intensidad de la luz dispersada, mayor es la turbidez. El polímero de formazina se utiliza como la suspensión de referencia estándar primaria. La turbidez de una concentración específica de suspensión de formazina se define como 4000 NTU.

- b) Interferencia: La turbidez se puede determinar para cualquier muestra de agua que esté libre de residuos y que se sedimente rápidamente.

La vajilla sucia y la presencia de burbujas de aire dan resultados falsos. El "color verdadero" (es decir, el color del agua debido a las sustancias disueltas que absorben la luz) hace que las turbiedades medidas sean bajas. Este efecto generalmente no es significativo en el agua tratada.

6.2 Equipos

- a) El nefelómetro de laboratorio o de proceso consiste en una fuente de luz para iluminar la muestra y uno más detectores fotoeléctricos con un dispositivo de lectura para indicar la intensidad de la luz dispersada a 90 ° en la trayectoria de la luz incidente. Use un instrumento diseñado para minimizar la luz dispersa que llega al detector en ausencia de turbidez y para estar libre de desviaciones significativas después de un corto período de calentamiento. La sensibilidad del instrumento debería permitir detectar diferencias de turbidez de 0.02 NTU o menos en el rango más bajo en aguas con una turbidez de menos de 1 NTU. Varios rangos pueden ser necesarios para obtener una cobertura adecuada y una sensibilidad suficiente para turbidez baja. Las diferencias en el diseño del instrumento causarán diferencias en los valores medidos de turbidez, aunque se use la misma suspensión para la calibración. Para minimizar tales diferencias, observe los siguientes criterios de diseño:

1. Fuente de luz, lámpara de filamento de tungsteno que funciona a una temperatura de color entre 2200 y 3000 K.
2. Distancia recorrida por la luz incidente y la luz dispersada dentro del tubo, el total no debe exceder los 10 cm.
3. Ángulo de aceptación de la luz por el detector, centrado a 90° respecto a la trayectoria de la luz incidente y no debe superar los $\pm 30^\circ$ a partir de 90°.

El sistema de detección y filtro, si se usa, tendrá una respuesta de pico espectral entre 400 y 600 nm.

- b) Celdas de muestra: use celdas de muestra o tubos de vidrio o plástico transparente e incoloro. Mantenga las celdas escrupulosamente limpias, tanto por dentro como por

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-01 Versión: 01 Página: 7 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

fuera, y deséchelas si están rayadas o grabadas. Nunca los maneje donde el rayo de luz del instrumento los golpee. Use tubos con suficiente longitud adicional, o con una funda protectora, para que puedan ser manejados adecuadamente. Llene las celdas con muestras y estándares que hayan sido agitados a fondo y deje suficiente tiempo para que se escapen las burbujas.

Limpie las celdas de la muestra lavándolas a fondo con jabón de laboratorio por dentro y por fuera y luego enjuague con agua destilada o desionizada, deje que las células se sequen al aire. Manipule las celdas de muestra solo por la parte superior, evite la suciedad y las huellas dactilares dentro de la trayectoria de la luz.

Las celdas se pueden recubrir en el exterior con una capa delgada de aceite de silicona para enmascarar imperfecciones menores y rasguños que pueden contribuir a la luz dispersa. Utilice aceite de silicona con el mismo índice de refracción que el vidrio.

Evite el exceso de aceite porque puede atraer la suciedad y contaminar el compartimiento de muestra del instrumento. Use un paño suave y sin pelusas para estar casi seco con poco o ningún aceite visible.

Debido a que las pequeñas diferencias entre las celdas de la muestra tienen un impacto significativo en la medición, use pares de celdas iguales o la misma celda para la estandarización y la medición de la muestra.

6.3 Reactivos

a. *Agua de dilución:* el agua de alta pureza causará cierta dispersión de la luz, que los nefelómetros detectan como turbidez. para obtener agua de baja turbidez para diluciones, valor nominal de 0.02 NTU, pase agua de grado reactivo de laboratorio a través de un filtro con un tamaño de poro suficientemente pequeño para eliminar esencialmente todas las partículas mayores de 0.1 μm ; el filtro de membrana habitual utilizado para los exámenes bacteriológicos no es satisfactorio. Enjuague el matraz colector al menos dos veces con agua filtrada y deseche los siguientes 200 ml.

Algunas aguas desmineralizadas comerciales embotelladas tienen una baja turbidez. Se pueden usar cuando la filtración no es práctica o no se puede filtrar un buen grado de agua en el laboratorio.

Verifique la turbidez del agua embotellada para asegurarse de que esté por debajo del nivel que se puede alcanzar en el laboratorio.

b. *Suspensión de formazina estándar primaria stock:*

- 1) La solución I; disuelve 1.000 g de sulfato de hidrazina, $(\text{NH}_2)_2\text{H}_2\text{SO}_4$, en agua destilada y se diluye hasta 100 ml en un matraz volumétrico. **Precaución:** el sulfato de hidrazina es un carcinógeno; Evitar la inhalación, ingestión y contacto con la piel. Las suspensiones de formazina pueden contener sulfato de hidrazina residual.
 - 2) Solución II; Disuelva 10.00 g de hexametilentetramina, $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$ en agua destilada y diluya a 100 ml en un matraz volumétrico.
 - 3) En un matraz, mezcle 5,0 ml de solución I y 5,0 ml de solución II. Dejar reposar durante 24h a 25 ± 3 ° C. Esto resulta en una suspensión de 4000 NTU. Transfiera la suspensión de stock a un vidrio ámbar u otra botella bloqueadora de luz UV para su almacenamiento. Hacer diluciones de esta suspensión de stock. La suspensión estándar es estable por hasta 1 año cuando se almacena adecuadamente.
- c. *Suspensiones de turbidez diluidas:* Diluir 400NTU suspensión estándar primaria con agua de dilución de alta calidad. Preparar inmediatamente antes de usar desechar después de usar.
- d. *Estándares secundarios:* los estándares secundarios son estándares que el fabricante (o una organización de prueba independiente) ha certificado que proporcionarán resultados equivalentes (dentro de ciertos límites) a los resultados obtenidos cuando el instrumento se calibra con el estándar primario (es decir, formacina preparada por el usuario). Se encuentran disponibles varios estándares secundarios, que incluyen suspensiones de stock comercial de formazina 4000NTU, suspensiones comerciales de microesferas de copolímero de ibenzeno que se sumergen en estireno, y artículos suministrados por fabricantes de instrumentos, tales partículas de óxido en un gel de polímero.
- Todos los estándares secundarios, incluso los estándares "permanentes", cambian con el tiempo. Reemplácelas cuando su edad supere la vida útil.

6.4 Procedimiento

- a. *Técnicas generales de medición:* las técnicas de medición adecuadas son importantes para minimizar los efectos de las variables del instrumento, así como la luz parásita y las burbujas de aire. Independientemente del instrumento utilizado, la medición será más precisa, precisa y repetible si se presta especial atención a las técnicas de medición adecuadas.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-01 Versión: 01 Página: 9 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

Mida la turbidez inmediatamente para evitar los cambios de temperatura y la floculación de partículas y la sedimentación cambiando las características de la muestra. Si la floculación es aparente, descomponga los agregados por agitación. Evite la dilución siempre que sea posible. Las partículas suspendidas en la muestra original pueden disolverse o cambiar las características cuando la temperatura cambia o cuando la muestra se diluye.

Elimine el aire u otros gases arrastrados en la muestra antes de la medición. Preferiblemente de gas incluso si no hay burbujas visibles.

Desglase aplicando un vacío parcial, agregando un surfactante que no forme espuma, utilizando un baño de ultrasonidos o aplicando calor. En algunos casos, dos o más de estas técnicas se pueden combinar para una eliminación más efectiva de las burbujas. Por ejemplo, puede ser necesario combinar la adición de un surfactante con el uso de un baño de ultrasonidos para algunas condiciones graves. Cualquiera de estas técnicas, si se aplica incorrectamente, puede alterar la turbidez de la muestra; utilizar con cuidado. Si no se puede aplicar la degradación, la formación de burbujas se minimizará si las muestras se mantienen a la temperatura y presión del agua antes de tomar muestras.

No elimine las burbujas de aire dejando reposar la muestra durante un período de tiempo, ya que, durante el reposo, las partículas que causan turbidez pueden asentarse y la temperatura de la muestra puede cambiar. Ambas condiciones alteran la turbidez de la muestra, lo que resulta en una medición no representativa.

La condensación puede ser precisa en la superficie exterior de una celda de muestra cuando se mide una muestra fría en un ambiente cálido y húmedo. Esto interfiere con la medición de la turbidez. Elimine toda la humedad del exterior de la celda de muestra antes de colocar la celda en el instrumento. Si vuelve a empañarse, deje que la muestra se caliente ligeramente dejándola reposar a temperatura ambiente o sumergiéndola parcialmente en un baño de agua tibia por un corto tiempo. Asegúrese de que las muestras vuelvan a estar bien mezcladas.

- b. *Calibración del nefelómetro:* siga las instrucciones de funcionamiento del fabricante. Ejecute al menos un estándar en cada rango de instrumento que se utilizará. Asegúrese de que el nefelómetro proporcione lecturas estables en todos los rangos de sensibilidad utilizados.
- c. *Medición de turbidez:* agite suavemente la muestra, espere hasta que las burbujas de aire desaparezcan y vierta la muestra en la celda. Cuando sea posible, vierta una muestra bien mezclada en la celda y sumérjala en un baño de ultrasonidos

durante 1 a 2 segundos o aplique desgasificación al vacío, lo que provoca la liberación completa de la burbuja. Lea la turbidez directamente desde la pantalla del instrumento.

- d. *Calibración de monitores de turbidez continua:* calibre monitores de turbidez continuos para turbiedades bajas mediante la determinación de la turbidez del agua que fluye fuera de ellos, utilizando un nefelómetro modelo de laboratorio, o calibre los instrumentos de acuerdo con las instrucciones del fabricante con el estándar primario de formazina o el estándar secundario apropiado.

6.5 Interpretación de resultados

Informe la lectura de turbidez de la siguiente manera:

Rango de turbidez NTU	Informe a los más cercanos NTU
0 - 1.0	0.05
1 - 10	0.1
10 - 40	1
40 - 100	5
100 - 400	10
400 - 1000	50
> 1000	100

Al comparar las eficiencias de tratamiento de agua, no calcule la turbidez más de cerca que lo especificado anteriormente. Las incertidumbres y las discrepancias en las mediciones de turbidez hacen que sea poco probable que los resultados puedan duplicarse con mayor precisión que la especificada.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-02 Versión: 01 Página: 1 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACION DE pH POR EL METODO ELECTROMETRICO

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>  	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-02 Versión: 01 Página: 3 de 14</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVO

Describir la metodología a seguir para determinar el valor del pH en muestras de agua.

2. ALCANCE

Este método es apropiado y aplicable a todo tipo de aguas.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500-H⁺ B. Electrometric Method".

5. INTRODUCCION

5.1 Principios

La medición del pH es una de las pruebas más importantes y de uso frecuente en química del agua. Prácticamente todas las fases del suministro de agua y el tratamiento de aguas residuales (por ejemplo, ácido - neutralización de la base, ablandamiento del agua, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión) dependen del pH. El pH se usa en las mediciones de alcalinidad y dióxido de carbono y en muchos otros equilibrios ácido-base. A una temperatura dada, la intensidad del carácter ácido o básico de una solución está indicada por el pH o la actividad del ion hidrógeno. La alcalinidad y la acidez son las capacidades de neutralización de ácidos y bases de un agua y generalmente se expresan en miligramos de CaCO₃ por litro. La capacidad del tampón es la cantidad de ácido o base fuerte, generalmente expresada en moles por litro, necesaria para cambiar el valor de pH de 1 L de muestra en 1 unidad. El pH definido por Sorenson es $\text{Log} [\text{H}^+]$; es el factor de "intensidad" de la acidez. El agua pura está muy ligeramente ionizada y en equilibrio el producto iónico es

MÉTODO DE ENSAYO

$$[H^+][OH^-] = K_w \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$[H^+][OH^-] = 1.01 \times 10^{-14} \quad \text{a } 25^\circ\text{C}$$

y

$$[H^+] = [OH^-]$$

$$[H^+] = 1.005 \times 10^{-7}$$

Donde:

$[H^+]$ = Actividad de los iones de hidrógeno, moles/L

$[OH^-]$ = Actividad de los iones de hidroxilos, moles/L

K_w = Producto iónico del agua

Debido a las interacciones iónicas en todas las soluciones excepto en soluciones muy diluidas, es necesario utilizar la "actividad" de un ion y no su concentración molar. El uso del término pH supone que la actividad del ion hidrógeno, a_{H^+} ; está siendo considerado. La equivalencia aproximada a la molaridad, $[H^+]$, se puede suponer solo en soluciones muy diluidas (fuerza iónica < 0.1).

Una escala logarítmica es conveniente para expresar una amplia gama de actividades iónicas. La ecuación 1 en forma logarítmica y corregida para reflejar la actividad es:

$$(-\log_{10} a_{H^+}) + (-\log_{10} a_{OH^-}) = 14 \quad \dots\dots\dots (2)$$

o

$$pH + pOH = pK_w$$

Donde:

$$pH = \log_{10} a_{H^+} \quad \text{y}$$

$$pOH = \log_{10} a_{OH^-}$$

La ecuación 2 indica que a medida que aumenta el pH, el pOH disminuye de manera correspondiente y viceversa porque pK_w es constante para una temperatura dada. A 25°C , el pH 7.0 es neutro, las actividades del hidrógeno y los iones hidroxilo son iguales, y cada una corresponde a una actividad aproximada de 10^{-7} moles/L. El punto neutro depende de la temperatura y tiene un pH de 7.5 a 0°C y un pH de 6.5 a 60°C .

El valor de pH de una solución altamente diluida es aproximadamente el mismo que el logaritmo común negativo de la concentración de iones de hidrógeno. Las aguas naturales generalmente tienen valores de pH en el rango de 4 a 9, y la mayoría son ligeramente básicas debido a la presencia de bicarbonatos y carbonatos de los metales alcalinos y alcalinotérreos.

6. METODOLOGÍA

6.1 Discusión general

- a. *Principios:* El principio básico de la medición de pH electrométrico es la determinación de la actividad de los iones de hidrógeno mediante una medición potenciométrica utilizando un electrodo de hidrógeno estándar y un electrodo de referencia. El electrodo de hidrógeno consiste de un electrodo de platino a través del cual se burbujea gas hidrógeno a una presión de 101 kPa. Debido a la dificultad en su uso y al potencial de envenenamiento del electrodo de hidrógeno, comúnmente se usa el electrodo de vidrio. La fuerza electromotriz (emf) producida en el sistema de electrodo de vidrio varía linealmente con el pH. Esta relación lineal se describe trazando la emf medida frente al pH de diferentes tampones. El pH de la muestra se determina por extrapolación.

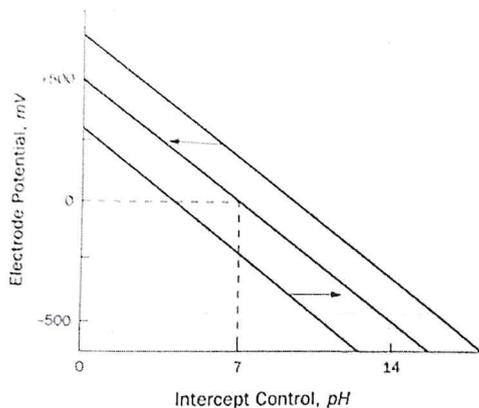


Figura 4500-H⁺:1. Potencial de electrodo vs. pH. El control de intercepción desplaza la curva de respuesta lateralmente.

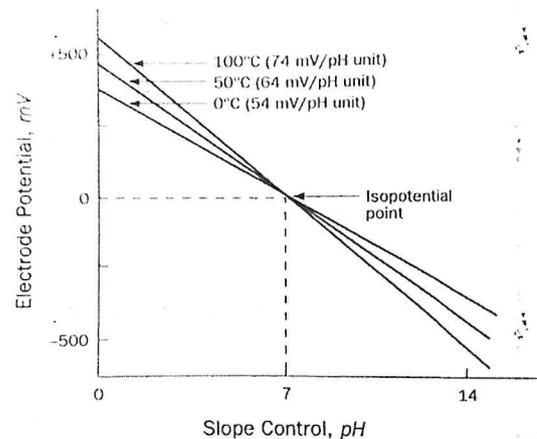


Figura 4500-H⁺:2. Respuesta típica del electrodo de pH en función de la temperatura.

Debido a que no se pueden medir las actividades de un solo ion, como a_{H^+} , el pH se define operacionalmente en una escala potenciométrica. El instrumento de medición de pH se calibra potenciométricamente con un electrodo indicador (vidrio) y un electrodo de referencia que utiliza buffers del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) que tienen valores asignados, por lo que:

$$pH_B = -\log_{10} a_{H^+}$$

Donde:

pH_B = pH asignado del buffer NIST.

La escala de pH operacional se utiliza para medir el pH de la muestra y se define como:

MÉTODO DE ENSAYO

$$pH_x = -pH_E \pm \frac{F(E_x - E_s)}{2.303RT}$$

Donde:

pH_x = pH medido potenciométricamente de la muestra,

F = Faraday: 9.649 x 10⁴ coulomb/mol,

E_x = muestra emf, V,

E_s = buffer emf, V,

R = Constante de gases; 8.314 joule/(mol*°K), y

T = Temperatura absoluta, °K.

NOTA: Aunque la ecuación para pH aparece en la literatura con un signo más, el signo de las lecturas emf en milivoltios para la mayoría de los medidores de pH fabricados en los Estados Unidos es negativo. La elección del signo negativo es consistente con la convención IUPAC de Estocolmo sobre el signo del potencial del electrodo. 1,2

La escala de actividad proporciona valores que son más altos que los de la escala de Sorenson en 0.04 unidades:

$$pH(\text{actividad}) = pH(\text{Sorenson}) + 0.04$$

La ecuación para pH_x supone que la emf de las celdas que contienen la muestra y el tampón se debe únicamente a la actividad del ion hidrógeno no afectada por la composición de la muestra. En la práctica, las muestras tendrán diferentes especies iónicas y fuerzas iónicas, ambas afectando la actividad H⁺. Esto impone una limitación experimental sobre la medición del pH; por lo tanto, para obtener resultados significativos, las diferencias entre E_x y E_s deben ser mínimas. Las muestras deben ser soluciones acuosas diluidas de solutos simples (<0.2M). (Elija tampones para rodear la muestra). La determinación del pH no se puede hacer con precisión en medios no acuosos, suspensiones, coloides o soluciones de alta resistencia iónica.

- b. *Interferencias:* El electrodo de vidrio está relativamente libre de interferencias de color, turbidez, materia coloidal, oxidantes, reductores o alta salinidad, excepto por un error de sodio a pH > 10. Reduzca este error usando electrodos especiales de "bajo error de sodio".

Las mediciones de pH se ven afectadas por la temperatura de dos maneras: efectos mecánicos causados por cambios en las propiedades de los electrodos y efectos

químicos causados por cambios de equilibrio. En primera instancia, la pendiente de Nernstian aumenta con el aumento de la temperatura y los electrodos tardan en alcanzar el equilibrio térmico. Esto puede causar una deriva a largo plazo en el pH. Debido a que el equilibrio químico afecta el pH, los tampones de pH estándar tienen un pH específico a las temperaturas indicadas.

Siempre informe la temperatura a la cual se mide el pH.

- c. *Control de calidad:* Las prácticas de control de calidad que se consideran parte integral de cada método se resumen en la Tabla 4020: I.

6.2 Equipos

- a. *Medidor de pH que consta de un potenciómetro,* un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo de compensación de temperatura. Un circuito se completa a través del potenciómetro cuando los electrodos se sumergen en la solución de prueba. Muchos medidores de pH son capaces de leer pH o milivoltios y algunos tienen expansión de escala que permite leer a 0,001 unidades de pH, pero la mayoría de los instrumentos no son tan precisos.

TABLE 4500-H* .1. PREPARATION OF pH STANDARD SOLUTIONS[†]

Standard Solution (molality)	pH at 25°C	Weight of Chemicals Needed/1000 mL Pure Water at 25°C
<i>Primary standards:</i>		
Potassium hydrogen tartrate (saturated at 25°C)	3.557	> 7 g KHC ₄ H ₄ O ₆ *
0.05 potassium dihydrogen citrate	3.776	11.41 g KH ₂ C ₆ H ₅ O ₇
0.05 potassium hydrogen phthalate	4.004	10.12 g KHC ₈ H ₄ O ₄
0.025 potassium dihydrogen phosphate + 0.025 disodium hydrogen phosphate	6.863	3.387 g KH ₂ PO ₄ + 3.533 g Na ₂ HPO ₄ †
0.008 695 potassium dihydrogen phosphate + 0.030 43 disodium hydrogen phosphate	7.415	1.179 g KH ₂ PO ₄ + 4.303 g Na ₂ HPO ₄ †
0.01 sodium borate decahydrate (borax)	9.183	3.80 g Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O†
0.025 sodium bicarbonate + 0.025 sodium carbonate	10.014	2.092 g NaHCO ₃ + 2.640 g Na ₂ CO ₃
<i>Secondary standards:</i>		
0.05 potassium tetroxalate dihydrate	1.679	12.61 g KH ₂ C ₄ O ₆ · 2H ₂ O
Calcium hydroxide (saturated at 25°C)	12.454	> 2 g Ca(OH) ₂ *

* Approximate solubility.
† Prepare with freshly boiled and cooled distilled water (carbon-dioxide-free).

Para el trabajo de rutina, use un medidor de pH preciso y reproducible a una unidad de pH 0.1 con un rango de 0 a 14 y equipado con un ajuste de compensación de temperatura.

Aunque los fabricantes proporcionan instrucciones de operación, el uso de diferentes términos descriptivos puede ser confuso. Para la mayoría de los instrumentos, hay dos controles: intercepción (ajuste del búfer, asimetría, estandarización) y pendiente (temperatura, desviación); sus funciones se muestran esquemáticamente en las Figuras 4500-H*: 1 y 2.

MÉTODO DE ENSAYO

El control de interceptación desplaza la curva de respuesta lateralmente para pasar a través del punto isopotencial sin cambio en la pendiente. Esto permite llevar el instrumento a escala (0 mV) con un tampón de pH 7 que no tiene cambios en el potencial con la temperatura.

El control de pendiente gira la pendiente de emf/pH alrededor del punto isopotencial (0 mV/pH 7). Para ajustar la pendiente para la temperatura sin perturbar la interceptación, seleccione un tampón que englobe a la muestra con un tampón de pH 7 y ajuste el control de pendiente al pH de este buffer. El instrumento indicará el cambio correcto de milivoltios por unidad de pH a la temperatura de prueba.

- b. *Electrodo de referencia*, que consiste en una media celda que proporciona un potencial de electrodo constante. Comúnmente se utilizan calomel y plata: electrodos de cloruro de plata. Cualquiera de los dos está disponible con varios tipos de uniones líquidas.

La unión líquida del electrodo de referencia es crítica porque en este punto el electrodo forma un puente salino con la muestra o el tampón y se genera un potencial de unión líquida que, a su vez, afecta el potencial producido por el electrodo de referencia.

Las uniones de electrodos de referencia pueden ser de cerámica anular, cuarzo o fibra de asbesto, o del tipo de manga. El tipo de cuarzo es el más utilizado. El tipo de fibra de asbesto no se recomienda para soluciones fuertemente básicas. Siga las recomendaciones del fabricante sobre el uso y cuidado del electrodo de referencia.

Rellene los electrodos no sellados con el electrolito correcto hasta el nivel adecuado y asegúrese de que la unión esté correctamente mojada.

- c. *Electrodo de vidrio*: el electrodo sensor es un bulbo de vidrio especial que contiene una concentración fija de HCl o una solución de cloruro tamponada en contacto con un electrodo de referencia interno.

Al sumergir un nuevo electrodo en una solución, la superficie exterior del bulbo se hidrata e intercambia iones de sodio por iones de hidrógeno para formar una capa superficial de iones de hidrógeno. Esto, junto con la repulsión de los aniones, fija los silicatos cargados negativamente, que produce en la interfaz vidrio-solución un potencial que está en función de la actividad del ion hidrógeno en la solución.

Varios tipos de electrodos de vidrio están disponibles. Los electrodos de combinación incorporan los electrodos de vidrio y de referencia en una única sonda. Use un electrodo de "bajo error de sodio" que pueda funcionar a altas temperaturas para medir el pH > 10 porque los electrodos de vidrio estándar producen valores erróneamente bajos. Para

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-02 Versión: 01 Página: 9 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

medir $\text{pH} < 1$, los electrodos de vidrio estándar producen valores erróneamente altos; use electrodos de membrana líquidos en su lugar.

- d. *Vaso de precipitados*: Preferiblemente use vasos de polietileno o TFE *
- e. *Agitador*: utilice una barra agitadora magnética recubierta con TFE o un agitador mecánico con impulsor recubierto de plástico inerte.
- f. *Cámara de flujo*: se usa para mediciones de flujo continuo o para soluciones mal amortiguadas.

6.3 Reactivos

a. *Preparación general*: calibre el sistema de electrodos contra soluciones tampón estándar de pH conocido. Debido a que las soluciones tampón pueden deteriorarse como resultado del crecimiento de moho o la contaminación, prepararse de nuevo según sea necesario para un trabajo preciso, pesando las cantidades de productos químicos especificados en la Tabla 4500-H+: I, disolviéndose en agua destilada a 25 °C y diluyendo a 1000 ml. Esto es particularmente importante para los tampones de borato y carbonato.

Hervir y enfriar el agua destilada con una conductividad de menos de 2 umhos/cm. Para 50 ml, agregue 1 gota de solución saturada de KCl adecuada para el uso del electrodo de referencia. Si el pH de esta solución de prueba está entre 6.0 y 7.0, utilícelo para preparar todas las soluciones estándar.

Seque KH_2PO_4 a una temperatura de 110 a 130 °C durante 2 h antes de pesar, pero no caliente el tetroxalato de potasio hidratado inestable a más de 60 °C ni seque las otras sales tampón especificadas.

TABLE 4500-H⁺.II. STANDARD PH VALUES²

Temperature °C	Primary Standards						Secondary Standards		
	Tartrate (Saturated)	Citrate (0.05M)	Phthalate (0.05M)	Phosphate (1:1)	Phosphate (1:3.5)	Borax (0.01M)	Bicarbonate- Carbonate (0.025M)	Tetroxalate (0.05M)	Calcium Hydroxide (Saturated)
0			4.003	6.982	7.534	9.460	10.321	1.666	
5			3.998	6.949	7.501	9.392	10.248	1.668	
10			3.996	6.921	7.472	9.331	10.181	1.670	
15			3.996	6.898	7.449	9.276	10.120	1.672	
20			3.999	6.878	7.430	9.227	10.064	1.675	
25	3.557	3.776	4.004	6.863	7.415	9.183	10.014	1.679	12.454
30	3.552		4.011	6.851	7.403	9.143	9.968	1.683	
35	3.549		4.020	6.842	7.394	9.107	9.928	1.688	
37			4.024	6.839	7.392	9.093			
40	3.547		4.030	6.836	7.388	9.074	9.891	1.694	
45	3.547		4.042	6.832	7.385	9.044	9.859	1.700	
50	3.549		4.055	6.831	7.384	9.017	9.831	1.707	
55	3.554		4.070					1.715	
60	3.560		4.085					1.723	
70	3.580		4.12					1.743	
80	3.609		4.16					1.766	
90	3.650		4.19					1.792	
95	3.674		4.21					1.806	

Si bien los productos químicos de grado ACS generalmente son satisfactorios para preparar soluciones amortiguadoras, use materiales certificados disponibles en el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología cuando se requiera la mayor precisión. Para el análisis de rutina, use tabletas, polvos o soluciones tampón disponibles comercialmente de calidad probada. Al preparar soluciones tampón a partir de sales sólidas, asegúrese de que la solución sea completa.

Como regla general, seleccione y prepare soluciones de tampón clasificadas como estándares primarios en la Tabla 4500-H⁺.I; reserve los tampones estándares secundarios para situaciones extremas encontradas en mediciones de aguas residuales.

Consulte la Tabla 4500-H⁺.II para conocer el pH aceptado de las soluciones tampón estándar a temperaturas distintas de 25 °C. En uso rutinario, almacenar soluciones tampón y muestras en botellas de polietileno. Reemplace las soluciones tampón cada 6 meses.

- b. *Solución saturada de tartrato de hidrógeno y potasio:* Agitar vigorosamente un exceso (5 a 10 g) de $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ finamente cristalino con 100 a 300 ml de agua destilada a 25 °C en una botella tapada de vidrio. Separar la solución clara del material no disuelto por decantación o filtración. Conserve durante 2 meses o más agregando un cristal de timol (8 mm de diámetro) por 200 ml de solución.

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-02 Versión: 01 Página: 11 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

- c. *Solución saturada de hidróxido de calcio:* calcine CaCO_3 bien lavado y de bajo grado alcalino en una placa de platino encendiendo durante 1 hora a $1000\text{ }^\circ\text{C}$. Enfriar, hidratar agregando lentamente agua destilada con agitación y calentar hasta que hierva. Enfriar, filtrar y recoger sólidos Ca(OH)_2 en un filtro de vidrio de porosidad media. Secar a $110\text{ }^\circ\text{C}$, enfriar y pulverizar hasta obtener gránulos uniformemente finos. Agite vigorosamente un exceso de gránulos finos con agua destilada en una botella de polietileno tapada. Deje que la temperatura llegue a $25\text{ }^\circ\text{C}$ después de mezclar. Filtre el sobrenadante bajo succión a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y use filtrado como solución tampón. Deseche la solución tampón cuando el CO_2 atmosférico provoque la aparición de turbidez.
- d. *Soluciones auxiliares:* NaOH 0.1N, HCl 0.1N, HCl 5N (diluya 5 volúmenes de HCl 6N con un volumen de agua destilada) y solución ácida de fluoruro de potasio (disuelva 2 g KF en 2 ml de H_2SO_4 concentrado y diluya hasta 100 ml con agua destilada)

6.4 Procedimiento

- a. *Calibración del instrumento:* En cada caso, siga las instrucciones del fabricante para el medidor de pH y para el almacenamiento y preparación de los electrodos para su uso. Las soluciones recomendadas para el almacenamiento a corto plazo de los electrodos varían según el tipo de electrodo y el fabricante, pero generalmente tienen una conductividad superior a $4000\text{ }\mu\text{mhos/cm}$. Un tampón de pH 4 es mejor para el electrodo de vidrio único y se prefiere KCl saturado para un calomel y un electrodo de referencia Ag/AgCl. KCl saturado es la solución preferida para un electrodo de combinación. Mantenga los electrodos húmedos devolviéndolos a la solución de almacenamiento cuando no se esté usando el medidor de pH.
- Antes de usar, retire los electrodos de la solución de almacenamiento, enjuague, seque con un paño suave, colóquelo en la solución tampón inicial y fije el punto isopotencial. Seleccione un segundo tampón dentro de 2 unidades de pH de pH de muestra y lleve la muestra y el tampón a la misma temperatura, que puede ser la temperatura ambiente; una temperatura fija, tal como $25\text{ }^\circ\text{C}$; o la temperatura de una muestra nueva.
- Retire los electrodos del primer tampón, enjuague bien con agua destilada, seque con un paño y sumérjalo en el segundo tampón. Registre la temperatura de medición y ajuste el dial de temperatura en el medidor, de modo que el medidor indique el valor de pH del tampón a la temperatura de prueba (esto es un ajuste de pendiente).

MÉTODO DE ENSAYO

Use el valor de pH listado en las tablas para el tampón usado a la temperatura de prueba. Retire los electrodos del segundo tampón, enjuague bien con agua destilada y seque los electrodos como se indica arriba. Sumérjase en un tercer tampón por debajo de pH 10, aproximadamente 3 unidades de pH diferentes del segundo; la lectura debe estar dentro de 0.1 unidades para el pH del tercer tampón. Si la respuesta del medidor muestra una diferencia de pH mayor a 0.1 unidades del valor esperado, busque problemas con los electrodos o el potenciómetro.

El propósito de la estandarización es ajustar la respuesta del electrodo de vidrio al instrumento. Cuando solo se hacen mediciones de pH ocasionales, estandarice el instrumento antes de cada medición. Cuando se realizan mediciones frecuentes y el instrumento es estable, se estandariza con menos frecuencia. Si los valores de pH de la muestra varían ampliamente, estandarice cada muestra con un tampón que tenga un pH dentro de 1 a 2 unidades de pH de la muestra.

b. Análisis de la Muestra: establezca el equilibrio entre los electrodos y la muestra agitando la muestra para asegurar la homogeneidad; Revuelva suavemente para minimizar el arrastre de dióxido de carbono. Para muestras tamponadas o de alta resistencia iónica, acondicione los electrodos después de limpiarlos sumergiéndolos en la muestra durante 1 minuto. Seque con un paño, sumerja en una porción fresca de la misma muestra y lea el pH.

Con soluciones diluidas, pobremente tamponadas, equilibre los electrodos sumergiéndolos en tres o cuatro porciones sucesivas de la muestra. Tome una muestra fresca para medir el pH.

6.5 Solución de problemas

a. Potenciómetro: para localizar la fuente de problemas, desconecte los electrodos y, usando una correa de cortocircuito, conecte el terminal del electrodo de referencia al terminal del electrodo de vidrio. Observe el cambio en el pH cuando se ajusta la perilla de calibración del instrumento. Si el potenciómetro funciona correctamente, responderá rápida y uniformemente a los cambios en calibración en un amplio rango de escala. Un potenciómetro defectuoso no responderá, reaccionará de forma errática o mostrará una desviación en el ajuste. Cambie a la escala de milivoltios en la que el medidor debe leer cero. Si no tiene experiencia, no intente reparar el potenciómetro más que el mantenimiento como se describe en el manual del instrumento.

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-02 Versión: 01 Página: 13 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

b. Electrodo: si el potenciómetro funciona correctamente, busque la falla del instrumento en el par de electrodos. Sustituya un electrodo a la vez y realice una verificación cruzada con dos tampones que tengan una separación de aproximadamente 4 unidades de pH. Una desviación mayor a 0.1 unidad de pH indica un electrodo defectuoso. Los electrodos de vidrio fallan debido a rasguños, deterioro o acumulación de residuos en la superficie del vidrio. Rejuvenezca el electrodo sumergiéndolo alternativamente tres veces cada uno en 0.1N HCl y 0.1N NaOH. Si esto falla, sumerja la punta en solución KF durante 30 s. Después del rejuvenecimiento, remoje en tampón de pH 7.0 durante la noche. Enjuague y almacene en tampón pH 7.0. Enjuague de nuevo con agua destilada antes de su uso. Los recubrimientos de proteínas se pueden eliminar empapando los electrodos de vidrio en una solución de pepsina al 10% ajustada a pH 1 a 2.

Para verificar el electrodo de referencia, oponga la emf de un electrodo de referencia cuestionable contra otro del mismo tipo que se sabe que es bueno. Usando un adaptador, enchufe el electrodo de referencia bueno en el enchufe del electrodo de vidrio del potenciómetro; a continuación, enchufe el electrodo en cuestión en el conector del electrodo de referencia. Ajuste el medidor para leer milivoltios y tome lecturas con ambos electrodos sumergidos en la misma solución de electrolito (KCl) y luego en la misma solución tampón. Las lecturas de milivoltios deben ser 0 ± 5 mV para ambas soluciones. Si se usan diferentes electrodos (es decir, plata: cloruro de plata contra calomel o viceversa), la lectura será de 44 ± 5 mV para un buen electrodo de referencia. Los problemas de los electrodos de referencia generalmente se pueden rastrear hasta una unión obstruida. La interrupción del goteo continuo del electrolito a través de la unión provoca un aumento en el tiempo de respuesta y una deriva en la lectura. Limpie una unión obstruida aplicando succión a la punta o hirviendo la punta en agua destilada hasta que el electrolito fluya libremente cuando se aplica succión a la punta o se aplica presión al orificio de llenado. Las uniones reemplazables están disponibles comercialmente.

6.6 Precisión y tendencia

Mediante el uso cuidadoso de un medidor de pH de laboratorio con buenos electrodos, se puede lograr una precisión de $\pm 0,02$ unidades de pH y una precisión de $\pm 0,05$ unidades de pH. Sin embargo, la unidad de pH ± 0.1 representa el límite de precisión en condiciones normales, especialmente para la medición de agua y soluciones pobremente tamponadas. Por este motivo, informe los valores de pH a la unidad de pH

0.1 más cercana. Una muestra sintética de una solución tampón de Clark y Lubs de pH 7,3 se analizó electrométricamente en 30 laboratorios con una desviación estándar de $\pm 0,13$ unidades de pH.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-03 Versión: 01 Página: 1 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE ALUMINIO POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL ERIOCROMO CIANINA R

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-03

Versión: 01

Página: 2 de 10

CONTENIDO

- 1. OBJETIVO**
- 2. ALCANCE**
- 3. RESPONSABLE**
- 4. REFERENCIAS**
- 5. INTRODUCCION**
- 6. METODOLOGIA**
- 7. ANEXOS**

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-03 Versión: 01 Página: 3 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

1. OBJETIVO

Desarrollar la metodología de Eriocromo Cianina R en aguas, de manera que sea fácil su comprensión y su aplicación.

2. ALCANCE

Este método es apropiado y aplicado para tipo de agua potable, subterránea y superficial.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition 2017. 3500-AI B. Eriochrome Cyanine R Method".

5. INTRODUCCION

5.1 Ocurrencia y significado

El aluminio (Al) es el segundo elemento en el Grupo IIIA de la tabla periódica, tiene un número atómico de 13, un peso atómico de 26,98; y una valencia de 3. La abundancia promedio en la corteza terrestre es de 8.1%; en sólidos es de 0.9 a 6.5%, en corrientes es de 400 µg/L; en aguas potables de los Estados Unidos es de 54 µg/L y en aguas subterráneas es de < 0.1 µg/L. El aluminio se produce en la corteza terrestre en combinación con silicio y oxígeno para formar feldspatos, micas y minerales arcillosos. Los minerales más importantes son la bauxita y el corindón, que se utiliza como Aluminio abrasivo y sus aleaciones se utilizan para intercambiadores de calor, piezas de aviones, materiales de construcción, contenedores, etc. El sulfato de aluminio y potasio (alumbre) se utiliza en los procesos de tratamiento de agua para

MÉTODO DE ENSAYO

flocular partículas suspendidas, pero puede dejar un residuo de aluminio en el agua acabada.

La presencia de aluminio en aguas naturales está controlada por el pH y por partículas minerales muy finamente suspendidas. El catión Al^{3+} predomina a un pH inferior a 4. Sobre el pH neutro, la forma disuelta predominante es $Al(OH)_4^-$. Aluminio no es esencial para plantas y animales. Las concentraciones que exceden 1.5 mg/L constituyen un riesgo de toxicidad en el medio marino, y los niveles por debajo de 200 $\mu g/L$ presentan un riesgo mínimo. El nivel máximo recomendado para las aguas de riego de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura es de 5 mg/L. Se ha planteado la posibilidad de un vínculo entre los niveles elevados de aluminio en los tejidos cerebrales y la enfermedad de Alzheimer. Las regulaciones de agua potable secundaria de la EPA de EE. UU. Enumeran un nivel máximo de contaminantes secundario (SMCL) óptimo de 0.05 mg/L y un SMCL máximo de 0.2 mg/L.

5.2 Selección del método

Los métodos de espectrometría de absorción atómica (Secciones 3111D y E, y 3113B) y los métodos de plasma acoplado por inducción (Secciones 3120 y 3125) están libres de interferencias comunes como el fluoruro y el fosfato, y son los preferidos. El método colorimétrico Cianuro Eriocromo R (3500 Al. B) proporciona un medio para estimar el aluminio con instrumentos de muestra.

6. METODOLOGÍA

6.1 Discusión general

a. *Principio:* Con el colorante Cianuro Eriocromo R, las soluciones de aluminio diluidas tamponadas a un pH de 6.0 producen un complejo de rojo a rosa que exhibe una absorción máxima a 535 nm. La intensidad del color desarrollado está influenciada por la concentración de aluminio, el tiempo de reacción, la temperatura, el pH, la alcalinidad y la concentración de otros iones en la muestra. Para compensar el color y la turbidez, el aluminio en una porción de la muestra forma un complejo con EDTA para proporcionar un blanco. La interferencia del hierro y el manganeso, dos elementos que se encuentran comúnmente en el agua cuando hay aluminio presente, se elimina al agregar ácido ascórbico. El rango óptimo se encuentra entre 20 y 300 $\mu g/L$, pero se puede extender hacia arriba mediante la dilución de la muestra.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-03 Versión: 01 Página: 5 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

- b. Interferencia:* Los errores negativos son causados tanto por el fluoruro como por los polifosfatos. Cuando la concentración de fluoruro es constante, el porcentaje de error disminuye al aumentar las cantidades de aluminio. Debido a que la concentración de fluoruro a menudo se conoce o se puede determinar fácilmente, se pueden obtener resultados bastante precisos al agregar la cantidad conocida de fluoruro a un conjunto de estándares. Una corrección de muestra se puede determinar a partir de la familia de curvas en la Figura 3500 -Al: I. Se da un procedimiento para la remoción de la interferencia del complejo fosfato. El ortofosfato en concentraciones inferiores a 10 mg/L no interfiere. La interferencia causada por incluso pequeñas cantidades de alcalinidad se elimina acidificando la muestra justo por encima del punto de neutralización de la naranja de metilo. El sulfato no interfiere hasta una concentración de 2000 mg/L.
- c. Concentración mínima detectable:* La concentración mínima de aluminio detectable por este método en ausencia de fluoruros y complejos de fosfatos es de aproximadamente 6 µg/L.
- d. Entrega de muestras:* Recoja muestras en botellas limpias enjuagadas con ácido, preferiblemente de plástico, y examínelas lo antes posible después de la recolección. Si solo se determina el aluminio soluble, filtre una parte de la muestra a través de un filtro de membrana de 0,45 µm; deseche los primeros 50 ml de filtrado y use el siguiente filtrado para la determinación. No utilice papel de filtro, algodón absorbente o lana de vidrio para filtrar ninguna solución que se vaya a analizar para el aluminio, ya que eliminarán la mayor parte del aluminio soluble.
- e. Control de Calidad:* Las prácticas de control de calidad que se consideran parte integral de cada método se pueden encontrar en la Sección 3020.

6.2 Equipos

- a. Equipo colorimétrico:* Se requiere uno de los siguientes:
- 1) *Espectrofotómetro*, para uso a 535 nm, con una trayectoria de luz de 1 cm o más.
 - 2) *Fotómetro de filtro*, que proporcione una trayectoria de luz de 1 cm o más y que este equipado con un filtro verde con una transmisión máxima entre 525 y 535 nm.
 - 3) *Tubos de Nessler*, 50 mL, forma alta, emparejados.

b. *Material de vidrio:* Trate todo el material de vidrio 1 + 1 HCl y enjuague con agua destilada sin aluminio para evitar errores debidos a los materiales absorbidos en el vidrio. Enjuague lo suficiente para eliminar todo el ácido.

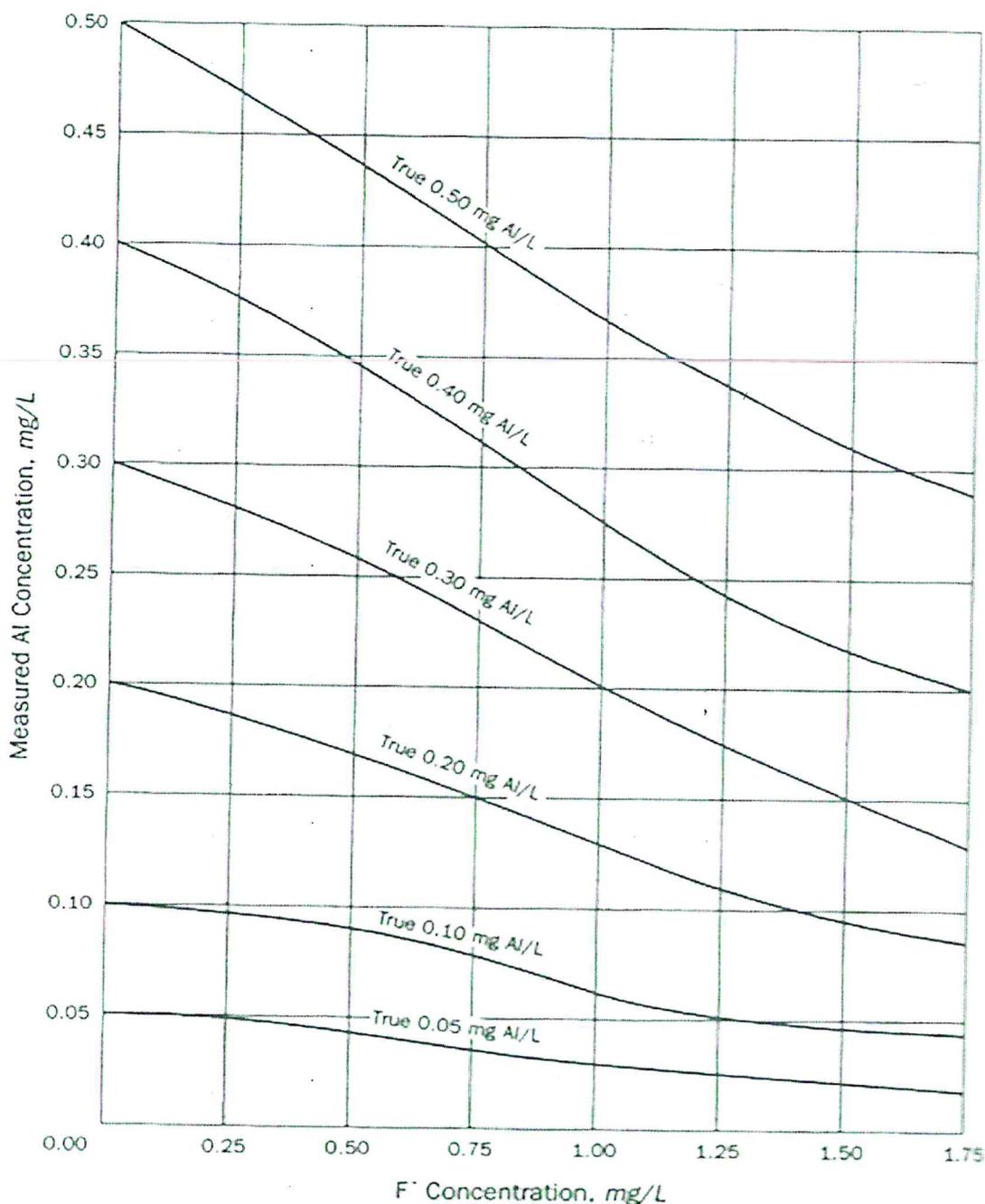


Figura 3500-AI:1. Curvas de corrección para la estimación de aluminio en presencia de fluoruro. Por encima de los mg F-/L presentes, localice el punto correspondiente a los mg/L aparentes medidos. A partir de este punto, interpolar entre las curvas mostradas, si el punto no cae directamente en una de las curvas, para leer el verdadero mg Al/L en la

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-03 Versión: 01 Página: 7 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

ordenada, que corresponde a 0.00 mg F-/L. Por ejemplo, una cantidad aparente de 0.20 mg Al/L en una muestra que contiene 1.00 mg F-/L sería en realidad 0.30 mg Al/L si no hubiera fluoruro presente para interferir.

6.3 Reactivos

Use reactivos bajos en aluminio y agua destilada sin aluminio:

a. Solución de aluminio común: use el metal (1) o la sal (2) para preparar la solución original: 1.00 mL = 500 µg de Al:

- 1) Disuelva 500.0 mg de aluminio metal en 10 mL de HCl concentrado calentando suavemente. Diluir a 1000 mL de agua, o
- 2) Disuelva 8.791 g de sulfato de potasio y aluminio (también llamado alumbre de potasio), $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, en agua y diluya hasta 100 mL. Corrija este peso al dividir por la fracción decimal de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ analizado en el reactivo utilizado.

b. *Solución de aluminio estándar*: Diluir 10.00 mL de solución original de aluminio en 1000 mL con agua; 1.00 mL = 5.00 µg Al. Preparar diariamente.

c. Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.02N y 6N

d. *Solución de ácido ascórbico*: disolver 0.1 g de ácido ascórbico en agua y completar hasta 100 ml en un matraz volumétrico. Preparar fresco a diario.

e. *Reactivo buffer*: disolver 136 g de acetato de sodio, $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, en agua, añada 40 ml de ácido acético 1N y diluya hasta 1 litro.

f. *Solución de tintura en stock*: utilice cualquiera de los siguientes productos:

1. *Solochrome cyanime R-200* o Cianina Eriocromo. Disuelva 100 mg en agua y diluya a 100 ml en un matraz volumétrico. Esta solución debe tener un pH de aproximadamente 2,9.
2. *Eriocromo cianina R*. Disuelva 300 mg de tinte en aproximadamente 50 mL de agua. Ajuste el pH de aproximadamente 9 a aproximadamente 2.9 con 1 + 1 ácido acético (se requerirán aproximadamente 3 ml). Diluir con agua hasta 100 mL.
3. *Eriocromo cianina R*. Disuelva 150 mg en aproximadamente 50 mL de agua. Ajuste el pH de aproximadamente 9 a aproximadamente 2.9 con 1 + 1 ácido acético (se requerirán aproximadamente 2 mL). Diluir con agua hasta 100 ml.

Las soluciones en stock tienen una excelente estabilidad y pueden conservarse durante al menos un año.

- g. Solución de colorante de trabajo:* Diluir 10,0 mL de solución de colorante seleccionada a 100 mL en un matraz volumétrico con agua. Las soluciones de trabajo son estables durante al menos 6 meses.
- h. Solución indicadora de naranja de metilo o solución indicadora de verde de bromocresol especificada en la determinación de alcalinidad total. Indicador verde de bromocresol, indicador de pH 4.5:* Disuelva 100 mg de verde de bromocresol, sal de sodio, en 100 mL de agua destilada o 50 mg de anaranjado de metilo en 100 mL de agua destilada.
- i. EDTA (sal sódica del ácido etilendiamino-tetracético dihidratado) 0.01M:* disuelva 3.7 g en agua y diluya a 1 L.
- j. Hidróxido de sodio (NaOH), 1N y 0.1N*

6.4 Procedimiento

a. Preparación de la curva de calibración:

- 1) Prepare una serie de estándares de aluminio de 0 a 7 µg (0 a 280 µg/L, basados en una muestra de 25 mL) midiendo con precisión los volúmenes calculados de solución de aluminio estándar en matraces volumétricos de 50 mL o tubos Nessler. Agregue agua a un volumen total de aproximadamente 25 mL.
- 2) Agregue 1 mL 0.02N H₂SO₄ a cada estándar y mezcle. Añadir 1 ml de solución de ácido ascórbico y mezclar. Solución buffer de 10 mL. y mezcla. Con una pipeta volumétrica, agregue 5.00 mL de reactivo de tinte de trabajo y mezcle. Enrasar inmediatamente hasta 50 mL con agua destilada. Mezcle y deje reposar durante 5 a 10 minutos. El color comienza a desvanecerse después de 15 min.
- 3) Lea la transmitancia o la absorbancia en un espectrofotómetro, una longitud de onda de 535 nm o un filtro verde que ofrezca la máxima transmitancia entre 525 y 535 nm. Ajuste el instrumento a cero absorbancias con el estándar que no contiene aluminio.

Grafique la concentración de Al (microgramos de Al en un volumen final de 50 ml) contra la absorbancia.

- b. Tratamiento de la muestra en ausencia de fluoruro y fosfatos complejos:* Coloque una muestra de 25.0 mL, o una porción diluida a 25 mL, en un plato o frasco de porcelana, agregue unas gotas de indicador de metilo naranja y titule con H₂SO₄ 0.02N hasta un color rosado pálido.

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-03 Versión: 01 Página: 9 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

Registre la lectura y descarte de muestra. A dos muestras similares a temperatura ambiente, agregue la misma cantidad de H_2SO_4 0.02N en la titulación y 1 mL en exceso.

A una muestra agregue 1 mL de solución EDTA. Esto servirá como blanco para complejos de cualquier aluminio presente y así compensar el color y la turbidez. A ambas muestras, agregue 1 mL de ácido ascórbico, 10 mL de reactivo buffer y 5,00 mL de reactivo de colorante de trabajo según lo prescrito en el punto 5.3.g anterior.

Colocar el instrumento a cero absorbancias o 100% transmitancia usando el blanco EDTA. Después de 5 a 10 min de contacto, leer la transmitancia o absorbancia y determinar la concentración del aluminio de la curva de calibración previamente preparada.

c. *Comparación visual:* Si no se dispone de equipo fotométrico, prepare y trate estándares y una muestra, como se describe anteriormente, en tubos Nessler de 50 mL. Haga una marca con agua y compare el color de la muestra con los estándares después de un tiempo de contacto de 5 a 10 minutos. No se necesita una muestra tratada con EDTA cuando se utilizan tubos Nessler. Si la muestra contiene turbidez o color, el uso de los tubos de Nessler puede producir un error considerable.

d. *Eliminación de la interferencia de fosfato:* agregue 1,7 ml de H_2SO_4 6N a una muestra de 100 ml en un matraz erlenmeyer de 200 ml. Calentar en una placa caliente durante al menos 90 minutos, manteniendo la temperatura de la solución justo por debajo del punto de ebullición. Al final del período de calentamiento, el volumen de solución debe ser de aproximadamente 25 ml. Agregue agua si es necesario para mantenerlo en o por encima de ese volumen.

Después del enfriamiento, neutralice a un pH de 4.3 a 4.5 con NaOH, utilizando NaOH 1N al comienzo y 0.1N para el ajuste fino final. Monitor con medidor de pH. Prepare hasta 100 ml con agua, mezcle y use una porción de 25 ml para la prueba de aluminio.

Ejecute un blanco de la misma manera, usando 100 mL de agua destilada y 1,7 mL de 6N H_2SO_4 reste la lectura de blanco de la lectura de la muestra o úsela para configurar el instrumento a cero absorbancias antes de leer la muestra.

e. *Corrección para muestras que contengan flúor:* mida la concentración de fluoruro de la muestra mediante el método SPADNS o método electrodo.

1. Agregue la misma cantidad de fluoruro que en la muestra a cada estándar de aluminio o

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-03 Versión: 01 Página: 10 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

2. Determine la corrección de fluoruro a partir del conjunto de curvas en la Figura 3500-AI: I.

6.5 Cálculo

$$mg\ Al/L = \frac{\mu g\ Al\ (en\ 50\ ml\ de\ volumen\ final)}{ml\ de\ muestra}$$

6.6 Precisión y tendencia

Una muestra sintética que contenía 520 μg de Al/L y ninguna interferencia en el agua destilada se analizó mediante el método de Cianuro Eriocromo R en 27 laboratorios. La desviación estándar relativa fue de 34.4% y el error relativo de 1.7%.

Una segunda muestra sintética que contenía 50 μg de Al/L, 500 μg Ba/L y 5 μg Be/L en agua destilada se analizó en 35 laboratorios. La desviación estándar relativa fue de 38.5% y el error relativo de 22.0%.

Una tercera muestra sintética que contiene 500 μg Al/L, 50 μg Cd/L, 110 μg Cr/L, 1000 μg Cu/L, 300 μg Fe/L, 70 μg Pb/L, 50 μg Mn/L, 150 μg Ag/L y 650 μg Zn/L en agua destilada se analizaron en 26 laboratorios. La desviación estándar relativa fue de 28.8% y el error relativo de 6.2%.

Una cuarta muestra sintética que contenía 540 μg de Al/L y 2,5 mg de polifosfato/L en agua destilada se analizó en 16 laboratorios que hidrolizaron la muestra de la manera prescrita. La desviación estándar relativa fue del 44,3% y el error relativo del 1,3%. En 12 laboratorios que no aplicaron medidas correctivas, la desviación estándar relativa fue de 49.2% y el error relativo de 8.9%.

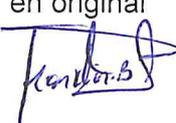
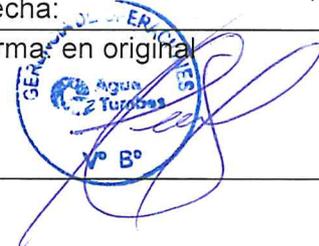
Se analizó una quinta muestra sintética que contenía 480 μg de Al/L y 750 μg F/L en agua destilada en 16 laboratorios que se basaron en la curva para corregir el contenido de fluoruro. La desviación estándar relativa fue del 25,5% y el error relativo del 2,3%. Los 17 laboratorios que agregaron flúor al estándar de aluminio mostraron una desviación estándar relativa de 22.5% y un error relativo de 7.1%.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-04 Versión: 01 Página: 1 de 11</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD POR EL MÉTODO DE TITULACIÓN

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>  	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-04

Versión: 01

Página: 2 de 11

CONTENIDO

- 1. OBJETIVO**
- 2. ALCANCE**
- 3. RESPONSABLE**
- 4. REFERENCIAS**

- 5. INTRODUCCION**
- 6. METODOLOGIA**
- 7. ANEXOS**

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-04 Versión: 01 Página: 3 de 11</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVOS

Establecer un procedimiento que permita analizar y establecer la alcalinidad en el agua.

2. ALCANDE

Este método es aplicable para tipos de aguas; potable, subterráneas, superficiales y residuales.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 2320 B. Titration Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Discusión

La alcalinidad de un agua es su capacidad neutralizadora de ácidos. Es la suma de todas las bases titulables. El valor medido puede variar significativamente con el punto final de pH utilizado. La alcalinidad es una medida de una propiedad agregada del agua y puede interpretarse en términos de sustancias específicas solo cuando se conoce la composición química de la muestra.

La alcalinidad es significativa en muchos usos y tratamientos de aguas naturales y aguas residuales. Debido a que la alcalinidad de muchas aguas superficiales es principalmente una función del contenido de carbonato, bicarbonato e hidróxido, se toma como una indicación de la concentración de estos constituyentes. Los valores medidos también pueden incluir contribuciones de boratos, fosfatos, silicatos u otras bases si están presentes. La alcalinidad en exceso de las concentraciones de metales alcalinotérreos es importante para determinar la idoneidad de un agua para el riego. Las mediciones de alcalinidad se utilizan en la

interpretación y el control de los procesos de tratamiento de agua y aguas residuales. Las aguas residuales domésticas crudas tienen una alcalinidad menor, o solo ligeramente mayor, que la del suministro de agua. Los digestores anaeróbicos que funcionan correctamente suelen tener alcalinidades sobrenadantes en el rango de 2000 a 4000 mg de carbonato de calcio (CaCO_3)/L.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

- a. *Principio:* Los iones hidroxilo presentes en una muestra como resultado de la disociación o hidrólisis de los solutos reaccionan con las adiciones de ácido estándar. Por lo tanto, la alcalinidad depende del punto final de pH utilizado. Para muestras de baja alcalinidad (menos de 20 mg de CaCO_3 /L) use una técnica de extrapolación basada en la casi proporcionalidad de la concentración de iones de hidrógeno al exceso de valorante más allá del punto de equivalencia. La cantidad de ácido estándar necesaria para reducir el pH exactamente a 0,30 unidades de pH se mide cuidadosamente. Debido a que este cambio en el pH corresponde a una duplicación exacta de la concentración de iones de hidrógeno, se puede hacer una extrapolación simple al punto de equivalencia.
- b. *Puntos finales:* Cuando la alcalinidad se debe completamente al contenido de carbonato o bicarbonato, el pH en el punto de equivalencia de la titulación se determina por la concentración de dióxido de carbono (CO_2) en esa etapa. La concentración de CO_2 depende, a su vez, del total de especies de carbonato presentes originalmente y de las pérdidas que puedan haber ocurrido durante la titulación. Los valores de pH en la Tabla 2320: I se sugieren como los puntos de equivalencia para las concentraciones de alcalinidad correspondientes como miligramos de CaCO_3 por litro. "Alcalinidad de fenolftaleína" es el término usado tradicionalmente para la cantidad medida por la titulación a pH 8.3 independientemente del indicador de color, si lo hay, utilizado en la determinación. Se puede usar fenolftaleína o metacresol púrpura para la titulación de alcalinidad a pH 8.3. Se puede usar verde bromocresol o un indicador de rojo de metilo verde bromocresol mixto para pH 4.5.
- c. *Interferencias:* Los jabones, la materia aceitosa, los sólidos en suspensión o los precipitados pueden cubrir el electrodo de vidrio y provocar una respuesta lenta. Permita un tiempo adicional entre las adiciones de titulador para permitir que el electrodo se equilibre o limpie los electrodos ocasionalmente. No filtre, diluya, concentre o altere la muestra.
- d. *Selección del procedimiento:* Determine la alcalinidad de la muestra a partir del volumen

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-04 Versión: 01 Página: 5 de 11
	MÉTODO DE ENSAYO	

de ácido estándar requerido para valorar una porción a un pH designado tomado del punto *b*. Titule a temperatura ambiente con un medidor de pH debidamente calibrado o un titulador operado eléctricamente, o utilice indicadores de color. Si utiliza indicadores de color, prepare y titule un indicador en blanco. Informe la alcalinidad inferior a 20 mg de CaCO_3/L solo si se ha determinado mediante el método de baja alcalinidad. Construir una curva de titulación para la estandarización de los reactivos.

Los indicadores de color se pueden usar para las titulaciones de control y de rutina en ausencia de color y turbidez que interfieran, y para las titulaciones preliminares para seleccionar el tamaño de la muestra y la intensidad del valorante (ver más abajo).

- e. *Tamaño de la muestra:* Consulte la Sección 2310B.1e Para la selección del tamaño de la muestra que se va a valorar y la normalidad del valorante, sustituyendo el ácido alcalino 0.02N o 0.1N sulfúrico (H_2SO_4) o clorhídrico (HCl) para el álcali estándar de ese método. Para el método de baja alcalinidad, titule una muestra de 200 ml con H_2SO_4 0.02N de una bureta de 10 ml.

Sección 2310B.1e: "*Tamaño de la muestra:* el rango de acidez que se encuentra en las aguas residuales es tan grande que no se puede especificar un solo tamaño de muestra y la normalidad de la base utilizada como valorante. Use un volumen de titulador suficientemente grande (20 ml o más de una bureta de 50 ml) para obtener una precisión volumétrica relativamente buena y al mismo tiempo mantener el volumen de la muestra lo suficientemente pequeño como para permitir puntos finales afilados. Para muestras con acidez inferior a aproximadamente 1000 mg como carbonato de calcio (CaCO_3)/L, seleccione un volumen con menos de 50 mg de acidez equivalente a CaCO_3 y valore con hidróxido de sodio 0.02N (NaOH). Para acidez mayor a aproximadamente 1000 mg como CaCO_3/L , use una porción que contenga una acidez equivalente a menos de 250 mg de CaCO_3 y titule con 0.1N NaOH. Si es necesario, realice una titulación preliminar para determinar el tamaño óptimo de la muestra y/o la normalidad del valorante".

- f. *Muestreo y almacenamiento:* Recoja muestras en botellas de polietileno o vidrio de borosilicato y almacénelas a baja temperatura. Llena las botellas completamente y tapa herméticamente. Debido a que las muestras de desechos pueden estar sujetas a la acción microbiana y a la pérdida o ganancia de CO_2 u otros gases cuando se exponen al aire, analice las muestras sin demora, preferiblemente dentro de 1 día. Si se sospecha de actividad biológica, analizar dentro de 6 h. Evite la agitación de la muestra y la exposición prolongada al aire.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-04 Versión: 01 Página: 6 de 11
	MÉTODO DE ENSAYO	

TABLA 2320:I VALORES FINALES DE pH

Condición de prueba	Punto final de pH	
	Alcalinidad total	Fenolftaleína alcalinidad
Alcalinidad mg CaCO ₃ /L:		
30	4.9	8.3
150	4.6	8.3
500	4.3	8.3
Silicatos, fosfatos conocidos o sospechados	4.5	8.3
Análisis rutinarios o automatizados	4.5	8.3
Residuos industriales o sistema complejo	4.5	8.3

6.2. Equipos

- a. *Titulador electromagnético*: use cualquier medidor de pH comercial o un titulador operado eléctricamente que use un electrodo de vidrio y se puede leer a una unidad de pH de 0.05. Estandarizar y calibrar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Preste especial atención a la compensación de temperatura y al cuidado de los electrodos. Si no se proporciona compensación automática de temperatura, valorar a 25 ± 5 °C.
- b. *Recipiente de titulación*: El tamaño y la forma dependerán de los electrodos y del tamaño de la muestra. Mantenga el espacio libre por encima de la muestra lo más pequeño posible, pero deje espacio para la valoración y la inmersión total de las partes indicadoras de los electrodos. Para electrodos de tamaño convencional, use un vaso de precipitados Berzelius de forma alta y de 200 ml sin pico. Coloque el vaso con un tapón que tenga tres orificios para acomodar los dos electrodos y la bureta. Con un electrodo de referencia de vidrio de combinación en miniatura, use un matraz Erlenmeyer de 125 ml o 250 ml con un tapón de dos orificios.
- c. *Agitador magnético*.
- d. *Pipetas volumétricas*.
- e. *Frascos, volumétricos*, 1000, 200, 100 ml.
- f. *Buretas*, vidrio de borosilicato, 50, 25, 10 ml.
- g. *Botella de poliolefina*, 1L

6.3. Reactivos

- a. *Solución de carbonato de sodio*, aproximadamente 0.05 N: Se seca de 3 a 5 g de Na₂CO₃ estándar primario a 250 ° C durante 4 horas y se enfría en un desecador. Pesar $2,5 \pm 0,2$ g (al mg más cercano), transferir a un matraz aforado de 1 l, llenar el matraz hasta la

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-04 Versión: 01 Página: 7 de 11</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

marca con agua destilada, disolver y mezclar el reactivo. No conservar más de 1 semana.

- b. *Ácido sulfúrico estándar o ácido clorhídrico, 0.1N*: Prepare una solución ácida de aproximadamente 0.1 N y determine la normalidad exacta de la siguiente manera. Estandarice frente a 40.00 ml de solución de Na₂CO₃ 0.05N, con aproximadamente 60 ml de agua, en un vaso de precipitados titulando potenciométricamente a un pH de aproximadamente 5. Levante los electrodos, enjuáguelos en el mismo vaso de precipitados y hierva suavemente durante 3 a 5 minutos bajo una cubierta de vidrio. Deje enfriar a temperatura ambiente, enjuague el vaso de cobertura en el vaso de precipitados y termine de valorar hasta el punto de inflexión del pH. Calcular la normalidad:

$$Normalidad = \frac{A \times B}{53.00 \times C}$$

Donde:

A = g Na₂CO₃ pesados en un matraz de 1 L,

B = mL solución de Na₂CO₃ tomada para la titulación y

C = mL ácido usado.

Use la normalidad medida en los cálculos o ajústese a 0.1000N; 1 ml de solución 0.1000N=5.00 mg de CaCO₃.

- c. *Ácido sulfúrico estándar o ácido clorhídrico, 0.02N*: Diluir 200.00 ml de ácido estándar 0.1000N hasta 1000 ml con agua destilada o desionizada. Estandarizar mediante titulación potenciométrica de 15.00 ml 0.05N Na₂CO₃ según el procedimiento de punto b arriba; 1 mL = 1,00 mg de CaCO₃.
- d. *Solución indicadora de verde de bromocresol*, indicador de pH 4.5: disolver 100 mg de verde de bromocresol, sal de sodio, en 100 mL de agua destilada.
- e. *Solución de indicador de bromocresol verde-metil rojo mezclado*: Use la solución acuosa o la solución alcohólica:
- 1) Disuelva 100 mg de sal de sodio verde de bromocresol y 20 mg de sal de sodio de metil rojo en 100 ml de agua destilada.
 - 2) Disuelva 100 mg de bromocresol verde y 20 mg de rojo de metilo en 100 ml de alcohol etílico al 95% o alcohol isopropílico.
- f. *Solución indicadora de púrpura de metacresol*, indicador de pH 8.3: disolver 100 mg de púrpura de metacresol en 100 ml de agua.
- g. *Solución de fenolftaleína, alcohólica*, indicador de pH 8.3.

6.4. Procedimiento

- a. *Cambio de color*: Seleccione el tamaño de la muestra y la normalidad del valorante.
"Tamaño de la muestra: El rango de acidez que se encuentra en las aguas residuales es

MÉTODO DE ENSAYO

tan grande que no se puede especificar un solo tamaño de muestra y la normalidad de la base utilizada como valorante. Use un volumen de titulador suficientemente grande (20 ml o más de una bureta de 50 ml) para obtener una precisión volumétrica relativamente buena y al mismo tiempo mantener el volumen de la muestra lo suficientemente pequeño como para permitir puntos finales afilados. Para muestras con acidez inferior a aproximadamente 1000 mg como carbonato de calcio (CaCO_3)/L, seleccione un volumen con menos de 50 mg de acidez equivalente a CaCO_3 y valore con hidróxido de sodio 0.02N (NaOH). Para acidez mayor a aproximadamente 1000 mg como CaCO_3 /L, use una porción que contenga una acidez equivalente a menos de 250 mg de CaCO_3 y titule con 0.1N NaOH. Si es necesario, realice una titulación preliminar para determinar el tamaño óptimo de la muestra y/o la normalidad del valorante”.

Ajuste la muestra a temperatura ambiente, si es necesario, y con una muestra de descarga de pipeta en un matraz Erlenmeyer, mientras mantiene la punta de la pipeta cerca del fondo del matraz. Si hay cloro residual libre, agregue 0.05 ml (1 gota) de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1M, o destruya con radiación ultravioleta. Agregue 0,2 ml (5 gotas) de solución indicadora y titule sobre una superficie blanca a una característica de cambio de color persistente del punto de equivalencia. Se pueden usar soluciones indicadoras comerciales o sólidos designados para el rango de pH apropiado (3.7 o 8.3). Verifique el color en el punto final agregando la misma concentración de indicador usado con la muestra a una solución buffer al pH designado.

b. *Curva de titulación potenciométrica:* siga el procedimiento para determinar la acidez.

- 1) Enjuague los electrodos y el recipiente de titulación con agua destilada y escurra. Seleccione el tamaño de la muestra y la normalidad del titulador. Ajuste la muestra a temperatura ambiente, si es necesario, y con una muestra de descarga de pipeta mientras mantiene la punta de la pipeta cerca del fondo del recipiente de titulación.
- 2) Medir el pH de la muestra. Agregue un álcali estándar en incrementos de 0.5 mL o menos, de manera que ocurra un cambio de menos de 0.2 unidades de pH por incremento. Después de cada adición, mezcle bien pero suavemente con un agitador magnético. Evite las salpicaduras. Registre el pH cuando se obtiene una lectura constante. Continúe agregando titrante y mida el pH hasta alcanzar el pH 9. Construya la curva de titulación representando gráficamente los valores de pH observados versus mililitros acumulados agregados. Se debe obtener una curva suave que muestre una o más inflexiones. Una curva irregular o irregular puede indicar que no se alcanzó el equilibrio entre adiciones de álcali sucesivas. Determinar la acidez relativa a un pH particular a partir de la curva.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-04 Versión: 01 Página: 9 de 11
	MÉTODO DE ENSAYO	

Constituyendo la normalidad apropiada de la solución ácida estándar por el NaOH estándar y continúe la titulación hasta pH 4.5 o más bajo. No filtre, diluya, concentre ni altere la muestra.

- c. *Titulación potenciométrica a pH preseleccionado:* Determine el pH de punto final apropiado. Prepare el conjunto de muestra y titulación. Titule hasta el punto final de pH sin registrar valores de pH intermedios y sin demoras indebidas. A medida que se aproxima el punto final, haga adiciones más pequeñas de ácido y asegúrese de que se alcance el equilibrio de pH antes de agregar más valorante.
- d. *Titulación potenciométrica de baja alcalinidad:* para alcalinidades menores de 20 mg/L, valorar 100 a 200 ml según el procedimiento del punto c anterior, utilizando un microbureta de 10 ml y una solución ácida estándar de 0.02N. Detenga la titulación a un pH en el rango de 4.3 a 4.7 y registre el volumen y el pH exacto. Agregue cuidadosamente un valorante adicional para reducir el pH exactamente a 0,30 unidades de pH y vuelva a registrar el volumen.

6.5. Cálculos

- a. *Titulación potenciométrica hasta el punto final de pH:*

$$\text{Alcalinidad, mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{A \times N \times 50000}{\text{mL muestra}}$$

Dónde:

A = mL de ácido estándar utilizado y

N = Normalidad del ácido estándar

o

$$\text{Alcalinidad, mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{A \times t \times 1000}{\text{mL muestra}}$$

Dónde:

t = título de ácido estándar, mg de CaCO₃/mL.

Informe el pH del punto final utilizado de la siguiente manera: "La alcalinidad a pH _____ = _____ mg CaCO₃/L" e indica claramente si este pH corresponde a un punto de inflexión de la curva de titulación. segundo. Titulación potenciométrica de alcalinidad baja: alcalinidad total, mg de CaCO₃ / L

- b. *Titulación potenciométrica de alcalinidad baja:*

Alcalinidad total, mg de CaCO₃/L

$$\text{Alcalinida total, mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{(2B - C) \times N \times 50000}{\text{mL muestra}}$$

Dónde:

MÉTODO DE ENSAYO

B = valor de ml a primer pH registrado,

C = valor total de ml para alcanzar un pH 0.3 unidades más bajo, y

N = Normalidad del ácido.

c. *Cálculo de las relaciones de alcalinidad:* Los resultados obtenidos de las determinaciones de fenolftaleína y alcalinidad total ofrecen un medio para la clasificación estequiométrica de las tres formas principales de alcalinidad presentes en muchas aguas. La clasificación atribuye la alcalinidad total al bicarbonato, carbonato e hidróxido, y asume la ausencia de otros ácidos inorgánicos u orgánicos (débiles), como los ácidos silícico, fosfórico y bórico. Además, presupone la incompatibilidad de las alcalinidades de hidróxido y bicarbonato. Debido a que los cálculos se realizan sobre una base estequiométrica, las concentraciones de iones en el sentido más estricto no están representadas en los resultados, que pueden diferir significativamente de las concentraciones reales, especialmente a un pH > 10. Según este esquema:

- 1) La alcalinidad del carbonato (CO_3^{2-}) es presente cuando la alcalinidad de la fenolftaleína no es cero, pero es menor que la alcalinidad total.
- 2) La alcalinidad del hidróxido (OH^-) está presente si la alcalinidad de la fenolftaleína es más de la mitad de la alcalinidad total.
- 3) La alcalinidad de bicarbonato (HCO_3^-) está presente si la alcalinidad de fenolftaleína es menor que la mitad de la alcalinidad total. Estas relaciones pueden calcularse mediante el siguiente esquema, donde P es alcalinidad de fenolftaleína y T es alcalinidad total.

Seleccione el valor más pequeño de P o (T - P). Entonces, la alcalinidad del carbonato es igual al doble del valor menor. Cuando el valor más pequeño es P, el balance (T - 2P) es bicarbonato. Cuando el valor más pequeño es (T - P), el balance (2P - T) es hidróxido. Todos los resultados se expresan como CaCO_3 . La conversión matemática de los resultados se muestra en la Tabla 2320: II. (Se ha propuesto una modificación de la Tabla 2320: II que es más precisa cuando $P=1/2T$). Las relaciones de alcalinidad también se pueden calcular de forma monográfica (ver Dióxido de carbono, Sección 4500- CO_2). Mida con precisión el pH, calcule la concentración de OH^- como miligramos de CaCO_3 por litro, y calcule las concentraciones de CO_3^{2-} y HCO_3^- como miligramos de CaCO_3 por litro de la Concentración de OH^- y fenolftaleína y alcalinidades totales mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{CO}_3^{2-} = 2P - 2[\text{OH}^-]$$

$$\text{HCO}_3^- = T - 2P + [\text{OH}^-]$$

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-04 Versión: 01 Página: 11 de 11</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

TABLA 2320:II. RELACIONES DE ALCALINIDAD RELACIONES DE ALCALINIDAD

Resultado de la titulación	La alcalinidad del hidróxido como CaCO ₃	Carbonato de alcalinidad como CaCO ₃	Concentración de bicarbonato en forma de CaCO ₃
P = 0	0	0	T
P < 1/2 T	0	2P	T - 2P
P = 1/2 T	0	2P	0
P > 1/2 T	2P - T	2(T - P)	0
P = T	T	0	0

* Clave: alcalinidad P-fenolftaleína; T-alcalinidad total.

De manera similar, si se experimenta dificultad con el punto final de la fenolftaleína, o si se desea un control de la titulación de la fenolftaleína, calcule la alcalinidad de la fenolftaleína como CaCO₃ a partir de los resultados de las determinaciones monográficas de las concentraciones de iones de carbonato e hidróxido:

$$P = 1/2 [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^-]$$

6.6. Precisión y sesgo

No se puede hacer una declaración general sobre la precisión debido a la gran variación en las características de la muestra. Es probable que la precisión de la titulación sea mucho mayor que las incertidumbres involucradas en el muestreo y el manejo de la muestra antes del análisis.

En el rango de 10 a 500 mg/L, cuando la alcalinidad se debe completamente a los carbonatos o bicarbonatos, se puede lograr una desviación estándar de 1 mg de CaCO₃/L. Cuarenta analistas en 17 laboratorios analizaron muestras sintéticas que contenían incrementos de bicarbonato equivalentes a 120 mg de CaCO₃/L. Se utilizó el procedimiento de titulación del punto 5.4b, con un punto final de pH de 4,5. La desviación estándar fue de 5 mg/L y el sesgo promedio (menor que el valor real) fue de 9 mg/L.

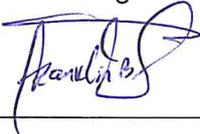
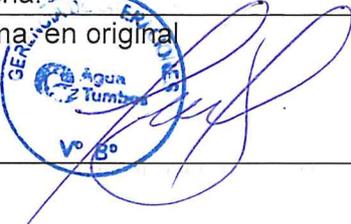
Las soluciones de carbonato de sodio equivalentes a 80 y 65 mg de CaCO₃/L fueron analizadas por 12 laboratorios de acuerdo con el procedimiento del punto 5.4c. Las desviaciones estándar fueron 8 y 5 mg/L, respectivamente, con un sesgo insignificante. Cuatro laboratorios analizaron seis muestras con alcalinidades totales de aproximadamente 1000 mg de CaCO₃/L y contenían varias proporciones de carbonato / bicarbonato mediante los procedimientos de ambos (ver punto 5.4a y c). La desviación estándar combinada fue de 40 mg/L, con una diferencia insignificante entre los procedimientos.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-05 Versión: 01 Página: 1 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD POR EL MÉTODO DE LABORATORIO

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>  	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-05

Versión: 01

Página: 2 de 12

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-05 Versión: 01 Página: 3 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

1. OBJETIVOS

Establecer un procedimiento para la determinación de conductividad en una muestra de agua.

2. ALCANDE

Las mediciones de conductividad, en el laboratorio se utilizan para:

- a) Establecer el grado de mineralización para determinar el efecto de la concentración total de iones sobre equilibrios químicos. Efectos fisiológicos en plantas y animales, tasas de corrosión, etc.
- b) Determinar el grado de mineralización del agua destilada y desionizada.
- c) Evaluar las variaciones de la concentración de minerales disueltos en aguas naturales y residuales.
- d) Valorar el tamaño de la muestra que se vaya a utilizar para determinaciones químicas comunes y para investigar los resultados de un análisis químico.
- e) Determinar la cantidad de reactivo iónico necesario en algunas reacciones de precipitación y neutralización.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 2510 B. Laboratory Method".

5. INTRODUCCION

La conductividad (k), es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transportar una corriente eléctrica. Esta habilidad depende de la presencia de iones; en su concentración total, movilidad y valencia; y sobre la temperatura de medida. Las soluciones de la mayoría

de los compuestos inorgánicos son conductores relativamente buenos. A la inversa, las moléculas de compuestos orgánicos que no se disocian en solución acuosa conducen una corriente muy mal, si es que lo hacen.

5.1. Definiciones y unidades de expresión.

Conductancia, G , se define como el recíproco de resistencia, R :

$$G = \frac{1}{R}$$

Donde la unidad de R es ohm y G es ohm^{-1} (a veces escrito mho). La conductancia de una solución se mide entre dos electrodos espacialmente fijos y químicamente inertes. Para evitar la polarización en las superficies del electrodo, la medición de la conductancia se realiza con una señal de corriente alterna. La conductancia de una solución, G , es directamente proporcional al área de la superficie del electrodo, A , cm^2 , e inversamente proporcional a la distancia entre los electrodos, L , cm . La constante de proporcionalidad, k , tal que:

$$G = k \left(\frac{A}{L} \right)$$

Se llama "conductividad" (preferido a "conductancia específica"). Es una propiedad característica de la solución entre los electrodos. Las unidades de k son $1/\text{ohm}\cdot\text{cm}$ o mho por centímetro. La conductividad se informa habitualmente en micromhos por centímetro ($\mu\text{mho}/\text{cm}$). En el Sistema Internacional de Unidades (SI), el recíproco del ohmio es el de siemens (S) y la conductividad se informa como milisiemens por metro (mS/m); $1 \text{ mS}/\text{m} = 10 \mu\text{mhos}/\text{cm}$ y $1 \mu\text{S}/\text{cm} = 1 \mu\text{mho}/\text{cm}$. Para informar los resultados en unidades SI de mS/m divida $\mu\text{mhos}/\text{cm}$ por 10. Para comparar las conductividades, los valores de k se reportan en relación con los electrodos con $A = 1 \text{ cm}^2$ y $L = 1 \text{ cm}$. Se midieron las conductancias absolutas, G_s , de soluciones estándar de cloruro de potasio entre electrodos de geometría precisa; las conductividades estándar correspondientes, k_s , se muestran en la Tabla 2510: I. La conductividad equivalente, de una solución es la conductividad por unidad de concentración. A medida que la concentración disminuye hacia cero, Λ se aproxima a una constante, designada como Λ° . Con k en unidades de micromhos por centímetro es necesario convertir la concentración en unidades de equivalentes por centímetro cúbico; por lo tanto:

$$\Lambda = 0.001k/\text{concentración}$$

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-05 Versión: 01 Página: 5 de 12
	MÉTODO DE ENSAYO	

TABLA 2510: I. CONDUCTIVIDAD EQUIVALENTE, Λ , Y CONDUCTIVIDAD, k , DE CLORURO DE POTASIO A 25.0 °C.*

Concentración de KCL <i>M o equivalente/L</i>	Conductividad Equivalente, Λ <i>mho-cm²/equivalente</i>	Conductividad, K_s <i>μmho/cm</i>
0	149.9	
0.0001	148.9	14.9
0.0005	147.7	73.9
0.001	146.9	146.9
0.005	143.6	717.5
0.01	141.2	1 412
0.02	138.2	2 765
0.05	133.3	6 667
0.1	128.9	12 890
0.2	124.0	24 800
0.5	117.3	58 670
1	111.9	111 900

* Basado en el ohmio absoluto, el estándar de temperatura de 1986 y el volumen estándar de dm³. Los valores son precisos hasta $\pm 0.1\%$ o 0.1 $\mu\text{mho/cm}$, el que sea mayor.

donde las unidades de Λ , k y la concentración son $\text{mho-cm}^2/\text{equivalente}$, $\mu\text{mho/cm}$ y equivalente/L , respectivamente. Los valores de conductividad equivalente, Λ , para varias concentraciones de KCl se enumeran en la Tabla 2510: I. En la práctica, las soluciones de KCl más diluidas que 0.001M no mantendrán una conductividad estable debido a la absorción de CO₂ en la atmósfera. Proteger estas soluciones diluidas de la atmósfera.

5.2. Medida

- a. *Mediciones instrumentales:* en el laboratorio, se mide la conductancia, G_s , (o resistencia) de una solución de KCl estándar y, a partir de la conductividad correspondiente, k_s , (Tabla 2510: I) se calcula un constante de la celda, C , cm^{-1} :

$$C = \frac{k_s}{G_s}$$

La mayoría de los medidores de conductividad no muestran la conductancia real de la solución, G , o la resistencia, R ; más bien, generalmente tienen un dial que permite al usuario ajustar la constante de celda interna para que coincida con la conductividad, k_s , de un estándar. Una vez que la constante de celda se ha determinado, o establecido, la conductividad de una solución desconocida,

$$k_u = CG_u$$

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-05 Versión: 01 Página: 6 de 12
	MÉTODO DE ENSAYO	

se mostrará por el medidor.

El agua destilada producida en un laboratorio generalmente tiene una conductividad en el rango de 0.5 a 3 $\mu\text{mhos/cm}$. La conductividad aumenta poco después de la exposición al aire y al contenedor de agua.

TABLA 2510: II. MUESTRA DE ANÁLISIS QUE ILUSTRRA EL CÁLCULO DE LA CONDUCTIVIDAD, K_{calc} , PARA AGUAS NATURALES.

Iones	mg/L	mM	$ z \lambda^{\circ}\pm\text{mM}$	$z^2\text{mM}$
Ca	55	1.38	164.2	5.52
Mg	12	0.49	52.0	1.96
Na	28	1.22	61.1	1.22
K	3.2	0.08	5.9	0.08
HCO ₃	170	2.79	124.2	2.79
SO ₄	77	0.80	128.0	3.20
Cl	20	0.56	42.8	0.56
			578.2	15.33

TABLA 2510: III. CONDUCTANCIAS EQUIVALENTES, $\lambda^{\circ+}$ Y $\lambda^{\circ-}$, ($\text{mho}\cdot\text{cm}^2/\text{equivalente}$) PARA IONES EN AGUA A 25.0 °C.

Catión	$\lambda^{\circ+}$	Anión	$\lambda^{\circ-}$
H ⁺	350	OH ⁻	198.6
1/2Ca ²⁺	59.5	HCO ₃ ⁻	44.5
1/2Mg ²⁺	53.1	1/2CO ₃ ²⁻	72
Na ⁺	50.1	1/2SO ₄ ²⁻	80.0
K ⁺	73.5	Cl ⁻	76.4
NH ₄ ⁺	73.5	Ac ⁻	40.9
1/2Fe ²⁺	54	F ⁻	54.4
1/3Fe ³⁺	68	NO ₃ ⁻	71.4
		H ₂ PO ₄ ⁻	33
		1/2HPO ₄ ²⁻	57

La conductividad de las aguas potables en los Estados Unidos varía generalmente de 50 a 1500 $\mu\text{mhos/cm}$. La conductividad de las aguas residuales domésticas puede estar cerca de la del suministro de agua local, aunque algunos desechos industriales tienen conductividades superiores a 10000 $\mu\text{mhos/cm}$. Los instrumentos de conductividad se utilizan en tuberías, canales, corrientes que fluyen y lagos, y se pueden incorporar en estaciones de monitoreo de parámetros múltiples utilizando registradores.

La mayoría de los problemas para obtener buenos datos con equipos de monitoreo de conductividad están relacionados con el ensuciamiento de los electrodos y la circulación inadecuada de la muestra. Las conductividades superiores a 10000 a 50000 $\mu\text{mho/cm}$ o inferiores a aproximadamente 10 $\mu\text{mho/cm}$ pueden ser difíciles de medir con la electrónica de medición habitual y la capacitancia de la celda. Consulte el manual del

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-05 Versión: 01 Página: 7 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

fabricante del instrumento o las referencias publicadas.

Las mediciones de conductividad de laboratorio se utilizan para:

- Establecer el grado de mineralización para evaluar el efecto de la concentración total de iones en los equilibrios químicos, el efecto fisiológico en plantas o animales, las tasas de corrosión, etc.
- Evaluar el grado de mineralización del agua destilada y desionizada.
- Evaluar las variaciones en la concentración de minerales disueltos de agua cruda o aguas residuales. Las variaciones estacionales menores encontradas en las aguas del embalse contrastan marcadamente con las fluctuaciones diarias en algunas aguas de los ríos contaminados. Las aguas residuales que contienen desechos comerciales importantes también pueden mostrar una variación diaria considerable.
- Estimar el tamaño de la muestra que se utilizará para las determinaciones químicas comunes y para verificar los resultados de un análisis químico.
- Determine la cantidad de reactivo iónico necesaria en ciertas reacciones de precipitación y neutralización, el punto final se denota por un cambio en la pendiente de la curva que resulta de trazar la conductividad contra las lecturas de bureta.
- Estimar el total de sólidos disueltos (mg/L) en una muestra multiplicando la conductividad (en micromhos por centímetro) por un factor empírico. Este factor puede variar de 0,55 a 0,9, dependiendo de los componentes solubles del agua y de la temperatura de medición. Pueden requerirse factores relativamente altos para las aguas salinas o de calderas, mientras que los factores más bajos pueden aplicarse cuando hay una cantidad considerable de hidróxido o ácido libre. Aunque la evaporación de la muestra produce un cambio de bicarbonato a carbonato, el factor empírico se deriva de un suministro de agua relativamente constante al dividir los sólidos disueltos por la conductividad.
- Aproxime los miliequivalentes por litro de cationes o aniones en algunas aguas multiplicando la conductividad en unidades de micromhos por centímetro por 0.01.

b. *Cálculo de la conductividad:* Para aguas naturales que contienen principalmente Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , HCO_3^- , SO_4^{2-} y Cl^- y con TDS menos de aproximadamente 2500 mg/L, se puede utilizar el siguiente procedimiento para calcular la conductividad a partir de concentraciones iónicas. El análisis abreviado del agua en la Tabla 2510: II ilustra el procedimiento de cálculo.

En dilución infinita, la contribución a la conductividad por diferentes tipos de iones es

MÉTODO DE ENSAYO

aditiva. En general, la contribución relativa de cada catión y anión se calcula multiplicando las conductancias equivalentes, λ^+ y λ^- , mho-cm²/equivalente, por concentración en equivalentes por litro y corrigiendo unidades. La Tabla 2510:III contiene una breve lista de conductancias equivalentes para los iones que se encuentran comúnmente en las aguas naturales. Las concentraciones de trazas de iones generalmente hacen una contribución insignificante a la conductividad general. Un coeficiente de temperatura de 0.02/grado es aplicable a todos los iones, excepto H⁺ (0.0139/grado) y OH⁻ (0.018/grado). En concentraciones finitas, a diferencia de la dilución infinita, la conductividad por equivalente disminuye al aumentar la concentración (consulte la Tabla 2510:I). Para soluciones compuestas de un tipo de anión y un tipo de catión, por ejemplo, KCl como en la Tabla 2510: I, la disminución de la conductividad por equivalente con concentración se puede calcular, $\pm 0.1\%$, utilizando una teoría de Onsager basada en la fuerza iónica. Cuando las sales mixtas están presentes, como ocurre casi siempre con las aguas naturales y residuales, la teoría es bastante complicada. El siguiente procedimiento semiempírico se puede usar para calcular la conductividad de las aguas naturales:

Primero, calcule la conductividad de dilución infinita (Tabla 2510: II, Columna 4):

$$k^{\circ} = \sum |z_i| (\lambda^{\circ}_{+i}) (mM_i) + \sum |z_i| (\lambda^{\circ}_{-i}) (mM_i)$$

Donde:

$|z_i|$ = valor absoluto de la carga del ión i ,

mM_i = concentración milimolar del ión i , y

λ°_{+i} , λ°_{-i} = conductancia equivalente del ión i .

Si se usa mM para expresar la concentración, el producto, $(\lambda^{\circ}_{+}) (mM_i)$ o $(\lambda^{\circ}_{-}) (mM_i)$, corrige las unidades de litros a cm³. En este caso, k° es 578.2 $\mu\text{mho/cm}$ (Tabla 2510: II, Columna 4). A continuación, calcule la fuerza iónica, IS en unidades molares:

$$IS = \sum z_i^2 (mM_i) / 2000$$

La fuerza iónica es $15.33/2000 = 0.00767$ M (Tabla 2510:II, Columna 5). Calcule el coeficiente de actividad de iones monovalentes, y , utilizando la ecuación de Davies para $IS \leq 0.5$ M y para temperaturas de 20 a 30°C.

$$y = 10^{-0.5[IS^{1/2}/(1 + IS^{1/2}) - 0.3IS]}$$

En el presente ejemplo, $IS = 0.00767$ M y $y=0.91$. Finalmente, obtenga el valor calculado de conductividad, k_{calc} , a partir de:

$$k_{calc} = k^{\circ} y^2$$

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-05 Versión: 01 Página: 9 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

En el ejemplo que se considera, $k_{\text{calc}} = 578.2 \times 0.91^2 = 478.8 \mu\text{mho/cm}$ en comparación con el valor informado medido por el USGS de $477 \mu\text{mho/cm}$.

Para 39 análisis de aguas naturales, conductividades calculadas de esta manera coincidieron con los valores medidos dentro del 2%.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

Vea la introducción.

Las prácticas de control de calidad que se consideran parte integral de cada método se resumen en las tablas 2020:I y II.

6.2. Equipos

- a. *Instrumentos de conductividad autocontenidos:* Use un instrumento capaz de medir la conductividad con un error que no exceda del 1% o $1 \mu\text{mho/cm}$, el que sea mayor.
- b. *Termómetro,* que se puede leer con una precisión de 0.1°C y que cubre el rango de 23 a 27°C . Muchos medidores de conductividad están equipados para leer un sensor de temperatura automático.
- c. *Celda de conductividad:*
 - 1) Tipo de electrodo de platino: las celdas de conductividad que contienen electrodos platinados están disponibles en forma de pipeta o inmersión. La elección de la celda depende del rango esperado de conductividad. Verifique experimentalmente el instrumento comparando los resultados instrumentales con las conductividades reales de las soluciones KCl enumeradas en la Tabla 2510:I. Limpie las celdas nuevas, que aún no estén cubiertas y listas para su uso, con una mezcla de limpieza de ácido cromo-sulfúrico [consulte la Sección 2580B.3b2)] y platine los electrodos antes de usarlos. Posteriormente, limpie y replatine cada vez que las lecturas se vuelvan erráticas, cuando no se pueda obtener un punto final agudo, o cuando la inspección muestre que el negro de platino se ha desprendido. Para platinar, prepare una solución de 1 g de ácido cloroplatinico, $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 12 mg de acetato de plomo en 100 mL de agua destilada. Una solución más concentrada reduce el tiempo requerido para platinar los electrodos y se puede usar cuando el tiempo es un factor (por ejemplo, cuando la constante de celda es $1.0/\text{cm}$ o más). Sumerja los electrodos en esta solución y conéctelos al terminal negativo de una batería de celda seca de 1.5 V. Conecte el lado positivo de la batería a un trozo de

MÉTODO DE ENSAYO

cable de platino y sumerja el cable en la solución. Utilice una corriente de modo que solo se desarrolle una pequeña cantidad de gas. Continúe con la electrólisis hasta que ambos electrodos celulares estén recubiertos con platino negro. Guarde la solución de platinado para su uso posterior. Enjuague bien los electrodos y, cuando no esté en uso, manténgalos sumergidos en agua destilada.

- 2) Tipo de electrodo no de platino: Use celdas de conductividad que contienen electrodos contruidos con metales comunes duraderos (acero inoxidable entre otros) para monitoreo continuo y estudios de campo. Calibre dichas células comparando la conductividad de la muestra con los resultados obtenidos con un instrumento de laboratorio. Use el instrumento y la celda correctamente diseñados y acoplados para minimizar los errores en la constante de celda. Los cables muy largos del medidor pueden afectar el rendimiento de un medidor de conductividad. En tales circunstancias, consulte el manual del fabricante para los factores de corrección apropiados si es necesario.

6.3. Reactivos

- a. *Agua de conductividad*: cualquiera de los varios métodos puede usarse para preparar agua de grado reactivo. La conductividad debe ser pequeña en comparación con el valor que se mide.
- b. *Solución estándar de cloruro de potasio, KCl, 0.0100 M*: disuelva 745.6 mg de KCl anhidro en agua de conductividad y diluya a 1000 ml en un matraz aforado de clase A a 25 °C y almacene en una atmósfera libre de CO₂. Esta es la solución de referencia estándar, que a 25 °C tiene una conductividad de 1412 µmhos/cm. Es satisfactorio para la mayoría de las muestras cuando la celda tiene una constante entre 1 y 2 cm⁻¹. Para otras constantes de celdas, use soluciones de KCl más fuertes o más débiles enumeradas en la Tabla 2510: I. Se debe tener cuidado al usar soluciones de KCl de menos de 0.001M, que pueden ser inestables debido a la influencia del dióxido de carbono en el agua pura. Para estándares de baja conductividad, el Material de referencia estándar 3190, con una conductividad certificada de 25.0 µS/cm ± 0.3 µS / cm, se puede obtener del NIST. Almacenar en una botella de vidrio de borosilicato con tapón de vidrio.

6.4. Procedimiento

- a. *Determinación de la constante de la celda*: Enjuague la celda de conductividad con al menos tres porciones de solución de KCl 0.01M. Ajustar la temperatura de una cuarta

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-05 Versión: 01 Página: 11 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

porción a 25.0 ± 0.1 °C. Si un medidor de conductividad muestra resistencia, R , ohms, mida la resistencia de esta porción y anote la temperatura. Constante de celda de cálculo, C :

$$C, \text{ cm}^{-1} = (0.001412)(R_{\text{KCl}})[1 + 0.0191(t - 25)]$$

Donde:

R_{KCl} = resistencia medida, ohmios y

t = temperatura observada, °C.

Los medidores de conductividad a menudo indican la conductividad directamente. Las sondas comerciales comúnmente contienen un sensor de temperatura. Con dichos instrumentos, enjuague la sonda tres veces con 0.0100M KCl, como se indicó anteriormente. Ajuste el dial de compensación de temperatura a 0.0191 C^{-1} . Con la sonda en la solución de KCl estándar, ajuste el medidor para leer $1412 \mu\text{mho/cm}$. Este procedimiento ajusta automáticamente la constante de celda interna al medidor.

- b. Medición de conductividad:* Enjuague a fondo la celda con una o más porciones de muestra. Ajustar la temperatura de una porción final a aproximadamente 25 °C. Mida la resistencia o conductividad de la muestra y tome nota de la temperatura a ± 0.1 °C.

6.5. Cálculos

El coeficiente de temperatura de la mayoría de las aguas es aproximadamente el mismo que el de la solución estándar de KCl; cuanto más se desvía la temperatura de medición de 25.0 °C, mayor es la incertidumbre en la aplicación de la corrección de temperatura. Informe las conductividades compensadas por temperatura como " $\mu\text{mho/cm } 25.0$ °C."

- a. Cuando se mide la resistencia de la muestra, la conductividad a 25 °C es:

$$k = \frac{(1\,000\,000)(C)}{R_m[1 + 0.0191(t - 25)]}$$

Donde:

k = conductividad, $\mu\text{mhos/cm}$,

C = constante celular, cm^{-1} ,

R_m = resistencia medida de la muestra, ohmios y

t = temperatura de medición

- b.* Cuando la conductividad de la muestra se mide sin compensación de temperatura

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-05 Versión: 01 Página: 12 de 12
	MÉTODO DE ENSAYO	

interna, la conductividad a 25 °C es:

$$k, \mu\text{mho/cm} = \frac{(k_m)}{1 + 0.0191(t - 25)}$$

Donde:

k_m = conductividad medida en unidades de $\mu\text{mho/cm}$ a t °C, y otras unidades se definen como anteriormente.

Para instrumentos con compensación automática de temperatura y lectura directamente en $\mu\text{mho/cm}$ o unidades similares, la lectura se corrige automáticamente a 25.0 °C. Informe de conductividad visualizada en unidades designadas.

6.6. Precisión y sesgo

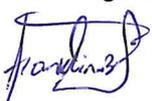
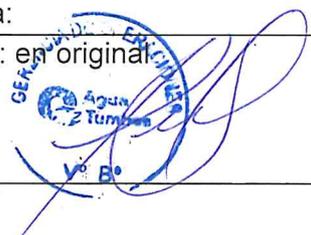
La precisión de los medidores de conductividad comerciales es comúnmente entre 0.1 y 1.0%. Se espera una reproducibilidad de 1 a 2% después de que un instrumento se haya calibrado con los datos que se muestran en la Tabla 2510: I.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-06 Versión: 01 Página: 1 de 6</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE SALINIDAD POR EL MÉTODO DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-06

Versión: 01

Página: 2 de 6

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-06 Versión: 01 Página: 3 de 6</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVOS

Utilizar el método para realizar la medición de la salinidad del agua.

2. ALCANDE

El método es aplicable a aguas potables, superficiales, salinas, aguas residuales domésticas e industriales y lluvia ácida

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 2520 B, Electrical Conductivity Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Discusión general

La salinidad es una importante propiedad sin unidades de aguas industriales y naturales. Originalmente se concibió como una medida de la masa de sales disueltas en una masa de solución dada. La determinación experimental del contenido de sal por secado y pesaje presenta algunas dificultades debido a la pérdida de algunos componentes. La única forma confiable de determinar la salinidad verdadera o absoluta de un agua natural es hacer un análisis químico completo. Sin embargo, este método requiere mucho tiempo y no puede proporcionar la precisión necesaria para un trabajo preciso. Por lo tanto, para determinar la salinidad, normalmente se usan métodos indirectos que involucran la medición de una propiedad física como la conductividad, la densidad, la velocidad del sonido o el índice de refracción. A partir de una relación empírica de salinidad y la propiedad física determinada por una solución estándar, es posible calcular la salinidad. La salinidad resultante no es más

precisa que la relación empírica. La precisión de la medición de una propiedad física determinará la precisión en la salinidad. A continuación, se presentan las precisiones de varias mediciones físicas y la salinidad resultante que actualmente se puede obtener con instrumentos comerciales:

Propiedad	Precisión de la medida	Precisión de la salinidad
Conductividad	$\pm 0.0002 \mu\text{mho/cm}$	± 0.0002
Densidad	$\pm 3 \times 10^{-6} \text{ g/cm}^3$	± 0.004
Velocidad del sonido	$\pm 0.02 \text{ m/s}$	± 0.01

Aunque la conductividad tiene la mayor precisión, responde solo a los solutos iónicos. La densidad, aunque menos precisa, responde a todos los solutos disueltos.

5.2. Aseguramiento de la calidad

Calibre el salinómetro o el densímetro según los estándares de KCl o agua de mar estándar. La precisión esperada es mejor que $\pm 0,01$ unidades de salinidad con un análisis cuidadoso y el uso de estándares de horquillado.

6. METODOLOGIA

6.1. Determinación

Consulte Conductividad, Sección 2510. Debido a su alta sensibilidad y facilidad de medición, el método de conductividad se usa más comúnmente para determinar la salinidad. Para las mediciones de agua de mar, use la Escala de Salinidad Práctica 1978. Esta escala se desarrolló en relación con una solución de KCl. Un agua de mar con una conductividad, C , a 15°C igual a la de una solución de KCl que contiene una masa de 32.4356 g en una masa de 1 kg de solución se define como una salinidad práctica de 35. Este valor se determinó como un promedio de tres estudios de laboratorio independientes. La dependencia de la salinidad de la relación de conductividad, R_t , en función de la temperatura ($t^\circ\text{C}$, Escala Internacional de Temperatura Práctica 1968) de una muestra dada a un estándar $S=35$ agua de mar se utiliza para determinar la salinidad. La temperatura se encuentra actualmente en la escala ITS-90 y los valores de temperatura deben corregirse a la escala ITS-68 correspondiente ($t_{68}=1.00024t_{90}$)⁶ antes de usarse en la siguiente relación.

$$S = a_0 + a_1 R_t^{1/2} + a_2 R_t + a_3 R_t^{3/2} + a_4 R_t^2 + a_5 R_t^{5/2} + \Delta S$$

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-06 Versión: 01 Página: 5 de 6</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

Donde ΔS es dado por

$$\Delta S = \left[\frac{t - 15}{1 + 0.0162 (t - 15)} \right] (b_0 + b_1 R_t^{1/2} + b_2 R_t + b_3 R_t^{3/2} + b_4 R_t^2 + b_5 R_t^{5/2})$$

Y:

$a_0 = 0.0080$	$b_0 = 0.0005$
$a_1 = -0.1692$	$b_1 = -0.0056$
$a_2 = 25.3851$	$b_2 = -0.0066$
$a_3 = 14.0941$	$b_3 = -0.0375$
$a_4 = -7.0261$	$b_4 = 0.0636$
$a_5 = 2.7081$	$b_5 = -0.0144$

Válido de $S=2$ a 42, donde:

$$R_t = \frac{C \text{ (muestra en } t\text{)}}{C \text{ (KCl solución en } t\text{)}}$$

Para medir la conductividad, use un puente de conductividad calibrado con agua de mar estándar* con una conductividad conocida con respecto a KCl, siguiendo las instrucciones del fabricante y el presente método. Si las mediciones se realizan en aguas de estuarios, realice calibraciones secundarias de peso. Agua de mar diluida de conductividad conocida para garantizar que el puente mida las conductividades verdaderas. La Escala de Salinidad Práctica se extendió a bajas salinidades usando una ecuación que es válida en el rango de cálculo de 0 a 40 salinidad. La ecuación es:

$$S = S_{PSS} - \frac{a_0}{1 + 1.5X + X^2} - \frac{b_0 f(t)}{1 + Y^{1/2} + Y^{3/2}}$$

Donde:

S_{PSS} = Valor determinado a partir de la Escala de Salinidad Práctica dada anteriormente,

$$a_0 = 0.008,$$

$$b_0 = 0.0005,$$

$$f(t) = (t - 15) / [1 + 0.0162 (t - 15)],$$

$$X = 400R_t, \text{ y}$$

$$Y = 100R_t$$

La salinidad práctica rompe con la antigua relación salinidad-clorinidad, $S = 1.80655 \text{ Cl}$.



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-06

Versión: 01

Página: 6 de 6

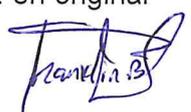
Aunque la escala se puede usar para aguas estuarinas 7-10 y salmueras 11-13, existen limitaciones.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-07 Versión: 01 Página: 1 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE DUREZA POR EL MÉTODO TITRIMÉTRICO EDTA

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-07

Versión: 01

Página: 2 de 10

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-07 Versión: 01 Página: 3 de 10</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVOS

Determinar la dureza en una muestra de agua empleando el método Titrimétrico con EDTA.

2. ALCANDE

Este procedimiento señala los pasos a seguir para determinar cuantitativamente el contenido de dureza muestras de agua.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 2340 C. EDTA Titrimetric Method".

5. INTRODUCCION

5.1 Terminología

Originalmente, se entendía que la dureza del agua era una medida de la capacidad del agua para precipitar el jabón. El jabón es precipitado principalmente por los iones de calcio y magnesio presentes. Otros cationes polivalentes también pueden precipitar el jabón, pero a menudo se encuentran en formas complejas, con frecuencia con constituyentes orgánicos, y su papel en la dureza del agua puede ser mínimo y difícil de definir. De conformidad con la práctica actual, la dureza total se define como la suma de las concentraciones de calcio y magnesio, ambas expresadas como carbonato de calcio, en miligramos por litro. Cuando la dureza numérica es mayor que la suma de la alcalinidad de carbonato y bicarbonato, esa cantidad de dureza equivalente a la alcalinidad total se llama "dureza de carbonato"; la cantidad de dureza en exceso de esto se denomina "dureza sin carbonato". Cuando la dureza numéricamente es igual o menor que la suma

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-07 Versión: 01 Página: 4 de 10</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

de la alcalinidad de carbonato y bicarbonato, toda la dureza es dureza del carbonato y la dureza sin carbonato está ausente. La dureza puede variar de cero a cientos de miligramos por litro, dependiendo de la fuente y el tratamiento al que se haya sometido el agua.

5.2 Selección del método

Se presentan dos métodos. El método B, la dureza por cálculo, es aplicable a todas las aguas y proporciona la mayor precisión. Si se realiza un análisis de minerales, se puede informar la dureza por cálculo. El método C, el método de titulación con EDTA, mide los iones de calcio y magnesio y se puede aplicar con la modificación adecuada a cualquier tipo de agua. El procedimiento descrito permite un medio de análisis rápido.

5.3 Informe de resultados

Al informar sobre la dureza, indique el método utilizado, por ejemplo, "dureza (calc.)" o "dureza (EDTA)".

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

A. **Principio:** El ácido etilendiaminotetraacético y sus sales de sodio (EDTA abreviada) forman un complejo soluble quelado cuando se agregan a una solución de ciertos cationes metálicos. Si se agrega una pequeña cantidad de un tinte como Eriochrome Black T o Calmagita a una solución acuosa que contiene iones de calcio y magnesio a un pH de 10.0 ± 0.1 , la solución se vuelve de color rojo vino. Si se agrega EDTA como un valorante, el calcio y el magnesio se acomplejarán, y cuando todo el magnesio y el calcio se hayan acomplejado, la solución cambiará de rojo vino a azul, marcando el punto final de la titulación. El ion magnesio debe estar presente para obtener un punto final satisfactorio. Para asegurar esto, se agrega al tampón una pequeña cantidad de sal de magnesio complejamente neutra de EDTA; esto introduce automáticamente suficiente magnesio y evita la necesidad de una corrección en blanco.

La nitidez del punto final aumenta al aumentar el pH. Sin embargo, el pH no puede aumentarse indefinidamente debido al peligro de precipitar carbonato de calcio, CaCO_3 o hidróxido de magnesio, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, y porque el colorante cambia de color a valores de pH altos. El pH especificado de 10.0 ± 0.1 es un compromiso satisfactorio. Se establece un límite de 5 minutos para la duración de la titulación para minimizar la

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-07 Versión: 01 Página: 5 de 10
	MÉTODO DE ENSAYO	

tendencia a la precipitación de CaCO_3 .

- B. **Interferencia:** Algunos iones metálicos interfieren causando desvanecimientos o puntos finales indistintos o por el consumo estequiométrico de EDTA. Reduzca esta interferencia agregando ciertos inhibidores antes de la titulación. MgCDTA [ver 5.2b3)], complejos de forma selectiva de metales pesados, libera magnesio en la muestra y puede utilizarse como sustituto de inhibidores tóxicos o malolientes. Es útil solo cuando el magnesio sustituido por metales pesados no contribuye significativamente a la dureza total. Con concentraciones de metales pesados o polifosfatos por debajo de las indicadas en la Tabla 2340: I, use el Inhibidor I o II. Cuando haya concentraciones más altas de metales pesados, determine el calcio y el magnesio por un método que no sea EDTA (consulte la Sección 3500-Ca y la Sección 3500-Mg) y obtenga la dureza por cálculo. Las cifras en la Tabla 2340: I están pensadas como una guía aproximada y se basan en el uso de una muestra de 25 ml diluida a 50 ml.

La materia orgánica suspendida o coloidal también puede interferir con el punto final. Elimine esta interferencia evaporando la muestra a sequedad en un baño de vapor y calentándola en un horno de mufla a $550\text{ }^\circ\text{C}$ hasta que la materia orgánica esté completamente oxidada. Disolver el residuo en 20 ml de ácido clorhídrico 1N (HCl), neutralizar a pH 7 con hidróxido de sodio 1N (NaOH) y completar hasta 50 ml con agua destilada; Enfriar a temperatura ambiente y continuar de acuerdo con el procedimiento general.

- C. **Precauciones de titulación:** Realice titulaciones a temperatura ambiente normal o cerca de la misma. El cambio de color se vuelve imprácticamente lento a medida que la muestra se aproxima a la temperatura de congelación. La descomposición del indicador se convierte en un problema en el agua caliente. El pH especificado puede producir un ambiente propicio para la precipitación de CaCO_3 . Aunque el titulador disuelve lentamente tales precipitados, un punto final de deriva a menudo produce resultados bajos. La finalización de la titulación en 5 minutos minimiza la tendencia a que el CaCO_3 se precipite. Los siguientes tres métodos también reducen la pérdida de precipitación:

Diluir la muestra con agua destilada para reducir la concentración de CaCO_3 . Este simple expediente ha sido incorporado en el procedimiento. Si se produce precipitación con esta dilución de 1 + 1, utilice la modificación 2) o 3). El uso de una muestra demasiado pequeña contribuye a un error sistemático debido al error de lectura de la bureta.

MÉTODO DE ENSAYO

Si se conoce la dureza aproximada o se determina mediante una titulación preliminar, agregue 90% o más de titulante a la muestra antes de ajustar el pH con un buffer.

Acidificar la muestra y agitar durante 2 minutos para expulsar el CO₂ antes de ajustar el pH. Determine la alcalinidad para indicar la cantidad de ácido que se agregará.

6.2. Reactivos

a. Solución tampón:

Disuelva 16.9 g de cloruro de amonio (NH₄Cl) en 143 ml de hidróxido de amonio concentrado (NH₄OH). Agregue 1,25 g de sal de magnesio de EDTA (disponible comercialmente) y diluya a 250 ml con agua destilada.

Si la sal de magnesio de EDTA no está disponible, disuelva 1.179 g de sal disódica de dihidrato de ácido etilendiaminotetraacético (grado de reactivo analítico) y 780 mg de sulfato de magnesio (MgSO₄·7H₂O) o 644 mg de cloruro de magnesio (MgCl₂·6H₂O) en 50 ml de agua destilada. Agregue esta solución a 16.9 g de NH₄Cl y 143 ml de NH₄OH concentrado con mezcla y diluya a 250 ml con agua destilada. Para lograr la mayor precisión, ajústese a la equivalencia exacta mediante la adición apropiada de una pequeña cantidad de EDTA o MgSO₄ o MgCl₂. Almacene la Solución 1) o 2) en un recipiente de plástico o vidrio de borosilicato por no más de 1 mes. Tape el tapón herméticamente para evitar la pérdida de amoníaco (NH₃) o la absorción de dióxido de carbono (CO₂). Dispensar solución buffer mediante una pipeta con bulbo. Deseche el buffer cuando 1 o 2 ml agregados a la muestra no produzcan un pH de 10.0 ± 0.1 en el punto final de la titulación.

También se encuentran disponibles comercialmente "buffers inodoros" satisfactorios. Contienen la sal de magnesio de EDTA y tienen la ventaja de ser relativamente inodoros y más estables que el buffer NH₄Cl-NH₄OH. Por lo general, no brindan un punto final tan bueno como el NH₄Cl-NH₄OH debido a las reacciones más lentas y pueden no ser adecuados cuando este método es automático. Prepare uno de estos tampones mezclando 55 ml de HCl concentrado con 400 ml de agua destilada y luego, lentamente y con agitación, agregando 300 ml de 2-aminoetanol (libre de aluminio y metales más pesados). Agregue 5.0 g de sal de magnesio de EDTA y diluya a 1 L con agua destilada.

b. *Agentes complejantes:* Para la mayoría de las aguas no se necesita ningún agente complejante. En ocasiones, el agua que contiene iones interferentes requiere la adición de un agente complejante apropiado para proporcionar un cambio de color claro y nítido en el punto final. Los siguientes son satisfactorios:

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-07 Versión: 01 Página: 7 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

- 1) Inhibidor I: Ajuste las muestras de ácido a pH 6 o superior con tampón o NaOH 0,1N. Añadir 250 mg de cianuro de sodio (NaCN) en forma de polvo. Agregue suficiente tampón para ajustar a pH 10.0 ± 0.1 . (**PRECAUCIÓN: el NaCN es extremadamente venenoso. Tome precauciones adicionales al usarlo (consulte la sección 1090)**). Elimine las soluciones que contengan este inhibidor de acuerdo con todas las regulaciones gubernamentales aplicables (consulte la sección 1100C), tomando precauciones especiales para evitar su contacto con ácidos, que puede liberar cianuro de hidrógeno venenoso volátil).
 - 2) Inhibidor II: Disuelva 5.0 g de sulfuro de sodio nohidratado ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) o 3.7 g de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de agua destilada. Excluya el aire con un tapón de goma bien ajustado. Este inhibidor se deteriora con la oxidación del aire. Produce un precipitado de sulfuro que oculta el punto final cuando están presentes concentraciones apreciables de metales pesados. Use 1 ml en el 5.3b a continuación.
 - 3) MgCDTA: sal de magnesio del ácido 1, 2-ciclohexanodiaminotetraacético. Agregue 250 mg por muestra de 100 ml y disuélvalos completamente antes de agregar una solución tampón. Use este agente complejante para evitar el uso de inhibidores tóxicos u olorosos cuando las sustancias interferentes están presentes en concentraciones que afectan el punto final, pero que no contribuirán significativamente al valor de la dureza.

Preparaciones comerciales que incorporan un tampón y un agente complejante están disponibles. Dichas mezclas deben mantener un pH de 10.0 ± 0.1 durante la titulación y proporcionar un punto final claro y definido cuando se titule la muestra.
- c. *Indicadores:* Se han recomendado muchos tipos de soluciones de indicadores y se pueden usar si el analista demuestra que producen valores precisos. La principal dificultad con las soluciones indicadoras es el deterioro con el envejecimiento, lo que proporciona puntos finales indistintos. Por ejemplo, las soluciones alcalinas de Eriochrom Black T son sensibles a los oxidantes y las soluciones acuosas o alcohólicas son inestables. En general, use la menor cantidad de indicador que proporcione un punto final afilado. Es responsabilidad del analista determinar individualmente la concentración óptima del indicador.
- 1) Eriochrome Black T: sal sódica del ácido 1- (1-hidroxi-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-sulfónico; No. 203 en el Índice de Color. Disuelva 0,5 g de colorante en 100 g de 2,2',2''-nitrilotrietanol (también llamado trietanolamina) o 2-metoximetanol (también

MÉTODO DE ENSAYO

llamado etilenglicol monometil éter). Agregue 2 gotas por 50 ml de solución para ser titulado. Ajuste el volumen si es necesario.

- 2) Calmagita: ácido 1-(1-hidroxí-4-metil-2-fenilazo)-2-naftol-4-sulfónico. Esto es estable en solución acuosa y produce el mismo cambio de color que el Eriochrome Black T, con un punto final más definido. Disuelva 0,10 g de Calmagita en 100 ml de agua destilada. Use 1 ml por 50 ml de solución para valorar. Ajuste el volumen si es necesario.
- 3) Los indicadores 1 y 2 se pueden usar en forma de polvo seco si se tiene cuidado para evitar el exceso de indicador. Las mezclas secas preparadas de estos indicadores y una sal inerte están disponibles comercialmente. Si el cambio de color del punto final de estos indicadores no es claro y nítido, generalmente significa que se requiere un agente de complejación apropiado. Si el inhibidor de NaCN no agudiza el punto final, es probable que el indicador esté fallando.

d. *Valorante de EDTA estándar, 0.01M:* Pesar 3.723 g de disodio etilendiaminotetraacetato disódico analítico de grado reactivo, también llamado (etilendinitrilo) sal disódica del ácido tetraacético (EDTA), disolverse en agua destilada y diluir hasta 1000 ml. Estandarice contra la solución de calcio estándar (5.2e) como se describe en el 5.3b a continuación.

Debido a que el titulante extrae cationes que producen dureza de los envases de vidrio blando, almacene en botellas de polietileno (preferiblemente) o de vidrio de borosilicato. Compense el deterioro gradual mediante la estandarización periódica y el uso de un factor de corrección adecuado.

e. *Solución de calcio estándar:* Pese 1.000 g de polvo de CaCO_3 anhidro (estándar primario o reactivo especial bajo en metales pesados, álcalis y magnesio) en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Coloque un embudo en el cuello del matraz y agregue, poco a poco, 1 + 1 HCl hasta que todo el CaCO_3 se haya disuelto. Agregue 200 ml de agua destilada y hierva por unos minutos para expulsar el CO_2 . Enfríe, agregue unas gotas de indicador rojo de metilo y ajústese al color naranja intermedio agregando NH_4OH 3N o 1 + 1 HCl, según sea necesario. Transfiera cuantitativamente y diluya a 1000 ml con agua destilada; 1 ml = 1,00 mg de CaCO_3 .

f. *Hidróxido de sodio, NaOH, 0.1N*

6.3. Procedimiento

a. *Pretratamiento de agua contaminada y muestras de aguas residuales:* Utilice ácido

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-07 Versión: 01 Página: 9 de 10</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

nítrico-ácido sulfúrico o ácido nítrico-ácido perclórico digestión.

- b. *Titulación de la muestra:* Seleccione un volumen de muestra que requiera menos de 15 ml de titulador EDTA y una titulación completa dentro de los 5 minutos, medida desde el momento de la adición del buffer. Diluir 25.0 ml de muestra a aproximadamente 50 ml con agua destilada en una cazuela de porcelana u otro recipiente adecuado. Añadir 1 a 2 ml de solución buffer. Por lo general, 1 ml será suficiente para dar un pH de 10.0 a 10.1. La ausencia de un cambio brusco de color en el punto final en la titulación generalmente significa que se debe agregar un inhibidor en este punto (5.2b) o que el indicador se ha deteriorado.

Agregue 1 a 2 gotas de solución indicadora o una cantidad apropiada de fórmula indicadora de polvo seco [5.2 c 3)]. Agregue el titulante EDTA estándar lentamente, con agitación continua, hasta que desaparezca el último tinte rojizo. Agregue las últimas gotas a intervalos de 3 a 5 s. En el punto final, la solución normalmente es azul. Se recomienda mucho la luz de día o una lámpara fluorescente de luz diurna porque las luces incandescentes comunes tienden a producir un tinte rojizo en el azul en el punto final.

Si hay suficiente muestra disponible y no hay interferencia, mejore la precisión aumentando el tamaño de la muestra, como se describe en el párrafo 5.3c a continuación.

- c. *Muestra de baja dureza:* Para efluentes del intercambiador de iones u otra agua ablandada y para aguas naturales de baja dureza (menos de 5 mg/L), tome una muestra más grande, de 100 a 1000 ml, para la titulación y agregue cantidades proporcionalmente más grandes de buffer, inhibidor e indicador. Agregue lentamente el valorante estándar de EDTA de una microbureta y ejecute un blanco, usando agua destilada o desionizada destilada del mismo volumen que la muestra, a la que se han agregado cantidades idénticas de buffer, inhibidor e indicador. Reste el volumen de EDTA utilizado para el blanco del volumen de EDTA utilizado para la muestra.

6.4. Cálculos

$$\text{Dureza (EDTA) como } \frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{L}} = \frac{A \times B \times 1000}{\text{mL de muestra}}$$

Donde:

A = titulación de ml para muestra y

B = mg de CaCO₃ equivalente a 1,00 ml de titulador de EDTA.

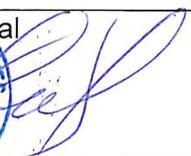
6.5. Precisión y Tendencia

Una muestra sintética que contiene 610 mg/L de dureza total como CaCO_3 contribuyó con 108 mg Ca/L y 82 mg Mg/L, y las siguientes sustancias suplementarias: 3.1 mg K/L, 19.9 mg Na/L, 241 mg Cl^- /L, 0.25 mg NO_2^- N/L, 1.1 mg NO_3^- N/L, 259 mg SO_4^{2-} /L, y 42.5 mg alcalinidad total/L (contribuido por NaHCO_3) en agua destilada se analizaron en 56 laboratorios por el método Titrimetrico EDTA con una desviación estándar relativa de 2.9% y un error relativo de 0.8%.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

DETERMINACIÓN DE MANGANESO POR EL MÉTODO DE PERSULFATO

Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre Fecha: 03/01/2024 Firma: en original 	Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay Fecha: Firma: en original  	Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Grandá Chune Fecha: Firma: en original
--	--	---

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-08 Versión: 01 Página: 3 de 8
	MÉTODO DE ENSAYO	

1. OBJETIVOS

Determinar la concentración de manganeso (Mn) en muestras de agua utilizando el método persulfato.

2. ALCANDE

Este método es apropiado y aplicable a todo tipo de aguas.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 3500-Mn B. Persulfate Method".

5. INTRODUCCION

5.1 Ocurrencia y significancia

El manganeso (Mn) es el primer elemento del Grupo VIIB en la tabla periódica; tiene un número atómico de 25, un peso atómico de 54.94 y valencias comunes de 2, 4 y 7 (y más raramente, valencias de 1, 3, 5 y 6). La abundancia promedio de Mn en la corteza terrestre es de 1060 ppm; en suelos es de 61 a 1010 ppm; en las corrientes es de 7 µg/L, y en aguas subterráneas es <0.1 mg/L. El manganeso se asocia con minerales de hierro y se presenta en nódulos en el océano, las aguas dulces y los suelos. Los minerales comunes son pirolusita (MnO₂) y psilomelano. El manganeso se usa en aleaciones de acero, baterías y aditivos alimentarios.

Las especies acuosas comunes son el Mn²⁺ reducido y el Mn⁴⁺ oxidado. La química acuosa del manganeso es similar a la del hierro. Dado que el agua subterránea es a menudo anóxica, cualquier manganeso soluble en el agua subterránea suele estar en

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-08 Versión: 01 Página: 4 de 8</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

estado reducido (Mn^{2+}). Al exponerse al aire u otros oxidantes, el agua subterránea que contiene manganeso generalmente precipitará MnO_2 negro. Por lo tanto, los niveles elevados de manganeso pueden causar manchas en la plomería/lavandería y en los utensilios de cocina. Se considera un oligoelemento esencial para plantas y animales. El nivel máximo recomendado de manganeso en aguas de riego de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación es de 0.2 mg/L. El estándar MCL del agua potable secundaria de la EPA de EE. UU. Es de 50 $\mu g/L$.

5.2 Aseguramiento de la calidad

Muestreo y almacenamiento El manganeso puede existir en forma soluble en agua neutra cuando se recolecta por primera vez, pero se oxida a un estado de oxidación más alto y precipita o se adsorbe en las paredes del recipiente. Determine el manganeso muy pronto después de la recolección de la muestra. Cuando el retraso es inevitable, el manganeso total se puede determinar si la muestra se acidifica en el momento de la recolección con HNO_3 a $pH < 2$.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

- Principio:* La oxidación con persulfato de compuestos manganesos solubles para formar permanganato se lleva a cabo en presencia de nitrato de plata. El color resultante es estable durante al menos 24 h si hay exceso de persulfato y no hay materia orgánica.
- Interferencia:* Se puede evitar que interfieran hasta 0,1 g de cloruro (Cl^-) en una muestra de 50 mL, agregando 1 g de sulfato mercuríco ($HgSO_4$) para formar complejos ligeramente disociados. El bromuro y el yoduro seguirán interfiriendo y solo pueden estar presentes cantidades mínimas. El procedimiento de persulfato se puede usar para agua potable con pequeñas cantidades de materia orgánica si el período de calentamiento aumenta después de que se haya agregado más persulfato.

Para aguas residuales que contienen materia orgánica, use la digestión preliminar con ácidos nítrico y sulfúrico (HNO_3 y H_2SO_4). Si también están presentes grandes cantidades de Cl^- , hervir con HNO_3 ayuda a eliminarla. Las trazas interferentes de Cl^- son eliminadas por $HgSO_4$ en el reactivo especial. Las soluciones coloreadas de otros iones inorgánicos se compensan en el paso colorimétrico final.

Las muestras que han sido expuestas al aire pueden dar resultados bajos debido a la precipitación del dióxido de manganeso (MnO_2). Agregue 1 gota de peróxido de

hidrógeno al 30% (H_2O_2) a la muestra, después de agregar el reactivo especial, para disolver el manganeso precipitado.

- c. *Concentración mínima detectable:* La capacidad de absorción molar del ion permanganato es de aproximadamente $2300 L g^{-1} cm^{-1}$. Esto corresponde a una concentración mínima detectable (98% de transmitancia) de $210 \mu g Mn/L$ cuando se usa una celda de 1 cm o $42 \mu g Mn/L$ cuando se usa una celda de 5 cm.

6.2. Equipos

Equipo colorimétrico: Se requiere uno de los siguientes:

- Espectrofotómetro,* para uso a 525 nm, que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más.
- Fotómetro de filtro,* que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más y está equipado con un filtro verde que tiene una transmisión máxima de cerca de 525 nm.
- Tubos de Nessler,* pareados, de 100 ml, de forma alta.

6.3. Reactivos

- Reactivo especial:* Disuelva 75 g de $HgSO_4$ en 400 ml de HNO_3 concentrado y 200 ml de agua destilada. Agregue 200 ml de ácido fosfórico al 85% (H_3PO_4) y 35 mg de nitrato de plata ($AgNO_3$). Diluir la solución enfriada a 1 L.
- Persulfato de amonio,* $[(NH_4)_2S_2O_8]$, sólido.
- Solución estándar de manganeso:* Prepare una solución 0.1N de permanganato de potasio ($KMnO_4$) disolviendo 3.2 g de $KMnO_4$ en agua destilada y enrasar hasta 1 L. Permanecer durante varias semanas en luz solar o calor durante varias horas cerca del punto de ebullición, luego filtre con una multa.

El filtro de vidrio esmerilado, crisol y se estandariza contra el oxalato de sodio de la siguiente manera:

Pesa varias muestras de 100 a 200 mg de $Na_2C_2O_4$ a 0,1 mg y transfírelas a vasos de precipitados de 400 ml. A cada vaso de precipitados, agregue 100 ml de agua destilada y revuelva para disolver. Añadir 10 ml de 1 + 1 H_2SO_4 y calentar rápidamente de 90 a 95 °C. Titule rápidamente con la solución de $KMnO_4$ que se estandarizará, mientras se agita, hasta un ligero color rosado de punto final que persiste durante al menos 1 minuto. No deje que la temperatura caiga por debajo de 85 °C. Si es necesario, calentar el contenido del vaso durante la titulación; 100 mg de $Na_2C_2O_4$ consumirán aproximadamente 15 ml de solución de permanganato. Ejecute un blanco en agua

MÉTODO DE ENSAYO

destilada y H₂SO₄.

$$\text{Normalidad de KMnO}_4 = \frac{\text{g Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}{(\text{A} - \text{B}) \times 0.06701}$$

Donde:

A = ml de valor para la muestra y

B = ml de valor para el blanco.

Resultados medios de varias titulaciones. Calcule el volumen de esta solución necesario para preparar 1 L de solución de modo que 1.00 ml = 50.0 µg Mn, de la siguiente manera:

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

A este volumen, agregue 2 a 3 ml de solución concentrada de H₂SO₄ y NaHSO₃ gota a gota, con agitación, hasta que desaparezca el color de permanganato. Hervir para eliminar el exceso de SO₂, enfriar y diluir hasta 1000 ml con agua destilada. Diluya esta solución aún más para medir pequeñas cantidades de manganeso.

- d. Solución estándar de manganeso (alternativa): Disolver 1.000 g de metal manganeso (99.8% min.) En 10 ml de HNO₃ redestilada. Diluir a 1000 ml con HCl al 1% (v/v); 1 ml=1.000 mg Mn. Diluir 10 ml a 200 ml con agua destilada; 1 ml=0.05 mg Mn. Prepare la solución diluida diariamente.
- e. *Peróxido de hidrógeno*, H₂O₂, 30%.
- f. *Ácido nítrico*, HNO₃, conc.
- g. *Ácido sulfúrico*, H₂SO₄, conc.
- h. *Solución de nitrito de sodio*: Disuelva 5.0 g de NaNO₂ en 95 ml de agua destilada.
- i. *Oxalato de sodio*, Na₂C₂O₄, estándar primario.
- j. *Bisulfito de sodio*: Disuelva 10 g de NaHSO₃ en 100 ml de agua destilada.

6.4. Procedimiento

- a. *Tratamiento de la muestra*: Si la muestra digerida se preparó de acuerdo con las instrucciones para reducir la materia orgánica y/o el exceso de cloruros, pipetee una porción que contenga de 0.05 a 2.0 mg Mn en un matraz cónico de 250 ml. Agregue agua destilada, si es necesario, a 90 ml y proceda como se indica en (b) a continuación.
- b. *A una porción de muestra adecuada*, agregue 5 ml de reactivo especial y 1 gota de H₂O₂. Concentrarse a 90 ml hirviendo o diluir a 90 ml. Añadir 1 g (NH₄)₂S₂O₈, llevar a ebullición y hervir durante 1 min. No calentar en un baño de agua. Retire de la fuente de calor, deje reposar 1 min, luego enfríe bajo el grifo. (Hervir demasiado tiempo da como

resultado la descomposición del exceso de persulfato y la subsiguiente pérdida de color de permanganato; el enfriamiento demasiado lento tiene el mismo efecto). Diluir a 100 ml con agua destilada sin sustancias reductoras y mezclar. Preparar estándares que contengan 0, 5.00, . . . 1500 μg Mn al tratar varias cantidades de solución estándar de Mn de la misma manera.

- c. *Comparación del tubo de Nessler:* Use estándares preparados como en el 5.4.b y que contengan de 5 a 100 μg de Mn/100 ml de volumen final. Compara muestras y estándares visualmente.
- d. *Determinación fotométrica:* Utilice una serie de estándares de 0 a 1500 μg de volumen final de Mn/100 ml. Realiza mediciones fotométricas contra un blanco de agua destilada. La siguiente tabla muestra la longitud de la trayectoria de luz apropiada para varias cantidades de manganeso en un volumen final de 100 ml:

Rango de Mn μg	Camino de luz cm
5 - 200	15
20 - 400	5
50 - 1000	2
100 - 1500	1

Prepare una curva de calibración de la concentración de manganeso frente a la absorbancia de los estándares y determine Mn en las muestras de la curva. Si hay turbidez o un color interferente, haga las correcciones como se indica en (e) a continuación.

- e. *Corrección por turbidez o color interferente:* Evite la filtración debido a la posible retención de algo de permanganato en el papel de filtro. Si se usa la comparación visual, solo se puede estimar el efecto de la turbidez y no se puede hacer ninguna corrección para los iones de color interferentes. Cuando se realicen mediciones fotométricas, use el siguiente método de "blanqueo", que también corrige el color que interfiere: Tan pronto como se haya realizado la lectura del fotómetro, agregue 0.05 ml de solución de H_2O_2 directamente a la muestra en la celda óptica. Mezcle y, tan pronto como el color de permanganato se haya desvanecido por completo y no queden burbujas, lea nuevamente. Deducir la absorbancia de la solución blanqueada de la absorbancia inicial para obtener la absorbancia debida a Mn.

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-08 Versión: 01 Página: 8 de 8
	MÉTODO DE ENSAYO	

6.5. Cálculos

- a. Cuando toda la muestra original se toma para el análisis:

$$\text{mg Mn/L} = \frac{\mu\text{g Mn}/100 \text{ mL}}{\text{mL muestra}} \times \frac{100}{\text{mL porción}}$$

- b. Cuando se toma una porción de la muestra digerida (volumen final de 100 mL) para análisis:

$$\text{mg Mn/L} = \frac{\mu\text{g Mn (en 100 mL del volumen final)}}{\text{mL muestra}}$$

6.6. Precisión y Tendencia

Una muestra sintética que contiene 120 µg Mn/L, 500 µg Al/L, 50 µg Cd/L, 110 µg Cr/L, 470 µg Cu/L, 300 µg Fe/L, 70 µg Pb/L, 150 µg Ag/L, y 650 µg de Zn/L en agua destilada se analizaron en 33 laboratorios por el método de persulfato, con una desviación estándar relativa de 26.3% y un error relativo de 0%. Una segunda muestra sintética, similar en todos los aspectos a excepción de 50 µg Mn/L y 1000 µg Cu/L, se analizó en 17 laboratorios por el método del persulfato, con una desviación estándar relativa de 50.3% y un error relativo de 7.2%.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS Y AGUAS</p>	<p>Código: MET-09 Versión: 01 Página: 1 de 6</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE SULFATOS POR EL MÉTODO TURBIDIMÉTRICO

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>  	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Grandá Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--



UNIDAD EJECUTORA 002
SERVICIOS DE SANEAMIENTO
TUMBES
UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD

**LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO
QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE
ALIMENTOS Y AGUAS**

MÉTODO DE ENSAYO

Código: MET-09

Versión: 01

Página: 2 de 6

CONTENIDO

- 1. OBJETIVO**
- 2. ALCANCE**
- 3. RESPONSABLE**
- 4. REFERENCIAS**
- 5. INTRODUCCION**
- 6. METODOLOGIA**
- 7. ANEXOS**

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS Y AGUAS</p>	<p>Código: MET-09 Versión: 01 Página: 3 de 6</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVOS

Establecer el Método turbidimétrico para determinar el contenido de sulfatos en muestras de agua para consumo humano, subterránea y superficial.

2. ALCANDE

El color o la materia suspendida en gran cantidad interfieren en la medición de sulfatos. Parte de la materia en suspensión puede ser eliminada por filtración. Si ambas interferencias son pequeñas en comparación con la concentración de sulfato, se procederá a corregirlas midiendo blancos a los que no se ha añadido BaCl_2 . Interfiere también un exceso de sílice superior a 500 mg/L y en aguas con gran cantidad de materia orgánica puede ser no posible precipitar BaSO_4 satisfactoriamente. La determinación de sulfatos se debe realizar a temperatura ambiente, pero es factible admitir una variación máxima de 10°C porque dicha variación no producirá errores apreciables.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500- SO_4^{2-} E. Turbidimetric Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Ocurrencia

El sulfato de presencia (SO_4^{2-}) está ampliamente distribuido en la naturaleza y puede estar presente en aguas naturales en concentraciones que van desde unos pocos hasta varios miles de miligramos por litro. Los desechos de drenaje de la mina pueden contribuir con grandes cantidades de SO_4^{2-} a través de la oxidación de pirita. El sulfato

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS Y AGUAS	Código: MET-09 Versión: 01 Página: 4 de 6
	MÉTODO DE ENSAYO	

de sodio y magnesio ejerce una acción catártica.

5.2. Selección del método

El método de cromatografía iónica y la electroforesis de iones capilar son adecuados para concentraciones de sulfato superiores a 0,1 mg/L. Los métodos gravimétricos (4500-SO₄²⁻.C y 4500-SO₄²⁻. D) son adecuados para concentraciones de SO₄²⁻ superiores a 10 mg/L. El método turbidimétrico (4500-SO₄²⁻.E) es aplicable en el rango de 1 a 40 mg SO₄²⁻/L. Los métodos automatizados de azul de metiltimol (4500-SO₄²⁻. F y G) son los procedimientos para analizar grandes cantidades de muestras de sulfato solo cuando el equipo está disponible; Se pueden analizar más de 30 muestras por hora. Los métodos C, D, F, G, sección 4110 o CIE (sección 4140) se prefieren para obtener resultados precisos.

5.3. Muestreo y almacenamiento

En presencia de materia orgánica, ciertas bacterias pueden reducir el SO₄²⁻ a S²⁻. Para evitar esto, almacenar las muestras a 4 °C.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

- a. *Principio:* el ion sulfato (SO₄²⁻) se precipita en un medio de ácido acético con cloruro de bario (BaCl₂) para formar cristales de sulfato de bario (BaSO₄) de tamaño uniforme. La absorbancia de luz de la suspensión de BaSO₄ se mide con un fotómetro y la concentración de SO₄²⁻ se determina mediante la comparación de la lectura con una curva estándar.
- b. *Interferencia:* Interferirá el color o la materia suspendida en grandes cantidades. Algunos materiales en suspensión se pueden eliminar por filtración. Si ambos son pequeños en comparación con la concentración de SO₄²⁻, corrija la interferencia. La sílice en exceso de 500 mg/L interferirá, y en aguas que contienen grandes cantidades de material orgánico puede que no sea posible precipitar BaSO₄ satisfactoriamente.

En aguas potables no hay otros iones aparte del SO₄²⁻, que formarán compuestos insolubles con bario en condiciones fuertemente ácidas. Hacer la determinación a temperatura ambiente; la variación en un rango de 10 °C no causará un error apreciable.
- c. *Concentración mínima detectable:* aproximadamente 1 mg SO₄²⁻/L.

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS Y AGUAS	Código: MET-09 Versión: 01 Página: 5 de 6
	MÉTODO DE ENSAYO	

6.2. Equipos

- a. *Agitador magnético*: Utilice una velocidad de agitación constante. Es conveniente incorporar una resistencia fija en serie con el motor que opera el agitador magnético para regular la velocidad de agitación. Utilice imanes de forma y tamaño idénticos. La velocidad exacta de la agitación no es crítica, pero manténgala constante para cada serie de muestras y estándares y ajústela para evitar salpicaduras.
- b. *Fotómetro*: Se requiere uno de los siguientes, con preferencia en el orden dado:
 - 1) Nefelómetro.
 - 2) Espectrofotómetro, para uso a 420 nm, que proporciona una trayectoria de luz de 2,5 a 10 cm.
 - 3) Fotómetro de filtro, equipado con un filtro violeta que tiene una transmisión máxima de cerca de 420 nm y proporciona una trayectoria de luz de 2,5 a 10 cm.
- c. *Cronómetro o temporizador eléctrico*.
- d. *Cuchara medidora*, capacidad 0,2 a 0,3 mL.

6.3. Reactivos

- a. *Solución buffer A*: disuelva 30 g de cloruro de magnesio, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5 g de acetato de sodio, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, 1,0 g de nitrato de potasio, KNO_3 y 20 mL de ácido acético, CH_3COOH (99%), en 500 mL de agua destilada y completar a 1000 mL.
- b. *Solución buffer B* (requerida cuando la concentración de la muestra de SO_4^{2-} es inferior a 10 mg/L): Disuelva 30 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5 g de $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, 1,0 g de KNO_3 , 0,111 g de sulfato de sodio, Na_2SO_4 y 20 mL de ácido acético (99%) en 500 mL de agua destilada y completar hasta 1000 mL.
- c. Cloruro de bario, $BaCl_2$, cristales, malla 20 a 30. En la estandarización, se produce una turbidez uniforme con este rango de malla y el buffer apropiado.
- d. *Solución estándar de sulfato*: Prepare una solución estándar de sulfato como se describe en 1) o 2) a continuación; 1.00 mL = 100 μg de SO_4^{2-} .
 - 1) Diluir 10,4 mL de titulador de H_2SO_4 estándar de 0.0200N especificado en Alcalinidad, Sección 2320B.3c, a 100 mL con agua destilada.
 - 2) Disolver 0.1479 g de Na_2SO_4 anhidro en agua destilada y diluir hasta 1000 mL.

6.4. Procedimiento

- a. *Formación de turbidez de sulfato de bario*: Mida una muestra de 100 mL, o una porción adecuada de hasta 100 mL, en un matraz erlenmeyer de 250 mL. Añadir 20 mL de

solución buffer y mezclar en un aparato de agitación. Mientras agita, agregue una cucharada de cristales de BaCl_2 y comience a cronometrar de inmediato. Agitar durante 60 ± 2 s a velocidad constante.

- b. *Medición de la turbidez del sulfato de bario:* Una vez finalizado el período de agitación, verter la solución en la celda de absorción del fotómetro y medir la turbidez a $5 \pm 0,5$ min.
- c. *Preparación de la curva de calibración:* Estime la concentración de SO_4^{2-} en la muestra comparando la lectura de turbidez con una curva de calibración preparada llevando las normas SO_4^{2-} a través de todo el procedimiento. Los estándares de espacio en incrementos de 5 mg/L en el rango de 0 a 40 mg/L SO_4^{2-} . Por encima de 40 mg/L, la precisión disminuye y las suspensiones de BaSO_4 pierden estabilidad. Verifique la confiabilidad de la curva de calibración ejecutando un estándar con cada tres o cuatro muestras.
- d. *Corrección del color y la turbidez de la muestra:* Corrija el color y la turbidez de la muestra ejecutando espacios en blanco a los que no se agrega BaCl_2 .

6.5. Cálculos

$$\text{mg SO}_4^{2-}/\text{L} = \frac{\text{mg SO}_4^{2-} \times 1000}{\text{mL muestra}}$$

Si se usó la solución buffer A, determine la concentración de SO_4^{2-} directamente de la curva de calibración después de restar la absorbancia de la muestra antes de agregar BaCl_2 . Si se usó la solución buffer B, reste la concentración de SO_4^{2-} en blanco de la concentración aparente de SO_4^{2-} como se determinó anteriormente; Debido a que la curva de calibración no es una línea recta, esto no es equivalente a restar la absorbancia en blanco de la absorbancia de la muestra.

6.6. Precisión y Tendencia

Con un turbidímetro,* en un solo laboratorio con una muestra con una media de 7.45 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$, se obtuvo una desviación estándar de 0.13 mg/L y un coeficiente de variación de 1.7%. Dos muestras dosificadas con sulfato dieron recuperaciones de 85 y 91%.

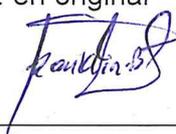
*Hach 2100 A.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-10 Versión: 01 Página: 1 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE HIERRO POR EL MÉTODO DE LA FENANTROLINA

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

1. OBJETIVOS

Establecer el Método de la fenantrolina para determinar el contenido de hierro en muestras de agua.

2. ALCANDE

Este método es aplicable para determinar la concentración de hierro en cualquier tipo de agua.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 3500-Fe B. Phenanthroline Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Ocurrencia y significado

El hierro (Fe) es el primer elemento en el Grupo VIII de la tabla periódica; tiene un número atómico de 26, un peso atómico de 55.85 y valencias comunes de 2 y 3 (y ocasionalmente valencias de 1, 4 y 6). La abundancia promedio de Fe en la corteza terrestre es de 6.22%; en suelos los rangos de Fe van de 0.5 a 4.3%; en arroyos promedia cerca de 0.7 mg/L; y en aguas subterráneas es de 0.1 a 10 mg/L. El hierro se encuentra en los minerales hematita, magnetita, taconita y pirita. Es ampliamente utilizado en acero y en otras aleaciones.

La solubilidad del ion ferroso (Fe^{2+}) está controlada por la concentración de carbonato. Debido a que el agua subterránea a menudo es anóxica, cualquier hierro soluble en el agua subterránea generalmente se encuentra en estado ferroso. En la exposición al aire

o la adición de oxidantes, el hierro ferroso se oxida al estado férrico (Fe^{3+}) y puede hidrolizarse para formar un óxido férrico hidratado, insoluble, rojo. En ausencia de iones formadores de complejos, el hierro férrico no es significativamente soluble a menos que el pH sea muy bajo.

Los niveles elevados de hierro en el agua pueden causar manchas en la plomería, lavandería y utensilios de cocina, y pueden impartir sabores y colores objetables a los alimentos. El nivel recomendado para las aguas de riego de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura es de 5 mg/L. El MCL estándar de agua potable secundaria de la EPA de EE.UU. es de 0,3 mg/l.

5.2. Selección del método

Los límites de sensibilidad y detección para los métodos de espectrometría de absorción atómica, el método de plasma acoplado inductivamente y el procedimiento colorimétrico de fenantrolina descrito aquí son similares y generalmente adecuados para el análisis natural o aguas tratadas. Se pueden lograr niveles de detección más bajos con la espectrometría de absorción atómica electrotrémica cuando se usa un modificador de matriz apropiado. Los reactivos complejantes utilizados en los procedimientos colorimétricos son específicos para el hierro ferroso, pero los procedimientos de absorción atómica no lo son. Sin embargo, debido a la inestabilidad del hierro ferroso, que se cambia fácilmente a la forma férrica en soluciones en contacto con el aire, la determinación del hierro ferroso requiere precauciones especiales y es posible que deba realizarse en el campo al momento de la recolección de la muestra.

El procedimiento para determinar el hierro ferroso usando 1,10-fenantrolina tiene una aplicabilidad algo limitada; Evite el largo tiempo de almacenamiento o la exposición de las muestras a la luz. Se puede obtener una distinción cuantitativa rigurosa entre el hierro ferroso y el hierro férrico con un procedimiento especial usando bathophenanthroline. Los métodos espectrofotométricos que usan bathophenanthroline y otros reactivos de complejación orgánicos como la ferrozina o TPTZ son capaces de determinar concentraciones de hierro tan bajas como 1 $\mu\text{g/L}$. Se afirma que un procedimiento de quimioluminiscencia tiene un límite de detección de 5 ng/L. Los procedimientos adicionales se describen en otra parte.

5.3. Muestreo y almacenamiento

Planifique por adelantado los métodos de recolección, almacenamiento y tratamiento

previo de las muestras. Limpie el recipiente de la muestra con ácido y enjuague con agua reactiva. El equipo para la filtración con membrana de muestras en el campo puede ser requerido para determinar el hierro en solución (hierro disuelto). El hierro disuelto, considerado como el paso a través de un filtro de membrana de 0,45 μm , puede incluir hierro coloidal. El valor de la determinación depende en gran medida del cuidado que se tome para obtener una muestra representativa. Las muestras de hierro en pozo o agua del grifo pueden variar en concentración y forma con la duración y el grado de enjuague antes y durante el muestreo. Al tomar una porción de muestra para determinar el hierro en suspensión, agite el frasco de muestra con frecuencia y vigorosamente para obtener una suspensión uniforme de hierro precipitado. Tenga especial cuidado cuando el hierro coloidal se adhiere a la botella de muestra. Este problema puede ser agudo con botellas de plástico.

Para una determinación precisa de hierro total, use un recipiente separado para la recolección de muestras. Trate con ácido en el momento de la recolección para colocar el hierro en la solución y evitar la adsorción o la deposición en las paredes del recipiente de la muestra. Tenga en cuenta el ácido agregado en las porciones de medición para el análisis. La adición de ácido a la muestra puede eliminar la necesidad de agregar ácido antes de la digestión.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

- a. *Principio:* El hierro se pone en solución, se reduce al estado ferroso hirviéndolo con ácido e hidroxilamina y se trata con 1,10-fenantrolina a un pH de 3.2 a 3.3. Tres moléculas de fenantrolina quelante cada átomo de hierro ferroso para formar un complejo naranja-rojo. La solución coloreada obedece a la ley de Beer's; su intensidad es independiente del pH de 3 a 9. Un pH entre 2,9 y 3,5 asegura un rápido desarrollo del color en presencia de un exceso de fenantrolina. Los estándares de color son estables durante al menos 6 meses.
- b. *Interferencia:* Entre las sustancias interferentes se encuentran los agentes oxidantes fuertes, el cianuro, el nitrito y los fosfatos (polifosfatos más que el ortofosfato), el cromo, el zinc en concentraciones superiores a 10 veces la del hierro, el cobalto y el cobre en exceso de 5 mg/L y el níquel en exceso de 2 mg/L. Bismuto, cadmio, mercurio, molibdato y plata precipitan la fenantrolina. La ebullición inicial con ácido convierte las polifosfatos en ortofosfatos y elimina el cianuro y el nitrito que de otra manera interferirían. Agregar exceso de hidroxilamina elimina los errores causados por concentraciones excesivas de

reactivos oxidantes fuertes. En presencia de iones metálicos interferentes, use un exceso mayor de fenantrolina para reemplazar el complejo por los metales interferentes. Cuando hay concentraciones excesivas de iones metálicos interferentes, se puede utilizar el método de extracción. Si hay cantidades visibles de color o materia orgánica, puede ser necesario evaporar la muestra, moler suavemente el residuo y disolverlo en ácido. La incineración se puede realizar en crisoles de sílice, porcelana o platino que se han hervido durante varias horas en HCl 6N. La presencia de cantidades excesivas de materia orgánica puede requerir la digestión antes del uso del procedimiento de extracción.

- c. *Concentración mínima detectable:* Las concentraciones disueltas o totales de hierro tan bajas como 10 µg/L se pueden determinar con un espectrofotómetro usando celdas con una trayectoria de luz de 5 cm o más. Lleve un espacio en blanco durante todo el procedimiento para permitir la corrección.

6.2. Equipos

- a. *Equipo colorimétrico:* se requiere uno de los siguientes:

- 1) Espectrofotómetro, para uso a 510 nm, que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más.
- 2) Fotómetro de filtro, que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más y está equipado con un filtro verde que tiene una transmisión máxima de cerca de 510 nm.
- 3) Tubos de Nessler, pareados, de 100 ml, de forma alta

- b. *Cristalería lavada con ácido:* lave toda la cristalería con ácido clorhídrico concentrado (HCl) y enjuáguela con agua reactiva antes de usarla para eliminar los depósitos de óxido de hierro.

- c. *Embudos de separación:* 125 ml, forma Squibb, con llaves de paso y tapones de vidrio esmerilado o TFE.

6.3. Reactivos

Use reactivos bajos en hierro. Use agua reactiva en la preparación de estándares y soluciones de reactivos y en el procedimiento. Almacenar los reactivos en frascos con tapón de vidrio. Las soluciones de HCl y acetato de amonio son estables indefinidamente si se cierran herméticamente. Las soluciones de hidroxilamina, fenantrolina y hierro común son estables durante varios meses. Las soluciones de hierro estándar no son estables; Preparar diariamente según sea necesario diluyendo la solución madre. Los estándares visuales en los tubos de nessler son estables durante varios meses si se sellan y protegen

MÉTODO DE ENSAYO

de la luz.

- a. *Ácido clorhídrico*, HCl, concentrado, que contiene menos de 0.5 ppm de hierro.
- b. *Solución de hidroxilamina*: disolver 10 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 100 ml de agua.
- c. *Solución buffer de acetato de amonio*: disolver 250 g de $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ en 150 ml de agua. Añadir 700 ml de ácido acético (glacial) concentrado. Debido a que incluso un buen grado de $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ contiene una cantidad significativa de hierro, prepare nuevos estándares de referencia con cada preparación de buffer.
- d. *Solución de acetato de sodio*: disolver 200 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en 800 ml de agua.
- e. *Solución de fenantrolina*: disuelva 100 mg de monohidrato de 1,10-fenantrolina, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, en 100 ml de agua, agitando y calentando a 80 °C. No hervir. Deseche la solución si se oscurece. El calentamiento no es necesario si se agregan 2 gotas de HCl concentrado al agua. (NOTA: Un mililitro de este reactivo es suficiente para no más de 100 µg de Fe.)
- f. *Permanganato de potasio, 0.02M*: disolver 0.316 KMnO_4 en agua reactiva y diluir hasta 100 ml.
- g. *Solución de hierro común*: use metal (1) o sal (2) para preparar la solución madre.
 - 1) Use alambre de hierro electrolítico, o "alambre de hierro para estandarizar", para preparar la solución. Si es necesario, limpie el alambre con papel de lija fino para eliminar cualquier recubrimiento de óxido y producir una superficie brillante. Pese 200.0 mg de alambre y colóquelo en un matraz volumétrico de 1000 ml. Disolver en 20 ml de ácido sulfúrico 6N (H_2SO_4) y diluir para marcar con agua; 1.00 ml = 200 µg de Fe.
 - 2) Si se prefiere sulfato de amonio ferroso, añada lentamente 20 ml de H_2SO_4 concentrado a 50 ml de agua y disuelva 1.404 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Agregue lentamente permanganato de potasio (sección 5.3f, líneas arriba) hasta que persista un color rosado pálido. Agregue los últimos mililitros de la solución gota a gota. Se requerirán aproximadamente 50 ml de permanganato de potasio. Diluir a 1000 mL con agua y mezclar; 1.00 ml = 200 µg de Fe.
- h. *Soluciones de hierro estándar*: prepárese diariamente para su uso.
 - 1) Pipetear 50,00 ml de solución madre en un matraz aforado de 1000 ml y diluir para marcar con agua; 1.00 ml=10.0 µg de Fe.
 - 2) Pipetear 5,00 ml de solución madre en un matraz aforado de 1000 ml y diluir para marcar con agua; 1.00 ml=1.00 µg de Fe.
- i. Diisopropil o isopropil éter. **PRECAUCIÓN: Los éteres pueden formar peróxidos**

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-10 Versión: 01 Página: 8 de 12
	MÉTODO DE ENSAYO	

explosivos; prueba antes de usar.

6.4. Procedimiento

- a. *Hierro total:* mezcle bien la muestra y mida 50,0 ml en un matraz erlenmeyer de 125 ml. Si este volumen de muestra contiene más de 200 µg de hierro, use una porción más pequeña medida con precisión y diluya a 50.0 ml. Añadir 2 ml de HCl concentrado y 1 mL de solución de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$. Añadir unas cuantas perlas de vidrio y calentar a ebullición. Para asegurar la disolución de todo el hierro, continúe hirviendo hasta que el volumen se reduzca a 15 a 20 ml. (Si la muestra está descascarada, retire el residuo en 2 ml de HCl concentrado y 5 ml de agua). Enfríe a temperatura ambiente y transfiera a un matraz o tubo nessler volumétrico de 50 o 100 ml. Agregue 10 ml de solución buffer $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ y 4 ml de solución de fenantrolina, y diluya para marcar con agua. Mezcle bien y deje un mínimo de 10 minutos para obtener el máximo desarrollo de color.
- b. *Hierro disuelto:* Inmediatamente después de la recolección, filtre la muestra a través de un filtro de membrana de 0.45 µm en un matraz de vacío que contenga 1 ml de HCl concentrado/100 ml de muestra. Analice el filtrado para el hierro total disuelto (5.4a arriba) y/o el hierro ferroso disuelto (5.4c abajo). (Este procedimiento también se puede usar en el laboratorio si se entiende que la exposición normal de la muestra al aire durante el envío puede ocasionar la precipitación de hierro). Calcule el hierro suspendido restando el hierro disuelto.
- c. *Hierro ferroso:* Determine el hierro ferroso en el sitio de muestreo debido a la posibilidad de un cambio en la relación ferroso-férrica con el tiempo en soluciones ácidas. Para determinar solo hierro ferroso, acidifique una muestra separada con 2 ml de HCl concentrado/100 ml de muestra al momento de la recolección. Llene la botella directamente desde la fuente de muestreo y el tapón. Inmediatamente retire una porción de 50 ml de muestra acidificada y agregue 20 ml de solución de fenantrolina y 10 ml de solución de $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ con agitación vigorosa. Diluya a 100 ml y mida la intensidad del color entre 5 y 10 minutos. No exponer a la luz solar. (El desarrollo de color es rápido en presencia de un exceso de fenantrolina. El volumen de fenantrolina dado es adecuado para menos de 50 µg de hierro total; si hay cantidades mayores, use un volumen correspondientemente mayor de fenantrolina o un reactivo más concentrado). Calcule el hierro férrico mediante restando ferroso del hierro total.
- d. *Medición de color:* prepare una serie de estándares pipeteando con precisión volúmenes calculados de soluciones de hierro estándar [use la solución descrita en el 5.3h2) para

MÉTODO DE ENSAYO

medir porciones de 1 a 10 μg] en matraces erlenmeyer de 125 ml, diluyendo hasta 50 ml agregando volúmenes medidos de agua, agregue 2 ml de HCl concentrado y 1 ml de solución de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$. Realice los pasos en el punto 5.4a anterior, comenzando con la transferencia a un matraz volumétrico de 100 ml o un tubo Nessler.

Para una comparación visual, prepare un conjunto de al menos 10 estándares, con un rango de 1 a 100 μg de Fe en el volumen final de 100 ml. Compare los colores en tubos de nessler de forma alta de 100 ml.

TABLA 3500-Fe: I. Selección de la longitud de la trayectoria de la luz para varias concentraciones de hierro.

$\mu\text{g Fe}$		
50 ml Volumen final	100 ml Volumen final	Trayectoria de luz cm
50 - 200	100 - 400	1
25 - 100	50 - 200	2
10 - 40	20 - 80	5
5 - 20	10 - 40	10

Para la medición fotométrica, use la Tabla 3500-Fe: I como una guía aproximada para seleccionar la trayectoria de luz adecuada a 510 nm. Lea las normas contra el agua fijada a cero absorbancias y trace una curva de calibración, incluyendo un espacio en blanco.

Si las muestras son de color o turbias, lleve un segundo conjunto de muestras a través de todos los pasos del procedimiento sin agregar fenantrolina. En lugar de agua, use los espacios en blanco preparados para ajustar el fotómetro a cero de absorbancia y lea cada muestra desarrollada con fenantrolina contra el blanco correspondiente sin fenantrolina.

Convierta las lecturas del fotómetro en valores de hierro mediante la curva de calibración. Este procedimiento no compensa los iones interferentes.

e. *Muestras que contienen interferencias orgánicas:* Muestre muestras que contengan cantidades sustanciales de sustancias orgánicas de acuerdo con las instrucciones dadas.

- 1) Si una muestra digerida se preparó de acuerdo con las instrucciones dadas, pipetee 10.0 ml u otra porción adecuada que contenga de 20 a 500 μg de Fe en un embudo de separación de 125 ml. Si el volumen tomado es inferior a 10 ml, agregue agua para completar hasta 10 ml. Al embudo de separación, agregue 15 ml de HCl concentrado para un volumen acuoso de 10 ml; o, si la porción tomada fue mayor que 10.0 ml, agregue 1.5 ml de HCl concentrado/ml de muestra. Mezcle, enfríe y continúe con 5.4e3) a continuación.
- 2) Para preparar una muestra únicamente para determinar el hierro, mida un volumen

MÉTODO DE ENSAYO

adecuado que contenga 20 a 500 μg de Fe y llévelo a través del procedimiento de digestión. Sin embargo, use solo 5 ml de H_2SO_4 o HClO_4 y omita H_2O_2 . Una vez completada la digestión, enfríe, diluya con 10 ml de agua, caliente casi a ebullición para disolver las sales lentamente solubles y, si la muestra aún está turbia, filtre a través de un filtro de fibra de vidrio, vidrio sinterizado o porcelana, lavando con 2 a 3 ml de agua. Transfiera cuantitativamente el filtrado o la solución transparente a un matraz aforado de 25 ml y complete hasta 25 ml con agua. Vacíe el matraz en un embudo de separación de 125 ml, enjuáguelo con 5 ml de HCl concentrado y añádalo al embudo. Añadir 25 ml de HCl concentrado medido con el mismo matraz. Mezclar y enfriar a temperatura ambiente.

- 3) Extraiga el hierro de la solución de HCl en el embudo de separación agitando durante 30 s con 25 ml de éter isopropílico (**PRECAUCIÓN**). Retirar la capa de ácido inferior en un segundo embudo de separación. Extraiga nuevamente la solución de ácido con 25 ml de éter isopropílico, drene la capa de ácido en un recipiente limpio adecuado y agregue la capa de éter al éter en el primer embudo. Vierta la capa de ácido de nuevo en el segundo embudo de separación y vuelva a extraer con 25 ml de éter isopropílico. Retire y deseche la capa de ácido y agregue la capa de éter al primer embudo. La persistencia de un color amarillo en la solución de HCl después de tres extracciones no significa una separación incompleta de hierro porque el cobre, que no se extrae, da un color amarillo similar.

Agitar los extractos de éter combinados con 25 ml de agua para devolver el hierro a la fase acuosa y transferir la capa acuosa inferior a un matraz volumétrico de 100 ml. Repita la extracción con una segunda porción de agua de 25 ml, agregando esto al primer extracto acuoso. Desechar la capa de éter.

- 4) Agregue 1 ml de solución de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 10 ml de solución de fenantrolina y 10 ml de solución de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$. Diluir a 100 ml con agua, mezclar bien y dejar reposar durante un mínimo de 10 minutos. Mida la absorbancia a 510 nm utilizando una celda de absorción de 5 cm para cantidades de hierro de menos de 100 μg o 1 cm de celda para cantidades de 100 a 500 μg . Como referencia, use agua o un blanco de muestra preparado llevando las cantidades especificadas de ácidos a través de todo el procedimiento analítico. Si se usa agua como referencia, corrija la absorbancia de la muestra restando la absorbancia de una muestra en blanco.

Determine los microgramos de hierro en la muestra a partir de la absorbancia (corregida, si es necesario) por referencia a la curva de calibración preparada

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-10 Versión: 01 Página: 11 de 12</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

utilizando un rango adecuado de estándares de hierro que contengan las mismas cantidades de fenantrolina, hidroxilamina y acetato de sodio como muestra.

6.5. Cálculos

Cuando la muestra ha sido tratada de acuerdo con 3500-Fe.B.4a, b, c o 5.4e2):

$$mg Fe/L = \frac{\mu g Fe (en 100 mL de volumen final)}{mL de muestra}$$

Cuando la muestra ha sido tratada de acuerdo con el 5.4e1):

$$mg Fe/L = \frac{\mu g Fe (en 100 mL de volumen final)}{mL de muestra} \times \frac{100}{porción de mL}$$

Informe los detalles de la recolección, almacenamiento y tratamiento previo de la muestra si son pertinentes para la interpretación de los resultados.

6.6. Precisión y sesgo

La precisión y el sesgo dependen del método de recolección y almacenamiento de la muestra, del método de medición del color, de la concentración de hierro y de la presencia de color interferente, turbidez e iones extraños. En general, la fiabilidad óptima de la comparación visual en los tubos de nessler no es superior al 5% y, a menudo, solo al 10%, mientras que, en condiciones óptimas, la medición fotométrica puede ser confiable al 3% o 3 μg , lo que sea mayor. El límite de sensibilidad para la observación visual en los tubos de nessler es de aproximadamente 1 μg de Fe. La variabilidad y la inestabilidad de la muestra pueden afectar la precisión y el sesgo de esta determinación más que los errores de análisis. Se han encontrado divergencias graves en los informes de diferentes laboratorios debido a las variaciones en los métodos de recolección y tratamiento de muestras.

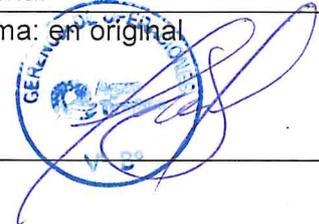
Una muestra sintética que contiene 300 μg Fe/L, 500 μg Al/L, 50 μg Cd/L, 110 μg Cr/L, 470 μg Cu/L, 70 μg Pb/L, 120 μg Mn/L, 150 μg Ag/L, y se analizaron 650 μg de Zn/L en agua destilada en 44 laboratorios mediante el método de la fenantrolina, con una desviación estándar relativa del 25,5% y un error relativo del 13,3%.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

MÉTODO DE ENSAYO

**DETERMINACIÓN DE CLORURO POR EL MÉTODO
ARGENTOMÉTRICO**

Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre Fecha: 03/01/2024 Firma: en original 	Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay Fecha: Firma: en original 	Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune Fecha: Firma: en original
--	---	---

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-11 Versión: 01 Página: 3 de 6</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVOS

Desarrollar el Método argentométrico para la determinación de Cloruros en aguas. El cloruro, en forma de ión (Cl^-), es uno de los aniones inorgánicos principales en el agua natural y residual.

2. ALCANCE

Determinación de cloruros en aguas con poco color y/o turbidez.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500-Cl⁻ B. Argentometric Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Ocurrencia

El cloruro, en forma de cloruro (Cl^-), es uno de los principales aniones inorgánicos en el agua y las aguas residuales. El sabor salado producido por las concentraciones de cloruro es variable y depende de la composición química del agua. Algunas aguas que contienen 250 mg de Cl^-/L pueden tener un sabor salado detectable si el catión es sodio. Por otro lado, el sabor salado típico puede estar ausente en aguas que contienen tanto como 1000 mg/L cuando los cationes predominantes son el calcio y el magnesio.

La concentración de cloruro es mayor en las aguas residuales que en el agua cruda porque el cloruro de sodio (NaCl) es un artículo común de la dieta y pasa sin cambios a través del sistema digestivo. A lo largo de la costa del mar, el cloruro puede estar

presente en altas concentraciones debido a la filtración de agua salada en el sistema de alcantarillado. También puede incrementarse por procesos industriales.

Un alto contenido de cloruro puede dañar las tuberías y estructuras metálicas, así como las plantas en crecimiento.

5.2. Selección del método

Se presentan seis métodos para la determinación del cloruro. Debido a que los dos primeros son similares en la mayoría de los aspectos, la selección es en gran medida una cuestión de preferencia personal. El método argentométrico (4500-Cl⁻. B) es adecuado para su uso en aguas relativamente claras cuando hay 0,15 a 10 mg de Cl⁻ en la porción titulada. El punto final del método de nitrato mercúrico es más fácil de detectar. El método potenciométrico es adecuado para muestras coloreadas o turbias en las que los puntos finales con colores indicados pueden ser difíciles de observar. El método potenciométrico se puede usar sin una etapa de pretratamiento para muestras que contienen iones férricos (si no están presentes en una cantidad mayor que la concentración de cloruro), cromo, fosfato y ferrosos y otros iones de metales pesados. El método ferricianuro es una técnica automatizada. El análisis de inyección de flujo, una técnica colorimétrica automatizada, es útil para analizar grandes cantidades de muestras. Preferiblemente, determinar el cloruro por cromatografía iónica. El cloruro también puede determinarse mediante el método de electroforesis de iones capilares.

5.3. Muestreo y almacenamiento

Recoja muestras representativas en botellas de vidrio o plástico limpias y químicamente resistentes. La porción máxima de muestra requerida es de 100 mL. No es necesario ningún conservante especial si la muestra se va a almacenar.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión general

- a. *Principio:* en una solución neutra o ligeramente alcalina, el cromato de potasio puede indicar el punto final de la valoración de cloruro de nitrato de plata. El cloruro de plata se precipita cuantitativamente antes de que se forme el cromato de plata rojo.
- b. *Interferencia:* las sustancias en cantidades que normalmente se encuentran en aguas potables no interferirán. El registro de bromuro, yoduro y cianuro como concentraciones de cloruro equivalentes. Los iones sulfuro, tiosulfato y sulfito interfieren, pero pueden

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-11 Versión: 01 Página: 5 de 6
	MÉTODO DE ENSAYO	

eliminarse por tratamiento con peróxido de hidrógeno. El ortofosfato en exceso de 25 mg/L interfiere precipitándose como fosfato de plata. El hierro en exceso de 10 mg/L interfiere al enmascarar el punto final.

6.2. Equipos

- a. Matraz erlenmeyer, 250 ml.
- b. Bureta, 50 ml.

6.3. Reactivos

- a. *Solución indicadora de cromato de potasio*: disuelva 50 g de K_2CrO_4 en un poco de agua destilada. Agregue la solución de $AgNO_3$ hasta que se forme un precipitado rojo definido; Dejar reposar 12 h, filtrar y diluir a 1 L con agua destilada.
- b. *Valorante de nitrato de plata estándar, 0.0141M (0.0141N)*: disolver 2.395 g de $AgNO_3$ en agua destilada y diluir hasta 1000 mL. Estandarice contra NaCl mediante el procedimiento descrito en el 5.4b; 1.00 mL = 500 μg Cl^- . Almacenar en una botella marrón.
- c. *Cloruro de sodio estándar, 0.0141M (0.0141N)*: disolver 824.0 mg de NaCl (secado a 140 °C) en agua destilada y diluir hasta 1000 mL; 1.00 mL = 500 μg Cl^- .
- d. *Reactivos especiales para la eliminación de interferencias*:
 - 1) *Suspensión de hidróxido de aluminio*: disuelva 125 g de sulfato de aluminio y potasio o sulfato de aluminio y amonio, $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ o $AlNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, en 1 L de agua destilada. Calentar a 60 °C y agregar 55 mL de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH) lentamente con agitación. Dejar reposar alrededor de 1 h, transferir a una botella grande y lavar el precipitado mediante adiciones sucesivas, mezclando y decantando con agua destilada hasta que esté libre de cloruro. Cuando está recién preparada, la suspensión ocupa un volumen de aproximadamente 1 L.
 - 2) *Solución indicadora de fenolftaleína*.
 - 3) *Hidróxido de sodio, NaOH, 1N*.
 - 4) *Ácido sulfúrico, H_2SO_4 , 1N*.
 - 5) *Peróxido de hidrógeno, H_2O_2 , 30%*

6.4. Procedimiento

- a. *Preparación de la muestra*: Use una muestra de 100 ml o una porción adecuada diluida

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-11 Versión: 01 Página: 6 de 6</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

a 100 mL. Si la muestra es altamente coloreada, agregue 3 ml de suspensión de $Al(OH)_3$, mezcle, deje reposar y filtre. Si hay sulfuro, sulfito o tiosulfato, agregue 1 ml de H_2O_2 y agite durante 1 minuto.

- b. *Titulación:* Titule las muestras directamente en el rango de pH de 7 a 10. Ajuste el pH de la muestra de 7 a 10 con H_2SO_4 o $NaOH$ si no está en este rango. Para el ajuste, utilice preferentemente un medidor de pH con un electrodo de referencia que no sea de tipo cloruro. (Si solo está disponible un electrodo de tipo cloruro, determine la cantidad de ácido o álcali necesaria para el ajuste y deseche esta porción de muestra. Trate una porción separada con el ácido o álcali requerido y continúe el análisis). Agregue 1,0 ml de solución indicadora de K_2CrO_4 . Valorar con un valorante de $AgNO_3$ estándar hasta un punto final amarillo rosado. Sea consistente en el reconocimiento del punto final. Estandarice el valorante de $AgNO_3$ y establezca el valor en blanco del reactivo mediante el método de valoración descrito anteriormente. Es habitual un blanco de 0,2 a 0,3 ml.

6.5. Cálculos

$$mg Cl^- / L = \frac{(A - B) \times N \times 35450}{mL \text{ muestra}}$$

Donde:

A = Titulación de ml para la muestra,

B = Titulación de ml para el blanco y

N = Normalidad de $AgNO_3$.

$$mg \frac{NaCl}{L} = (mg Cl^- / L) \times 1.65$$

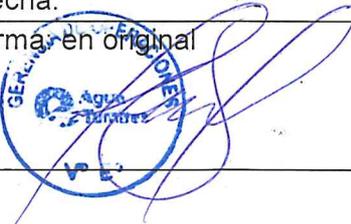
6.6. Precisión y sesgo

Una muestra sintética que contiene 241 mg Cl^-/L , 108 mg Ca/L , 82 mg Mg/L ; 3.1 mg K/L , 19.9 mg Na/L , 1.1 mg $NO_3^- - N/L$, 0.25 mg $NO_2^- - N/L$, 259 mg SO_4^{2-}/L , y 42.5 mg alcalinidad total/L (contribuido por $NaHCO_3$) en El agua destilada se analizó en 41 laboratorios por el método argentométrico, con una desviación estándar relativa de 4.2% y un error relativo de 1.7%.

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

**DETERMINACIÓN DE NITRATOS POR EL MÉTODO DE
DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA
ULTRAVIOLETA**

Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre Fecha: 03/01/2024 Firma: en original 	Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay Fecha: Firma: en original 	Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune Fecha: Firma: en original
--	---	---

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

1. OBJETIVOS

Establecer el método para determinar el contenido de nitratos (NO_3^-) en agua para consumo humano mediante la detección espectrofotométrica ultravioleta.

2. ALCANCE

La medición de la absorción de la luz en el rango ultravioleta (UV). A la longitud de onda de 220 nm permite la determinación de nitratos. La curva de calibración de NO_3^- sigue la ley de Beer's hasta 11 mg N/L. Debido a que la materia orgánica disuelta también absorbe a 220 nm se debe efectuar una segunda medición a 275 nm para corregir el valor debido a la absorción de la materia orgánica, ya que el NO_3^- no absorbe a 275 nm. El alcance de esta corrección empírica esta relacionada con la naturaleza y con la concentración de la materia orgánica y puede variar de un tipo de agua a otra.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 4500- NO_3^- B. Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method".

5. INTRODUCCION

5.1. Selección del método

La determinación de nitrato (NO_3^-) puede ser difícil debido a la alta probabilidad de que los constituyentes interferentes estén presentes en varias matrices. Esta sección incluye numerosos métodos que se pueden utilizar para NO_3^- . Seleccione los métodos después de considerar las ventajas y limitaciones de cada uno. La consideración de un método debe incluir matriz de muestra, rango de concentración y necesidades de datos para la

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-12 Versión: 01 Página: 4 de 8</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

aplicación particular.

La técnica de luz ultravioleta (UV), que mide la absorbancia de NO_3^- a 220 nm, es adecuada para detectar agua no contaminada (baja en materia orgánica).

Seleccione una muestra si es necesario, luego seleccione un método adecuado para su rango de concentración e interferencias probables. El nitrato se puede determinar mediante cromatografía iónica, electroforesis de iones capilares, o los métodos que se muestran aquí. Los rangos aplicables para los métodos en esta sección son:

- 0,2 - 11 mg de nitrato-nitrógeno ($\text{NO}_3\text{-N}$)/L [Método espectrofotométrico ultravioleta (4500- NO_3^- .B)]
- 0.5 - 2.5 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /L [Segundo método de detección de rayos ultravioleta derivados (4500 - NO_3^- .C)]
- 1 - 50 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /L [Método del electrodo de nitrato (4500- NO_3^- . D)]
- 0,05 - 1,0 mg de nitrato + nitrito-nitrógeno ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2\text{-N}$)/L [Método de reducción de cadmio (4500- NO_3^- .E)]
- 0.05 - 10 mg de nitrato + nitrito-nitrógeno ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2\text{-N}$) /L [Método automatizado de reducción de cadmio (4500- NO_3^- . F)]
- 0.05 - 10 mg de nitrato + nitrógeno nitrito ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2\text{-N}$) /L [Método automatizado de reducción de hidracina (4500- NO_3^- .H)]
- 0.01 - 2.0 o 0.05 - 5.0 mg nitrato + nitrito ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2\text{-N}$) /L [Método de inyección de flujo de reducción de cadmio (4500- NO_3^- . I)]

Otros rangos pueden ser posibles para cualquiera de los métodos mencionados anteriormente. Consulte las instrucciones del fabricante.

Para concentraciones más altas de NO_3^- -N diluya en el rango del método seleccionado. Filtrar muestras turbias. Filtros de prueba para la contaminación de NO_3^- .

5.2. Recogida y almacenamiento de muestras.

Recolectar muestras en recipientes de polietileno, fluoropolímero o vidrio. Si es posible, comience las determinaciones de NO_3^- rápidamente después del muestreo. Las muestras pueden almacenarse sin acidificar hasta 48 horas a $<6^\circ\text{C}$. La acidificación convierte cualquier nitrito (NO_2^-) en NO_3^- . Como resultado, los valores de NO_3^- son la suma de NO_3^- y NO_2^- . Si las muestras deben almacenarse durante >48 h, acidifique a $\text{pH} < 2$ con ácido sulfúrico o clorhídrico (según el método) y almacene a $<6^\circ\text{C}$ (o de 2 a 6°C para muestras de conformidad con SDWA) hasta 28 días. La crema clorada es estable durante al menos 14 días sin conservación ácida.

5.3. Control de calidad

La siguiente sección se aplica a todos los métodos NO_3^- -N; Sin embargo, algunos métodos tienen medidas de control de calidad adicionales. Complete las tareas de control de calidad iniciales, incluida la demostración inicial de la capacidad de cada analista, la estimación del límite de detección del método (MDL) y la determinación del rango dinámico, antes de analizar cualquier muestra y al menos una vez al año. Aplicar el resto de estas medidas siempre que se analicen muestras. Si los criterios de aceptación no se cumplen, detenga y corrija el problema. Los reguladores pueden especificar diferentes criterios de aceptación que los que se dan aquí.

Calibre o verifique la calibración de cada instrumento diariamente. Usando una calculadora, una hoja de cálculo electrónica o un programa de instrumentos, calcule la pendiente, la intersección y el coeficiente de correlación (r) o el coeficiente de determinación (r^2) de la curva de calibración. El valor de r debe ser al menos 0.995 ($r^2 \geq 0.99$). Back calcula las concentraciones aparentes de los estándares. Para estándares > 10 veces el MDL, los valores medidos deben ser del 90 al 110% de los valores reales.

Prepare un estándar de calibración-verificación (CVS) a partir de una solución de reserva diferente a la utilizada para preparar las bases de calibración. La concentración de NO_3^- -N del CVS debe ser del 30 al 70% del estándar de calibración más alto; sin embargo, algunos programas de QA/QC pueden requerir diferentes concentraciones. Ejecute el CVS inmediatamente después de la calibración; El resultado debe ser del 90 al 110% del valor esperado.

Ejecute un blanco de calibración inicial (ICB) inmediatamente después del CVS para verificar la contaminación. La lectura del ICB debe ser $\leq 1/2$ el nivel mínimo de reporte (MRL).

Ejecute un estándar de calibración de punto medio como verificación de calibración continua (CCV) y un blanco de calibración continua (CCB) después de cada 10 muestras y después de la última muestra. Si la concentración de NO_3^- -N medida en el CCV no es del 90 al 110% del valor esperado, recalibre y vuelva a ejecutar todas las muestras leídas desde la última buena lectura del CCV. El CCB debe ser $\leq 1/2$ MRL.

6. METODOLOGIA

6.1. Discusión General

a. *Principio:* Use esta técnica solo para muestras de pantalla que contengan bajos

contenidos de materia orgánica (es decir, aguas naturales no contaminadas y suministros de agua potable). La curva de calibración NO_3^- sigue la ley de Beer's hasta 11 mg N/L. La medición de la absorción de UV a 220 nm permite a los analistas determinar NO_3^- rápidamente. Tenga en cuenta que la materia orgánica disuelta también puede absorber a 220 nm, pero el NO_3^- no se absorbe a 275 nm, por lo que se puede realizar una segunda medición a 275 nm y usarse para corregir el valor de NO_3^- , si es necesario. El alcance de esta corrección empírica está relacionado con la naturaleza y la concentración de la materia orgánica y puede variar de un agua a otra, por lo que no se recomienda este método si se requiere una corrección significativa. Dicho esto, puede ser útil para monitorear los niveles de NO_3^- dentro de un cuerpo de agua con un tipo constante de materia orgánica.

- b. *Interferencia:* Las posibles interferencias incluyen materia orgánica disuelta, surfactantes, NO_2^- , cromo hexavalente [Cr(VI)] y varios iones inorgánicos que no se encuentran normalmente en el agua natural, como el clorito y el clorato. Los factores de corrección para la absorbancia de materia orgánica pueden establecerse mediante el método de adiciones combinado con el análisis del contenido original de NO_3^- a través de otro método. La filtración de muestras elimina la interferencia por partículas suspendidas. La acidificación con ácido clorhídrico (HCl) 1M a $\text{pH} < 2$ evita la interferencia de las concentraciones de hidróxido o carbonato de hasta 1000 mg de carbonato de calcio (CaCO_3)/L. El cloruro no afecta la determinación.

Las sustancias inorgánicas se pueden compensar mediante el análisis independiente de sus concentraciones y la preparación de curvas de corrección individuales. Filtrar muestras turbias. Filtros de prueba para la contaminación de NO_3^- .

6.2. Equipos

Espectrofotómetro, para uso a 220 nm y 275 nm con celdas de sílice emparejadas con un recorrido de luz de 1cm o más.

6.3. Reactivos

- a. *Agua reactiva:* Use agua reactiva para preparar todas las soluciones y diluciones.
- b. *Solución de nitrato de reserva:* Nitrato de potasio seco (KNO_3) en un horno a 103-105°C durante 24 h. Disuelva 0.7218 g \pm 0.0005g en agua y diluya a 1000 mL; 1.00 ml = 100 μg NO_3^- -N. Conservar con 2 ml de cloroformo (CHCl_3 /L). La solución es estable durante al menos 6 meses. Alternativamente, use una solución madre de NO_3^- -N comercial.

MÉTODO DE ENSAYO

- c. *Solución intermedia de nitrato*: Diluir 100 ml de solución de NO_3^- -N en 1000 ml con agua; 1.00 ml = 10.0 μg NO_3^- -N. Preservar con 2 ml de CHCl_3/L . La solución es estable durante 6 meses.
- d. *Solución de ácido clorhídrico, (~1M)*: Diluir 83 ml de HCL concentrado a 1L con agua reactiva. Almacenar en una botella de polietileno de alta densidad de vidrio (HDPE). La solución es estable por 1 año si se mantiene cerrada.

6.4. Procedimiento

- a. *Tratamiento de la muestra*: A 50 ml de muestra clara (filtrada si es necesario), agregue 1 ml de solución de HCl 1 M y mezcle bien.
- b. *Estándar*. Prepare los estándares de calibración de NO_3^- en el rango de 0 a 7 mg NO_3^- -N/L diluyendo a 50 ml los siguientes volúmenes de nitrato intermedio NO_3^- solución: 0, 1.00, 2.00, 4.00, 7.00. . . 35.0 ml. También se pueden usar otras concentraciones estándar. Trate los estándares NO_3^- de la misma manera que las muestras.
- c. *Medición espectrofotométrica*: Lea la absorbancia o la transmitancia contra el reactivo del agua a cero absorbancias o 100% de transmitancia. Utilice una longitud de onda de 220 nm para obtener la lectura de NO_3^- -N y una longitud de onda de 275 nm para determinar cualquier interferencia debida a la materia orgánica disuelta.

6.5. Cálculos

Para muestras y estándares, reste dos veces la lectura de absorbancia a 275 nm de la lectura a 220 nm para obtener una absorbancia debida a NO_3^- -N. si el valor de corrección es >10% de Lectura a 220 nm para una muestra en particular, entonces la concentración de NO_3^- -N se considera una estimación aproximada. Utilice una hoja de cálculo electrónica, una calculadora o un software de instrumentos para encontrar la pendiente y el intercepto de la curva de calibración por regresión lineal de mínimos cuadrados. Calcule la concentración de NO_3^- -N a partir de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{A - I}{S}$$

Donde:

C = Concentración,

A = Absorbancia,

I = Intercepción de la línea de regresión, y

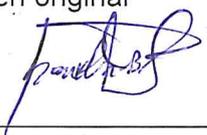
S = Pendiente de la línea de regresión.

 UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-12 Versión: 01
	MÉTODO DE ENSAYO	Página: 8 de 8

7. ANEXOS

- UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES POR EL MÉTODO DE TUBOS MÚLTIPLES (NMP)

Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre Fecha: 03/01/2024 Firma: en original 	Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay Fecha: Firma: en original  	Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune Fecha: Firma: en original
--	--	---

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 3 de 19</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

1. OBJETIVO

Desarrollar la determinación de coliformes totales por el método de tubos múltiples, número más probable (NMP).

2. ALCANCE

Este método se aplica a muestras de agua superficial que sirve como fuente de abastecimiento. Es útil en el caso de aguas superficiales con una alta densidad de partículas o coloreadas, que no pueden ser fácilmente procesadas por la técnica de filtración con membrana. También se propone este método para el análisis de agua potable, para lo cual se recomienda la siembra de una serie de 10 tubos con volúmenes de 10 mililitros ó 5 tubos de fermentación con volúmenes de 20 mililitros.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

“Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 9221 B. Estándar Total Coliform Fermentation Technique”.

5. INTRODUCCION

Las bacterias coliformes se han utilizado durante mucho tiempo como indicadores de calidad del agua basados en la premisa de que, dado que estos organismos están presentes en el intestino de los animales de sangre caliente, su presencia en el agua podría indicar que ha ocurrido una contaminación fecal reciente. Históricamente, este grupo de organismos se ha definido por su capacidad para fermentar la lactosa, en lugar que los principios de la bacteriología sistemática, por lo que el grupo está formado por bacterias de varios géneros que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae.

Los métodos descritos en esta sección utilizan un medio de caldo a base de lactosa para

detectar los productos finales metabólicos de la fermentación de lactosa. La presencia de coliformes debe confirmarse en un medio que contenga sal biliar y lactosa [caldo de salmuera de lactosa verde brillante (BGLB)]. Entonces, cuando se usan las técnicas de fermentación en esta sección, los coliformes se definen como facultativamente anaeróbicos. Bacterias gramnegativas, formadoras de esporas, con forma de bastón que fermentan la lactosa con producción de gas y ácido en presencia de sales biliares en 48 horas a 35°C.

La prueba estándar para el grupo de coliformes se puede llevar a cabo mediante la técnica de fermentación de los tubos múltiples o el procedimiento de ausencia-presencia (a través de las fases presuntamente confirmadas o la prueba completada) descrita en este documento, la técnica de filtro de membrana (MF) (Sección 9222), o la prueba de coliformes del sustrato enzimático (sección 9223). Cada técnica es aplicable dentro de las limitaciones especificadas y con la debida consideración del propósito del examen. La producción de un resultado válido requiere el cumplimiento estricto de los procedimientos de control de calidad (CC). Las pautas de control de calidad se describen en la Sección 9020.

La técnica de fermentación puede ser utilizada para detectar coliformes de agua potable o cuantificar coliformes en agua potable y no potable. Cuando se usan los tubos múltiples, la densidad de coliformes se estima a través de una tabla de números más probables (NMP). Este número generado mediante fórmulas de probabilidad específicas, es un estado de los resultados, junto con otra información obtenida de estudios de ingeniería sanitaria, proporciona la mejor evaluación de la efectividad del tratamiento de agua y la calidad sanitaria del agua de origen.

La precisión de las pruebas de fermentación para estimar la densidad de coliformes depende del número de tubos utilizados. La información más satisfactoria se obtendrá cuando la muestra de inoculación más grande examinada muestre ácido y / o gas en algunos o todos los tubos y la muestra de inóculo más pequeña no muestre ácido ni gas en ninguna o en la mayoría de los tubos.

La densidad bacteriana se puede estimar mediante la fórmula dada o de la tabla utilizando el número de tubos positivos en las diluciones múltiples (9221 C.2). El número de porciones de muestra seleccionadas se regirá por la precisión deseada de los resultados. Las tablas de NMP se basan en el supuesto de una distribución (dispersión aleatoria). Sin embargo, si la muestra se agita adecuadamente antes de eliminar las alícuotas o si las células bacterianas se agrupan, el valor del NMP será una subestimación de la densidad bacteriana real.

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 5 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

5.1 Agua de calidad de agua potable.

Cuando analice el agua potable para determinar si es de calidad, los estándares de la Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU. (EPA), se debe analizar una muestra de 100 ml. Use la técnica de fermentación con 10 tubos replicados, cada uno de los cuales contiene 10 ml, 5 tubos replicados que contienen 20 ml, o una sola botella que contenga una porción de muestra de 100 ml. Al examinar el agua potable a través de la fermentación única, procese todos los tubos o botellas que demuestren un crecimiento con o sin una reacción positiva de gas o ácido, a través de la fase confirmada (9221 B.4). Las muestras de agua potable que son positivas para coliformes totales también deben analizarse para coliformes termotolerantes (fecales) (9221E) o *Escherichia coli* (9221F). Para el examen de rutina de los suministros públicos de agua, el objetivo de la prueba de coliformes totales es determinar la eficiencia de las operaciones de la planta de tratamiento y la integridad del sistema de distribución.

La prueba también se utiliza para detectar la presencia de contaminación fecal. Cierta supervivencia de coliformes dentro de las biopelículas bacterianas en la red, en lugar del fracaso del tratamiento en la planta o fuente del pozo, o fuera de la contaminación del sistema de distribución.

Debido a que es difícil distinguir los coliformes que ingresan al sistema de distribución y los coliformes ya presentes en la biopelícula y los sedimentos de la tubería, se debe asumir que todos los coliformes se originan en un lugar fuera del sistema de distribución.

5.2 Agua de otra calidad que no sea agua potable

Cuando analice aguas no potables, inocule una serie de tubos con diluciones decimales apropiadas del agua (múltiplos de 10 ml) en función de la densidad de coliformes probable. Utilice las fases presuntamente confirmadas del procedimiento de tubos múltiples, use la prueba completada más intensiva en mano de obra (9221 B.5) como medida de control de calidad en el 10% (o un porcentaje establecido) de muestras de agua no potables positivas para coliformes trimestralmente.

En general, el objetivo del análisis de agua no potable es estimar la densidad bacteriana, determinar una fuente de contaminación, infundir estándares de calidad del agua o rastrear la supervivencia de los microorganismos.

La técnica de fermentación de tubos múltiples se puede usar para obtener estimaciones estadísticamente válidas de la densidad de coliformes de NMP. Examine un número suficiente de muestras de agua para obtener un resultado representativo para la estación de muestreo. En general, la media geométrica o el valor medio de los resultados, de

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 6 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

varias muestras dará un valor en el cual el efecto de la variación de una muestra a otra se minimiza.

5.3 Otras muestras

La técnica de fermentación de tubos múltiples es aplicable al análisis de aguas salinas o salobres, así como a lodos y sedimentos. Recolecte las muestras como se indica en la Sección 9060A, utilizando los recipientes para muestras especificados en la Sección 9030B.19. Siga las precauciones indicadas anteriormente sobre el tamaño de las porciones y la cantidad de tubos por dilución.

Para preparar muestras sólidas o semisólidas, pese la muestra y agregue diluyente para obtener una dilución de 10-1. Por ejemplo, coloque 30 g de muestra en una jarra de licuadora estéril, 270 ml, agua de fosfato estéril tamponada o una dilución de peptona al 0,1%, y mezcle durante 1 a 2 minutos a alta velocidad (800 rpm). Prepare las diluciones decimales apropiadas de la suspensión homogenizada tan rápido como sea posible para minimizar la sedimentación.

6. METODOLOGÍA

6.1 Muestras

Recolecte las muestras como se indica en la Sección 9060A, utilizando los recipientes para muestras especificados en la Sección 9030B.19. Siga las pautas de control de calidad para botellas de muestra descritas en la Sección 9020B.5d. Asegúrese de que las muestras cumplan con los criterios de aceptación de laboratorio al recibirlas.

6.2 Control de Calidad

Todas las fases de la técnica de fermentación (9221B-G) requieren adherencia a las guías de garantía de calidad/control de calidad (QA / QC) presentadas en la Sección 9020, que incluyen, entre otras, control de calidad analítico (Sección 9020B.9), instrumentación / equipo (Sección 9020B.4 y 9030B), y suministros (Secciones 9050 y 9020B.5f).

Utilice medios deshidratados comerciales cuando sea posible y asegúrese de que sus formulaciones coincidan con las especificadas aquí porque las formulaciones comerciales pueden variar. Los medios de fermentación preparados pueden almacenarse en tubos o botellas bien tapadas hasta 3 meses en la oscuridad, si las temperaturas oscilan entre 1 y 30°C y la evaporación es inferior al 10% del volumen original. Si los tubos se refrigeraron después de la esterilización, deben incubarse a temperatura ambiente (20°C) antes de

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 7 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

usarlos y los que muestran crecimiento o burbujas deben desecharse para evitar resultados falsos positivos. Para demostrar un rendimiento medio aceptable, los controles de cultivos positivos y negativos deben probarse antes del primer uso y según se especifique de otra manera (consulte la Tabla 9020: VI).

El volumen de esterilidad por tubo y el pH también se deben verificar y registrar. Para demostrar la comparabilidad entre lotes de medios, realice una prueba de uso (Sección 9020B.5f2).

Si un laboratorio está cambiando a la técnica de fermentación de tubos múltiples, lo ideal es que el analista primero realice una prueba paralela con el método anterior para demostrar la aplicabilidad y la comparabilidad. Los resultados de muchos estudios de rendimiento de coliformes están disponibles en la literatura, y las tasas de resultados falsos positivos y negativos pueden diferir entre varios medios. Los usuarios deben seleccionar cuidadosamente el medio y el procedimiento que mejor se adapte a sus necesidades.

6.3 Fase presuntiva

Use el caldo de lauril triptosa en esta fase de la prueba de tubos múltiples, siguiendo las pautas de control de calidad citadas en 9221B.2

a. Reactivos y medio de cultivo:

Caldo Lauril Triptosa:

Triptosa.....	20.0 g
Lactosa.....	5.0 g
Hidrofosfato de dipotasio (K ₂ HPO ₄).....	2.75 g
Fosfato de hidrógeno de potasio (KH ₂ PO ₄).....	2.75 g
Cloruro de sodio (NaCl).....	5.0 g
Lauril Sulfato de Sodio.....	0.1 g
Agua de grado reactivo.....	1 L

Agregue los ingredientes deshidratados al agua, mezcle bien y caliente para disolver. Antes de la esterilización, dispense medio suficiente en tubos de fermentación que contengan viales invertidos (también conocidos como tubos Durham).

Tabla 9221:II Preparación de Caldo Lauril Triptosa

Inoculación mL	Cantidad de medio en tubos mL	Volumen del medio Inoculo mL	Caldo Lauril Triptosa deshidratada requerida g/L
1	10 o mas	11 o mas	35.6
10	10	20	71.2
10	20	30	53.4
20	10	30	106.8
100	50	150	106.8
100	35	135	137.1
100	20	120	213.6

Para cubrir el vial invertido al menos la mitad a dos tercios después de la esterilización. Alternativamente, unir el vial invertido y agregar 0.01 g/L de bromocresol púrpura al caldo de lauril triptosa (para determinar la producción de ácido, un indicador de un resultado positivo en esta parte de la prueba de coliformes). Cierre los tubos con metal o tapas de plástico resistentes al calor.

Prepare de acuerdo con la Tabla 9221-I, haciendo que el caldo de lauril triptosa se concentre lo suficiente para que la adición de porciones de muestra de 100, 20 o 10 ml al medio no reduzca las concentraciones de los ingredientes por debajo del medio estándar. Medio de autoclave a 121°C durante 12 a 15 min. Asegúrese de que los viales invertidos, si se usan, estén libres de burbujas de aire. El pH medio debe ser 6.8 ± 0.2 después de la esterilización.

Procedimiento

Organice los tubos de fermentación en filas de cinco o diez tubos cada uno en un bastidor de tubos de ensayo. El número de filas y los volúmenes de muestra seleccionados dependen de la calidad y el carácter del agua que se examinará. Para agua potable, se deben probar 100 ml. Use cinco porciones de 20 ml, diez porciones de 10 ml o una porción de 100 ml (una sola botella). Para agua no potable, use cinco tubos por dilución (de 10, 1, 0.1 mL, etc.).

Cuando realice diluciones y mida volúmenes de muestra diluidos, siga las precauciones que se indican en la Sección 9215B.2. Use la Figura 9215.I como una guía para preparar diluciones. Agitar la muestra y diluciones vigorosamente 5 segundos (unas 25 veces). Inocule cada tubo en un conjunto de cinco con volúmenes de muestra duplicados en diluciones decimales crecientes, si se usan cantidades decimales de la muestra. Mezclar las porciones de prueba en el medio agitando suavemente.

Incubar rápidamente tubos inoculados, cualquier control de cultivo y / o blancos de esterilidad a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Después de 24 ± 2 h, cada tubo examínelo en busca de

MÉTODO DE ENSAYO

crecimiento, gases y/o reacción ácida (tonos de color amarillo) y, si no hay una reacción ácida o de gas, vuelva a incubar y volver a examinar al final de 48 ± 3 h. Registro de presencia o ausencia de crecimiento, producción de gas y/o ácido. Si se omite el interno vial, el crecimiento con acidez (color amarillo) significa una reacción presuntamente positiva.

Interpretación: La detección de una reacción ácida (color amarillo) y / o gas en los tubos o botellas dentro de 48 ± 3 h constituye una reacción presuntiva-positiva. Envíe los tubos con una reacción presuntamente positiva a la fase confirmada (9221B.4).

La ausencia de reacción ácida y/o formación de gas al final de 48 ± 3 h de incubación constituye una prueba negativa. Presentar muestras de agua potable que demuestren un crecimiento sin reacción positiva de gas o ácida a la fase confirmada (9221B.4).

6.4 Fase confirmada

Medio de cultivo: use la fermentación en caldo BGLB cuando esté en la fase confirmada, siguiendo las pautas de control de calidad citadas en 9221B.2

Caldo de bilis lactosa verde brillante:

Peptona.....	100 g
Lactosa.....	100 g
Oxgall.....	200 g
Verde brillante.....	0.0133 g
Agua de grado reactivo.....	1 g

Agregue los ingredientes deshidratados al agua, mezcle bien y disuélvalos. Antes de la esterilización, dispense el medio en tubos de fermentación con un vial invertido, asegurándose de que haya suficiente volumen en el medio para cubrir el vial invertido al menos a la mitad después de la esterilización. Cerrar los tubos con metal o tapas de plástico resistentes al calor. Medio de autoclave a 121°C durante 12 a 15 min. Asegúrese de que los viales invertidos estén libres de burbujas de aire. El pH del medio debe ser de 7.2 ± 0.2 después de la esterilización.

Procedimiento: Envíe de inmediato todos los tubos presuntivos que muestren crecimiento, cualquier cantidad de gas o reacción accidental dentro de las 24 ± 2 h desde la incubación hasta la fase confirmada, los tubos presuntivos adicionales muestran una fermentación activa o una reacción ácida al final del período de incubación de 48 ± 3 h, enviarlos de inmediato a la fase confirmada. Para confirmar las presuntas colonias, de

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 10 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

coliformes que crecen en un medio sólido, use medios de fermentación, consulte la Sección 9222B.4g.

Agite o gire suavemente los tubos presuntivos que muestran gases o un crecimiento ácido para resuspender los organismos. Con un bucle estéril (asa de siembra) de 3.0 a 3.5 mm de diámetro, transfiera uno o extraiga el cultivo a un tubo de fermentación que contenga caldo BGLB. Alternativamente, inserte un aplicador de madera estéril al menos 2,5 cm en el cultivo, retírelo rápidamente y sumérjalo en el fondo del tubo de fermentación que contiene el caldo BGLB. Retire y deseche el aplicador. Repita para todos los tubos presuntamente positivos. Los analistas pueden usar simultáneamente caldo BGLB para coliformes totales y caldo EC en coliformes termotolerantes (fecales) (ver 9221E) o caldo EC-MUG para *Escherichia coli* (ver 9221F). Sin embargo, si usa el mismo rizo o el aplicador de madera para inocular un cultivo en más de un medio, inocule el medio de mayor inhibición (caldo BGLB) en último lugar.

Incube rápidamente los tubos de caldo BGLB inoculados a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Cualquier cantidad de gas formado en el vial invertido del tubo de fermentación del caldo BGLB en cualquier momento dentro de las 48 ± 3 h, constituye una fase confirmada positiva. Para estimar la densidad de las formas de cálculo, calcule el valor de NMP a partir del número de tubos BGLB positivos como se describe en 9221C.

Procedimiento alternativo: Utilice esta alternativa solo para aguas contaminadas o aguas residuales que se sabe que producen resultados positivos de manera constante.

Si todos los tubos presuntos son positivos en dos o más diluciones consecutivas dentro de las 24 horas, entonces solo envíe a la fase confirmada los tubos de dilución más alta (inóculo de muestra más pequeño) en los que todos los tubos sean positivos, junto con cualquier tubo positivo en diluciones más altas. Presentar a la fase confirmada todos los tubos en los que se produce un crecimiento gaseoso o ácido en 24 a 48 horas.

6.5 Fase completada

La prueba completada como se describe aquí no se requiere para los análisis de muestras de cumplimiento de agua potable. Para las muestras de agua no potable recolectadas según la Ley de Agua Limpia, el requisito de que el 10% de todos los tubos con coliformes positivos sean sometidos a la prueba completa se incluye aquí como una recomendación de control de calidad y para su uso cuando los resultados de las pruebas son inciertos. Como las pruebas adicionales de coliformes termotolerantes (fecales) y / o *E. coli* se requieren para pruebas de coliformes positivas, las pruebas adicionales con CE

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 11 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

o caldo EC-MUG se consideran una prueba completa. Para fines de control de calidad, si no se reciben muestras de agua potable positivas dentro de un trimestre, entonces analice al menos una muestra de agua de fuente positiva para confirmar que los medios responden adecuadamente.

Para verificar la presencia de bacterias coliformes y proporcionar datos de control de calidad para análisis de muestras de agua no potables, use la prueba completa en al menos una muestra positiva por trimestre. Si no se produce una muestra positiva dentro de un trimestre, realice una verificación de Control de Calidad utilizando una muestra positiva conocida. Los analistas pueden inocular simultáneamente medios presuntamente positivos en el caldo BGLB para confirmar los coliformes totales y el caldo EC para los coliformes termotolerantes (fecales) (9221E) o EC MUG para *Escherichia coli* (9221F) mientras el caldo BGLB sea el último inoculado. Los resultados positivos de la incubación en caldos EC y / o EC-MUG a temperatura elevada ($44,5 \pm 0,2$) pueden considerarse una prueba completa.

Los cultivos de caldo BGLB positivos para el suelo con cultivos de caldo EC-MUG o EC negativos indican la presencia de coliformes no fecales. Los tubos paralelos positivos de EC o EC-MUG y los cultivos negativos de caldo BGLB indican la presencia de coliformes termotolerantes (fecales) o *E. coli*, respectivamente. Alternativamente, la prueba completada para coliformes totales positivos se puede realizar de la siguiente manera:

a. Medios de cultivo y reactivos: siga las pautas de control de calidad citadas en 9221B.2.

LES Endo agar, ver Sección 9222B.2a. Utilice placas de Petri de 100 x 15 mm.

b. Procedimiento:

1. Usando una técnica aséptica, se raya un agar LES Endo (Sección 9222B.2a) o una pasta de agar MacConkey de cada tubo presuntamente positivo de caldo BGLB tan pronto como sea posible después de que se observe gas. Raya las placas de manera que se asegure la presencia de algunas colonias discretas separadas por al menos 0.5 cm. Para obtener una alta proporción de aislamientos exitosos si hay organismos coliformes presentes, utilice el siguiente método:

- a) Use un asa de siembra estéril de 3 mm de diámetro o una aguja de inoculación ligeramente curvada en la punta;
- b) Golpee e incline el tubo de fermentación para evitar recoger cualquier membrana o escoria en la aguja;
- c) Inserte el extremo del asa de siembra o la aguja en el líquido en el tubo a una profundidad de aproximadamente 0,5 cm; y

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 12 de 19</p>
<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>		

d) Raya una placa para el aislamiento con la sección curva de la aguja en contacto con el agar para evitar una superficie rayada o rasgada. Encienda el asa de siembra entre los cuadrantes segundo y tercero para mejorar el aislamiento de las colonias.

Incubar las placas, invertidas, a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante $24 \pm 2\text{h}$.

- 1) Las colonias que se desarrollan en LES Endo agar se definen como típicas (de rosado a rojo oscuro con un brillo de superficie metabólica verde) o atípicas (de color rosa, rojo, blanco o sin cloro sin brillo) después de 24 h de incubación. Las colonias típicas de fermentación de lactosa que se desarrollan en agar MacConkey son rojas y pueden estar rodeadas por una zona opaca de bilis precipitada. De cada placa, elija una o más colonias de coliformes típicas y bien aisladas que se consideren más propensas a ser coliformes.

Transfiera el crecimiento de cada aislado a un tubo de fermentación de caldo de lauril triptosa de concentración única y sobre una inclinación de agar nutriente.

Si es necesario, use un dispositivo de aumento de colonias para proporcionar un aumento óptimo cuando las colonias se escogen de las placas de agar LES Endo o MacConkey. Cuando transfiera colonias, elija las que estén bien aisladas y apenas toque la superficie de la colonia con una aguja de transferencia enfriada por aire y esterilizada por llama para minimizar el peligro de que se transfiera un cultivo mixto.

Incubar los tubos de caldo secundarios (caldo de lauril triptosa con viales de fermentación invertidos) a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante $24 \pm 2\text{h}$; Si el gas no se produce dentro de $24 \pm 2\text{h}$; Reincubar y examinar nuevamente a las $48 \pm 3\text{h}$. Examine microscópicamente las preparaciones teñidas con Gram de esos cultivos inclinados con agar nutritivo de 24 h correspondientes a los tubos secundarios que muestran gas.

- c. *Interpretación:* la formación de gas en el tubo secundario de caldo de lauril-triptosa dentro de las 48 horas y la demostración de bacterias gramnegativas, no formadoras de esporas, en forma de bastoncillos del cultivo de agar constituyen un resultado positivo para la prueba completada que demuestra que un miembro del grupo de coliformes está presente.

6.6 Estimación de la densidad bacteriana

6.6.1 Precisión de la prueba de fermentación de múltiples tubos:

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-13 Versión: 01 Página: 13 de 19
	MÉTODO DE ENSAYO	

La prueba de fermentación de tubos múltiples no es muy precisa a menos que se examinen muchas porciones de muestra, así que tenga cuidado al interpretar la importancia sanitaria de cualquier resultado de coliformes individuales. La precisión mejora en gran medida cuando se estiman varias muestras de un punto de muestreo determinado y se calcula su media geométrica.

Tabla 9221: Índice de MPN II y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan cinco porciones de 20 ml			
Número de tubos que dan una reacción positiva de 5 (20 ml cada uno)	Índice de NMP / 100 mL	95% de confianza Límites (Exacto)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-----	3.5
1	1.1	0.051	5.4
2	2.6	0.40	8.4
3	4.6	1.0	13
4	8.0	2.1	23
5	> 8.0	3.4	-----

Aunque las tablas y cálculos del número más probable (NMP) se describen para su uso en la prueba de coliformes, también se pueden usar para determinar la NMP de cualquier organismo siempre que haya medios de prueba adecuados. Las calculadoras NMP en línea están disponibles, pero solo se ha verificado la precisión de una calculadora, confirme sus resultados utilizando una tabla NMP en esta sección.

Tabla 9221: Índice NMP III y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan diez porciones de 10 ml			
Número de tubos que dan una reacción positiva de 10 (10 ml cada uno)	Índice de NMP / 100 mL	95% de confianza Límites (Exacto)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-----	3.4
1	1.1	0.051	5.9
2	2.2	0.37	8.2
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.8	34
9	23	8.1	53
10	>23	13	-----

MÉTODO DE ENSAYO

Tabla 9221: Índice V NMP y límites de confianza del 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando se usan cinco tubos por dilución (10 ml, 1.0 ml, 0.1 ml)

Combinación de positivos	Índice NMP / 100 mL	Límites de confianza		Combinación de positivos	Índice NMP / 100 mL	Límites de confianza	
		Inferior	Superior			Inferior	Superior
0-0-0	< 1.8	-----	6.8	4-0-3	25	9.8	70
0-0-1	1.8	0.090	68	4-1-0	17	6.0	40
0-1-0	1.8	0.090	69	4-1-1	21	6.8	42
0-1-1	3.6	0.70	10	4-1-2	26	9.8	70
0-2-0	3.7	0.70	10	4-1-3	31	10	70
0-2-1	5.5	1.8	15	4-2-0	22	6.8	50
0-3-0	5.6	1.8	15	4-2-1	26	9.8	70
1-0-0	2.0	0.10	10	4-2-2	32	10	70
1-0-1	4.0	0.70	10	4-2-3	38	14	100
1-0-2	6.0	1.8	15	4-3-0	27	9.9	70
1-1-0	4.0	1.8	12	4-3-1	33	10	70
1-1-1	6.1	0.10	15	4-3-2	39	14	100
1-1-2	8.1	0.70	22	4-4-0	34	14	100
1-2-0	6.1	1.8	15	4-4-1	40	14	100
1-2-1	8.2	3.4	22	4-4-2	47	15	120
1-3-0	8.3	3.4	22	4-5-0	41	14	100
1-3-1	10	3.5	22	4-5-1	48	15	120
1-4-0	11	3.5	22	5-0-0	23	6.8	70
2-0-0	4.5	0.79	15	5-0-1	31	10	70
2-0-1	6.8	1.8	15	5-0-2	43	14	100
2-0-2	9.1	3.4	22	5-0-3	58	22	150
2-1-0	6.8	1.8	17	5-1-0	33	10	100
2-1-1	9.2	3.4	22	5-1-1	46	14	120
2-1-2	12	4.1	26	5-1-2	63	22	150
2-2-0	9.3	3.4	22	5-1-3	84	34	220
2-2-1	12	4.1	26	5-2-0	49	15	150
2-2-2	14	5.9	36	5-2-1	70	22	170
2-3-0	12	4.1	26	5-2-2	94	34	230
2-3-1	14	5.9	36	5-2-3	120	36	250
2-4-0	15	5.9	36	5-2-4	150	58	400
3-0-0	7.8	2.1	22	5-3-0	79	22	220
3-0-1	11	3.5	23	5-3-1	110	34	250
3-0-2	13	5.6	35	5-3-2	140	52	400
3-1-0	11	3.5	26	5-3-3	170	70	400
3-1-1	14	5.6	36	5-3-4	210	70	400
3-1-2	17	6.0	36	5-4-0	130	36	400
3-2-0	14	5.7	36	5-4-1	170	58	400
3-2-1	17	6.8	40	5-4-2	220	70	440
3-2-2	20	6.8	40	5-4-3	280	100	710
3-3-0	17	6.8	40	5-4-4	350	100	710
3-3-1	21	6.8	40	5-4-5	430	150	1100
3-3-2	24	9.8	70	5-5-0	240	70	710
3-4-0	21	6.8	40	5-5-1	350	100	1100
3-4-1	24	9.8	70	5-5-2	540	150	1700
3-5-0	25	9.8	70	5-5-3	920	220	2600
4-0-0	13	4.1	35	5-5-4	1600	400	4600
4-0-1	17	5.9	36	5-5-5	>1600	700	----
4-0-2	21	6.8	40				

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-13 Versión: 01 Página: 15 de 19</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

6.6.2 Uso de tablas para determinar NMP:

Registre la concentración de coliformes como NMP / 100 mL. Los valores de NMP para una variedad de combinaciones de tubos positivos y negativos se dan en las Tablas 9221: II, III y IV. Los volúmenes de muestra indicados en las Tablas 9221: II y III se seleccionan especialmente para los exámenes de agua potable. La Tabla 9221: IV ilustra los valores de NMP para combinaciones de resultados positivos y negativos cuando cinco volúmenes de 10 ml de muestra, cinco de 1,0 ml y cinco porciones de muestra de 0,1 ml probados son idénticos a los que se encuentran en las tablas, luego informan el valor correspondiente a la combinación apropiada de positivo y Resultados negativos como el NMP / 100mL. Sin embargo, si la serie de diluciones decimales es diferente, seleccione el valor de NMP en la Tabla 9221: IV que corresponda a la combinación de resultados positivos y calcule el NMP real utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{NMP/100 mL} = (\text{Tabla NMP/100 mL}) \times 10/V$$

Donde:

V = Volumen de la porción de muestra a la dilución más baja seleccionada.

Si la serie decimal incluye más de tres diluciones, use las siguientes pautas para seleccionar las tres diluciones más apropiadas y luego use la Tabla 9221: IV y la ecuación anterior para calcular el NMP. Consulte la Tabla 9221: V, que proporciona varios ejemplos (A-G) de combinaciones de positivos. Primero, elimine la dilución más alta (el volumen de muestra más pequeño) si tiene todos los tubos negativos y al menos una dilución restante (el volumen de muestra más grande) si tiene todos los tubos positivos y al menos una dilución restante tiene un tubo positivo. De acuerdo con estas pautas, las tres diluciones en el Ejemplo A se seleccionan mediante la eliminación de las diluciones más altas (0.001 L) y más bajas (10 mL).

Ejemplo	Volumen					Combinación de positivo	Índice NMP No/ 100mL
	10	1	0.1	0.01	0.001		
A	5	5	1	0	0	x-5-1-0-x	330
B	4	5	1	0	0	4-5-1-x-x	48
C	5	2	5	2	1	x-x-5-2-1	7000
D	4	5	4	5	1	x-x-4-5-1	4800

MÉTODO DE ENSAYO

E	5	4	4	0	1	x-4-4-1-x	400
F	4	3	0	1	1	4-3-2-x-x	39
G	4	3	3	2	1	x-x-3-2-1	1700

Si la dilución más baja no tiene todos los tubos positivos, y varias de las diluciones más altas tienen todos los tubos negativos, retire las diluciones más altas y todos los tubos negativos, luego elimine las diluciones negativas más altas (Ejemplo B).

Más de tres diluciones pueden permanecer después de la eliminación de las diluciones más bajas con todos los tubos positivos y las diluciones altas con todos los tubos positivos están dentro de las dos diluciones de la dilución más alta con cualquier tubo positivo, luego use las diluciones más altas. En el Ejemplo C, la dilución más alta con todos los tubos positivos son 0.1 ml, lo que está dentro de dos diluciones de 0.001 ml, que tiene un tubo positivo. En el Ejemplo D, la dilución más alta con todos los tubos positivos es 0.01 ml, que está dentro de dos diluciones decimales de 0.001 ml, para producir una combinación de 4-5-1.

Si, después de eliminar la dilución más baja con todos los tubos positivos, no queda ninguna dilución con todas las reacciones positivas, seleccione las dos diluciones más bajas y asigne la suma de cualquier dilución restante a la tercera dilución. En el ejemplo E, la dilución más alta con todos los tubos positivos contiene 10 ml; Esta dilución se eliminó en el segundo paso.

Quedan cuatro diluciones, ninguna de las cuales tiene todos los tubos positivos. En estas circunstancias, seleccione las dos diluciones restantes más bajas correspondientes a 1 y 0.1 ml de muestra. Para la tercera dilución, agregue el número de tubos positivos en todas las diluciones superiores (muestra de 0.01 y 0.001 mL), para obtener una combinación final de 4-4-1.

Si ninguna dilución tiene todos los tubos positivos (Ejemplo F), seleccione las dos diluciones más bajas, correspondientes a 10 y 1 ml de muestra. Para la tercera dilución, agregue el número de tubos positivos en las diluciones restantes (0.1; 0.01 y 0.001 ml de muestra), para obtener una combinación final de 4-3-2. Si a la tercera dilución se le asignan más de cinco tubos positivos, la combinación seleccionada no estará en la Tabla 9221: IV.

Si las tres diluciones seleccionadas no se encuentran en la Tabla 9221: IV, algo en la dilución en serie fue inusual. En este caso, es posible que no se apliquen los métodos habituales para calcular el NMP, que se presentan aquí. Si no se puede recolectar una nueva muestra y aún se desea un valor NMP, use la dilución más alta con al menos un tubo positivo y las dos diluciones bajarán inmediatamente como las

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-13 Versión: 01 Página: 17 de 19
	MÉTODO DE ENSAYO	

tres diluciones seleccionadas. En el Ejemplo G, la primera selección, 4-3-6 (el resultado de las tres diluciones más altas), no se encuentra en la Tabla 9221: IV porque 6 es mayor que 5. Las segundas selecciones, según las pautas anteriores, serán 3 -2-1. Si este segundo conjunto de diluciones seleccionadas no se encuentra en la Tabla 9221: IV, use la siguiente fórmula para calcular el NMP.

$$-\frac{230.3}{z_s} \log_{10} \left(1 - \frac{x_s z_s}{\sum_{j=s}^K n_j z_j} \right)$$

Donde:

Z_s = La cantidad de la muestra original inoculada en cada tubo de la dilución sth, y

X_s = el número de tubos positivos en la dilución sth,

K = el número de diluciones

J = una dilución

S = La dilución más alta con al menos un tubo positivo.

n_j = el número de tubos en la dilución jth, y

z_j = la cantidad de la muestra original inoculada en cada tubo en la dilución jth

Por ejemplo, en la serie x-x-3-0-0, donde el tercer nivel de dilución (z_s) es igual a 0.1 mL, $x_s z_s = 0.3$ y $\sum n_j z_j = 0.555$. Este es el NMP calculado = $7800 / 100\text{mL}$.

Esta fórmula también se aplica a diluciones en serie que tienen todos los tubos de posición en una sola dilución, y puede servir como una aproximación para resultados como 5-5-5-0-0-0, donde se usan cinco tubos por dilución, usando solo el último cuatro diluciones.

La Tabla 9221: IV muestra todas las combinaciones de tubos positivos improbables para series de tres diluciones. Al analizar 10 muestras, hay un 99% de probabilidad de encontrar todos los resultados entre estos 95 resultados.

Si se producen combinaciones no tabuladas con una frecuencia superior al 1%, indica que la técnica es defectuosa o que no se están cumpliendo los supuestos estadísticos que subyacen en la estimación de NMP (por ejemplo, inhibición del crecimiento a bajas diluciones).

El NMP para combinaciones que no aparecen en la tabla, o para otras combinaciones de tubos o diluciones, puede estimarse de la siguiente manera: Primero, seleccione la dilución más baja que no tenga todos los resultados positivos.

MÉTODO DE ENSAYO

Segundo, seleccione la dilución más alta con al menos un resultado positivo. Finalmente, seleccione todas las diluciones entre ellas.

Por ejemplo, desde (10/10, 10/10, 4/10, 1/10, 0/10) use solo (-, -, 4/10, 1/10, -), correspondiente a 4/10 a 0.1 mL de muestra / tubo y 1/10 a 0.01 ml de muestra / tubo. Del mismo modo, desde (10/10, 10/10, 10/10, 0/10, 0/10), seleccione solo (-, - 10/10, 0/10, -); correspondiente a 10/10 a 0,1 ml de muestra / tubo y 0/10 a 0,01 ml de muestra / tubo. Use solo las diluciones seleccionadas en la siguiente fórmula de Thomas:

$$\text{NMP}/100 \text{ mL (aprox)} = 100 \times P / (N \times T)^{1/2}$$

Donde:

P = número de resultados positivos

N = Volumen de muestra en todas las diluciones seleccionadas, mL.

T = Volumen total de muestra en las diluciones seleccionadas, mL.

Es decir, $N = \sum (n_j - X_j) z_j$, $P = \sum X_j$ y $T = \sum n_j z_j$ donde las sumas están sobre las diluciones seleccionadas, y x_j = el número de tonos positivos en la dilución j th.

En el primer ejemplo de arriba,

$$\begin{aligned} \text{NMP mL (aprox)} &= 100 \times 5 / (0.69 \times 1.1)^{1/2} \\ &= 500 / 0.87 = 570 / 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

En el segundo ejemplo anterior,

$$\begin{aligned} \text{NMP}/100 \text{ mL (aprox)} &= 100 \times 10 / (0.1 \times 1.1)^{1/2} \\ &= 1000 / 0.332 = 3000 / 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

Los dos ejemplos se comparan bien con las NMP verdaderas, 590/100 ml y 2400/100 ml, respectivamente. El segundo ejemplo es un caso especial para el cual se puede calcular una solución exacta directamente para las dos diluciones seleccionadas.

Cuando se desee resumir los resultados de varias muestras con un solo valor NMP, use la media geométrica o la mediana.

La media geométrica se calcula promediando los valores logarítmicos; por ejemplo, la media geométrica de A, B y C es 10L donde:

$$L = (\log 10 A + \log 10 B + \log 10 C) / 3$$

Los valores medios se reportan como el antilogaritmo de L.

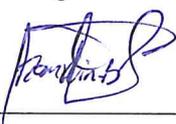
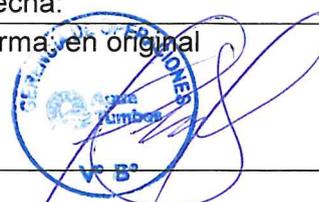
 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-13 Versión: 01 Página: 19 de 19
	MÉTODO DE ENSAYO	

7. ANEXOS

UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-14 Versión: 01 Página: 1 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES POR EL MÉTODO DE TUBOS MÚLTIPLES (NMP)

<p>Elaborado por: Ing. Franklin Bravo Vidaurre</p> <p>Fecha: 03/01/2024</p> <p>Firma: en original</p> 	<p>Revisado por: Ing. David Francisco Sánchez Curay</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>  	<p>Aprobado por: Ing. Miguel Gregorio Granda Chune</p> <p>Fecha:</p> <p>Firma: en original</p>
---	---	--

 UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-14 Versión: 01 Página: 2 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

CONTENIDO

1. OBJETIVO
2. ALCANCE
3. RESPONSABLE
4. REFERENCIAS
5. INTRODUCCION
6. METODOLOGIA
7. ANEXOS

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-14 Versión: 01 Página: 3 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

1. OBJETIVO

Desarrollar la determinación de coliformes termotolerantes por el método de tubos múltiples, número más probable (NMP).

2. ALCANCE

Este método se aplica a muestras de agua superficial que sirve como fuente de abastecimiento. Es útil en el caso de aguas superficiales con una alta densidad de partículas o coloreadas, que no pueden ser fácilmente procesadas por la técnica de filtración con membrana. También se propone este método para el análisis de agua potable, para lo cual se recomienda la siembra de una serie de 10 tubos con volúmenes de 10 mililitros ó 5 tubos de fermentación con volúmenes de 20 mililitros.

3. RESPONSABLE

Analista: Es el responsable de respetar los procedimientos técnicos y las normas de seguridad garantizando la calidad y confiabilidad de su trabajo. En caso de detectar valores fuera de los rangos permisibles establecidos en normativas vigentes, se encargará de comunicar a su jefe de control de calidad.

Jefe de control de calidad: Encargado de supervisar que el analista cumpla a cabalidad el procedimiento analítico. Asimismo, informar de todas las averías a la unidad de producción y distribución, para asegurar una acción inmediata.

4. REFERENCIAS

"Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23RD Edition. 9221E. Thermotolerant (Fecal) Coliform Procedure".

5. INTRODUCCION

Las bacterias coliformes se han utilizado durante mucho tiempo como indicadores de calidad del agua basados en la premisa de que, dado que estos organismos están presentes en el intestino de los animales de sangre caliente, su presencia en el agua podría indicar que ha ocurrido una contaminación fecal reciente. Históricamente, este grupo de organismos se ha definido por su capacidad para fermentar la lactosa, en lugar que los principios de la bacteriología sistemática, por lo que el grupo está formado por bacterias de varios géneros que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae.

Los métodos descritos en esta sección utilizan un medio de caldo a base de lactosa para

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-14 Versión: 01 Página: 4 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

detectar los productos finales metabólicos de la fermentación de lactosa. La presencia de coliformes debe confirmarse en un medio que contenga sal biliar y lactosa [caldo de salmuera de lactosa verde brillante (BGLB)]. Entonces, cuando se usan las técnicas de fermentación en esta sección, los coliformes se definen como facultativamente anaeróbicos. Bacterias gramnegativas, formadoras de esporas, con forma de bastón que fermentan la lactosa con producción de gas y ácido en presencia de sales biliares en 48 horas a 35°C.

La prueba estándar para el grupo de coliformes se puede llevar a cabo mediante la técnica de fermentación de los tubos múltiples o el procedimiento de ausencia-presencia (a través de las fases presuntamente confirmadas o la prueba completada) descrita en este documento, la técnica de filtro de membrana (MF) (Sección 9222), o la prueba de coliformes del sustrato enzimático (sección 9223). Cada técnica es aplicable dentro de las limitaciones especificadas y con la debida consideración del propósito del examen. La producción de un resultado válido requiere el cumplimiento estricto de los procedimientos de control de calidad (CC). Las pautas de control de calidad se describen en la Sección 9020.

La técnica de fermentación puede ser utilizada para detectar coliformes de agua potable o cuantificar coliformes en agua potable y no potable. Cuando se usan los tubos múltiples, la densidad de coliformes se estima a través de una tabla de números más probables (NMP). Este número generado mediante fórmulas de probabilidad específicas, es un estado de los resultados, junto con otra información obtenida de estudios de ingeniería sanitaria, proporciona la mejor evaluación de la efectividad del tratamiento de agua y la calidad sanitaria del agua de origen.

La precisión de las pruebas de fermentación para estimar la densidad de coliformes depende del número de tubos utilizados. La información más satisfactoria se obtendrá cuando la muestra de inoculación más grande examinada muestre ácido y / o gas en algunos o todos los tubos y la muestra de inóculo más pequeña no muestre ácido ni gas en ninguna o en la mayoría de los tubos.

La densidad bacteriana se puede estimar mediante la fórmula dada o de la tabla utilizando el número de tubos positivos en las diluciones múltiples (9221 C.2). El número de porciones de muestra seleccionadas se regirá por la precisión deseada de los resultados. Las tablas de NMP se basan en el supuesto de una distribución (dispersión aleatoria). Sin embargo, si la muestra se agita adecuadamente antes de eliminar las alícuotas o si las células bacterianas se agrupan, el valor del NMP será una subestimación de la densidad bacteriana real.

5.1 Agua de calidad de agua potable.

Cuando analice el agua potable para determinar si es de calidad, los estándares de la

 Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-14 Versión: 01 Página: 5 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU. (EPA), se debe analizar una muestra de 100 ml. Use la técnica de fermentación con 10 tubos replicados, cada uno de los cuales contiene 10 ml, 5 tubos replicados que contienen 20 ml, o una sola botella que contenga una porción de muestra de 100 ml. Al examinar el agua potable a través de la fermentación única, procese todos los tubos o botellas que demuestren un crecimiento con o sin una reacción positiva de gas o ácido, a través de la fase confirmada (9221 B.4). Las muestras de agua potable que son positivas para coliformes totales también deben analizarse para coliformes termotolerantes (fecales) (9221E) o *Escherichia coli* (9221F).

Para el examen de rutina de los suministros públicos de agua, el objetivo de la prueba de coliformes totales es determinar la eficiencia de las operaciones de la planta de tratamiento y la integridad del sistema de distribución.

La prueba también se utiliza para detectar la presencia de contaminación fecal. Cierta crecimiento o supervivencia de coliformes dentro de las biopelículas bacterianas en la red, en lugar del fracaso del tratamiento en la planta o fuente del pozo, o fuera de la contaminación del sistema de distribución.

Debido a que es difícil distinguir los coliformes que ingresan al sistema de distribución y los coliformes ya presentes en la biopelícula y los sedimentos de la tubería, se debe asumir que todos los coliformes se originan en un lugar fuera del sistema de distribución.

5.2 Agua de otra calidad que no sea agua potable

Cuando analice aguas no potables, inocule una serie de tubos con diluciones decimales apropiadas del agua (múltiplos de 10 ml) en función de la densidad de coliformes probable. Utilice las fases presuntamente confirmadas del procedimiento de tubos múltiples, use la prueba completada más intensiva en mano de obra (9221 B.5) como medida de control de calidad en el 10% (o un porcentaje establecido) de muestras de agua no potables positivas para coliformes trimestralmente.

En general, el objetivo del análisis de agua no potable es estimar la densidad bacteriana, determinar una fuente de contaminación, infundir estándares de calidad del agua o rastrear la supervivencia de los microorganismos.

La técnica de fermentación de tubos múltiples se puede usar para obtener estimaciones estadísticamente válidas de la densidad de coliformes de NMP. Examine un número suficiente de muestras de agua para obtener un resultado representativo para la estación de muestreo. En general, la media geométrica o el valor medio de los resultados de varias muestras dará un valor en el cual el efecto de la variación de una muestra a otra se

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-14 Versión: 01 Página: 6 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

minimiza.

5.3 Otras muestras

La técnica de fermentación de tubos múltiples es aplicable al análisis de aguas salinas o salobres, así como a lodos y sedimentos. Recolecte las muestras como se indica en la Sección 9060A, utilizando los recipientes para muestras especificados en la Sección 9030B.19. Siga las precauciones indicadas anteriormente sobre el tamaño de las porciones y la cantidad de tubos por dilución.

Para preparar muestras sólidas o semisólidas, pese la muestra y agregue diluyente para obtener una dilución de 10-1. Por ejemplo, coloque 30 g de muestra en una jarra de licuadora estéril, 270 ml, agua de fosfato estéril tamponada o una dilución de peptona al 0,1%, y mezcle durante 1 a 2 minutos a alta velocidad (800 rpm). Prepare las diluciones decimales apropiadas de la suspensión homogenizada tan rápido como sea posible para minimizar la sedimentación.

6. METODOLOGÍA

Tradicionalmente llamados coliformes fecales, los coliformes termotolerantes (los que fermentan la lactosa para producir gas a 44.5°C) han sido documentados en aguas orgánicamente ricas o climas tropicales en ausencia de contaminación fecal reciente. Entonces, al buscar evidencia de contaminación fecal, realizar pruebas para detectar E. Coli; Se recomienda un indicador más específico. Sin embargo, las regulaciones pueden requerir que los coliformes (fecales) termotolerantes sean identificados y enumerados.

Para probar los coliformes termotolerantes, use uno de los procedimientos de los tubos múltiples descritos aquí o los métodos de filtro de membrana descritos en las Secciones 9222D y E. En la técnica de fermentación de tubos múltiples, los coliformes termotolerantes se identifican por su capacidad para fermentar la lactosa al gas del procedimiento a 44.5 ± 0.2 °C dentro de las 24 ± 2 horas.

6.1 Prueba de coliformes termotolerantes (medio ec)

La prueba de coliformes termotolerantes con medio EC es aplicable a las investigaciones de agua potable, contaminación de corrientes, fuentes de agua cruda sin filtrar, sistemas de tratamiento de aguas residuales, aguas de baño, aguas marinas y monitoreo general de la calidad del agua.

No use medio EC para aislar directamente los coliformes termotolerantes del agua; se requiere un enriquecimiento previo en un medio presuntivo para la recuperación óptima de

MÉTODO DE ENSAYO

coliformes termotolerantes. (Para probar las colonias de coliformes presuntivas que crecen en medios sólidos, consulte la Sección 9222G.3c).

a. Medio EC: Prepare el medio EC siguiendo las pautas de control de calidad citadas en 9221 B.2.

Triptosa o tripticasa.....	200g
Lactosa.....	50g
Mezcla de sales biliares o sales biliares N ° 3.....	15g
Hidrofosfato de dipotasio (K ₂ HPO ₄).....	40g
Potasio dihidrógeno fosfato ((KH ₂ PO ₄).....	15g
Cloruro de sodio (NaCl).....	50g
Agua de grado reactivo.....	1 L

Agregar los ingredientes deshidratados al agua, mezclar bien y calentar para disolver. Antes de la esterilización, dispense suficiente medio en los tubos de fermentación con un vial invertido para cubrir la vía invertida por lo menos entre la mitad y dos tercios. Cierre los tubos con metal o tapas de plástico resistentes al calor. Coloque el medio en autoclave a 121°C durante 12 a 15 minutos. Asegúrese de que los viales invertidos estén libres de burbujas de aire. El pH medio debe ser 6.9 ± 0.2 después de la esterilización.

b. Procedimiento:

Después de la incubación, agitar o rotar genéricamente los tubos o botellas de fermentación que muestren gas, humedad o acidez para restituir los organismos. Use de inmediato un asa de siembre estéril de 3 a 3,5 de diámetro para transferir uno o más lotes de cultivo de los tubos que muestren crecimiento con producción de ácido y / o gas a un tubo de fermentación que contenga caldo EC. Alternativamente, inserte un aplicador de madera estéril al menos 2,5 cm en el cultivo, retírelo rápidamente y sumérjalo en el fondo de un tubo de fermentación que contenga caldo EC. Retire y deseche el aplicador. Repita para todos los demás tubos presuntamente positivos e incube a $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

La inoculación simultánea en caldo EC y / o EC-MUG junto con caldo BGLB es aceptable, si el medio más inhibitorio (caldo BGLB) se inocula en último lugar.

- 1) Coloque todos los tubos de EC en un baño de agua en circulación (preferiblemente con una cubierta a dos aguas) dentro de los 30 minutos posteriores a la inoculación. Incubar los tubos de caldo EC inoculados a $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 h.
- 2) Mantenga una profundidad de agua suficiente en la incubadora de baño de agua

 <p>UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS	Código: MET-14 Versión: 01 Página: 8 de 14
	MÉTODO DE ENSAYO	

para sumergir los tubos al nivel superior del medio.

c. *Interpretación:* La producción de gas con crecimiento en un cultivo de caldo EC dentro de 24 ± 2 horas o menos se considera una reacción coliforme termotolerante (fecal) positiva. La falta de producción de gas (con poco o ningún crecimiento) constituye una reacción negativa. Si se usan tubos múltiples, calcule el NMP de coliformes termotolerantes a partir del número de tubos de caldo EC positivos, como se describe en 9221C. Cuando use solo un tubo para subcultivar desde una sola botella presunta, informe como la presencia o ausencia de una botella presuntiva, informe como la presencia o ausencia de coliformes termotolerantes. Si se produce un crecimiento intenso sin producción de gas, someta el cultivo a coliformes termotolerantes o prueba de *E. coli* utilizando un medio diferente.

6.2 Estimación de la densidad bacteriana

6.2.1 Precisión de la prueba de fermentación de múltiples tubos:

La prueba de fermentación de tubos múltiples no es muy precisa a menos que se examinen muchas porciones de muestra, así que tenga cuidado al interpretar la importancia sanitaria de cualquier resultado de coliformes individuales. La precisión mejora en gran medida cuando se estiman varias muestras de un punto de muestreo determinado y se calcula su media geométrica.

Tabla 9221: Índice de MPN II y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan cinco porciones de 20 ml			
Número de tubos que dan una reacción positiva de 5 (20 ml cada uno)	Índice de NMP / 100 mL	95% de confianza Límites (Exacto)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-----	3.5
1	1.1	0.051	5.4
2	2.6	0.40	8.4
3	4.6	1.0	13
4	8.0	2.1	23
5	> 8.0	3.4	-----

Aunque las tablas y cálculos del número más probable (NMP) se describen para su uso en la prueba de coliformes, también se pueden usar para determinar la NMP de cualquier organismo siempre que haya medios de prueba adecuados. Las calculadoras NMP en línea están disponibles, pero solo se ha verificado la precisión de una calculadora, confirme sus resultados utilizando una tabla NMP en esta sección.

MÉTODO DE ENSAYO

Tabla 9221: Índice NMP III y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan diez porciones de 10 ml

Número de tubos que dan una reacción positiva de 10 (10 ml cada uno)	Índice de NMP / 100 mL	95% de confianza Límites (Exacto)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-----	3.4
1	1.1	0.051	5.9
2	2.2	0.37	8.2
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.8	34
9	23	8.1	53
10	>23	13	-----

Tabla 9221: Índice V NMP y límites de confianza del 95% para varias combinaciones de resultados positivos cuando se usan cinco tubos por dilución (10 ml, 1.0 ml, 0.1 ml)

Combinación de positivos	Índice NMP / 100 mL	Límites de confianza		Combinación de positivos	Índice NMP / 100 mL	Límites de confianza	
		Inferior	Superior			Inferior	Superior
0-0-0	< 1.8	-----	6.8	4-0-3	25	9.8	70
0-0-1	1.8	0.090	68	4-1-0	17	6.0	40
0-1-0	1.8	0.090	69	4-1-1	21	6.8	42
0-1-1	3.6	0.70	10	4-1-2	26	9.8	70
0-2-0	3.7	0.70	10	4-1-3	31	10	70
0-2-1	5.5	1.8	15	4-2-0	22	6.8	50
0-3-0	5.6	1.8	15	4-2-1	26	9.8	70
1-0-0	2.0	0.10	10	4-2-2	32	10	70
1-0-1	4.0	0.70	10	4-2-3	38	14	100
1-0-2	6.0	1.8	15	4-3-0	27	9.9	70
1-1-0	4.0	1.8	12	4-3-1	33	10	70
1-1-1	6.1	0.10	15	4-3-2	39	14	100
1-1-2	8.1	0.70	22	4-4-0	34	14	100
1-2-0	6.1	1.8	15	4-4-1	40	14	100
1-2-1	8.2	3.4	22	4-4-2	47	15	120
1-3-0	8.3	3.4	22	4-5-0	41	14	100
1-3-1	10	3.5	22	4-5-1	48	15	120
1-4-0	11	3.5	22	5-0-0	23	6.8	70
2-0-0	4.5	0.79	15	5-0-1	31	10	70
2-0-1	6.8	1.8	15	5-0-2	43	14	100
2-0-2	9.1	3.4	22	5-0-3	58	22	150
2-1-0	6.8	1.8	17	5-1-0	33	10	100
2-1-1	9.2	3.4	22	5-1-1	46	14	120
2-1-2	12	4.1	26	5-1-2	63	22	150
2-2-0	9.3	3.4	22	5-1-3	84	34	220
2-2-1	12	4.1	26	5-2-0	49	15	150
2-2-2	14	5.9	36	5-2-1	70	22	170

MÉTODO DE ENSAYO

2-3-0	12	4.1	26	5-2-2	94	34	230
2-3-1	14	5.9	36	5-2-3	120	36	250
2-4-0	15	5.9	36	5-2-4	150	58	400
3-0-0	7.8	2.1	22	5-3-0	79	22	220
3-0-1	11	3.5	23	5-3-1	110	34	250
3-0-2	13	5.6	35	5-3-2	140	52	400
3-1-0	11	3.5	26	5-3-3	170	70	400
3-1-1	14	5.6	36	5-3-4	210	70	400
3-1-2	17	6.0	36	5-4-0	130	36	400
3-2-0	14	5.7	36	5-4-1	170	58	400
3-2-1	17	6.8	40	5-4-2	220	70	440
3-2-2	20	6.8	40	5-4-3	280	100	710
3-3-0	17	6.8	40	5-4-4	350	100	710
3-3-1	21	6.8	40	5-4-5	430	150	1100
3-3-2	24	9.8	70	5-5-0	240	70	710
3-4-0	21	6.8	40	5-5-1	350	100	1100
3-4-1	24	9.8	70	5-5-2	540	150	1700
3-5-0	25	9.8	70	5-5-3	920	220	2600
4-0-0	13	4.1	35	5-5-4	1600	400	4600
4-0-1	17	5.9	36	5-5-5	>1600	700	----
4-0-2	21	6.8	40				

6.2.2 Uso de tablas para determinar NMP:

Registre la concentración de coliformes como NMP / 100 mL. Los valores de NMP para una variedad de combinaciones de tubos positivos y negativos se dan en las Tablas 9221: II, III y IV. Los volúmenes de muestra indicados en las Tablas 9221: II y III se seleccionan especialmente para los exámenes de agua potable. La Tabla 9221: IV ilustra los valores de NMP para combinaciones de resultados positivos y negativos cuando cinco volúmenes de 10 ml de muestra, cinco de 1,0 ml y cinco porciones de muestra de 0,1 ml probados son idénticos a los que se encuentran en las tablas, luego informan el valor correspondiente a la combinación apropiada de positivo y Resultados negativos como el NMP / 100mL. Sin embargo, si la serie de diluciones decimales es diferente, seleccione el valor de NMP en la Tabla 9221: IV que corresponda a la combinación de resultados positivos y calcule el NMP real utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{NMP/100 mL} = (\text{Tabla NMP/100 mL}) \times 10/V$$

Donde:

V = Volumen de la porción de muestra a la dilución más baja seleccionada.

MÉTODO DE ENSAYO

Si la serie decimal¹ incluye más de tres diluciones, use las siguientes pautas para seleccionar las tres diluciones más apropiadas y luego use la Tabla 9221: IV y la ecuación anterior para calcular el NMP. Consulte la Tabla 9221: V, que proporciona varios ejemplos (A-G) de combinaciones de positivos. Primero, elimine la dilución más alta (el volumen de muestra más pequeño) si tiene todos los tubos negativos y al menos una dilución restante (el volumen de muestra más grande) si tiene todos los tubos positivos y al menos una dilución restante tiene un tubo positivo. De acuerdo con estas pautas, las tres diluciones en el Ejemplo A se seleccionan mediante la eliminación de las diluciones más altas (0.001 L) y más bajas (10 mL).

Tabla 9221: V Ejemplos para la elección de tres combinaciones de positivos de cinco diluciones							
Ejemplo	Volumen					Combinación de positivo	Índice NMP No/ 100mL
	10	1	0.1	0.01	0.001		
A	5	5	1	0	0	x-5-1-0-x	330
B	4	5	1	0	0	4-5-1-x-x	48
C	5	2	5	2	1	x-x-5-2-1	7000
D	4	5	4	5	1	x-x-4-5-1	4800
E	5	4	4	0	1	x-4-4-1-x	400
F	4	3	0	1	1	4-3-2-x-x	39
G	4	3	3	2	1	x-x-3-2-1	1700

Si la dilución más baja no tiene todos los tubos positivos, y varias de las diluciones más altas tienen todos los tubos negativos, retire las diluciones más altas y todos los tubos negativos, luego elimine las diluciones negativas más altas (Ejemplo B).

Más de tres diluciones pueden permanecer después de la eliminación de las diluciones más bajas con todos los tubos positivos y las diluciones altas con todos los tubos positivos están dentro de las dos diluciones de la dilución más alta con cualquier tubo positivo, luego use las diluciones más altas. En el Ejemplo C, la dilución más alta con todos los tubos positivos son 0.1 ml, lo que está dentro de dos diluciones de 0.001 ml, que tiene un tubo positivo. En el Ejemplo D, la dilución más alta con todos los tubos positivos es 0.01 ml, que está dentro de dos diluciones decimales de 0.001 ml, para producir una combinación de 4-5-1.

Si, después de eliminar la dilución más baja con todos los tubos positivos, no queda ninguna dilución con todas las reacciones positivas, seleccione las dos diluciones más bajas y asigne la suma de cualquier dilución restante a la tercera dilución. En el ejemplo E, la dilución más alta con todos los tubos positivos contiene 10 ml; Esta dilución se

eliminó en el segundo paso.

Quedan cuatro diluciones, ninguna de las cuales tiene todos los tubos positivos. En estas circunstancias, seleccione las dos diluciones restantes más bajas correspondientes a 1 y 0.1 ml de muestra. Para la tercera dilución, agregue el número de tubos positivos en todas las diluciones superiores (muestra de 0.01 y 0.001 mL), para obtener una combinación final de 4-4-1.

Si ninguna dilución tiene todos los tubos positivos (Ejemplo F), seleccione las dos diluciones más bajas, correspondientes a 10 y 1 ml de muestra. Para la tercera dilución, agregue el número de tubos positivos en las diluciones restantes (0.1; 0.01 y 0.001 ml de muestra), para obtener una combinación final de 4-3-2. Si a la tercera dilución se le asignan más de cinco tubos positivos, la combinación seleccionada no estará en la Tabla 9221: IV.

Si las tres diluciones seleccionadas no se encuentran en la Tabla 9221: IV, algo en la dilución en serie fue inusual. En este caso, es posible que no se apliquen los métodos habituales para calcular el NMP, que se presentan aquí. Si no se puede recolectar una nueva muestra y aún se desea un valor NMP, use la dilución más alta con al menos un tubo positivo y las dos diluciones bajarán inmediatamente como las tres diluciones seleccionadas. En el Ejemplo G, la primera selección, 4-3-6 (el resultado de las tres diluciones más altas), no se encuentra en la Tabla 9221: IV porque 6 es mayor que 5. Las segundas selecciones, según las pautas anteriores, serán 3 -2-1. Si este segundo conjunto de diluciones seleccionadas no se encuentra en la Tabla 9221: IV, use la siguiente fórmula para calcular el NMP.

$$-\frac{230.3}{z_s} \log_{10} \left(1 - \frac{x_s z_s}{\sum_{j=s}^K n_j z_j} \right)$$

Donde:

Zs = La cantidad de la muestra original inoculada en cada tubo de la dilución sth, y

Xs = el número de tubos positivos en la dilución sth,

K = el número de diluciones

J = una dilución

S = La dilución más alta con al menos un tubo positivo.

nj = el número de tubos en la dilución jth, y

zj = la cantidad de la muestra original inoculada en cada tubo en la dilución jth

MÉTODO DE ENSAYO

Por ejemplo, en la serie x-x-3-0-0, donde el tercer nivel de dilución (zs) es igual a 0.1 mL, $xszs = 0.3$ y $\sum njzj = 0.555$. Este es el NMP calculado = $7800 / 100\text{mL}$.

Esta fórmula también se aplica a diluciones en serie que tienen todos los tubos de posición en una sola dilución, y puede servir como una aproximación para resultados como 5-5-5-0-0-0, donde se usan cinco tubos por dilución, usando solo el último cuatro diluciones.

La Tabla 9221: IV muestra todas las combinaciones de tubos positivos improbables para series de tres diluciones. Al analizar 10 muestras, hay un 99% de probabilidad de encontrar todos los resultados entre estos 95 resultados.

Si se producen combinaciones no tabuladas con una frecuencia superior al 1%, indica que la técnica es defectuosa o que no se están cumpliendo los supuestos estadísticos que subyacen en la estimación de NMP (por ejemplo, inhibición del crecimiento a bajas diluciones).

El NMP para combinaciones que no aparecen en la tabla, o para otras combinaciones de tubos o diluciones, puede estimarse de la siguiente manera: Primero, seleccione la dilución más baja que no tenga todos los resultados positivos. Segundo, seleccione la dilución más alta con al menos un resultado positivo. Finalmente, seleccione todas las diluciones entre ellas.

Por ejemplo, desde (10/10, 10/10, 4/10, 1/10, 0/10) use solo (4/10, 1/10), correspondiente a 4/10 a 0.1 mL de muestra / tubo y 1/10 a 0.01 ml de muestra / tubo. Del mismo modo, desde (10/10, 10/10, 10/10, 0/10, 0/10), seleccione solo (- 10/10, 0/10); correspondiente a 10/10 a 0,1 ml de muestra / tubo y 0/10 a 0,01 ml de muestra / tubo. Use solo las diluciones seleccionadas en la siguiente fórmula de Thomas:

$$\text{NMP}/100 \text{ mL (aprox)} = 100 \times P/(N \times T)^{1/2}$$

Donde:

P = número de resultados positivos

N = Volumen de muestra en todas las diluciones seleccionadas, mL.

T = Volumen total de muestra en las diluciones seleccionadas, mL.

Es decir, $N = \sum (nj - Xj) zj$, $P = \sum Xj$ y $T = \sum njzj$ donde las sumas están sobre las diluciones seleccionadas, y $xj =$ el número de tonos positivos en la dilución j th.

En el primer ejemplo de arriba,

$$\begin{aligned} \text{NMP mL (aprox)} &= 100 \times 5/(0.69 \times 1.1)^{1/2} \\ &= 500/0.87 = 570/100 \text{ ml} \end{aligned}$$

 <p>Agua Tumbes UNIDAD EJECUTORA 002 SERVICIOS DE SANEAMIENTO TUMBES UNIDAD DE CONTROL DE CALIDAD</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE AGUAS</p>	<p>Código: MET-14 Versión: 01 Página: 14 de 14</p>
	<p>MÉTODO DE ENSAYO</p>	

En el segundo ejemplo anterior,

$$\begin{aligned} \text{NMP}/100 \text{ mL (aprox)} &= 100 \times 10 / (0.1 \times 1.1)^{1/2} \\ &= 1000 / 0.332 = 3000 / 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

Los dos ejemplos se comparan bien con las NMP verdaderas, 590/100 ml y 2400/100 ml, respectivamente. El segundo ejemplo es un caso especial para el cual se puede calcular una solución exacta directamente para las dos diluciones seleccionadas.

Cuando se desee resumir los resultados de varias muestras con un solo valor NMP, use la media geométrica o la mediana.

La media geométrica se calcula promediando los valores logarítmicos; por ejemplo, la media geométrica de A, B y C es 10L donde:

$$L = (\log 10 A + \log 10 B + \log 10 C) / 3$$

Los valores medios se reportan como el antilogaritmo de L.

7. ANEXOS

UE002SST-CC-FAFQM-01-2019. Registro de resultados de los análisis físicos, químicos y microbiológicos V02.