

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA.

UNAN-LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE FARMACIA



¡A la libertad por la Universidad!

Control de calidad de agua de pozo, La Ceiba, León- Junio 2012.

Monografía para optar al título Licenciado Químico-Farmacéutico

Autoras:

- ❖ Br. Belkys Azucena Ortega Vargas.
- ❖ Br. Georgina Margarita Ruiz Delgado.
- ❖ Br. Sandra Lucila Torrez Montoya.

Tutora: Msc. Lisseth Arauz

León, Agosto 2012

”2012: Año del Bicentenario y Refundación de la Universidad”

AGRADECIMIENTO

Damos infinitamente gracias a Dios, por habernos dado fuerza y valor para terminar estos estudios.

A nuestras familias por siempre brindarnos su apoyo, tanto sentimental, como económico.

Agradecemos a nuestra tutora y amiga, Mcs. Lisseth Arauz, por su disposición, tiempo y apoyo incondicional.

Nuestros sinceros agradecimientos están dirigidos a todas aquellas personas que, de alguna forma, son parte de la culminación del presente trabajo monográfico, Laboratorio de agua de la UNAN-León y personal del Laboratorio de Microbiología de la carrera de Farmacia.

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo monográfico a Dios y a nuestros padres.

*A Dios porque ha estado con nosotras en cada paso que hemos dado,
cuidándonos y dándonos fortaleza para continuar.*

*A nuestros padres, quienes a lo largo de nuestras vidas han velado por nuestro
bienestar y educación siendo nuestro principal e importantísimo apoyo en todo
momento. Gracias!!!*

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
III.	OBJETIVOS.....	7
	3.1. General	8
	3.2. Específicos	8
IV.	MARCO TEÓRICO.....	9
	4.1. Agua Subterránea.....	10
	4.2. Importancia.....	10
	4.3. Composición química del agua subterránea	11
	4.4. Calidad del agua subterránea.....	12
	4.5. Factores que alteran el agua subterránea	12
	4.6. Ventajas del agua subterránea	14
	4.7. Desventajas del agua subterránea.....	14
	4.8. Microorganismos presentes en el agua subterránea	15
	4.9. Enfermedades transmitidas por las aguas subterráneas	18
	4.10. Parámetros de calidad de agua.....	19
	4.11. Métodos normalizados para el análisis físico-químico de los 11 parámetros en estudio.	23
	4.12. Métodos para el análisis microbiológico.....	44
V.	MATERIAL Y MÉTODO	50
VI.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	64
VII.	CONCLUSIÓN	70
VIII.	RECOMENDACIONES	72
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	75
X.	ANEXOS.....	78

I. INTRODUCCIÓN

Es ampliamente conocido que una de las principales fuentes de agua de consumo humano, el agua subterránea, actualmente está siendo receptora de las consecuencias provocadas por las diferentes actividades que lleva a cabo el ser humano, haciendo de éste un recurso altamente vulnerable al acceso de la misma.

El agua como se encuentra en la naturaleza lleva disueltas y en suspensión sustancias que adquiere a lo largo del recorrido de su ciclo natural. Sin entrar en este ciclo diremos que el agua al caer en forma de lluvia se encuentra en contacto con el aire y luego con el suelo; una parte discurre en superficie (agua de escorrentía) y otra se infiltra por su interior (aguas subterráneas).

Aún cuando la tierra es un excelente sistema que filtra partículas tales como hojas, abono e insectos, pueden encontrarse elementos químicos disueltos y gases en grandes concentraciones en el agua subterránea y causar problemas. El agua subterránea puede contaminarse con elementos químicos industriales, domésticos y de la agricultura que se encuentran en la superficie. Esto incluye elementos químicos tales como plaguicidas y herbicidas que muchos dueños de casas usan en sus jardines.

El problema más común de la calidad del agua en los suministros de las áreas rurales es la contaminación bacteriana de los pozos, que son usados muy frecuentemente en estos lugares, ya que no cuentan con sistemas de agua potable.

En comparación con las aguas superficiales, el agua subterránea es una de las menos estudiadas, específicamente en los aspectos microbiológicos principalmente debido a la creencia de que este tipo de agua era esencialmente limpia por la acción filtrante del medio poroso por el cual pasa el agua, y por su apariencia física. (Enacal ¡Una Empresa para el Pueblo!, 2008)

En relación a estudios realizados sobre este tema, se encontró que en julio de 2002, UNICEF, con financiamiento del Gobierno de Suecia, realizó un estudio de ámbito nacional para conocer la prevalencia de la contaminación natural por Arsénico, Plomo y Flúor de las aguas subterráneas de Nicaragua. De los 106 puntos estudiados un total de 8 sitios resultaron contaminados: 6 sitios por Arsénico y 2 por Plomo. (Espinoza, 2005).

La Contaminación con pesticidas fue detectado en 7 de los 10 pozos en el departamento de Chinandega. El estudio fue ejecutado por el proyecto de Desarrollo de la Costa Pacífico Norte de Nicaragua (Decopann) y la universidad UCAN en enero del 2007. En dicho estudio se sugirió al gobierno promueva el uso de biopesticidas como alternativa, pero en conjunto con esfuerzos para educar a los productores locales. (Gonzales V. , 2001)

Otro estudio científico realizado por el laboratorio de Microbiología del Agua de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-León) entre julio y diciembre de 2006, demuestra que el agua que ingieren los habitantes de el Tololar contiene metabolitos tóxicos, que son degradaciones de los pesticidas lanzados en la zona, y coliformes fecales, por lo que no es apta para consumo humano y se sugiere el cierre permanente de los pozos. (Gonzales J. L., 2007).

En Nicaragua, debido a la creciente demanda y al deterioro en la calidad de las aguas superficiales, el suministro de agua potable se realiza a través de las fuentes de agua subterránea hasta en un 73% por lo que los lixiviados representan un peligro potencial para los acuíferos.

Las comunidades rurales han estado al margen de la verificación de la calidad del agua que utilizan para consumo humano, ya que existen reportes de comunidades con altas incidencias de enfermedades gastrointestinales y parasitarias, donde el origen de las mismas se le ha atribuido a la deficiencia en la calidad del agua de pozo que utilizan para consumo humano.



Por tal razón el presente estudio es para conocer la calidad del agua de pozo utilizada por los pobladores de una zona de La Ceiba, tomando en cuenta los principales parámetros físico-químicos y microbiológicos aplicados a este tipo de agua, siguiendo las normativas CAPRE, que le permite verificar si esta agua es apta o no para el consumo humano. (Consejo Latinoamericano de iglesias, CLAI Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA, 2003)

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿El agua de dos pozos situado en la comarca El Convento-La Ceiba, es apta para consumo humano?

III. OBJETIVOS

General

Realizar análisis físico-químico y microbiológico de agua de pozo en la comarca El Convento-La Ceiba, León.

Específicos

- Determinar los principales parámetros físico-químicos: Conductividad, Calcio, Cloruro, Dureza, Hierro, Fluoruro, Magnesio, Nitrato, Nitrito, Sulfato y pH en agua de pozo.
- Cuantificar Bacterias Aerobias Mesófilas y coliformes totales en las muestras de agua.
- Verificar la presencia de coliformes fecales y *Pseudomona aeruginosa* en la muestra de estudio.
- Comparar los resultados obtenidos con los valores establecidos en las normas CAPRE.

IV.

MARCO TEÓRICO

Agua Subterránea

El agua subterránea representa una fracción importante de la masa de agua presente en cada momento en los continentes. Esta se aloja en los acuíferos bajo la superficie de la tierra. El volumen del agua subterránea es mucho más importante que la masa de agua retenida en lagos o circulante, y aunque menor al de los mayores glaciares, las masas más extensas pueden alcanzar millones de km.² El agua del subsuelo es un recurso importante y de este se abastece a una tercera parte de la población mundial, pero de difícil gestión, por su sensibilidad a la contaminación y a la sobreexplotación.

Es una creencia común que el agua subterránea llena cavidades y circula por galerías. Sin embargo, no siempre es así, pues puede encontrarse ocupando los intersticios (poros y grietas) del suelo, del sustrato rocoso o del sedimento sin consolidar, los cuales la contienen como una esponja. La única excepción significativa, la ofrecen las rocas solubles como las calizas y los yesos, susceptibles de sufrir el proceso llamado karstificación, en el que el agua excava simas, cavernas y otras vías de circulación, modelo que más se ajusta a la creencia popular.

Importancia

El agua subterránea es mundialmente importante para el consumo humano, y los cambios en su calidad pueden tener serias consecuencias. También es importante para el sustento de hábitats y para el mantenimiento de la calidad del flujo base que alimenta los ríos, además influye en la salud y el funcionamiento de ecosistemas, por lo que es importante para detectar variaciones y dar las alertas tempranas de cambios en su calidad, tanto en sistemas naturales como en los resultantes de contaminación. (Vallvé)

Composición Química del agua subterránea

La calidad química del agua subterránea está determinada por el tipo y cantidad de sustancias disueltas en la misma. El conocimiento de la composición química y su distribución espacial es importante, desde el punto de vista de la idoneidad para el consumo humano. A partir de su origen en las precipitaciones, toda agua lleva disuelta diferentes sustancias químicas que incrementan progresivamente al ponerse en contacto con el suelo y subsuelo.

Aunque son más de 60 los constituyentes naturales, sólo se determinan entre 10 y 20 de ellos mediante análisis físicos y químicos. En un agua natural subterránea estos constituyentes aparecen por lo general en forma iónica.

Iones Principales

La composición aniónica del agua subterránea la constituyen principalmente los: bicarbonatos (HCO_3) como ión dominante, sulfatos (SO_4^{2-}), cloruros (Cl^-); mientras la catiónica la constituyen el calcio (Ca^{2+}), el magnesio (Mg^{2+}) y el sodio (Na^+). Los aniones nitrato (NO_3) y carbonato (CO_3^{2-}), así como el catión potasio (K^+) se consideran dentro del grupo de los iones fundamentales aun cuando en general su proporción es pequeña. Otros iones, incluyen al Ion hierro (Fe^{2+}). Entre los gases que deben considerarse como fundamentales están el dióxido de carbono (CO_2) y oxígeno (O_2).

Las sustancias disueltas poco ionizadas o en estado coloidal son importantes para los ácidos y aniones derivados del sílice en forma de SiO_2 . Los demás iones y sustancias disueltas se encuentran por lo general en cantidades menores y se les llama iones menores. Estos forman menos del 1% del contenido iónico total incluyendo los elementos trazas, que son aquellos que están presentes en cantidades medibles con técnicas especiales.

Calidad del Agua Subterránea

Debido a que el agua subterránea se mueve a través de las rocas y la tierra del subsuelo, puede fácilmente disolver sustancias durante este movimiento. Por dicha razón, el agua subterránea muy frecuentemente puede contener más sustancias que las halladas en el agua superficial.

La contaminación del agua puede definirse como la modificación de las propiedades físicas, químicas o biológicas que restringen su uso. Las sustancias que modifican la calidad del agua de los acuíferos se dividen en: las presentes en la naturaleza y en aquellas producidas por las actividades del hombre (antropogénicas). Dentro de las primeras se encuentran: arsénico, flúor y elementos radiactivos, entre otros; mientras que en las segundas se incluyen bacterias, virus, nitratos, orgánicos sintéticos e hidrocarburos (solventes, pesticidas, etc.) y materiales pesados.

Las fuentes de contaminación se pueden originar en la superficie del terreno, por ejemplo, la agricultura; en el subsuelo por arriba del nivel freático, por ejemplo, basureros a cielo abierto; y en el subsuelo por debajo del nivel freático, como es el caso de pozos abandonados.

Factores que alteran la calidad de Agua Subterránea

Salinidad: Es importante monitorear todos los cambios en la salinidad usando Cl (cloruros) o la SEC (conductividad eléctrica) y, si fuera posible, caracterizar la fuente de salinidad.

Acidez y estado redox (de óxido reducción): Las emisiones industriales de SO_4 y NO_3 han llevado, en ciertos lugares, a reducir en un orden de magnitud el pH promedio de las lluvias. Esto ha acelerado las tasas de meteorización natural y reducida la capacidad de atenuación de los suelos y rocas, provocando un incremento de la acidez de las aguas subterráneas someras, especialmente en áreas con deficiencia de minerales carbonatados.

Los cambios del estado de óxido-reducción (Redox) del agua subterránea (principalmente como consecuencia de la reducción de O_2) también pueden tener lugar rápidamente debido a los procesos microbianos o químicos en sistemas naturales o en los resultantes la contaminación. Un aumento de la acidez (disminución del pH) o una disminución del Eh (potencial redox) pueden dar lugar a incrementos indeseables de metales disueltos.

Radiactividad: La radiactividad natural antecedente puede estar estrechamente relacionada con la presencia, o ausencia, de rocas y sedimentos que contienen uranio u otros materiales naturalmente radiactivos.

Contaminación de origen agrícola: Durante las últimas décadas, en la mayoría de los países, los niveles de nitrato en el agua subterránea han estado aumentando como resultado del drenaje del exceso de fertilizantes. El nitrato, y otros parámetros móviles derivados de los fertilizantes tales como K (K/Na), DOC y SO_4 , sirven como indicadores importantes de la degradación ambiental provocada por el hombre, aunque también puede ocurrir la desnitrificación natural bajo condiciones de reducción. Los herbicidas y pesticidas (insecticidas, fungicidas) y otros agroquímicos, también pueden ser móviles en las aguas subterráneas y servir como un índice de contaminación difusa debajo de terrenos agrícolas durante los últimos 20 a 30 años.

Contaminación de origen minero: El sulfato derivado de la oxidación de minerales sulfurosos es el mejor indicador individual de la contaminación derivada de la explotación minera de metales y carbón, de la producción de gas y petróleo y, en menor grado, de las actividades de exploración. Una disminución del pH está generalmente asociada con este proceso, al igual que los incrementos de cargas disueltas de Fe y otros metales podrían contaminar tanto aguas subterráneas como superficiales en forma de drenaje ácido de minas.

Contaminación de origen urbano e industrial: El impacto de los asentamientos humanos y la acumulación de residuos, caracterizados por numerosos compuestos químicos, se hace invariablemente evidente en la calidad local del agua subterránea.

Muchos compuestos químicos ingresan al terreno, pero el deterioro de la calidad del agua puede ser evaluado a través de aquellos constituyentes que son más móviles.

Ventajas del agua subterránea

- ✓ Según estimaciones, el 95% o más del agua dulce utilizable se encuentran bajo la superficie del terreno.
- ✓ Es el único recurso disponible en zonas desérticas.
- ✓ Hay menores pérdidas por evaporación.
- ✓ Su disponibilidad es menos afectada por las variaciones climáticas.
- ✓ Su distribución es más amplia en el área.
- ✓ No hay pérdida de la capacidad de almacenamiento.
- ✓ La temperatura del agua es constante.
- ✓ Su composición química es casi constante.
- ✓ No tiene turbiedad ni color.
- ✓ Hay un gran campo de estudio en nuestro país.

Desventajas del agua subterránea

- ✓ No es visible, por lo tanto se dificultan su estudio, cuantificación, explotación racional y manejo.
- ✓ En muchas regiones las rocas no contienen suficiente porosidad o permeabilidad para proporcionar la cantidad de agua requerida.
- ✓ En algunas zonas tiene mayor contenido de sólidos disueltos que el agua superficial, en la misma región.
- ✓ Falta mucho personal capacitado, a todos los niveles, para su utilización adecuada
- ✓ Falta de datos. (O.Bellino, 2011)

Microorganismos presentes en Agua Subterráneas

Los pozos se pueden ver afectados por sistemas sépticos próximos, excrementos de animales de granja y por la presencia de vertederos de basura en zonas más altas y aledañas al pozo. El lixiviado producto de la descomposición de la basura se filtra en la tierra y puede pasar a las aguas subterráneas. Los pozos poco profundos y los que tienen revestimientos en mal estado, están más expuestos a la contaminación.

Bacterias indicadoras de contaminación de agua son:

- Coliformes Totales
- Coliformes Fecales
- *Pseudomonas aeruginosa*

Coliformes

Las bacterias coliformes son un grupo de microorganismos gramnegativos que se encuentran comúnmente en el suelo, aguas sobre la superficie y en las plantas. También están presentes en los intestinos de animales y humanos. Las bacterias coliformes que la lluvia arrastra por el suelo, usualmente quedan atrapadas en las rocas y a medida que el agua pasa por las rocas llega a los sistemas de agua subterránea. Sin embargo, los pozos que no están bien contruidos, que están con grietas o que no están bien sellados pueden proveer una puerta para que las bacterias coliformes entren al agua subterránea y contaminen el agua que se utiliza para beber. En este grupo de bacterias el representante más importante, desde el punto de vista sanitario, es la *Escherichia Coli*. (salud y seguridad, 2010)

Tradicionalmente los coliformes se consideran como indicadores de contaminación fecal en aguas de consumo humano.

En los medios acuáticos los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales, por tanto su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura, asimismo su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal.

Usualmente para determinar la calidad del agua de pozo, se hacen pruebas de tres grupos de bacterias coliformes; cada una representa un nivel de riesgo diferente a la salud.

Bacterias Coliformes Totales, comprende todos los bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h. a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*.

Se encuentran comúnmente en el medio ambiente (por ejemplo, en el suelo y las plantas) y generalmente no causan problemas.

Bacterias Coliformes Fecales o Termotolerantes, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h. de incubación a $45 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo la más prominente es *Escherichia coli*.

Es un subgrupo de bacterias coliformes totales que se encuentra en grandes cantidades en los intestinos y excremento de humanos y animales. Su presencia indica que el agua de pozo está contaminada con excremento o desechos de alcantarillas, y tiene el potencial de causar enfermedades.

Escherichia coli es un subgrupo de bacterias fecales coliformes. Este tipo de bacterias se encuentra en grandes cantidades en los intestinos de las personas y los animales de sangre caliente, algunas cepas, sin embargo pueden causar enfermedades. La presencia de estos microorganismos indica que el pozo está contaminado con excremento e indica un alto riesgo de la presencia de organismos que pueden causar enfermedades.

Indica el más alto grado de certeza de contaminación fecal de agua.

Pseudomonas aeruginosa

Existen otros microorganismos que están considerados como “otros indicadores”, entre estos se encuentra la *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas spp es un contaminante normal en el agua, y la presencia de *P. aeruginosa* indica la no-potabilidad de la misma. Es muy frecuente encontrar este género bacteriano en aguas de pozo que no han atravesado por un proceso de potabilización.

El grupo *Pseudomonas* está constituido por bacilo aerobios Gran-negativos móviles, algunos de los cuales producen pigmentos solubles en agua. Las especies del género *Pseudomonas* se identifican sobre la base de varias características fisiológicas. Una de las propiedades más notables de *Pseudomonas* es la gran variedad de compuestos orgánicos que utilizan como fuente de carbono y energía *Pseudomonas aeruginosa* no es un parásito obligatorio, puede ser fácilmente encontrada en el suelo y se comporta como desnitrificante.

Interesa también, detectar presencia de *pseudomona aeruginosa*, ya que es capaz de sobrevivir en aguas con cloro residual, puede inhibir el desarrollo de coliformes porque produce piocinas con efecto bactericida, lo cual daría falsos resultados negativos de existencia de los mismos; y es por eso que se les usa como indicadores de calidad de agua. Estas bacterias pueden causar enfermedades a personas cuyos mecanismos de defensa son deficientes (ancianos, lactantes, inmunodeprimidos, o quienes hayan sufrido quemaduras o heridas). (Marcand Pajares, 2007)

Enfermedades que podrían transmitirse por las Aguas Subterráneas

De las 37 enfermedades más comunes entre la población de América Latina, 21 están relacionadas con la falta de agua y con agua contaminada. En todo el mundo estas enfermedades representan 25 millones de muertes anuales.

La lista de enfermedades relacionadas con el agua es larga. En primer lugar estas enfermedades pueden dividirse en:

- Aquellas originadas por organismos microbiológicos.
- Aquellas producidas por sustancias químicas orgánicas e inorgánicas.

Enfermedades microbiológicas transmitidas por el agua: Enfermedades en las que los organismos patógenos se encuentran en el agua y que cuando se ingieren en una dosis suficiente infectan al individuo. Estos organismos llegan, en su mayor parte, al agua mediante la contaminación con excretas humanas o animales, e ingresan al cuerpo por vía oral. Las enfermedades más importantes de éste tipo incluyen la disentería, el cólera, diarrea, hepatitis y la fiebre tifoidea.

Los animales también transmiten algunas enfermedades relacionadas con el agua, por ejemplo aguas contaminadas con orina de ratas o conejos infectados puede provocar leptospirosis y tularemia respectivamente. La filaria se transmite por ingerir agua con huevos de lombriz.

Enfermedades químicas transmitidas por el agua: Son enfermedades asociadas con la ingestión de agua que contienen sustancias tóxicas en concentraciones dañinas. Estas sustancias pueden ser de origen natural o artificial y generalmente son de localización específicas. No es común que el daño sea agudo sino que normalmente se presenta luego de una ingestión a largo plazo de bajas concentraciones. El cáncer y las enfermedades cardíacas están muy influenciados por este tipo de sustancias químicas.

Parámetros de calidad del agua

Cuadro # 01. Parámetros bacteriológicos (a)

Origen	Parámetros (b)	Valor recomendado	Valor máximo admisible	observaciones
A. Todo tipo de agua de bebida	Coliforme fecal	Neg	Neg	
B. Agua que entra al sistema de distribución	Coliforme fecal	Neg	Neg	En muestras no consecutivas
	Coliforme total	Neg	≤ 4	
C. Agua en el sistema de distribución	Coliforme total	Neg	≤ 4	En muestras puntuales no debe ser detectado en el 95% de las muestras anuales (C)
	Coliforme Fecal	Neg	Neg	

- a) NMP/100 ml, en caso de análisis por tubos múltiples o colonias/100 ml en el caso de análisis por el método de membranas filtrantes. El indicador bacteriológico más preciso de contaminación fecal es la *E. Coli*, definida en el artículo 4. La bacteria Coliforme Total no es un indicador aceptable de la calidad sanitaria de acueductos rurales, particularmente en áreas tropicales donde muchas bacterias sin significado sanitario se encuentran en la mayoría de acueductos sin tratamiento.
- b) En los análisis de control de calidad se determina la presencia de coliformes totales. En caso de detectarse una muestra positiva se procede al remuestreo y se investiga la presencia de coliforme fecal. Si el remuestreo da resultados negativos, no se toma en consideración la muestra positiva, para la valoración de calidad anual. Si el remuestreo da positivo se intensifica las actividades del programa de vigilancia sanitaria que se establezca en cada país. Las muestras adicionales, recolectadas cuando se intensifican las actividades de inspección sanitaria, no deben ser consideradas para la valoración anual de calidad.
- c) En los sistemas donde se recolectan menos de 20 muestras, al año, el porcentaje de negatividad debe ser $\geq 90 \%$

Cuadro # 02. Parámetros Físico-Químicos

Parámetros	Unidad	Valor recomendado	Valor máximo admisible
Temperatura	⁰ C	18-30	
Concentración de iones hidrógenos	Valor pH	6.5-8.5 (a)	
Cloruro residual	mg/L	0.5-1.0 (b)	(c)
Cloruros	mg/L	25	250
Conductividad	μS/cm	400	
Dureza	mg/L CaCO ₃	400	
Sulfatos	mg/L	25	250
Aluminio	mg/L		0.2
Calcio	mg/L CaCO ₃	100	
Cobre	mg/L	1	2
Magnesio	mg/L CaCO ₃	30	50
Sodio	mg/L	25	200
Potasio	mg/L		10
Sólidos disueltos totales	mg/L		1000
Zinc	mg/L		3

- a) Las aguas deben ser estabilizadas de manera que no produzcan efectos corrosivos ni incrustantes en los acueductos.
- b) Cloro residual libre.
- c) 5 mg/l en base a evidencias científicas las cuales han demostrado que este valor “residual” no afecta la salud. Por otro lado cada país deberá tomar en cuenta los aspectos económicos y organolépticos en la interpretación de este valor.

Cuadro # 03. Parámetros para sustancias no deseadas

Parámetros	Unidad	Valor recomendado	Valor máximo admisible
Nitratos NO_3^{-1}	Mg/l	25	50
Nitritos NO_2^{-1}	Mg/l		(1)
Amonio	Mg/l	0.05	0.5
Hierro	Mg/l		0.3
Manganeso	Mg/l	0.1	0.5
Fluoruro	Mg/l		0.7-1.5
Sulfuro hidrogeno	Mg/l		0.05

Métodos Normalizados para el análisis Físico-Químicos de los 11 parámetros en estudio.

❖ Cloruro

El cloruro en forma de ion (Cl^-), es uno de los aniones inorgánico principales en el agua natural y residual. En el agua potable, el sabor salado producido por el cloruro, es variable y depende de la composición química del agua. Algunas con $250\text{mg Cl}^- / \text{l}$ pueden tener un sabor salado detectable si el catión es el sodio. En cambio, ese gusto salado típico puede estar ausente en aguas con hasta $1,000 \text{ mg/l}$ cuando los cationes predominantes son el calcio y magnesio.

Selección del método

Se presentan 5 métodos para determinar cloruros. El método argentométrico es adecuado para aguas relativamente claras, cuando la porción titulada contenga de 0.15 a 10 mg de Cl^- . El punto final en el método del nitrato de mercurio es más fácil de detectar. El método potenciométrico es adecuado para muestras turbias o coloreadas cuando el punto final podría ser difícilmente observable. El método Ferrocianuro es una técnica automática. La cromatografía iónica también se puede usar para determinar cloruros.

Método del nitrato mercúrico

Procedimiento

- a) Titulación de las concentraciones de cloruro inferiores a 100mg/l : Utilícese una muestra de 100ml o una porción menor, de forma que el contenido en cloruro sea inferior a 10mg . Añádase $1,0 \text{ ml}$ de reactivo indicador-acidificador. (El color de la solución debe ser verde-azul en este punto. Un verde pálido indica pH inferior a $2,0$ el azul puro indica un pH superior a $3,8$). Para la mayoría de las aguas potables el pH tras esta adición será $2,5 \pm 0,1$. En aguas muy acidas o alcalinas, ajústese el pH a 8 aproximadamente, antes de añadir el reactivo indicador-acidificador.

Titúlese con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,0141 N hasta punto final purpura. La solución vira de verde-azul a azul unas gotas antes del punto final.

Determinése el blanco valorando 100 ml de agua destilada que contenga 10 mg de NaHCO_3 .

- b) Titulación de concentraciones de cloro superiores a 100 mg/l: Utilícese una porción de muestra (5 a 50ml) que requiera menos de 5 ml de titulante para llegar al punto final. Mídase en un vaso de 150ml. Añádanse aproximadamente 0,5 ml de reactivo indicador mixto y mézclase bien. El color debe ser purpura. Añádase HNO_3 0,1N gota a gota hasta que el color vire a amarillo. Titúlese con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ fuerte hasta color purpura oscuro permanente. Valórese un blanco de agua destilada utilizando el mismo procedimiento.

❖ Conductividad

La conductividad es la expresión numérica de la capacidad de una solución para transportar una corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la presencia de iones y su concentración total, de su movilidad, valencia y concentraciones relativas, así como la temperatura de la medición. Las soluciones de la mayoría de los ácidos, bases y sales representan coeficientes de conductividad relativamente adecuados. A la inversa, las moléculas de los compuestos orgánicos que no se disocian en soluciones acuosas tienen una conductividad muy escasa o nula.

Método de laboratorio

Instrumental

- a) Instrumental de conductividad autocontenida: Utilícese un dispositivo consistente en una fuente de corriente alterna, un puente de wheatstone, un indicador de valor nulo y una célula de conductividad u otro instrumento que mida el índice de corriente alterna y su voltaje a través de la célula, elíjase un instrumento capaz de medir la conductividad con un error que no exceda el 1 por 100 o $\mu\text{mho/cm}$.
- b) Termómetro, capaz de marcar hasta 0.1°C cubriendo una amplitud de 23 a 27°C .
- c) Célula de conductividad:

Tipo de electrodo de platino, este tipo de célula se presenta en forma de pipeta o de inmersión. La elección de la célula de la amplitud esperada de conductividad y de la amplitud de resistencia del instrumento. Ajustese experimentalmente la amplitud del conjunto total de aparatos, comparando los resultados instrumentales con las conductividades reales de las soluciones de KCL. Límpiense las células nuevas con una mezcla acida cromico-sulfurica y platinicese los electrodos antes de su uso. A continuación se lavan y se platinizan de nuevo, siempre que las lecturas sean irregulares, cuando no pueda obtenerse un punto final neto o cuando la inspección muestre que se han desprendido capas de negro de platino. Existen otros tipos de electrodos no platinados hechos con metales comunes duraderos.

Procedimiento

Consiste en la medición de muestra con un potenciómetro calibrado a 20°C

Conductividad = $596 \mu\text{S/cm}$ a 20°C

❖ Dureza

La dureza del agua se entendió como una medida de su capacidad para precipitar jabón. De acuerdo con los criterios actuales, la dureza total se define como la suma de las concentraciones de calcio y magnesio, ambos expresados como carbonato cálcico, en miligramos por litro.

Selección del método

Existen dos métodos: Cálculo de la dureza, es aplicable a todas las aguas y proporciona una gran exactitud. Si se realiza un análisis mineral, puede informarse del cálculo de dureza y el de Titulación de EDTA, mides los iones calcio y magnesio y puede aplicarse, con las debidas modificaciones, a cualquier clase de agua.

Método Titulométrico de EDTA

Procedimiento

- a) Tratamiento previo de muestras de aguas contaminadas y residuales: Utilícese la digestión de ácido nítrico-ácido sulfúrico, o bien ácido nítrico-ácido perclórico.

- b) Titulación de muestras: Selecciónese un volumen de muestra que requiera menos de 15ml de reactivo EDTA y realícese la titulación en cinco minutos, medidos a partir del momento de la adición del tampón. Dilúyanse 25.0ml de muestra hasta alrededor de 50ml de agua destilada en una batea de porcelana u otro recipiente adecuado. Añádase entre 1 y 2 ml de solución tampón.

Por lo general 1ml será suficiente para dar un pH de 10.0 a 10.1. La ausencia de un cambio de color de punto final neto en una titulación suele significar la necesidad de añadir un inhibidor en ese punto o que indicador se ha deteriorado.

Añádase una o dos gotas de solución indicadora o una cantidad adecuada de reactivo en polvo seco. Poco a poco, añádase titulante EDTA estándar, removiendo continuamente, hasta que desaparezca los últimos matices rojizos.

Añádase las últimas gotas con intervalos de 3-5 segundos. En el punto final, la solución suele ser azul. Se recomienda usar luz natural o una lámpara fluorescente de luz día, ya que las lámparas de incandescencia tiende a producir un matiz rojizo en el azul de punto final.

- c) Muestra de dureza baja: Para fluido intercambiador de iones u otras aguas blandadas y para agua naturales de dureza baja(menos de 5mg/l), tómese para titulación una muestra amplia, de 10 a 1.000ml, y añádase cantidades proporcionalmente grandes de tampón, inhibidor e indicador. Añádase lentamente titulante EDTA por medio de una microbureta y realícese un blanco, utilizando agua bidestilada, destilada o desionizada del mismo volumen que la muestra, a la que hay que añadir idénticas cantidades de tampón, inhibidor e indicador. Sustráigase el volumen del EDTA utilizado como blanco a partir del volumen empleado en la muestra.

Cálculo

Dureza (EDTA) como mg de CaCO_3 /l

$$= \frac{A \times B \times 1,000}{\text{ml de muestra}}$$

Dónde:

A= ml de titulación para la muestra, y

B= mg CaCO_3 equivalente a 1,0ml de titulante EDTA.

❖ Sulfato

El sulfato (SO_4^{2-}) se distribuye ampliamente en la naturaleza y puede presentarse en aguas naturales en concentraciones que van desde unos pocos a varios miles de miligramos por litros. Los residuos del drenado de minas pueden aportar grandes cantidades de SO_4^{2-} debido a la oxidación de la pirita. Los sulfatos de sodio y magnesio ejercen una acción catalítica.

Selección del método.

El método cromatográfico de iones es adecuado para concentraciones superiores a 0,1 mg/l. Los métodos gravimétricos lo son para concentraciones SO_4^{2-} superiores a 10 mg/l; utilícese uno de estos métodos para conseguir resultados precisos. El método turbidimétrico es aplicable a un rango de 1 a 40 mg SO_4^{2-} /l. El método automatizado de azul de metilimol es el método de análisis de gran número de muestra de sulfato solo cuando se dispone del equipo, y se pueden analizar unas 30 muestras por hora.

Método Turbidimétrico

Procedimiento

- a) Formación de turbidez con sulfato de bario: Mídase 100 ml de muestra o una porción adecuada llevada a 100 ml, en un erlenmeyer de 250 ml. Añádase 20 ml de solución tampón y mézclese en un agitador. Mientras se agita añádase una cucharada de cristales de BaCl_2 empezando el recuento del tiempo inmediatamente. Agítese 60 ± 2 segundos a velocidad constante.
- b) Medida de la turbidez del sulfato de bario: Tras finalizar el periodo de agitación, viértase la solución en la cubeta del fotómetro y mídase la turbidez a los $5 \pm 0,5$ minutos.

- c) Preparación de la curva de calibración: Calcúlese la concentración de SO_4^{2-} en la muestra comparando la lectura de la turbidez con una curva de calibrado preparada sometiendo los patrones de SO_4^{2-} al método completo. Espáciense los patrones a incrementos de 5 mg/l en el rango de 0 a 40 mg SO_4^{2-} /l . Por encima de 40mg/l la precisión disminuye y las suspensiones de BaSO_4 pierden estabilidad. Compruébese la fiabilidad de la curva de calibrado, llevando un patrón en paralelo con cada tres o cuatro muestras.
- d) Corrección para el color y turbidez de la muestra: Corríjase el color y turbidez realizando blancos a los que no se ha añadido BaCl_2 .

❖ Calcio

La presencia de calcio (el quinto entre los elementos en orden de abundancia) en los suministros de agua proviene de su paso a través o por encima de depósitos de caliza, dolomita, yeso y pizarras yesíferas. El contenido de calcio puede variar entre cero y varios centenares de miligramos por litro, dependiendo del origen y tratamiento del agua.

El calcio contribuye a la dureza total del agua. Para reducir el calcio y la dureza asociada a él, se aplica un tratamiento de ablandamiento químico, osmosis inversa, electrodiálisis o intercambio iónico.

Selección del método

El método de absorción atómica y el método de plasma de acoplamiento inductivo constituyen dos métodos precisos para determinar el calcio. Los métodos de titulación con permanganato y EDTA dan buenos resultados en aplicaciones de control y rutinarias. La sencillez y rapidez del procedimiento de titulación con EDTA lo hacen preferible al método del permanganato.

Método Titulométrico de EDTA

Procedimiento

- a) Tratamiento previo de muestras de agua contaminada y aguas residuales.
- b) Preparación de muestras: Titúlese inmediatamente después de añadir al álcali y el indicador, debido al elevado PH empleado en este procedimiento. Utilícense 50,0ml de muestra o una porción mas pequeña diluida hasta 50ml de manera que el contenido en calcio sea, aproximadamente, de 5^a 10mg. Analícense las aguas duras, con alcalinidad superior a 300mg CaCO₃/l, tomando una pequeña porción y diluyendo hasta 50ml, o neutralizando la alcalinidad con acido, hirviendo un minuto y enfriando antes de comenzar la titulación.
- c) Titulación: Añádanse 2,0ml de solución de NaOH o un volumen suficiente para producir un pH de 12 a 13. Agítese. Añádanse 0,1 a 0,2g de la mezcla de indicador seleccionada. Añádanse poco a poco el reactivo de titulación EDTA agitando continuamente, hasta el apropiado punto final. Cuando se utiliza murexina, compruébese el punto final por adición de 1 o 2 gotas más de reactivos de titulación para cerciorarse de que no hay mas cambio de color.

❖ Magnesio

El magnesio ocupa el octavo lugar entre los elementos más abundantes y es un componente común de las aguas naturales. Las sales de magnesio, que contribuyen de forma importante a la dureza del agua, se descomponen al calentar formando costras en las calderas. Las concentraciones superiores a 125mg/l pueden tener un efecto purificador y diurético.

Selección del método

Los cuatro métodos presentados son aplicables a todas las aguas naturales. Con los métodos espectrométrico de absorción atómica y de plasma de acoplamiento inductivo pueden realizarse determinaciones directas. Por el método gravimétrico solo se puede determinar el magnesio después de la eliminación de las sales de calcio. Estos métodos pueden aplicarse a todas las concentraciones seleccionando las proporciones de muestra apropiadas. La elección del método es de preferencia personal y experiencia analítica.

Método de Cálculo

El magnesio puede calcularse como diferencia entre la dureza y el calcio, como CaCO_3 , si los metales que interfieren están presentes en concentraciones no interfieren en la titulación del calcio y se utiliza inhibidores adecuados en la titulación de la dureza (ver método de calcio)

❖ Nitrato

La determinación de nitrato es difícil debido a los procedimientos relativamente complejos que se precisan, la elevada probabilidad de que se hallen sustancias interferentes y los rangos limitados de concentración de las diferentes técnicas.

Selección del Método

Una técnica con luz ultravioleta (UV) que mide la absorbancia de NO_3^- a 220nm es adecuada para el estudio de aguas no contaminadas (con bajo contenido en materias orgánicas).

Si fuera necesario debe estudiarse la muestra y después seleccionar un método adecuado para su concentración y las interferencias probables. El nitrato se puede determinar por cromatografía iónica. Los rangos de aplicación para otros métodos son: Método del electrodo del nitrato 0,14 a 1,400mg NO_3^- N/l , método de reducción de Cadmio 0,01 a 1,0mg NO_3^- N/l, método de Cloruro titanoso 0,01 a 10mg NO_3^- N/l , método de reducción de Hidracina 0,01 a 10mg NO_3^- N/l, método automático de reducción de Cadmio 0,5 a 10mg NO_3^- N/l. Para concentraciones más elevadas de NO_3^- dilúyase hasta el rango del método seleccionado.

Los métodos colorimétricos requieren una muestra ópticamente clara. Fíltrese las muestras turbias por filtro de membrana con 0,45 μm de diámetro de poro.

Método Espectrométrico Ultravioleta Selectivo

Procedimiento

- 1) Tratamiento de la muestra: Sobre 50 ml de la muestra transparente, filtrada, si fuera preciso, añádase 1ml de solución de HCl y mézclese bien.
- 2) Preparación de la curva patrón: Prepárese estándares de calibrado de NO_3^- en el rango de 0 a 7 mg NO_3^- N/l por dilución a 50 ml de los siguientes volúmenes de solución intermedia de nitrato: 0,1.00, 2.00, 4.00, 7.00...35,0 ml. Trátense los patrones de NO_3^- del mismo modos que las muestra.

- 3) Medidas espectrofotométricas: Léase la absorbancia o transmitancia frente a agua redestilada, ajustada a absorbancia cero transmitancia 100 por 100. Utilícese la longitud de onda 220 nm para obtener la lectura NO_3^- y 275 nm para determinar la interferencia debida a materia orgánica disuelta.

Cálculo

Para muestras y patrones réstese dos veces la absorbancia leída a 275 nm de la lectura de a 220 nm, para obtener la absorbancia debida a NO_3^- .

Trácese la curva patrón comparando la absorbancia debida a NO_3^- con la concentración de NO_3^- -N del patrón. Utilizando las absorbancias corregidas de la muestra, obténgase la concentración directamente a partir de la curva patrón.

Nota: Si el valor de corrección supera el 10 por 100 de la lectura a 220 nm, no utilizar este método.

❖ Nitrito

El ion nitrito es NO_2^- . El anión es angular, siendo isoelectrónico con O_3 . Los nitritos son sales o ésteres del ácido nitroso (HNO_2).

En la naturaleza los nitritos se forman por oxidación biológica de las aminas y del amoníaco, o por reducción del nitrato en condiciones anaeróbicas. En la industria se pueden obtener al disolver N_2O_3 en disoluciones básicas.

Tratándose de sales de un ácido débil en contacto con ácidos fuertes como el ácido sulfúrico se libera el ácido nitroso inestable que en disolución ácida está en equilibrio con el ion de nitrosonio (NO^+). Este interviene en diversas reacciones de sustitución electrofílica y en reacciones de síntesis de colorantes diazoicos.

Selección del método

El método colorimétrico es adecuado para concentraciones de 5 a 1,000 μg de NO_2^- -N/l. Se pueden obtener los valores del nitrito por el método automatizado, omitiendo el paso de reducción Cu-Cd. También se puede determinar cromatografía iónica

Método Colorimétrico

Procedimiento

Eliminación de sólido en suspensión: Si la muestra contiene sólidos suspendidos, fíltrese a través de un filtro de membrana de 0.45 μm de diámetro de poro.

Desarrollo del color: Si el pH de la muestra no estuviera comprendido entre 5 y 9, ajústese a ese valor con HCl 1N o NH_4OH según convenga. Añádase 2ml de reactivo de color a 50 ml de muestra a una porción diluida a 50 ml y mézclese.

Medida fotométrica: Mídase la absorbancia a 543 nm, entre 10 min y 2 horas después de añadir el reactivo de color a las muestras de patrones. Utilícense como guía los siguientes recorridos de luz para las concentraciones indicadas de NO_2^- -N.

Recorrido de luz, cm: 1, 5,10

NO_2^- -N $\mu\text{g/l}$: 2-25, 2-6, <

❖ Fluoruro

Una concentración de fluoruro de 1.0 mg/ l aproximadamente en el agua de bebida reduce efectivamente la caries dental sin efectos perjudiciales sobre la salud. El fluoruro puede aparecer naturalmente en el agua o se puede adicionar en cantidades controladas. Cuando el nivel de fluoruro excede los límites recomendados puede producir Fluorosis. En casos raros la concentración natural de fluoruros puede acercarse a los 10mg/l ; esas aguas deberán defluorarse.

Al aumentar las practicas de fluoración del suministro de agua como medida sanitaria pública, ha crecido la importancia de la determinación exacta de los fluoruros. El mantenimiento de su concentración óptima es esencial para conservar la eficacia y seguridad del procedimiento de fluoración.

Tratamiento preliminar

Entre los métodos sugeridos para determinar el ion fluoruro (F⁻) en el agua, los mas satisfactorios son el de electrodo y el colorimétrico. Dado que ambos están sometidos a errores debidos a iones interferentes. Cuando los iones interferentes no exceden la tolerancia del método, la determinación del fluoruro se puede hacer directamente sin destilación.

Selección del método

El método de electrodo es adecuado para concentraciones de fluoruros comprendidas entre 0,1 mg/l y más de 10mg/l. El añadir un tampón adecuado libera a este método de la gran mayoría de las interferencias que afectan al método colorimétrico SFANDS y requiere una destilación previa. Ciertas sustancias que forman parte de los residuos industriales, como los fluoboratos, pueden aparecer en concentraciones lo suficientemente altas como para dar lugar a problemas en las medidas del electrodo.

Las valoraciones de fluoruro pueden realizarse con un electrodo específico de iones, o bien con un pHmetro de escala expandida a un medidor de ion específico, generalmente sin destilación previa y en el tiempo necesario para que se equilibre el electrodo.

El método SFANDS presenta un margen analítico comprendido entre 0 y 1,40mg F⁻/l, con un desarrollo de color virtualmente instantáneo. Las determinaciones de color habrán de realizarse fotométricamente, con un fotómetro de filtro o con un espectrofotómetro. Una curva trazada a partir de estándares se empleara para establecer la concentración de fluoruro de una muestra.

El fluoruro puede también valorarse mediante el método automatizado de la complexona.

La cromatografía de iones puede resultar aceptable cuando se empleen disolventes débiles para separar los fluoruros de los picos de interferencia.

Método del SFANDS

Procedimiento

- a) Preparación de la curva patrón: Prepárense patrones de fluoruro en la gama de 0 a 1,40mg F⁻/l , diluyendo cantidades apropiadas de solución patrón de fluoruro a 50ml con agua destilada. Llévense con la pipeta 5,00ml de solución SFADNS y 5,00 ml de reactivo zirconilo-acido, o 10,00 ml de reactivo mixto acido-zirconilo-SFADNS, a cada patrón y mézclese bien. Evítese la contaminación. Ajustese el fotómetro de absorbancia a cero con la solución de referencia y obténgase las lecturas de absorbancia de los patrones. Trácese una curva relacionando los miligramos de fluoruro con la absorbancia. Preparase una curva nueva cada vez que se prepare un nuevo reactivo o se desee una temperatura estándar distinta. Como alternativas al uso de una referencia, ajustese el fotómetro a un punto conveniente (absorbancia 0,300 o 0,500) con el patrón preparado de 0 mg F⁻ /l.

- b) Tratamiento preliminar de la muestra: Si la muestra contiene cloro residual, elimínese por adición de 1 gota (0,05ml) de solución de NaAsO_2 / 0,1 mg de cloro residual y mezclando. (La concentración de arsenito de sodio de 1,300 mg/l produce un error de 0,1 mg/l con 1,0 mg F^- /l).
- c) Desarrollo del calor: Úsese una muestra de 50,0 ml o una porción diluida a 50 ml con agua destilada. Ajústese la temperatura de la muestra a la utilizada para la curva patrón. Añádanse 5,00 ml de solución de SFANDS y 5,00 ml de reactivo zirconilo-acido o 10,00 ml de reactivo acido-zirconilo-SFADNS; mézclese bien y léase la absorbancia, ajustando primero el punto de referencia del fotómetro, como antes.

Si la absorbancia queda fuera del rango de la curva patrón, repítase la lectura con una muestra diluida.

❖ pH

La medida de pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases del tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido-base, suavizado, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, depende del pH. El pH se utiliza en las determinaciones de alcalinidad y dióxido de carbono y en otros muchos equilibrios ácidos-base.

Método Electrométrico

Instrumental

Medidor de pH: Que conste de un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo para compensar la temperatura.

Electrodo de referencia: Consistente en media pila que suministra un potencial constante de electrodo.

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

Procedimiento

- a) Calibrado del aparato: Las soluciones recomendadas para conservación de los electrodos a corto plazo varían con el tipo de electrodo y el fabricante, pero generalmente tienen una conductividad superior a 4.000 $\mu\text{ohmios/cm}$. El agua de grifo es mejor sustituto que la destilada, pero lo mejor para los electrodos simple de vidrio es tampón pH 4, y es preferible KCl saturado.

Manténganse los electrodos húmedos, devolviéndolos a la solución para almacenar siempre que no se utilice el medidor de pH.

Antes de su uso, extráigase los electrodos de la solución de conservación, lavase y séquese con un paño suave, colóquese en una solución tampón inicial y ajuste el punto de isopotencial. Seleccione un segundo tampón cuyo pH no se diferencie en más de 2 unidades del de la muestra y lleve la muestra y el patrón a la misma temperatura, que puede ser la del ambiente, una fija, o la de una muestra reciente. Saque los electrodos del primer tampón, lave bien con agua destilada, seque y sumerja en el segundo tampón. Registre la temperatura medida y ajuste el mando de temperatura de forma que el aparato indique el valor de pH del tampón a la temperatura de la prueba.

Sacar los electrodos del segundo tampón, lave con agua destilada y seque los electrodos como se indicó antes. Sumerja en un tercer tampón por debajo de pH 10, aproximadamente 3 unidades distintos del segundo; la lectura no debe diferir más de 0.1 unidad del pH del tercer tampón. Si el aparato muestra una respuesta distinta más del 0,1 unidad de pH esperado, compruebe si los electrodos o el potenciómetro tienen problema.

El objetivo de la estandarización consiste en ajustar las respuestas del electrodo de vidrio al aparato. Cuando solo se realicen determinaciones ocasionales del pH, se estandarizara el aparato antes de cada una de ellas. Cuando sean frecuentes y el aparato sea estable, estandarice menos a menudo. Si el pH de las muestras varía mucho estandarice cada muestra con un tampón cuyo pH no difiera más de 1 o 2 unidades de la muestra.

- b) **Análisis de la muestra:** Establezca el equilibrio entre electrodos y muestras agitando esta para asegurar su homogeneidad; la agitación será suave para reducir al mínimo el arrastre de dióxido de carbono. Para muestras tamponadas o con gran fuerza iónica, acondicione los electrodos después de limpiarlo, introduciéndolo en la muestra durante un minuto. Seque y sumerja en otra porción nueva de la misma muestra y lea el pH.

Con soluciones diluidas, mal tamponadas, equilíbrense los electrodos por inmersión en tres o cuatro porciones sucesivas de la muestra. Tómese una muestra nueva para medir el pH.

❖ **Hierro**

En las muestras filtradas de aguas superficiales oxigenadas, el hierro raramente alcanza concentraciones de 1 mg/l. algunas aguas subterráneas y drenaje superficiales ácidos pueden contener una cantidad de hierro mayor. El hierro del agua puede ocasionar manchas en la ropa y en la porcelana. Algunas personas son capaces de detectar el gusto astringente dulce-amargo a niveles por encima de 1mg/l.

Selección del método

Los límites de detección y sensibilidad para el procedimiento Espectrométrico de absorción atómica, el método de plasma de acoplamiento inductivo y el procedimiento colorimétrico de fenantrolina, son similares y en general adecuados para el análisis de agua o tratadas.

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 pasa fácilmente a la forma férrica en solución en contacto con el aire, la determinación del hierro ferroso requiere precauciones especiales y puede ser necesario utilizarla *in situ* en el momento de la toma de muestra.

Método de Espectrométrico de absorción atómica electrotermia.

Este método es apropiado para determinar microcantidades de aluminio, antimonio, arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo, cobalto, cobre, hierro, plomo, manganeso, molibdeno, níquel, selenio, plata y estaño.

Instrumental

Espectrómetro de absorción atómica: el instrumento debe tener capacidad de corrección de fondo

Lámparas fuente.

Horno de grafito: utilice un dispositivo calentado con circuitos electrónicos de control diseñado para conducir un tubo o cubilete de grafito a través de un programa de calentamiento que proporcione suficiente energía térmica para atomizar los elementos que interesan. Los controles de calor de un horno con solo tres etapas de calentamiento son adecuados para agua dulce con bajo contenido en sólidos disueltos.

Lectura de salida

Distribuidores de muestra: empléese pipetas de microlitros (de 5 a 100 μ l) o un dispositivo automático de toma de muestra diseñado para el instrumento específico .

Ventilación

Suministro de agua de refrigeración: refrigere con agua de grifo fluyendo entre 1 y 4 l/minuto o utilice un dispositivo refrigerador circulante.

Dispositivo de filtro de membrana: utilice un dispositivo filtrante todo de vidrio y filtro de membrana de 0.45 μ m.

Procedimiento

Pretratamiento de muestras: Antes del análisis trátense previamente las muestras como se indica a continuación: enjuague todo el material de vidrio con HNO₃ 1+1 y con agua.

Realice los procedimientos de digestión en un área del laboratorio limpia y sin polvo para evitar la contaminación de la muestra. Para la digestión de trazas de aluminio utilice utensilios de polipropileno o TFE para evitar que se arrastre aluminio desde el material de vidrio.

Metales recuperables: la muestra digerida se pasa a un matraz volumétrico de 100ml, se añade una cantidad apropiada de modificador de matriz y se diluye con agua hasta el volumen del matraz.

Funcionamiento del instrumento: monte y alinie el dispositivo del horno siguiendo las instrucciones del fabricante. Conecte el instrumento y los regitadores de la cinta de gráficos. Seleccione la fuente luminosa apropiada y ajuste a la regulación eléctrica recomendada. Seleccione la apropiada longitud de onda y establezca todas las condiciones de acuerdo con las instrucciones del fabricante incluyendo con la corrección de fondos. La corrección de fondos es importante cuando se determinan elementos a longitudes de onda corta o cuando la muestra tiene un elevado nivel de sólidos disueltos.

Seleccione un flujo apropiado de gas inerte o de protección. La interrupción del gas aumenta la sensibilidad y la absorción de fondos e intensifica los efectos de interferencia. Para hacer óptima las condiciones de horno de grafito ajústese las regulaciones de la temperatura para hacer máximas sensibilidad y precisión y mínimas las interferencias.

Utilice temperaturas de secado ligeramente superior al punto de ebullición del disolvente. La temperatura de carbonización debe ser lo suficientemente alta para hacer máxima la volatilización de los componentes de la matriz. Con las temperaturas de secado y atomización fijadas a sus valores óptimos analicen un patrón a una serie de temperaturas de carbonización con incrementos crecientes de 50 a 100°C. Cuando se pase la temperatura óptima de carbonización habrá una caída significativa de la sensibilidad.

Trace una curva de temperatura de carbonización frente a absorbancia de muestra: la temperatura de carbonización óptima es la temperatura más alta que no reduce la sensibilidad.

Calibración del instrumento: prepare patrones para calibración del instrumento diluyendo las soluciones de reserva del metal.

Prepare un blanco y al menos tres patrones de calibración en el intervalo de concentraciones apropiadas correlacionando la concentración del elemento con la respuesta del instrumento. Adapte la matriz de las soluciones patrón a las de la muestra lo más exactamente posible.

Inyecte una porción adecuada de cada solución patrón con objeto de aumentar la concentración. Analice cada solución patrón por triplicado para comprobar la precisión del método. Trace una curva analítica poniendo absorbancias de picos medias o áreas de picos de la solución patrón en función de la concentración en papel de gráficos lineal.

Análisis de la muestra: analice todas las muestras excepto las que muestren estar libres de interferencia de la matriz utilizando el método de adiciones de patrón. Analice todas las muestras al menos por duplicado o hasta obtener resultados reproducibles. Una variación de ≤ 10 por 100 se considera una reproducibilidad aceptable.

Determinación directa: inyecte en el horno de grafito una porción medida de muestra sometida a tratamiento previo. Emplee el mismo volumen que el utilizado para preparar la curva de calibración. Seque, carbonice y atomice según el programa prefijado. Repita hasta obtener resultados reproducibles.

Compare el valor medio de la absorbancia o área de pico con la curva de calibración para determinar la concentración del elemento que interesa. Si la absorbancia o área de pico de la muestra más concentrada es superior a la absorbancia o área de pico del patrón diluya la muestra y vuelva a analizar. Los factores de dilución grandes aumentan los pequeños errores en el cálculo finales. Mantenga un fondo ácido y una concentración de modificador de matriz constante.

Métodos de adiciones de patrón: este es válido cuando queda dentro de la porción lineal de la curva de calibración. Una vez que la sensibilidad del instrumento a sido hecha optima para el elemento que interesa proceda con el análisis de muestra.

Introduzca un volumen medido de muestra en el dispositivo del horno. Seque, carbonice o realice una combustión seca, y atomice las muestras con arreglo al programa prefijado. Añada una concentración conocida del elemento que interesa a una porción separada de muestra de manera que no cambie significativamente el volumen de la muestra. Repita la determinación.

Llévese la absorción media o respuesta del instrumento para la muestra y las dos porciones con adiciones conocidas sobre el eje de ordenadas y las concentraciones de elementos añadidas sobre el eje de abscisas de papel de gráficos lineales. Dibuje una línea recta que una los tres puntos y extrapole la absorbancia a cero. La intersección en el eje horizontal de la concentración de la muestra. El eje de concentraciones a la izquierda del origen habrá de ser la imagen en el espejo del eje a la derecha. (Bravo, 1992)

Métodos para el análisis Microbiológico

BAM

En condiciones asépticas:

1. Agitar vigorosamente la muestra de agua, para homogeneizar.
2. Pipetear 1 ml de muestra y verterlo en el primer tubo con 9 ml de solución fosfato mono básico lactosado, quedando entonces una dilución de 10^{-1} .
3. Agitar para homogeneizar y tomar 1 ml de esta dilución (10^{-1}) y verterlo en el segundo tubo, quedando una dilución de 10^{-2} .
4. Agitar para homogeneizar y tomar 1 ml de esta dilución (10^{-2}) y verterlo en el tercer tubo, quedando una dilución de 10^{-3} .
5. Utilizando pipeta estéril, tomar 1 ml de la dilución 10^{-1} y verterlo en la caja petri estéril marcada con 10^{-1} , distribuyéndolo bien en el fondo de la caja petri vacía.

Efectuar esta misma operación por duplicado.

6. De la misma manera, tomar 1 ml de la dilución 10^{-2} y verterlo en la caja petri marcada con 10^{-2}

Efectuar esta misma operación por duplicado.

7. Hacer lo mismo con el tubo de la dilución 10^{-3} y la caja marcada con 10^{-3}

Efectuar la misma operación por duplicado.

Es recomendable usar una pipeta estéril para cada dilución.

8. Antes de que pasen 10 minutos, agregar a cada caja Petri el medio de cultivo contenido en un tubo, a una temperatura máxima de 45 °C (todavía líquido).

NOTA:

Si la temperatura del agar es superior a 45°C al vaciarlo a las cajas, puede producirse la destrucción total ó parcial de las bacterias sembradas.

9. Antes de que el medio de cultivo solidifique homogeneizar cada caja mediante movimientos de translación y rotación en una superficie plana aproximadamente durante 1 minuto evitando que se mojen la tapa y los costados de la caja, de esta manera el agua y el agar se mezclan adecuadamente.

10. Dejar reposar las cajas el tiempo necesario para que solidifique el agar.

11. Una vez solidificado el agar en las cajas, incubar en posición invertida con objeto de que el agua de condensación del agar no caiga sobre la superficie del cultivo. Las condiciones de incubación son: 37 °C (± 1 °C) durante 24 horas (± 3 h). Ahora bien, si se desea conocer la flora bacteriana total de la muestra las condiciones serán: 22 °C (± 2 °C), durante 72 horas (± 4 h).

12. Transcurrido el tiempo de incubación contar las colonias que se han desarrollado en cada una de las placas, usando un cuenta colonias para efecto de facilitar la lectura.

Bacterias Coliformes Totales

Son bacterias aerobias o anaerobias facultativas, Gram negativas, no esporuladas, que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas.

- ❖ Determinación del Número Más Probable (NMP), de bacterias Coliformes Totales en 100 ml de muestra (Método de Wilson).

A) Ensayo presuntivo:

Siembra:

Se realizó por duplicado en tubos que contenían caldo lactosado, con la Campana de Durham.

De la muestra de agua se sembraron, 3 tubos de caldo lactosado de doble concentración: 10 ml, 3 tubos de caldo lactosado de simple concentración: 1 ml, 3 tubos de caldo lactosado de simple concentración: 0,1 ml y se incubaron los tubos a 37 °C durante 48 horas.

Se determinó con los tubos positivos (ácido y gas), el NMP utilizando la tabla de Hoskins. La formación de gas a las 48 horas se considera evidencia suficiente de la presencia de coliformes.

B) Ensayo confirmativo: Diferenciación de bacterias coliformes totales

- Pasadas las 48 horas, de los tubos positivos de la prueba presuntiva, se cultivó con asa de inoculación, en tubos con caldo verde brillante (CVB) de simple concentración que luego fueron incubados durante 48 horas a 37°C.
- Se consideran positivos si hay presencia de turbidez y gas.

Incubar las placas invertidas a 37 °C examinarlas a las 24 - 48 horas. Observar en estos medios sólidos de confirmación si existen colonias típicas de coliformes.

Tabla de Hoskins

Número de tubos positivos del total de:

3 tubos de 10 ml de muestra	3 tubos de 1 ml de muestra	3 tubos 0,1 ml de muestra	Índice del NMP/100 ml
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64

Control de calidad de agua de pozo, La Ceiba, León.



3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100

Bacterias Coliformes Fecales

Escherichia coli

- Escoger tubos gas positivos de lactosa verde brillante procedentes del recuento de bacterias coliformes (NMP/100ml).
- Inocular con una asada de caldo de los cultivos seleccionados positivos en tubos de: caldo verde brillante, una asada a caldo E.coli, incubar los tubos de caldo E.coli en baño maria 45 °C por 48 horas y ver si son positivos de formación de gas a las 24 horas. Los tubos de caldo E.coli que presenten gas son positivos también de organismos coliformes fecales ya que a esta temperatura solo el bacilo E. coli fecal produce ácido y gas.
- Posterior a la incubación del caldo E. coli se transfiere a agar EMB (eosina azul de metileno). Se considera positiva la prueba de E. coli por el crecimiento de colonias gram-negativas de color verde metálico con centro negro.

Pseudomona aeruginosa

- ❖ Aislamiento e Identificación de *Pseudomona aeruginosa*
 - La muestra de agua se siembra en agar Cetrimide. Se incuba a 37 °C por 24 horas.
 - Se considera que hay presencia de *Pseudomona aeruginosa* por el crecimiento de colonias gram-negativas de color verde fluorescente.

V. MATERIAL

y

MÉTODO

Tipo de estudio: Experimental

Unidad de análisis y observación: 200ml de agua de pozo (100ml muestra A y 100ml muestra B) en Análisis microbiológico y 1500ml de agua de pozo en Análisis físico-químico.

Universo de estudio: Pozos ubicados en la comarca El Convento, La Ceiba-León

Selección y tamaño de la muestra: Dos Pozos ubicados en la comarca El Convento.

Procedimiento para la recolección de la información: Se realizó una investigación exhaustiva necesaria para la elaboración del protocolo, en la Biblioteca del Campus Médico y en el Laboratorio de Agua de la UNAN-León. Se envió carta a directora del laboratorio de análisis de agua de la Unan-León, para coordinar la realización del ensayo físico químico de las muestras en estudio.

El análisis microbiológico se realizó por las investigadoras en el laboratorio de Microbiología de la carrera de Farmacia en la facultad de Ciencias Químicas. Para la recolección de información sobre los pozos en estudio se llevó a cabo una entrevista dirigida a los propietarios de dichos pozos. El análisis de parámetros físicos químicos fue realizado en conjunto con el personal del laboratorio de agua, para el análisis de estos parámetros se requiere que la muestra se tome en recipientes de plástico o vidrio de 4 litros preferiblemente nuevos o lavados por el personal del laboratorio, estos tienen que ser enjuagados al menos tres veces con el agua a analizar, y finalmente se llena con la muestra homogenizada en el caso que contenga sólidos. Para la toma de muestra en los análisis microbiológicos se realizó de manera aséptica utilizando erlenmeyer de 250 ml estériles, guantes y boquilla. Ambas muestras serán transportadas en un lapso máximo de 4 horas en un termo con hielo para evitar una alteración en el contenido microbiológico que pudiera tener la muestra. A continuación se describirá brevemente el procedimiento que se llevará a cabo para la realización de ambos ensayos físico-químico y microbiológico:

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

✓ **Cloruro (Método del Nitrato de Mercurio)**

Procedimiento

Preparar el blanco con agua destilada

Agregar 50mL de la muestra en un Erlenmeyer

Añadir 2mL de ácido nítrico y unas gotas de nitrato de plata, si el ión CLORURO está presente pasara de color verde-azul a azul intenso.

✓ **Conductividad (Método de Laboratorio)**

Procedimiento

La medida debe ser realizada a 25°C, en caso contrario se deben realizar las correcciones necesarias para la temperatura de trabajo y el resultado final debe ser informado a 25°C.

Determinación de la constante de la celda:

Se enjuagó la celda de conductividad con al menos tres porciones de la solución de KCl 0.01 M. Se ajustó la temperatura de la cuarta porción a $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ y medir.

Medida de la conductividad:

Se enjuagó la celda de conductividad con una o más porciones de la muestra a medir. Ubicar la celda en la muestra de tal manera que no queden retenidas burbujas de aire.

Se ajustó la temperatura de la muestra a $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ y se midió la resistencia o la conductividad de la muestra

✓ Dureza Total (Método Titulométrico de EDTA)

Procedimiento

Preparar el estándar y el blanco con 50ml de agua destilada.

Titulación de la muestra:

a) Se seleccionó un volumen de muestra que requiera un gasto de EDTA menor a 15 ml. Diluir la muestra a 50 ml con agua destilada.
Se agregó 2 ml de solución buffer.

b) Se agregó 4 gotitas de reactivo indicador.
Titular con solución de EDTA lentamente y agitando continuamente hasta viraje del color de la solución de rojizo a azul.

✓ Sulfato (Método Turbidimétrico)

Procedimiento

Formación de turbidez con sulfato de bario: Medir 100 ml de muestra o una porción adecuada llevada a 100 ml en un erlenmeyer, luego añadir 5 ml de solución tampón y mezclar en un agitador durante 60 ± 2 seg. Mientras se agita añadir cristales de BaCl_2 .

Medida de la turbidez del sulfato de bario: Tras finalizar el periodo de agitación, vertir la solución en la cubeta del fotómetro y medir la turbidez a los $5 \pm 0,5$ minutos a 420nm.

Preparación de la curva de calibración: Calcular la concentración de SO_4^{2-} en la muestra comparando la lectura de la turbidez con una curva de calibrado preparada sometiendo los patrones de SO_4^{2-} al método completo. Comprobar la fiabilidad de la curva de calibrado, llevando un patrón en paralelo con cada tres o cuatro muestras.

✓ Calcio (Método Titulométrico de EDTA)

Procedimiento

Se elabora un blanco y una solución estándar.

Titulación de la muestra:

Se tomó en un erlenmeyer de 250 ml un volumen de muestra que requiera un gasto de EDTA menor a 15 ml. Diluir la muestra a 50 ml con agua destilada.
Se agregó 2 ml de solución NaOH 10 N. El pH deberá estar entre 12 y 13.

b) Se agregó 2ml de reactivo indicador de murexida.
Titular con solución de EDTA inmediatamente después de agregar el reactivo indicador.
Agregar el EDTA lentamente y agitando continuamente hasta viraje de color de la solución de rosado a violeta. Luego del punto final agregar 1 o 2 gotas más de la solución de EDTA para verificar que el color no cambia.
El color pasara de rosa a violeta, lo que caracterizara la presencia de calcio.

✓ Magnesio (Método de Cálculo)

Se estima la concentración de magnesio como la diferencia entre la dureza y la el calcio.

$$\text{Mg, mg/L} = (D - \text{Ca}) \times 0.243$$
$$\text{Dureza de Mg, mg CaCO}_3/\text{L} = (D - \text{Ca})$$

donde:

D: dureza total expresada en mg CaCO₃/L

Ca: concentración de calcio expresada en mg CaCO₃/L

✓ Nitratos (Método Espectrométrico Ultravioleta Selectivo)

Procedimiento

Se preparó el blanco que es agua destilada el cual se utiliza para eliminar las interferencias de los reactivos.

Se midió 50ml de la muestra y se lleva a un Erlenmeyer.

Añadir unas gotas de ácido nítrico a la muestra.

Se le adicionó 1ml de HCL para liberar los nitratos y ponerlos en estado libre.

Determinación:

La muestra debe ser clara, si es necesario filtrarla.

Se midió la absorbancia de la muestra a 220 y 275 nm contra un blanco de agua.

✓ **Nitritos (Método Colorimétrico)**

Procedimiento

Para observar la presencia de Nitrito primeramente se elabora un blanco para calibrar el equipo a utilizar y una solución estándar para control interno del analista en este caso la solución estándar es de 0.30mg/L.

Se procede a la elaboración de la solución estándar, con una pipeta se toman 6mL de nitrito se lleva a un balón con agua destilada, se homogeniza y se lleva al estándar referido.

Finalmente se toman dos beaker con agua de la muestra.

Luego se lleva todo a la campana (blanco, solución estándar y muestras a analizar), donde se le agrega los reactivos Zambelli y el hidróxido de amonio. La presencia de nitrito se caracteriza por un color amarillento.

Se procede a leer en el espectrofotómetro la cantidad presente de Nitrito en las muestras pero antes se calibra dicho equipo con el blanco elaborado.

Se lee la solución estándar como referencia en este caso leerá 0.30mg/L que fue a lo que se preparo y finalmente se leen las muestras.

✓ **Fluoruro (Método del SFANDS)**

Procedimiento

Solución madre de Fluoruro de 1000mg/L: Disolver 221.0mg de fluoruro de sodio anhídrido NaF en agua destilada y diluir a 1L en matraz aforado 1.0ml -100 µg de F⁻.

Solución patrón de fluoruro: Diluir 100ml de solución madre de fluoruro a 1L con agua destilada en matraz aforado 1.0ml-10.0 µg de F⁻.

Solución SFANDS: Disolver 958mg de SFANDS, sodio 2-(parasulfofanilazo)-1,8 dihidroxi 3,6naftalen disulfonato, en agua destilada a 500ml en matraz aforado.

Reactivo Zirconil- acido: Disolver 133mg de cloruro de zirconilo octahidratado ZrOCl₂ * SH₂O en unos 25ml de agua destilada. Añadir 350ml de HCl conc. Y diluir a 500ml con agua destilada en matraz aforado.

Reactivo Zirconilo acido-SFANDS: Mezclar volúmenes iguales de solución SFANDS y zirconilo.

Se elabora un blanco para calibrar el equipo y finalmente procedemos a leer las muestras a analizar.

Añadir el reactivo de color 10ml a cada muestra, la lectura se realiza a una temperatura de 25°C.

✓ **pH (Método Electrométrico)**

Procedimiento

Antes de iniciar la lectura de las muestra se autocalibra el equipo de manera manual.

Para la calibración se utilizaron tres soluciones buffer a pH 4,7 y 10 y así obtener una mejor referencia. La temperatura debe ser de 25°C.

Análisis de la muestra: Una vez calibrado el equipo se leen las muestras a analizar en el pHmetro, después de leer la primera muestra se lava con agua destilada los electrodos y se seca con un paño suave para proceder a leer la segunda muestra.

✓ **Hierro (Método Espectrométrico de absorción atómica)**

Procedimiento

Consiste en determinar mediante Absorción atómica la concentración de hierro en agua.

Preparar la recta de calibrado

Se comienza leyendo el blanco (ácido nítrico más agua destilada al 1%)

Medir los patrones de hierro en espectrómetro

En un vaso de precipitados poner la muestra y medirla

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se descontaminó el área para realizar el análisis microbiológico de agua, se procedió a preparar los diferentes medios de cultivos de acuerdo al método de preparación indicado en la etiqueta respectiva, se mide pH y se esterilizan los medios preparados.

Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM)

De 100ml de muestra se adiciona 1ml a un tubo que contiene 9ml de solución fosfato mono básico de potasio pH 7.2 constituyendo esta la primera dilución, de esta dilución se transfiere 1ml a otro tubo que contiene 9ml de solución fosfato mono básico de potasio (segunda dilución).

De cada dilución respectiva se transfiere 1ml por duplicado a placas petri vacías y estériles se agrega de 15-18ml de agar tríptica caseína soya se homogeneiza con la muestra, esperar a que solidifique, incubar las placas invertidas con objeto de que el agua de condensación del agar no caiga sobre la superficie del cultivo a 37°C por 48 horas.

Antes de que el medio de cultivo solidifique homogeneizar cada caja mediante movimientos de translación y rotación en una superficie plana aproximadamente durante 1 minuto evitando que se mojen la tapa y los costados de la caja, de esta manera el agua y el agar se mezclan adecuadamente.

Dejar reposar las cajas el tiempo necesario para que solidifique el agar.

Transcurrido el tiempo de incubación contar las colonias que se han desarrollado en cada una de las placas, usando un cuenta colonias para efecto de facilitar la lectura.

Coliformes Totales (Método NMP)

Prueba Presuntiva

Se preparó una batería de 9 tubos con caldo lactosado y campana de Durham en cada uno de los tubos. Los tres primeros tubos se agrega 10 ml de caldo lactosado a doble concentración, los otros seis tubos se adiciona 5ml de caldo lactosado a concentración simple luego se procede a esterilizar.

De 200ml de agua de pozo se agito con el objetivo de homogeneizar el contenido, y se descarto 100ml de la muestra.

Se agrega 10ml de muestra a los tres primeros tubos de doble concentración de caldo lactosado 10^{-1} , 1ml de muestra a los tubos de simple concentración 10^{-2} y 0.1ml de muestra a los tubos restantes concentración 10^{-3} . Se incuban los medios de cultivos con la muestra a 37°C.

Prueba Confirmativa

De los tubos considerados positivos (Presencia de turbidez y gas) se trasfiere con el asa de inoculación a los tubos que contienen caldo verde brillante (CVB). Se incuban a 37°C por 48 horas. Se consideran positivos si hay presencia de turbidez y gas.

Coliformes Fecales

Microorganismo indicador: *Escherichia coli*

De un tubo positivo de caldo verde brillante se trasfiere por duplicado utilizando asa de inoculación a caldo E.coli.

Se colocan los tubos en una gradilla y se incuban en baño maría a 45°C por 24 horas. Posterior a la incubación del caldo E. coli se transfiere a agar EMB (eosina azul de metileno). Se considera positiva la prueba de E. coli por el crecimiento de colonias gram-negativas de color verde metálico con centro negro.

Pseudomona aeruginosa

De la muestra de agua de pozo se cultiva con asa de inoculación a agar selectivo Cetrimide. Se incuban las dos placas a 37°C por 48 horas. Se considera que hay presencia de *Pseudomona aeruginosa* por el crecimiento de colonias gram-negativas de color verde fluorescente.

MATERIAL

Análisis Físico-químico

Parámetro	Equipo	Instrumento
CLORURO	-Beaker o erlenmeyer de 100ml -Balón de 50ml -Microbureta	-Agitador magnético modelo: Agitamic–N, J.P Selecta.
CONDUCTIVIDAD	-Beaker 100ml	-Conductímetro modelo: GPL 32 Crison.
DUREZA TOTAL	-Bureta de 10ml -Balón 50ml -Beaker o erlenmeyer 100ml -Pipeta volumétrica de 2ml	
SULFATO	-Espectrofotómetro -Balón de 10ml -Beaker o erlenmeyer de 250ml -Pipeta volumétrica de 5ml -Espátula	-Agitador magnético modelo :Agitamic–N, J.P Selecta
CALCIO	-Beaker o erlenmeyer de 100ml -Balón de 50ml -Bureta -Pipeta volumétrica de 2ml -Espátula	
	-Beaker de 250ml	-Espectrofotómetro uv-visible modelo: Lambda Computer.

NITRATO	-Balón de 50ml -Pipeta de 1ml	
NITRITO	-Beaker de 250ml -Balón de 50ml -Pipeta de 1ml	-Espectrofotómetro uv-visible modelo: Lambda Computer.
FLUORURO	-Beaker o erlenmeyer 100ml -Pipeta volumétrica de 10ml -Balón de 50ml	-Espectrofotómetro modelo: Lambda Computer
pH	-Baker o erlenmeyer de 100ml	-pHmetro modelo: GLP 21. Crison
HIERRO	-Gotero -Beaker o erlenmeyer de 100ml	-Espectrofotómetro de absorción atómica modelo: Analyst 700

Análisis Microbiológico

Equipo

- Incubadora: modelo Precision Scientific.
- pHmetro: Corning pH meter model 10
- Tubos de ensayo
- Campanas de Durham
- Placas petri 100mm x 10mm
- Beaker
- Pipeta 10ml
- Balanza
- Asa de inoculación

Operacionalización de Variables:

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	ESCALA
PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS	Concentración de ciertos componentes químicos así como las características organolépticas.	pH	6.5 a 8.5
		Conductividad eléctrica	400 μ S/cm
		Nitrato	25 -50 mg/l
		Nitrito	1 mg/l
		Sulfato	25- 250 mg/l
		Cloruro	25- 250 mg/l
		Fluoruro	0.7 - 1.5 mg/l
		Dureza Total	400 mg/L CaCo ₃
		Calcio	100 mg/L CaCo ₃
		Magnesio	30-50 mg/L CaCo ₃
		Hierro	0.3 mg/L
Apariencia, olor	Incolora e inodora		
COLIFORMES FECALES	Grupo bacteriano presentes en los intestinos de humanos, animales y los suelos, que representan una indicación de la contaminación fecal. Toleran temperatura de 45 ⁰ C.	Utilización de Lactosa en el medio de cultivo. Crecimiento a 45 ⁰ C	Presencia-Ausencia

<p>COLIFORMES TOTALES</p>	<p>Grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos.</p>	<p>Presencia de gas en la campana de Durham por fermentación de la lactosa.</p>	<p>Presencia-Ausencia</p>
<p><i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i></p>	<p>Bacterias Gram-negativas que ocasionan enfermedades infecciosas en humanos.</p>	<p>Colonias pequeñas verdes fluorescentes en agar cetrimide.</p>	<p>Presencia-Ausencia</p>

Procesamiento de la información: El procesamiento de los datos se realizó a través del programa Microsoft office Word 2007 (office 2007) el cual permitió presentar los resultados en tablas donde se refleja el cumplimiento de los objetivos planteados en el estudio.

Método e instrumento de recolección de información: Formato escrito para llenado de resultados de análisis de agua, físico-químicos y microbiológicos. Observación del área aledaña al pozo.

VI. RESULTADOS

y

ANÁLISIS

Físico-Químicos

RESULTADOS MUESTRA A

Parámetros	valor máximo admisible (CAPRE)	resultados obtenidos
PH	6.5-8.5 unid pH	7.01 unid Ph
Conductividad	400 $\mu\text{s}/\text{cm}$	280 $\mu\text{s}/\text{cm}$
Nitrato	25-50 mg NO_3^-/L	44.47 mg NO_3^-/L
Nitrito	0.1-3.0 mg NO_2^-/L	0.035 mg NO_2^-/L
Dureza total	400mg CaCO_3/L	105.6 mg CaCO_3/L
Calcio	100 mg Ca/L	24.48 mg Ca/L
Magnesio	30-50 mg Mg/L	10.67 mg Mg/L
Cloruro	25-250 mg Cl/L	22.10 mg Cl/L
Sulfato	25-250mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$	12.67 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$
Flúor	0.7-1.5 mg F/L	0.54 mg F/L
Hierro	0.3 mg Fe/L	0.998 mg Fe/L

Según los resultados obtenidos en la presente muestra, los niveles están dentro de los valores establecidos por la norma CAPRE, lo que nos indica que a nivel del subsuelo no hay contaminantes químicos a concentraciones que alteren la composición del suelo e influya en la contaminación química del agua, no así el hierro cuya concentración se encuentra fuera del rango permisible pero no sobrepasando 1mg/L. Esta concentración de hierro encontrada, normalmente se debe a la disolución de rocas ferrosas.

El hierro en aguas subterráneas en zonas rurales es muy frecuente: los niveles de concentración van entre rangos de 0 a 50mg/L, mientras las normas CAPRE recomienda niveles de <0.3mg/L, los que pueden aumentar por disolución de rocas ferrosas, en concentraciones no mayores de 1 mg/L.

RESULTADOS MUESTRA B

Parámetros	valor máximo admisible (CAPRE)	resultados obtenidos
PH	6.5-8.5 unid pH	6.99 unid pH
Conductividad	400 $\mu\text{s/cm}$	160.6 $\mu\text{s/cm}$
Nitrato	25-50 mg NO_3^-/L	51.62 mg NO_3^-/L
Nitrito	0.1-3.0 mg NO_2^-/L	0.065 mg NO_2^-/L
Dureza total	400mg CaCO_3/L	82.82 mg CaCO_3/L
Calcio	100 mg Ca/L	19.80 mg Ca/L
Magnesio	30-50 mg Mg/L	8 mg Mg/L
Cloruro	25-250 mg Cl/L	19.74 mg Cl/L
Sulfato	25-250mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$	10.21 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{L}$
Flúor	0.7-1.5 mg F/L	0.61 mg F/L
Hierro	0.3 mg Fe/L	0.999 mg Fe/L

Con respecto a las determinaciones físico-químicas, los niveles de pH, conductividad, nitrito, dureza, calcio, magnesio, cloruros, sulfato y fluoruro se encuentran dentro de los intervalos citados como normales en la norma CAPRE vigente en nuestro país. Sin embargo se encontró que el hierro y nitrato supera los valores admisibles presentes en dicha norma, este último elemento es un contaminante inorgánico muy conocido y uno de los que genera mayor preocupación.

La causa por la cual se encontró alterado los niveles de nitrato, puede deberse a la cercanía en la que se encuentra dicha muestra con cultivos en los que se ha hecho uso de fertilizantes y la presencia de ganado.

Microbiológico

CONTEO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS

DILUCIONES	MUESTRA A	MUESTRA B
	UFC/ML	UFC/ML
10^{-1}	Mayor de 300	Mayor de 300
10^{-2}	Mayor de 300	266
10^{-3}	200	88

Al cultivar las diferentes diluciones en agar tríptica caseína soya se incubo por 48 horas a 37 °C obteniendo crecimiento en superficie de numerosas colonias que confirman la presencia de bacterias aerobias, presentando mayor contaminación la muestra A con 200×10^3 UFC/mL.

COLIFORMES TOTALES

PRESUNTIVA

Numero de tubos positivos				
	3 tubos con 10ml de muestra	3 tubos con 1ml de muestra	3 tubos con 0.1ml de muestra	Índice del NMP/100 ml
MUESTRA A	3	3	3	Mayor de 1100
MUESTRA B	3	3	3	Mayor de 1100

Luego de realizar las respectivas diluciones con las muestras de agua, incubamos los tubos a 37°C por 48 horas, encontrando posterior a la incubación, turbidez en todos los tubos que contenían caldo lactosado y presencia de gas en la campana de Durham lo que evidencia la probabilidad de presencia de coliformes totales. El dato obtenido del índice de NMP es superior a los reflejados en la tabla de Hoskins lo que refleja el grado de contaminación de estas aguas

CONFIRMATIVA

Se confirma la presencia de coliformes totales, dado que al transferir de los tubos positivos a caldo verde brillante incubados a 37° C por 48 horas, se observó gas en la campana de Durham. Este resultado está en concordancia con la bibliografía referida.

COLIFORMES FECALES

Se evidencia la presencia de *Echerichia coli* bacteria gram-negativas indicador de contaminación fecal. De los tubos positivos en la prueba confirmativa de coliformes totales se transfirió a caldo E.coli y se incubó en baño maría a temperatura de 45°C por 24 horas, de este tubo se transfirió con una asa a agar EMB, observando en este agar colonias de color verde tornasol característico de esta bacteria. La E.coli se diferencia de los coliformes totales porque tiene la capacidad de crecer a temperatura de 45°C.

La presencia de esta bacteria en la muestra es indicativo del riesgo que tienen las personas que la consumen de padecer enfermedades gastrointestinales y renales.

Pseudomona aeruginosa

<i>MUESTRA I</i>	<i>MUESTRA II</i>
Presencia	Presencia

Ambas muestras se cultivaron en agar selectivo cetrimide observando crecimiento de colonias color verde fluorescente gram-negativas, confirmando de esta forma la presencia de *Pseudomona*.

Al estar presente esta bacteria en las muestras en estudio, nos indican que las personas que la utilizan están expuestas a enfermedades dermatológicas y renales dado que esta bacteria es altamente patógena.

VII.

CONCLUSIONES

- De los once parámetros físico-químicos, evaluados, nueve de ellos (pH, conductividad, nitrito, dureza, calcio, magnesio, cloruros, sulfato y fluoruro) se encuentran dentro de los límites permitidos por las normas CAPRE exceptuando las concentraciones de hierro que son mayores de 0.3 mg/L y el nitrato de la muestra B fue de 51.62 mg/L.
- En las muestras se encontró bacterias aerobias en cantidades superiores a 300 UFC/ml lo que indica que estas aguas son inadecuadas para el consumo humano.
- Se encontró presencia de coliformes totales en un número mayor al permisible en agua para consumo humano al igual que presencia de coliformes fecales y *Pseudomona aeruginosa*.
- Las muestras de agua A y B cumplen con la mayoría de parámetros físico-químicos, no así con los microbiológicos, lo que nos indica que esta agua para ser apta de consumo humano requiere de tratamiento que elimine los microorganismos contaminantes.

VIII.

RECOMENDACIONES

A las Autoridades sanitaria e instituciones correspondientes:

- Es necesaria la vigilancia de las autoridades, antes de la perforación de un pozo, en el cual debe hacerse un estudio para determinar si la ubicación y el suelo es adecuado.

- Si bien los pozos pueden durar entre 20 y 30 años, se debe hacer un mantenimiento y desinfección por lo menos una vez al año a cargo de personal especializado.

- Crear pictogramas informativos que le facilite a la población el cuidado y mantenimiento de dicha fuente, de igual manera le permitirá a las autoridades ejercer un seguimiento y control de la situación.

- Que la Unan-León en coordinación con el Laboratorio de Agua y la Alcaldía impulsen campañas educativas o realicen un proyecto conjunto, acerca del agua de pozo en comunidades sin abastecimiento de agua potable.

- Poner a disposición del ministerio de salud los resultados de este estudio, para que tomen medidas alternativas en función de prevenir las posibles enfermedades que se pueden originar debido a la contaminación microbiológica del agua en estudio.

- Que los métodos de análisis sean revalidados.

A la población:

- Para mantener adecuadamente un pozo es importante garantizar un cerco perimetral alrededor del mismo, cubrir con una tapa el pozo, para evitar el ingreso de contaminantes y evitar la existencia de basura cerca o alrededor de él, así como baños o zonas donde se depositan excrementos, a no menos de 15 metros de los alrededores del pozo.

- Adicionalmente a los cuidados de esta fuente de agua, se debe tomar importancia a la forma de almacenar y tratar el agua en casa. Recordar que el agua de pozo no es potable, por ello, es necesario clorar o hervir y desinfectar el agua antes de beber y almacenar en depósitos tapados y a la sombra.

- Otro aspecto de importancia para el cuidado de la calidad de agua que se almacena es promover el lavado y desinfección de los depósitos de almacenamiento (barriles, tinajas, baldes y bidones).

IX.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) agua, C. T. (Marzo de 1994). *Normas de Calidad del Agua para Consumo*. Recuperado el 12 de Abril de 2012, de Normas de Calidad del Agua para Consumo: biblioteca.enacal.com.ni/bibliotec/Libros/pdf/CAPRE_Normas_Regional.pdf

2)Bravo, J. (1992). *Metodos Normalizados para el análisis de aguas residuales*. Madrid: ediciones Diaz de Santos, S.A.

3)Consejo Latinoamericano de iglesias, CLAI Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA. (junio de 2003). *interfazweb.net*. Recuperado el 02 de julio de 2012, de [interfazweb.net](http://www.interfazweb.net): <http://www.interfazweb.net/ifzclientes/ambiente/global/doc/3agua.pdf>

4)Enacal ¡Una Empresa para el Pueblo! (2008). Estado de los recursos hidricos en Nicaragua. Breve vistazo de los recursos hidricos. Las aguas subterranas. *ABC del agua y sus situacion en Nicaragua* .

5)Espinoza, M. A. (julio de 2005). *distribucion e la contaminacion natural por arsénico en las aguas subterranes de subcuenca suroeste del valle de Sebaco, Matagalpa-Nicaragua*. Recuperado el 07 de Marzo de 2012, de *distribucion e la contaminacion natural por arsénico en las aguas subterranes de subcuenca suroeste del valle de Sebaco, Matagalpa-Nicaragua*: www.cira-unan.edu.ni/media/documentos/MaxAltamirano.pdf

6)F.H de Canales, E. d. (1986). *Metodologia de la investigación: Manual para el desarrollo del personal de salud* . Mexico, D.F.



7)Gonzales, J. L. (26 de Enero de 2007). *MINSA ordena cerrar pozos de el Tololar*. Recuperado el 07 de Marzo de 2012, de MINSA ordena cerrar pozos de el Tololar: impreso.elnuevodiario.com.ni/2007/01/26/nacional/39751.

8)Gonzales, V. (24 de febrero de 2001). *pozos de Leon y Chinandega contaminados con pesticidas*. Recuperado el 07 de Marzo de 2012, de pozos de Leon y Chinandega contaminados con pesticidas: archivo.laprensa.com.ni/archivo/2001/febrero/24/nacionales/nacionales-20010224-08.html

9)López, J. P. (1994). *Introducción a la metodología de la investigación científica*. Managua : El amanecer, S.A.

10)Marcand Pajares, E. O. (2007). *Microorganismos indicadores de la calidad el agua de consumo humano en Lima Metropolitana*. Recuperado el 12 de Abril de 2012, de Microorganismos indicadores de la calidad el agua de consumo humano en Lima Metropolitana: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/basic/marchand_p_e/anteced.htm

11)O.Bellino, N. (2011). *Instituto de Ingenieria Sanitaria. Aguas Subterranas*. Recuperado el 20 de Marzo de 2012, de Instituto de Ingenieria Sanitaria. Aguas Subterranas.: www.fi.uba.ar/archivos/aguasubterranas_2011

12)salud y seguridad. (2010). *NC DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES* , www.ncdhhs.gov/espanol/salud/index.htm.

13)Vallvé, M. M. (s.f.). *Institut d'Investigació Tèxtil*. Recuperado el 10 de Abril de 2012, de Institut d'Investigació Tèxtil: portalsostenibilitat.upc.edu7detall_01.php?id=17&numapartat=7

X. ANEXOS

Instructivo para toma de muestra de aguas

Para el análisis de parámetros físicos químicos se requiere que la muestra se tome en recipientes de plástico o vidrio de 4 Litros preferiblemente nuevos o lavados por el personal del laboratorio, estos tienen que ser enjuagados al menos tres veces con el agua a analizar, y finalmente se llena con la muestra homogenizada en el caso que contenga sólidos. Si la muestra proviene de agua del grifo o agua de bomba se deja correr agua durante 5 minutos.

Recomendaciones para toma de muestras

Dejar correr agua durante 5 minutos (grifo o bomba)

Agua de pozo excavado se saca el agua en un recipiente limpio.

El etiquetado de la muestra debe contener lo siguiente:

Fecha y hora de muestreo

Lugar de muestreo

Tipo de muestra

Identificación única de la muestra

Cantidad de muestra

Las muestras se deben trasladar al laboratorio lo más rápido posible una vez recolectadas (antes de 4 horas), de no ser posible preservarlas a $< 4^{\circ}\text{C}$.

Auxiliadora Ramírez

Responsable técnico del laboratorio de agua, UNAN-León

Informe de resultados de análisis de agua

Interesado:

Tipo de muestra:

Identificación de la muestra :

Tomada por:

Fecha de muestreo:

Procedencia de la muestra:

Identificación del laboratorio:

Fecha de recepción:

Fecha de inicio del análisis:

Fecha de finalización del análisis:

Fecha de elaboración de informe:

Control de calidad de agua de pozo, La Ceiba, León.



Parámetros	Resultados	Unidad	Métodos de análisis (a)
pH		Unidades de pH	Método Electrométrico (4500-H ⁺ B)
Conductividad		µs /cm	Método Conductimétrico (2510B)
Nitrato		mg NO ₃ ⁻ /L	Método ultravioleta selectivo (4500-NO ₃ ⁻)
Nitrito		mg NO ₂ ⁻ /L	Método Colorimétrico (4500 NO ₂ ⁻ - B)
Dureza total		mg CaCO ₃ /L	Método Complexométrico con (EDTA 2340-C)
Fluoruro		mg /L	Método Electrodo Especifico SFANDS (4500-F-C)
Hierro		mg /L	Método Absorción Atómica (3500-Fe B)
Calcio		mg Ca/L	Método Complexométrico con (EDTA 3500Ca-B)
Magnesio		mg Mg/L	Método Complexométrico con (EDTA 2340-C)
Cloruro		mg Cl ⁻ /L	Método Volumétrico (4500Cl-C)
Sulfato		mg SO ₄ ²⁻ /L	Método Turbidimétrico (4500-SO ₄ ²⁻ -E)

Notas:

El informe solo corresponde a la muestra analizada.

Nota: (a) APHA-AWWA-WEF METODOS NORMALIZADOS PARA EL ANALISIS DE AGUA POTABLE Y RESIDUALES, 20 Edición, 199





