



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS

MODALIDAD

ELABORACIÓN DE UN TEXTO

**MANUAL DE PRÁCTICAS DE
CALIDAD DEL AGUA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA
MARINA Y MANEJO INTEGRAL
DE CUENCAS**

PRESENTA:

ULISES VELÁZQUEZ LÓPEZ

TONALÁ, CHIAPAS MÉXICO

JULIO DEL 2015



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
Y ARTES DE CHIAPAS**

**CENTRO DE INVESTIGACIONES
COSTERAS**

MODALIDAD

ELABORACIÓN DE UN TEXTO

**MANUAL DE PRÁCTICAS DE
CALIDAD DEL AGUA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA MARINA
Y MANEJO INTEGRAL DE CUENCAS**

PRESENTA:

ULISES VELÁZQUEZ LÓPEZ

DIRECTOR:

MC. ARKADY USCANGA MARTÍNEZ

CO-DIRECTOR:

MC. FRANCISCO JAVIER TOLEDO SOLIS

ASESORES:

MC. NATALIA PERALES GARCÍA

BIOL. MARIO A. GOMEZ GOMEZ



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	3
3. OBJETIVO GENERAL.....	5
3.1 ESPECIFICOS	5
4. NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO.....	6
5. INDICACIONES PARA EL REPORTE ESCRITO	8
PRACTICA No. 1 INSTRUMENTACION DEL LABORATORIO PARA DETERMINAR CALIDAD DEL AGUA.....	9
PRCTICA No. 2 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS DISUELTOS	14
PRÁCTICA No. 3 DETERMINACIÓN DE NITRITOS.....	19
PRÁCTICA No. 4 DETERMINACIÓN DE NITRATOS.....	25
PRÁCTICA No. 5 DETERMINACIÓN DE FOSFORO.....	31
PRÁCTICA No. 6 DETERMIANCIÓN DE ALCALINIDAD	37
PRÁCTICA No. 7 DETERMIANCIÓN DE DUREZA	42
PRÁCTICA No. 8 DETERMINACION DE CLORURO.....	48
PRÁCTICA No. 9 DETERMIANCIÓN SALINIDAD Y TEMPERATURA	53
PRÁCTICA No 10 DETERMINACIÓN DE OXIGENO DISUELTO (OD).....	56
BIBLIOGRAFÍA.....	60

1. INTRODUCCIÓN

La hidrosfera es un sistema que está constituido por el agua contenida en los océanos, mares, ríos, lagos, agua subterránea, el hielo y la nieve, de esto, el agua en estado líquido ocupa el 71 % de la superficie terrestre, que se distribuye por corrientes saladas y dulces (Vallentyne, 1978). Todas las formas de vida que habitan en la tierra dependen de un compuesto indispensable como lo es el agua el cual funciona como medio de transporte de los nutrientes que requieren tanto los organismos multicelulares más complejos hasta los microorganismos unicelulares que habitan en ambientes acuáticos como los que se distribuyen en ecosistemas terrestres (Hernández, 2010).

El agua es un medio ambiente saludable pero también puede ser el principal vehículo de transmisión de enfermedades, por lo que la falta de servicios de evacuación sanitaria y así como la falta de tratamiento de agua potable para consumo humano mundialmente son una de las causas que provoca la muerte a millones de personas por año (Carrillo-Inungaray *et al.*, 2008).

La calidad del agua se ve afectada por los procesos de degradación de reacciones químicas de metales, nutrientes, erosión de la tierra, cenizas, aguas residuales, residuos potencialmente tóxicos y por la contaminación con microorganismos patógenos provenientes de las heces como las bacterias coliformes, que se usan como el principal indicador biológico de la calidad del agua (Hugges *et al.*, 2005).

El desarrollo de los organismos acuáticos cultivados por el hombre (peces, crustáceos, moluscos, bivalvos, anfibios y microalgas) depende de diversos factores, dentro de los más importantes son los parámetros físicos, químicos y biológicos que determinan la calidad del agua, estos organismos pueden resistir cambios graduales en el medio, pero los cambios bruscos normalmente traen consecuencias graves durante el desarrollo del cultivo (López-Martínez, 2008).

Es por ello que el presente manual se realiza con la finalidad de proporcionar a los estudiantes de la carrera de Biología Marina y Manejo Integral de Cuencas, prácticas de laboratorio de la materia de Calidad del Agua para un mejor desarrollo en su formación académica. Estas prácticas son apegadas al programa de asignatura de calidad del agua en donde los alumnos conocerán y

comprenderán los cambios de los factores físicos, químicos y biológicos que están implicados en la vida acuática; lo cual es parte del objeto de estudio en esta carrera.

2. JUSTIFICACIÓN

El manual de calidad del agua se ha diseñado para realizar prácticas en el laboratorio de docencia, con la finalidad que los estudiantes adquieran habilidades y técnicas metodológicas que les permitan comprender el fundamento y los procesos físicos y químicos que ocurren durante la determinación de cada parámetro que dictamina la calidad del agua.

A través de la integración del marco teórico contenido en el programa de asignatura de calidad del agua e impartido en el aula, en conjunto con el aprendizaje y desarrollo en laboratorio de las prácticas contenidas en el presente manual, una vez finalizado el curso de la asignatura de calidad del agua, los alumnos serán capaces de realizar la determinación de alguno de los parámetros fisicoquímicos que determinan la calidad del agua, lo cual les apertura un amplio panorama en el ámbito de investigación de procesos ambientales relacionados con los sistemas acuáticos.

Las prácticas contenidas en el presente manual darán al alumno la capacidad de aplicar técnicas metodológicas para el monitoreo de la calidad del agua. En los últimos años los estudios de calidad del agua han cobrado gran relevancia debido a que las poblaciones humanas han tenido un crecimiento exponencial, acarreado consecuentemente el aumento de actividades antropogénicas, lo que ha ocasionado una aceleración en los procesos de deterioro ambiental, entre estos se encuentran, el deterioro y contaminación de cuencas y ríos, los cuales afectan directamente a los abastecimientos de agua para consumo humano, lo cual hace necesario el establecimiento de monitoreo continuo de la calidad del agua de ríos superficiales y subterráneos. Así mismo, el monitoreo de los parámetros fisicoquímicos de las aguas de desechos son de suma importancia, para evaluar el aporte de los asentamientos humanos con la finalidad de conocer sus características y componentes, esto para establecer los protocolos de tratamiento pertinentes de acuerdo a sus contenidos.

Por todo lo anterior el presente trabajo tiene como finalidad sentar las bases técnicas y metodológicas para evaluar las características fisicoquímicas del agua y a partir de este punto los alumnos tengan la capacidad de toma de decisiones

para plantear esquemas y protocolos de trabajo en diversas áreas que pueden ser desde los rubros productivos como la acuicultura e hidroponía hasta en áreas concernientes a temáticas ambientales, como en la intervención en el diseño y estructura de planes de manejo de cuencas hidrológicas, reservas naturales y de carácter de ordenamientos territoriales a partir del uso del agua, así como en la elaboración de Manifiestos de Impactos Ambiental en procesos antropogénicos donde los recursos acuáticos se vean influenciados y puedan presentar algún tipo de alteración o impactado.

3. OBJETIVO GENERAL

Adquirir la capacidad de análisis y aplicación de las técnicas, metodologías y procesos que determinan la calidad del agua de diferentes fuentes a partir de sus características físicas, químicas y microbiológicas de acuerdo a las normas oficiales vigente.

3.1 ESPECIFICOS

Se contempla el desarrollo de diez prácticas de acuerdo al programa de estudio de la materia de calidad del agua:

- Conocer la función de los materiales, equipos y símbolos de riesgos utilizados en un laboratorio para determinar calidad del agua.
- Determinar los sólidos disueltos en una muestra de agua aplicando la técnica de la normatividad vigente.
- Determinar la presencia de nitritos en una muestra de agua.
- Determinar la presencia de nitrato en una muestra de agua con el método de sulfato de brucina.
- Determinar la presencia de fosforo en una muestra de agua.
- Conocer el método establecido en la normatividad vigente, así como las sustancias que determinan la alcalinidad del agua.
- Conocer los procesos y las técnicas para la determinación de dureza establecidos en la normatividad vigente de calidad del agua.
- Conocer y aplicar la técnica nitrato de plata para la determinación de los iones cloruro en una muestra de agua.
- Conocer el uso de equipos para determinar salinidad y temperatura en el agua.
- Determinación de oxígeno disuelto en una muestra de agua.

4. NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO.

El Consejo Divisional de Ciencias Biológicas y de la Salud (CBS) aprobó un Instructivo del Funcionamiento Interno y Operativo para Regular el Uso de los Servicios e Instalaciones de los Laboratorios de Docencia que fue aprobado por el Consejo Académico en la Sesión número 314 del 9 de noviembre de 2009.

Un aspecto muy importante que se incluye en este instructivo es el de cumplir en forma estricta las normas de seguridad para evitar accidentes en el laboratorio, de manera particular en el capítulo IV de las Normas de Seguridad Artículo 17 que dice:

En el trabajo de laboratorio es fundamental la seguridad e integridad física de las personas involucradas; por ello, no podrá realizarse ninguna práctica o actividad experimental si el ejecutante no cuenta con los elementos de protección indispensables para su desarrollo o no cumple con las disposiciones normativas aplicables, para lo cual se deberán cumplir siempre las siguientes reglas.

1. El uso de bata en el laboratorio es obligatorio cuando se realizan experimentos. Es recomendable vestir ropa sencilla, que proteja la mayor parte del cuerpo, de preferencia de algodón, zapatos cerrados, con suelas gruesas y sin tacones o plataformas, así como traer el pelo recogido.
2. No introducir ni consumir alimentos o bebidas en el laboratorio. No fumar, ni tocarse la cara o los ojos con las manos.
3. Lavarse de manera meticulosa las manos con jabón y agua antes de salir del laboratorio, incluso cuando salgan por breves periodos.
4. Al manipular sustancias químicas corrosivas o peligrosas se utilizarán guantes, lentes protectores y/o mascarillas. No se deberá pipetear oralmente ningún tipo de solución o cultivo microbiano. Siempre se utilizarán propipetas adecuadas para este fin.
5. No se admitirán visitas personales ni el uso de aparatos que distraigan la atención y pongan en riesgo la seguridad en el trabajo.
6. Evitar la acumulación de materiales innecesarios en las mesas de trabajo. Realizar las actividades de manera ordenada y en silencio para evitar accidentes.
7. Localizar extintores, botiquín y salidas de emergencia.

Sobre los procedimientos

1. Antes y después de cada sesión práctica, los alumnos limpiarán las mesas de trabajo con el desinfectante que se le proporcionará.
2. Cuando se utilice el mechero, este será colocado en un lugar alejado del microscopio y otros equipos.
3. En el caso de derrame de cultivos o ruptura de recipientes con cultivos activos, tratar de conservar la calma, inmediatamente informar al profesor y/o realizar el siguiente procedimiento:
 - a. Colocar toallas de papel sobre el material derramado para evitar su dispersión.
 - b. Agregar abundante solución desinfectante sobre las toallas.
 - c. Dejar transcurrir al menos 15 minutos, retirar las toallas y tirarlas en el receptáculo destinado a la eliminación de materiales contaminados.
4. Al concluir cada sesión práctica, el estudiante se asegurará de que los materiales de desecho u objetos contaminados sean colocados en recipientes específicos para ello, así como en lugares apropiados. Deberán esterilizarse tal y como indique el profesor.

Sobre el uso de instalaciones y equipos de laboratorio

1. Operar un instrumento o aparato solamente cuando se tienen los conocimientos, de otra manera, solicitar la ayuda del profesor, del ayudante o del técnico del laboratorio, para adquirir la destreza necesaria.
2. Una vez concluido el uso de un aparato o instrumento, seguir el procedimiento adecuado para apagarlo, desconectarlo, guardarlo y entregarlo al responsable de su custodia.
3. Siempre dejar perfectamente limpios todos los equipos utilizados (microscopios, balanzas analíticas, autoclave, potenciómetros, etc.) y reportar al maestro cualquier irregularidad en el funcionamiento.
4. Verificar que las tomas de agua, gas y aire en el lugar de trabajo estén bien cerradas. Dejar limpias y secas las mesas de trabajo.

5. INDICACIONES PARA EL REPORTE ESCRITO

- **GENERALES.** El reporte deberá contener como máximo 10 cuartillas. Usar hojas blancas, tamaño carta. Escribir con letra arial número 12 y margen izquierdo de 3 cm, los otros de 1.5 cm, espacio entre líneas de 1.5 cm. Entregar en carpeta. El docente podrá señalar otra(s) forma(s) de elaborar el reporte. La entrega se realizará ocho días después de haberla concluido.
- **PORTADA.** Deberá anotar el nombre de la asignatura, el número de práctica y nombre de la misma, número de equipo e integrantes, lugar y fecha.
- **INTRODUCCIÓN.** Deberá ser breve, no mayor de dos cuartillas y deberá anotar las citas bibliográficas respectivas.
- **PROPOSITO(S) u OBJETIVO(S).**
- **DESCRIPCION DE LA ZONA DE ESTUDIO:** en donde fue realizada el análisis o muestreo de práctica.
- **METODO.** Describa de forma detallada la forma en que realizó la práctica.
- **RESULTADOS.** Es la parte medular del reporte. Describa y analice sus resultados, aquí anote los cuadros comparativos que realizó junto con su(s) compañero(s). Es conveniente anexar tablas, gráficas, dibujos, mapas, fotografías o esquemas de lo que observó durante la práctica. Si existen dibujos, éstos deberán estar entintados y coloreados cuando corresponda.
- **DISCUSIÓN.** Esta es la parte más difícil de escribir, pero es la más importante. Aquí se debe señalar las diferencias y similitudes que hallaste y comparar con los resultados de trabajos similares o referencias documentales. Puedes utilizar cuadros comparativos u otra herramienta que te sea útil para presentar la información.
- **CONCLUSIONES.** Redactar con relación al o los propósito(s) [objetivo(s)] y a los resultados obtenidos
- **CUESTIONARIO.** Deberá contestar las preguntas que se encuentran al final de cada práctica, citará la bibliografía empleada.
- **REFERENCIAS.** Debe citar siempre la fuente de donde obtuvo la información, ya sea escrita o visual. Utilice revistas especializadas, libros.

PRACTICA No. 1 INSTRUMENTACION DEL LABORATORIO PARA DETERMINAR CALIDAD DEL AGUA

INTRODUCCIÓN

En el laboratorio se encuentra un conjunto de equipos, reactivos y materiales con funciones específicas, útiles para desarrollar un trabajo de diagnóstico o investigación. Estos instrumentos presentan diferentes aplicaciones según el campo de conocimiento en el que se involucren y el propósito que se les asigne. Sin embargo su funcionamiento y los resultados directos que de ellos se obtienen dependen de unos principios básicos de acción (Ramos-Márquez, 2006).

La elección del equipo de laboratorio debe tomar en consideración los reglamentos nacionales y las instalaciones técnicas que determinan los requisitos para su uso apropiado por lo cual es de gran importancia reconocer e identificar los diferentes instrumentos o herramientas de laboratorio, ya que de esta manera seremos capaces de utilizarlos adecuadamente y conocer su utilidad.

OBJETIVO

Conocer la función de los materiales, equipos y símbolos de riesgos utilizados en un laboratorio para determinar calidad del agua.

MATERIALES

- Esquemas o láminas para la identificación de los instrumentos del laboratorio.
- Bibliografía que contenga información para conocer los equipos, normatividad y la simbología del laboratorio.

EQUIPO

- Laboratorio equipado de docencia.

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a aparatos eléctricos.	Usarlos bajo la supervisión de un experto.	Bajar la palanca del centro de carga y socorrer con los primeros auxilios.
Cortadura por ruptura de un material de vidrio.	Utilizar bata, guates y zapatos cerrados.	Socorrer con los primeros auxilios aliviando la parte dañada del cuerpo por cortadura.

PROCEDIMIENTO

1. Describir las características y funciones de los equipos y materiales del laboratorio, ubicando los más utilizados en campo para la medición de calidad del agua.
2. Llevar a cabo el lavado de algunos materiales de vidrio y pesar en las diferentes balanzas, para familiarizarse en su manipulación.
3. Realiza un reporte donde comentes tus observaciones, dudas o sugerencia del equipo e instrumentación utilizada en la determinación de calidad del agua.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Ninguno	Ninguno	Ninguno

PREGUNTAS

1. ¿Cuál es la importancia de conocer los instrumentos y equipos de laboratorio?
2. ¿Qué instrumentos ocuparías para monitorear los diferentes parámetros de la calidad del agua (salinidad, temperatura y OD) para un ecosistema estuarino?
3. Del equipo e instrumentos que conociste en esta práctica. Menciona algunos otros que conozcas.
4. ¿Cuáles son los parámetros que se determinan en el análisis de la calidad del agua?
5. ¿Con que esterilizas el instrumento de cristalería del laboratorio? Además, describe el procedimiento que se sigue para esterilización y la importancia de esta.

Ejemplos de equipos utilizados en calidad del agua.



Autoclave: sirve para la esterilización de materiales y equipos.



Agitador magnético: sirve para agitar las muestras y/o calentarlas.



Baño María: sirve para calentar muestras de manera indirecta o para mantenerlas en una temperatura constante.



Balanza analítica: sirve para medir la muestra con mayor precisión.



Multiparametros: mide los parámetros de calidad del agua



Centrifuga: separa los fluidos de mayor densidad sedimentándolos y los de menor densidad dejándolos sobre la superficie.

CON LA AYUDA DE BIBLIOGRAFÍA IDENTIFIQUE LA SIGUIENTE SIMBOLOGÍA.



E



O



F+



F



T+



T



C



Xi



N



RPBI

PRÁCTICA No. 2 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS DISUELTOS.

INTRODUCCIÓN

El enriquecimiento de las aguas naturales con nutrientes, induce a una variedad de cambios biológicos y químicos en la calidad del agua que pueden ser considerados beneficiosos o perjudiciales, según los usos que de ella se hagan. Valores altos de materia disuelta en el agua tiene un efecto negativo sobre la calidad de la misma con mal olor, color, sabor (Marco *et al.*, 2004). Las partículas como arcilla, plancton, restos pequeños de animales y plantas y otros minerales son la composición de los sólidos suspendidos en el agua (Heredia *et al.*, 2004). El diámetro de la materia suspendida o disuelta en el agua varía, normalmente la materia en suspensión posee un diámetro mayor a 0,45 μm (Fabuss y Fabuss, 1974, Vanous *et al.*, 1982).

Los sólidos totales son la suma de todos los sólidos disueltos y suspendidos en el agua. Cuando se analizan los sólidos disueltos contenidos en el agua, se seca la muestra y el residuo final es pesado, conociendo de esta forma la masa de los componentes disueltos los cuales pueden ser las sustancias orgánicas como inorgánicas (Fernández *et al.*, 2003).

Esta práctica se basa en la medición cuantitativa de los sólidos así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.

OBJETIVO

Determinar los sólidos disueltos en una muestra de agua aplicando la técnica de la normatividad vigente.

MATERIALES

- 1 Matraz aforado
- 4 Crisol
- 1 Balanza analítica
- 1 Pinzas para crisol
- 1 Par de guantes para protección de calor
- 1 Desecador

EQUIPO

- 1 Mufla eléctrica para operar a $500^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$
- 1 Estufa eléctrica, para operar de 103°C a 105°C
- 1 Sistema de filtración (embudo, filtros de fibra de vidrio de $0,45\mu\text{m}$ de tamaño de poro, adaptador Walter, bomba de vacío, matraz kitazato).

REACTIVO

- Muestras de agua de diferentes procedencias.
- Agua destilada.

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a objetos calientes.	Uso de bata, goggles, y guantes de alta resistencia al calor, manejo adecuado de pinzas de sujeción.	Colocar abundante agua a temperatura ambiente o levemente fría.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Tomar un mínimo de 500 ml de muestra en envases de polietileno y taparse inmediatamente después de la colecta, la muestra debe preservarse a 4 °C hasta su análisis.
2. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de siete días. Sin embargo, se recomienda realizar el análisis dentro de las 24 h posteriores a su colecta. Las muestras deben estar a temperatura ambiente al momento del análisis.

Preparación de los crisoles Gooch

3. Introducir el filtro de fibra de vidrio en el crisol con la cara rugosa hacia arriba con apoyo de una pinza de disección para evitar contaminarlo con las manos, mojar el filtro con agua y aplicar vacío con apoyo de un matraz kitazato y una bomba de vacío para asegurar que el filtro se adhiera al fondo del crisol. De este punto en adelante el crisol únicamente se manipulará con pinzas de sujeción.
4. Los crisoles se introducen a la mufla a una temperatura de $550^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$, durante 20 minutos, después de este tiempo transferirlos a la estufa a $103^{\circ}\text{C} - 105^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos.
5. Sacar y enfriar a temperatura ambiente dentro de un desecador durante 20 minutos, posteriormente pesar los crisoles y repetir el ciclo anterior hasta alcanzar el peso constante, el cual se obtiene hasta que no haya una variación en el peso mayor a 0.5 mg. Registrar como G1.

Preparación y análisis de la muestra

6. Sacar las muestras del sistema de refrigeración y permitir que alcancen la temperatura ambiente. Agitar las muestras para asegurar la homogeneización de la muestra.
7. Preparación de la solución estándar, para esto se pesan 0.0050 gr de almidón se diluye y afora a 100 ml. Este patrón debe prepararse cada vez que se realice el método.
8. Filtrar un volumen de 100 ml de cada muestra, destinando un crisol anteriormente llevado a peso constante para cada muestra, así mismo destinar un crisol para filtrar los 100 ml de la solución estándar de almidón y un crisol

para filtrar 100 ml de agua destilada ocupada como blanco del proceso. Para que los procesos de filtrado apliquen vacío con apoyo de un matraz kitazato y una bomba de vacío.

9. Todos los crisoles son transportados dentro del desecador hacia la estufa previamente calentada a una temperatura entre 103°C a 105°C durante 1 h aproximadamente. Sacar el crisol, dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente y determinar su peso hasta alcanzar peso constante, registrar como peso G2.

CALCULOS

Calcular el contenido de sólidos suspendidos totales de las muestras de acuerdo a la siguiente formula:

$$SST = (G2 - G1) * 1\ 000 / V$$

Dónde:

SST: son los sólidos suspendidos totales, en mg/l;

G1: peso del crisol vacío a peso constante, en mg;

G2: peso del crisol con el residuo de muestra, en mg, después de la evaporación.

V: volumen de muestra, en ml

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por microorganismos.	Serán colocados en zonas de almacenamiento para tratarlos.	Tanques de plástico de residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. ¿Por qué es importante determinar sólidos en el agua?
2. ¿Cómo pueden afectar altas concentraciones de sólidos disueltos la transmisión de luz visible a través de la columna de agua?
3. ¿Qué nos indica tener un exceso de sólidos en el agua?
4. De los cuerpos de agua en el ecosistema. ¿Dónde puedes tener mayor presencia de sólidos, marinos o dulceacuícolas? ¿Por qué?
5. ¿Es posible limpiar un cuerpo de agua ecológicamente con presencia de sólidos orgánicos? ¿Cómo y con qué eliminarías ese exceso?

INTRODUCCIÓN

Los nitritos son aniones de sales inorgánicas, el nitrito de sodio y de potasio son las más abundantes en los cuerpos de agua. El nitrito es la forma natural del ciclo del nitrógeno durante el proceso de fijación que posteriormente se convierte a nitrato, siendo uno de los principales nutrientes de las plantas y que además el nitrito puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materia orgánica (OPS y OMS, 1980; Garza *et al.*, 1992).

Debido a la competencia con la absorción de cloruro, el nitrito es generalmente menos tóxico en el agua de mar que en agua dulce, donde los salmónidos han resultado ser las especies más sensibles (Garza *et al.*, 1992).

Los peces con altos índices de absorción branquial de cloruro (por ejemplo, trucha arco iris, la perca, el lucio) demuestran ser más sensible a los nitritos que los peces con baja absorción de cloruro, estas sustancias constituyen etapas en la mineralización de las materias orgánicas o, como en el caso del NH_3^- , un producto excretado por los peces especialmente por vía branquial (Kinkelin *et al.*, 1985).

La determinación de nitritos en una muestra de agua se basa en que el compuesto diazonio formado por la diazotización de sulfanilamida con nitritos en el agua bajo condiciones ácidas es copulado con diclorhidrato N-(1-Naftil) etilendiamina para producir un color púrpura-rojizo que se mide espectrofotométricamente a 540 nm ó 543 nm.

OBJETIVO

Determinar la presencia de nitritos en una muestra de agua.

MATERIALES

- Membrana filtrante de 0.45 μm .
- Filtros de fibra de vidrio con diámetro de poro de 0.7 μm
- Papel filtro de poro medio.

EQUIPOS

- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
- 1 Espectrofotómetro disponible para utilizarse a una longitud de onda de 540 nm ó 543 nm equipado con celdas de 1 cm o mayor de paso óptico de luz.

REACTIVOS

- Muestras de agua de diferente procedencia.
- Agua destilada.
- Ácido clorhídrico. (HCl) concentrado
- Sulfanilamida ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$)
- Diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH-CH}_2\text{.2HCl}$)
- Acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa.3HO}$)
- Nitrito de sodio (NaNO_2^-)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a soluciones toxicas.	Uso de bata, goggles, cubre boca y guantes de látex.	Enjuagar con agua la zona afectada.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Las muestras deben ser colectadas y conservadas en frascos de vidrio o polietileno, en refrigeración.
2. La medición debe realizarse máximo 48 h posteriores a su recolección. Se conocen muy pocas interferencias a concentraciones de nitritos menores a

1000 veces. Sin embargo la presencia de oxidantes o reductores fuertes en las muestras afectará rápidamente las concentraciones de nitritos. Alta alcalinidad (>600 mg/l) dará bajos resultados debido a un cambio en el pH.

Pre-tratamiento de la muestra

3. Si es necesario filtrar la muestra a través de filtros de membrana de 0.45 μm según aplique.
4. Para evaluar el efecto del color y turbidez de la muestra, que no haya desaparecido con la filtración, debe prepararse un blanco de muestra. Este debe prepararse de igual forma que la muestra pero adicionar 2 ml de la disolución de HCl en lugar del reactivo de color-buffer, la absorbancia del blanco de muestra se resta a la absorbancia de la muestra.
5. Si la muestra tiene un pH mayor a 10 o bien, una alcalinidad total superior a los 600mg/l, ajuste a un pH de aproximadamente 6 con ácido clorhídrico.

Preparación de disoluciones

6. Disolución de Ácido clorhídrico (HCl). Para esto diluir 10 ml de HCl y 30 ml de agua.
7. Reactivo de color-buffer: A 250 ml de agua destilada añadir 105 ml de ácido clorhídrico concentrado, 5 g de sulfanilamida y 0.5 g de diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina. Agitar hasta disolver. Añadir 136 g de acetato de sodio y agitar hasta disolver. Diluir a 500 ml con agua destilada. Esta disolución es estable por varias semanas si se almacena en la oscuridad y en refrigeración.
8. Disolución de referencia madre de concentración de masa γ (NO_2^-)= 100 mg/l de NO_2^- .
9. Disolución de nitrito de sodio. Pesar 0.1493 g de nitrito de sodio (NaNO_2^-) previamente desecado 24 h en un desecador y disolver en agua y llevar a volumen de 1 l. Preservar con 2 ml de cloroformo por litro. 1 ml = 0.10 mg de NO_2^- .

Curva de calibración

10. En matraces volumétricos de 50 ml preparar la siguiente serie de disoluciones de materiales de referencia que contengan de 0.01 mg/l a 0.20 mg/l de NO_2^- a

partir de la disolución referencia de trabajo de nitrito de concentración de masa $\gamma(\text{NO}_2^-) = 1 \text{ mg/l}$ de NO_2^-

Disolución de referencia de concentración de masa $\gamma(\text{NO}_2^-) = 1 \text{ mg/l}$ de NO_2^- ml	Concentración de masa final de $\gamma(\text{NO}_2^-)$ en mg/l de NO_2^- cuando se diluye a 50 ml
0	0 Blanco
0.5	0.02
1.0	0.03
1.5	0.04
2.0	0.06
3.0	0.08
4.0	0.09
5.0	0.10
10.0	0.20

Preparación y análisis de la muestra

11. Tomar 50 ml de muestra pre-tratada cuando aplique, o una alícuota y diluir a 50 ml en un matraz volumétrico.
12. Añadir 2 ml de reactivo de color -buffer para cada disolución de referencia y muestras; mezclar y permitir que el color se desarrolle en por lo menos 15 min. El medio de la reacción para la coloración debe tener un pH entre 1.5 y 2 unidades de pH, esta medición puede realizarse con papel indicador.
13. Leer la absorbancia a 540 nm ó 543 nm.

Nota: Seguir las instrucciones del fabricante del equipo en cuanto a la resta automática del blanco de ensayo. Cada laboratorio que utilice este método debe operar un programa de control de calidad en referencia a la norma NMX-AA-115-SCFI-2001, vigente.

CÁLCULOS

Calcular la concentración de masa de $\gamma(\text{NO}_2^-)$ expresada en mg/l de NO_2^- utilizando la siguiente ecuación:

$$\alpha(\lambda) = b \cdot \gamma (\text{NO}_2^-) + a$$

Dónde:

b: es la pendiente ;

a: es la ordenada al origen;

α : (λ): Es la absorbancia del NO_2^- a la longitud de onda λ

γ : (NO_2^-): Es la concentración de masa de NO_2^- , (expresada en mg/l de NO_2^-).

- Considerar el empleo de los 52 ml de volumen final para la realización de los cálculos, ya que si el volumen de la muestra está en 50 ml y posteriormente se realiza la adición de los 2 ml del reactivo color-buffer no provocará ningún factor de dilución. Lo anterior siempre y cuando tanto las disoluciones de referencia de la curva de calibración y las muestras sean procesadas de la misma forma.
- El resultado obtenido de la ecuación refiere a mg/l de NO_2^- y la norma requiere reportar nitrógeno de nitrito como N, por lo tanto utilizar la siguiente ecuación para efectuar la conversión:

$$\gamma (\text{N} - \text{NO}_2) = \gamma (\text{NO}_2^-) \cdot \frac{\text{Ar}(\text{N})}{\text{Ar}(\text{NO}_2)}$$

Donde:

$\gamma (\text{N}-\text{NO}_2)$: Concentración de masa del nitrógeno de nitritos como N en mg/l

$\gamma (\text{NO}_2^-)$: Concentración de masa de nitritos en mg/l

Ar (N): 14 (masa atómica de nitrógeno)

Ar (NO_2^-): 46 (masa molecular de nitritos)

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Exposición de agua contaminada por microorganismos.	Serán colocados en zonas de almacenamiento para tratarlos.	Tanques de plástico de residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. Explique el ciclo del nitrógeno, destacando ¿Como el nitrógeno llega a transformarse en nitrito?
2. Mencione las bacterias que transforman al nitrógeno en sus diferentes formas químicas.
3. ¿Dónde puede presentarse mayores concentraciones de nitrito, en una muestra de agua de mar o en una muestra de agua dulce de un río? Explique el porqué de las diferentes concentraciones
4. ¿Tiene algún efecto tener altas concentraciones de nitrógeno en los cuerpos de agua de cultivo de peces?
5. De los grupos de peces condricios y osteíctios, ¿En cuáles de ellos puedes encontrar nitrógeno en su sangre? Además de su sangre, ¿Puede encontrarse el nitrógeno en alguna otra parte del cuerpo del pez?

PRÁCTICA No. 4 DETERMINACIÓN DE NITRATOS

INTRODUCCIÓN

Los nitratos son compuestos iónicos que forman parte del ciclo del nitrógeno, encontrándose de forma natural en el aire, agua y suelo y es esencial para el mantenimiento del ecosistema (Garza *et al.*, 1992).

Debido a diversas actividades agrícolas o industriales (uso masivo de fertilizantes químicos, exceso de residuos orgánicos por explotaciones ganaderas intensivas y alta concentración de aguas residuales urbanas), se produce un excedente de nitrógeno en el suelo. Este exceso de nitrógeno es absorbido en forma de nitrato por las plantas, siendo su principal nutriente que se acumulan en el suelo, filtrándose fácilmente a los sistemas acuíferos (Martínez Córdova *et al.*, 1998).

El nitrato es comúnmente encontrado en suelo y agua, pero usualmente a bajas concentraciones (menos de 4 mg/l en agua). Sin embargo el nitrato es altamente soluble y es transportado fácilmente cuando fuentes de contaminantes entran en contacto con el agua (Martin García *et al.*, 2002). Fuentes comunes de contaminación por nitrato incluyen sistemas sépticos, basureros, fertilizantes, estiércol, y material vegetal en descomposición, por lo que las aguas con mayor contenido de nitratos provienen de zonas cercanas a grandes explotaciones agrícolas, desembocaduras y zonas finales de los cauces de los ríos (García, *et al.*, 1994).

Esta práctica se basa en el método donde la brucina es un complejo que reacciona con los nitratos bajo condiciones ácidas y temperatura elevada para producir un complejo de color amarillo. Generalmente las muestras deben ser diluidas para obtener una concentración de nitrógeno de nitratos en el intervalo de concentraciones de 0.1 mg/l a 1 mg/l. La intensidad del color desarrollado es función del tiempo y la temperatura; ambos factores deben ser cuidadosamente controlados.

OBJETIVO.

Determinar la presencia de nitrato en una muestra de agua con el método de sulfato de brucina.

MATERIAL

- 1 Matraz aforado de 1 l.
- 1 Gradilla.
- 1 Charola de plástico.

EQUIPO

- 1 Espectrofotómetro.
- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
- 1 Baño María.

REACTIVOS

- Agua destilada.
- Muestras de agua en frascos de vidrio o polietileno de diferentes procedencias.
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Arsenito de sodio ($NaAsO_2$)
- Ácido clorhídrico (HCl).
- Ácido sulfanílico ($H_2NC_6H_4SO_3H$)
- Cloruro de sodio ($NaCl$)
- Sulfato de brucina [$(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 H_2SO_4 \cdot 7H_2O$]
- Cloroformo

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a soluciones toxicas.	Uso de bata, goggles, cubre boca y guantes de latex.	Enjuagar con agua la zona afectada.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Cuando la muestra presenta turbiedad, deben ser filtradas a través de un filtro de $0.45\mu\text{m}$. Los análisis deben realizarse lo más pronto posible. Se puede almacenar hasta por 48 h a 4°C . Para un periodo mayor, preservar con 2 ml de ácido sulfúrico/l y almacenar a 4°C . Sin embargo cuando la muestra es preservada con ácido, no es posible determinar nitritos y nitratos individualmente.

Preparación de disoluciones

2. Disolución de ácido sulfúrico: Añadir 500 ml de ácido sulfúrico concentrado a 125 ml de agua. Enfriar a temperatura ambiente. Mantener el frasco bien tapado para evitar la adsorción de humedad atmosférica.
3. Disolución de arsenito de sodio: Pesar aproximadamente pero con precisión 5 g de arsenito de sodio y llevar a 1 l con agua.
4. Disolución de cloruro de sodio: Pesar aproximadamente pero con precisión 300 g de cloruro de sodio. Disolver y aforar a 1 l con agua.
5. Disolución de brucina-ácido sulfanílico. Disolver 1 g de sulfato de brucina y 0.1 g de ácido sulfanílico en aproximadamente 70 ml de agua caliente. Añadir 3 ml de ácido clorhídrico concentrado, enfriar y aforar a 100 ml. Esta solución es estable durante varios meses. El color rosa que desarrolla lentamente no afecta la utilidad de la disolución. Almacenar en botella oscura y en refrigeración.

Patrones

6. Disolución madre de nitratos (100g/ml de N-NO_3^-). Secar 1 g de nitrato de potasio en una estufa a 105°C por 24 h. Pesar 0.7218 g de Nitrato de Potasio diluir en agua y aforar a 1 l, $1,00\text{ ml} = 100\ \mu\text{g N-NO}_3^-$. Preservar la disolución con 2 ml de cloroformo, la disolución es estable al menos por 6 meses.
7. Disolución estándar intermedia de nitratos (1 g/ml de N-NO_3^-). Tomar una alícuota de 10 ml de la disolución madre de nitratos y aforar a 1 l, con agua;

1.00 ml = 1,0 $\mu\text{g N-NO}_3^-$. Preservar la disolución con 2 ml de cloroformo, la disolución es estable por 6 meses.

Calibración

8. Calibración del espectrofotómetro.

Encender el espectrofotómetro y estabilizarlo de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

9. Empleando la disolución estándar intermedia de N-NO_3^- , preparar las disoluciones de trabajo en el intervalo de 0.01 a 1,0 mg N-NO/l. Medir 1, 2, 4, 7 y 10 ml y llevar a 10 ml.

10. Desarrollo de color. Seguir el mismo procedimiento que las muestras.

11. Transferir una alícuota de cada estándar en la celda de 1 cm y medir su absorbancia a 410 nm.

12. Verificación de la calibración de la balanza analítica.

Preparación y análisis de la muestra

13. Si la muestra contiene cloro residual libre, remover por adición de una gota (0.05ml) de disolución de arsenito de sodio por cada 0.10 mg de cloro y mezclar.

14. Filtrar la muestra para remover turbiedad.

15. Transferir una alícuota de 10 ml de muestra o una alícuota diluida a 10 ml, al tubo de reacción.

16. Colocar en la gradilla los tubos de reacción necesarios incluyendo un tubo para el testigo y patrones.

17. Colocar la gradilla en un baño de agua fría y añadir 2 ml de la disolución de cloruro de sodio a cada tubo. Mezclar y añadir 10 ml de disolución de ácido sulfúrico. Mezclar y enfriar.

18. Si se desarrolla color o turbiedad sacar los tubos y leer los testigos de muestra contra el testigo de reactivos a 410 nm.

19. Colocar la gradilla en el baño de agua fría y añadir 0.5 ml del reactivo brucina – ácido sulfanílico. Mezclar y colocar la gradilla en el baño de agua

en ebullición manteniendo la temperatura de ebullición. Después de 20 min exactamente sacar los tubos y sumergirlos en agua fría.

20. A temperatura ambiente, leer los patrones y muestras contra el testigo de reactivo a 410 nm.

CALCULOS

- Obtener una curva de calibración graficando la absorbancia contra la concentración de N-NO_3^- de los estándares. Calcular las concentraciones de la muestra directamente de la curva de calibración. Reportar como miligramos de N por l (la suma de N-NO_3^- más N-NO_2^-) a menos que la concentración de N-NO_2^- se determine y reste separadamente.
- Hacer una gráfica con los valores de la curva de calibración y asegurarse obtener el coeficiente de correlación aceptable.
- Reportar mg N-NO_3^- / con la precisión correspondiente.

$$Y = m X + b$$

Dónde:

m: es la pendiente;

b: es la ordenada al origen;

Y: es la absorbancia, y

X: es la concentración (mg N-NO_3^- /l).

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por microorganismo.	Usar bata, guantes, goggles, cubre boca.	Plástico en residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. ¿Qué son los nitratos y que organismos intervienen para su transformación de manera natural?
2. Explique el proceso que tiene el nitrato para encontrarse en los cuerpos de agua.
3. ¿En qué eslabón de la cadena trófica acuática puede encontrarse en mayor concentración el nitrato? ¿Por qué?
4. Para la salud de la vida acuática, ¿dónde tiene mayor grado de afectación el nitrato en organismos de agua dulce o de agua salada?
5. Además de nitritos menciona algunas otras formas en las que se puede presentar el nitrógeno en el medio ambiente.

PRÁCTICA No. 5 DETERMINACION DE FOSFORO

El fósforo generalmente se encuentra en aguas naturales, residuales y tratadas como fosfatos. Éstos se clasifican como ortofosfatos, fosfatos condensados y compuestos órganofosfatados. Estas formas de fosfatos provienen de una gran cantidad de fuentes, tales como productos de limpieza, fertilizantes, procesos biológicos, etc. (Butturini *et al.*, 2009).

El fósforo es uno de los elementos químicos esenciales para la vida. Forma parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), del ATP y de otras moléculas que tienen el ion fosfato (PO_4^{3-}) y que almacenan la energía química, forma parte además de los fosfolípidos que integran y dan flexibilidad a las membranas celulares, y de los huesos y dientes de los animales, por lo que descargas de fosfatos a cuerpos de agua estimula el crecimiento de microorganismos en cantidades nocivas (Fernández *et al.*, 2005).

En esta práctica se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido molíbdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la reacción:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 690 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido. El método es aplicable cuando el contenido de fósforo en las muestras se encuentra entre las concentraciones de 0.01 mg P/l a 6 mg P/l.

Todo el fósforo contenido en la muestra debe estar como ión ortofosfato (PO_4^{3-}), ya que el método espectrofotométrico es esencialmente específico para este ión ortofosfato (PO_4^{3-}). La materia orgánica de la muestra es destruida por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P), e hidrolizando los polifosfatos a ortofosfatos.

OBJETIVO: Determinar la presencia de fosforo en una muestra de agua.

MATERIAL

- 1 Embudo de filtración y papel filtro.
- 1 Matraz aforado de 1 litro.
- 2 Matraz volumétrico de 250 ml.

EQUIPO

- 1 Placa de calentamiento: Una superficie de 30 cm X 50 cm es adecuada.
- 1 Autoclave: Puede utilizarse una autoclave capaz de alcanzar de 98 kPa a 137 kPa en lugar de la placa de calentamiento.
- 1 Estufa de 105 °C.
- 1 Espectrofotómetro: Para utilizarse de 190 nm a 900 nm y equipado con celda de 1 cm de paso óptico de luz.
- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.

REACTIVO

- Muestras de agua de diferentes procedencias.
- Agua destilada.
- Fosfato monobásico de potasio anhidro (KH_2PO_4)
- Fenolftaleína
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Persulfato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ o persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Ácido nítrico concentrado (HNO_3)
- Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)
- Cloruro estanoso dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Heptamolibdato de amonio tetrahidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a soluciones tóxicas químicas.	Uso de bata, goggles, cubreboca y guantes de látex.	Enjuagar con agua la zona afectada, si persisten las molestias acudir de emergencia al médico.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Tomar un mínimo de 500 ml de muestra en envases de plástico. Si la muestra solamente es analizada para determinar la forma de fósforo disuelto, filtrar la muestra inmediatamente después de la colecta a través de un papel filtro de poro fino. Conservar en refrigeración a 4°C. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días.

Preparación de disoluciones.

2. Disolución madre de fosfato. Pesar 219.5 mg de fosfato monobásico de potasio anhidro previamente secado a 105°C durante dos horas, aforar con agua a 1 l; 1 ml = 50 µg de P como PO₄³⁻.
3. Disolución de ácido fuerte. Cuidadosamente adicionar 300 ml de ácido sulfúrico concentrado a 600 ml de agua. Dejar enfriar y agregar 4 ml de ácido nítrico concentrado y aforar a 1l con agua.
4. Disolución de cloruro estano: Pesar 2.5 g de cloruro estano dihidratado y disolver en 100 ml de glicerol. Calentar en baño de agua y agitar con una varilla de vidrio. El reactivo es estable y no requiere de la adición de conservadores o almacenamiento especial.
5. Disolución de heptamolibdato de amonio tetrahidratado: Disolver 25 g de heptamolibdato de amonio tetrahidratado en 75 ml de agua. Con mucho cuidado agregar 280 ml de ácido sulfúrico a 400 ml de agua, enfriar y adicionar al heptamolibdato de amoniotetrahidratado y diluir a 1 l.

Digestión de la muestra

Preparación de la muestra por medio de la digestión con persulfato:

6. Usar 50 ml o la porción adecuada de la muestra bien mezclada. Adicionar una gota de fenolftaleína. Si aparece un color rojo, adicionar gota a gota ácido sulfúrico concentrado hasta que desaparezca el color. Posteriormente adicionar 1 ml de disolución de ácido fuerte y 0.4 g de persulfato de amonio o 0.5 g persulfato de potasio.
7. Calentar hasta que rompa la ebullición y mantenerla sobre la placa de calentamiento, por 30 min o 40 min o hasta que el volumen final alcanzado sea de 10 ml. Los compuestos organofosforados pueden requerir de 1.5 h a 2 h para su digestión completa. Enfriar, diluir a 30 ml con agua, adicionar una gota de fenolftaleína, y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio. Alternativamente, calentar por 30 min en una autoclave u olla de presión de 98 kPa a 137 kPa. Enfriar, añadir una gota de fenolftaleína y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio. Aforar a 100 ml con agua destilada. En algunas muestras puede formarse un precipitado en esta fase, pero no se debe filtrar. Mezclar bien para cualquier subdivisión de la muestra. El precipitado (posiblemente de fosfato de calcio) se redisuelve bajo condiciones ácidas de la prueba colorimétrica para determinar fósforo.

Análisis de la muestra

8. Ajustar el pH de la muestra. A 100 ml de muestra que contenga no más de 200 µg P y libre de color y turbidez adicionar 1 gota de fenolftaleína. Si la disolución tiene un color rosado, adicionar unas cuantas gotas de disolución de ácido fuerte para neutralizar.
9. Desarrollo del color en la muestra. Adicionar, agitando fuertemente después de cada adición, 4 ml de disolución de heptamolibdato de amonio tetrahidratado y 0.5 ml (10 gotas) de disolución de cloruro estanoso. La intensidad del color depende de la temperatura ambiente de la disolución final, incrementándose ésta alrededor de 1 % por cada grado centígrado más de temperatura ambiente. Por lo que es importante realizar las mediciones a la misma temperatura.

10. Medición de color. El tiempo en el cual se realiza la medición es importante para tener un buen resultado, la medición debe de efectuarse después de 10 min de haber desarrollado el color, pero antes de 12 min, utilizar el mismo intervalo de tiempo para todas las mediciones, medir la intensidad de color espectrofotométricamente a 690 nm y comparar contra la curva de calibración, utilizar como blanco agua.

Nota: Es necesario tener un blanco de agua y un blanco de reactivos. Debido a que el color se desarrolla primero de manera progresiva y posteriormente se desvanece, mantener siempre condiciones iguales de tiempos de desarrollo de color y medición para muestras y estándares. Preparar al menos un estándar por cada lote de muestras o una cada día que se realiza la prueba. La curva de calibración es lineal en un intervalo de concentraciones de 0.3 mg/l a 2 mg/l.

Curva de calibración.

Curva de calibración para un intervalo de trabajo de 0.3 mg/l a 2 mg/l. Preparar las disoluciones estándar con un mínimo de 4 puntos en un intervalo entre 0.3 mg P/l a 2 mg P/l en matraces volumétricos de 100 ml y desarrollar el color como se indica en la medición de color.

Tabla 1. Longitud de onda

Intervalo de P mg/l	Longitud de onda nm
1,0 - 5,0	400
2,0 -10	420
4,0 -20	470

CÁLCULOS

11. Calcular la concentración de la muestra por medio de la ecuación obtenida de la curva de calibración y que es representada por la siguiente ecuación:

$$Y = mX + b$$

Dónde:

m= pendiente;

b= ordenada al origen;

Y= absorbancia

X= concentración (mg P/l).

En caso de haber dilución de la muestra a lo largo del desarrollo del método (digestión y alícuota de muestra), utilizar la siguiente ecuación:

$$\text{mg P/l} = \text{concentración} \times \text{Factor de dilución}$$

Reportar los resultados en mg P/l con dos décimas, con la precisión correspondiente.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Exposición de agua contaminada por microorganismos.	Serán colocados en zonas de almacenamiento para transportarlos al centro de confinamiento y tratamiento	Tanques de plástico de residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. Describa el ciclo del fosforo.
2. ¿Cuál es la importancia biológica del fosforo?
3. ¿Cuál es la utilidad del fosforo en acuicultura?
4. Qué problemas causa el exceso de fósforos y sus derivados en los ecosistemas acuáticos?

PRÁCTICA No. 6 DETERMINACION DE ALCALINIDAD

INTRODUCCIÓN

La alcalinidad es una medida de la capacidad que tiene el agua para absorber iones hidrógeno sin tener un cambio significativo en su pH. La alcalinidad total es el número de moles de H^+ necesarios para valorar un litro de muestra de agua hasta el rango máximo de alcalinidad. Esta propiedad amortiguadora que permite que las aguas reciban sustancias ácidas sin sufrir cambios fuertes en su pH, debido a la presencia de los CO_3^- , HCO_3^- , e OH^- (Bruice, 2007). En suma la alcalinidad del agua está dada por el total de iones carbonato, bicarbonato e hidróxido, aunque también pueden incluirse otros aniones como borato, fosfato, silicato (Kramer, 1982).

La presencia de carbonato y bicarbonato en aguas naturales o superficiales puede tener diversos orígenes como, por disolución de dióxido de carbono atmosférico, respiración biológica, disolución de rocas carbonatadas (Abdullah y Eek, 1995). Se hace distinción entre dos tipos de alcalinidad: la alcalinidad a la fenoftaleína y la alcalinidad al anaranjado de metilo, llamada también alcalinidad total y está basada en lo siguiente: Las especies de carbonato presentes en el agua son función del pH y su distribución está dada de acuerdo al pH de cada tipo de ion, donde el Ácido carbónico actúa entre 0 y pH 7, los bicarbonatos entre pH 4 y 11, y los carbonatos entre pH 8 a 12 (García, 2011)

La determinación de la alcalinidad en una muestra de agua se hace por medio de una valoración de la muestra empleando como disolución valorante un álcali según sea el caso de concentración perfectamente conocida.

OBJETIVO

Conocer el método establecido en la normatividad vigente, así como las sustancias que determinan la alcalinidad del agua.

MATERIAL

- 1 Bureta con certificado o en su caso debe estar calibrada.
- 2 Vasos de precipitado de 500 ml
- 1 Soporte universal
- 1 Matraz Erlenmeyer de 250 ml.
- 1 Matraz aforado de 1 l.

EQUIPO

- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg
- 1 Estufa de 103 °C a 105°C.

REACTIVO

- Muestras de agua de cualquier procedencia.
- Agua destilada.
- Fenolftaleína
- Naranja de metilo
- Etanol
- Carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3) patrón primario
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), o ácido clorhídrico concentrado (HCl)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a soluciones tóxicas.	Uso de bata, goggles, cubreboca y guantes de látex.	Enjuagar con agua la zona afectada.

PROCEDIMIENTO

1. Llenar las botellas completamente y tapar herméticamente, ya que las muestras de aguas residuales pueden estar sujetas a la acción microbiana y a pérdidas o

ganancias de CO₂ u otros gases cuando se exponen al aire. Evitar la agitación de la muestra y su exposición prolongada al aire.

2. Las muestras deben conservarse a una temperatura de 0°C a 4 °C hasta su análisis. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 24 h.

Preparación de disoluciones.

3. Si las muestras de agua son recogidas en botellas de polietileno, deben lavarse con detergente libre de fosfatos, enjuagarse con agua y secarse a temperatura ambiente.
4. Preparar todas las disoluciones con agua destilada o desionizada que ha sido hervida recientemente durante 15 min y enfriar a temperatura ambiente. Al final el pH del agua debe ser ≥ 6 y su conductividad $< 2 \mu\text{S/cm}$. (agua libre de CO₂).
5. Disolución de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico (0.1 N). Diluir 8.3 ml de ácido clorhídrico concentrado ó 2.8 ml de ácido sulfúrico concentrado en 1l con agua libre de CO₂.
6. Disolución de ácido sulfúrico o clorhídrico (0.02 N). Diluir 200 ml de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico 0.1 N a 1 l de agua.
7. Disolución indicadora de naranja de metilo. Pesar 0.5 g del colorante naranja de metilo y aforar a 1l con agua. Filtrar la disolución fría para remover cualquier precipitado que se forme. O bien, pesar aproximadamente y con precisión 0.5 g de la sal de sodio y diluir a 1 l con agua, si es necesario filtrar cuando esté fría la disolución.
8. Disolución indicadora de fenolftaleína. Pesar 5 g de fenolftaleína y disolver en 500 ml de etanol, añadir 500 ml de agua con agitación constante. Filtrar si hay formación de precipitado.

Valoración de las disoluciones.

9. Valoración del ácido sulfúrico o ácido clorhídrico (0.02 N). Pesar 0.0265 g del patrón primario de carbonato de sodio, secado 105°C, añadir unos 25 ml de agua y unas gotas de la disolución de naranja de metilo, valorar con el ácido hasta el vire del indicador (de canela a amarillo).
10. Calcular la normalidad del ácido con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{A}{B \times 53} \times 1000$$

Dónde:

N: normalidad del ácido usado, equivalentes/l.;

A: gramos de carbonato de sodio;

B: ml de ácido utilizados, y

53: gramos por equivalente de carbonato de sodio.

Análisis de la muestra.

9. Transferir 100 ml de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
10. Adicionar 2 gotas de disolución indicadora de fenolftaleína.
11. Titular con la disolución valorada de ácido (0.02 N) hasta el vire de la fenolftaleína (de rosa a incoloro), registrar los mililitros gastados (alcalinidad a la fenolftaleína). Adicionar 2 gotas de la disolución indicadora de naranja de metilo.
12. Continuar con la titulación hasta alcanzar el vire del naranja de metilo (de canela a amarillo), alcalinidad total.
13. Registrar los volúmenes para ambos puntos finales.
14. Calcular la alcalinidad, tomando en cuenta el vire de los indicadores.

CALCULOS

Calcular alcalinidad total como CaCO_3 en mg /l mediante la siguiente formula:

$$\text{Alcalinidad total como } \text{CaCO}_3 \text{ en mg /l} = \frac{A \times N}{100} (50) (1000)$$

A: es el volumen total gastado de ácido en la titulación al vire del anaranjado de metilo en ml;

N: es la normalidad de la disolución de ácido;

100: es el volumen de la muestra en ml;

50: es el factor para convertir eq/l a mg CaCO_3 /l, y

1000: es el factor para convertir ml a l.

Reportar la alcalinidad en mg CaCO₃/l con la precisión correspondiente.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Exposición de agua contaminada por microorganismos.	Serán colocados en zonas de almacenamiento para transportarlos al centro de confinamiento y tratamiento	Tanques de plástico de residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. ¿Qué es la alcalinidad?
2. ¿Qué implicaciones genera para los organismos acuáticos el tener altas concentraciones de alcalinidad en los cuerpos de agua?
3. ¿El parámetro alcalinidad podría ser factor para generar cambios en otros parámetros fisicoquímicos? ¿Cuáles de ellos y por qué?
4. ¿Cuáles son las fuentes que originan cambios en la alcalinidad del agua?
5. Dentro de los ecosistemas acuáticos, ¿Son más alcalinas las agua dulces o saladas? Explique él porque

PRÁCTICA NO. 7 DETERMINACIÓN DE LA DUREZA

INTRODUCCIÓN

El término dureza se refiere a la concentración total de iones alcalinos que hay en el agua, generalmente se encuentran concentraciones mucho más altas de iones de calcio y magnesio que de otros iones alcalinos como el estroncio, hierro y manganeso que se encuentran contenidos en menores cantidades. Los iones calcio y magnesio se encuentran generalmente presentes en el agua en forma de bicarbonatos o sulfatos. La dureza en el agua se puede apreciar cuando se presentan grumos insolubles por efecto de la reacción del jabón al combinarse con los iones calcio y magnesio, otra forma de apreciar la dureza es cuando se generan depósitos de minerales al calentar el agua, transformando el bicarbonato a carbonato de calcio (Harris, 2007; Manahan, 2007).

La dureza la adquiere el agua a través de su paso, donde pequeñas cantidades de roca son desgastadas por corrientes del agua, acción del viento y por bacterias degradadoras, el agua además de ser un solvente universal suceden una serie de fenómenos químicos, en donde los iones alcalinos reaccionan dando resultado de aguas duras (Brown *et al.*, 2004; García, 2011)

Esta práctica se basa en método de formación de complejos por la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con los iones calcio y magnesio. El método consiste en una valoración empleando un indicador visual de punto final, el negro de eriocromo T, que es de color rojo en la presencia de calcio y magnesio y vira a azul cuando estos se encuentran acomplejados o ausentes. El complejo del EDTA con el calcio y el magnesio es más fuerte que el que estos iones forman con el negro de eriocromo T, de manera que la competencia por los iones se desplaza hacia la formación de los complejos con EDTA desapareciendo el color rojo de la disolución y tornándose azul.

OBJETIVO

Conocer los procesos y las técnicas para la determinación de dureza establecidos en la normatividad vigente de calidad del agua.

MATERIAL

- 1 Bureta de 25 ml ó 50 ml.
- 2 matraces Erlenmeyer de 250 ml
- 1 Mortero.
- 1 Pipeta volumétrica de 25 ml
- 1 Vaso de precipitado de 500 ml
- 1 Vaso de precipitado de 1 l
- 1 Matraz aforado de 1l
- 1 Matraz Erlenmeyer
- 1 Pipeta de 1 ml
- 1 Mortero
- 1 Frasco de 500 o 250 ml color ámbar
- 1 Embudo

EQUIPO

- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg

REACTIVOS

- Agua destilada
- Muestras de agua enfrasco de polietileno o de vidrio de diferente procedencia
- Cloruro de amonio (NH_4Cl)
- Cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Amoniacó concentrado (NH_3)
- Sal disódica de ácido etilendiaminotetraacéticodihidratado (EDTA)
- Sal de Magnesio de EDTA
- Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Indicador de negro de eriocromo T
- 2-Aminoetanol (libre de aluminio y metales pesados).
- Rojo de metilo
- Carbonato de calcio anhidro (CaCO_3)

- Ácido clorhídrico concentrado (HCl)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Ácido nítrico (HNO₃)
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄)
- Acido perclórico (HClO₄)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición a ácidos y bases.	Manejo adecuado de los ácidos en su campana de extracción. Uso de bata, guantes y goggles.	Lavar con abundante agua la zona afectada.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Recolectar un volumen de muestra, homogéneo y representativo, de aproximadamente 400 ml en un frasco de polietileno o vidrio de boro silicato.
2. Acidificar la muestra con ácido nítrico hasta pH 2 o menor inmediatamente después de la recolección. Normalmente 2 ml/l son suficientes.
3. Mantener la muestra en refrigeración a 4°C hasta el momento del análisis. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis recomendado es de seis meses.

Preparación de disoluciones.

4. Disolución amortiguadora. Pesar 16.9 g de cloruro de amonio y disolver en 143 ml de amoniaco concentrado. Añadir 1.25 g de sal de magnesio de EDTA y diluir hasta 250 ml con agua.
5. Si no se dispone de sal de magnesio de EDTA, mezclar 1.179 g de sal disódica de ácido etil endiaminotetraacético dihidratado y 0.780 g de sulfato de

magnesio heptahidratado o 0.644 g de cloruro de magnesio hexahidratado, diluir a 50 ml con agua.

6. Conservar la disolución amortiguadora en un recipiente plástico o de vidrio; se debe desechar la disolución cuando haya transcurrido más de un mes de su fecha de preparación o cuando al añadirse 1 ml ó 2 ml a la muestra, ésta no pueda producir un pH de 10 ± 0.1 . Tapar herméticamente para evitar pérdidas de amoníaco o adsorción de dióxido de carbono (CO_2). También pueden adquirirse en el mercado disoluciones amortiguadoras inodoras, las cuales constituyen una alternativa satisfactoria. Contienen sal de magnesio de EDTA y tienen la ventaja de ser relativamente inodoras y más estables que las amortiguadoras de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. Por lo general, las disoluciones amortiguadoras inodoras no proporcionan un punto final tan favorable como los de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ a causa de su reacción más lenta y pueden resultar inútiles cuando el método está automatizado. Preparar una de las disoluciones amortiguadoras mezclando 55 ml de ácido clorhídrico concentrado con 400 ml de agua destilada y a continuación añadir lentamente y agitando, 300 ml de 2 Aminoetanol (libre de aluminio y metales pesados). Agregar 5 g de sal de magnesio de EDTA y diluir hasta 1 l con agua destilada.
7. Indicador negro de eriocromo T. Pesar 0.5 g de indicador negro de eriocromo T y agregar 100 g de Cloruro de sodio y triturar en el mortero hasta formar un mezcla homogénea. Guardar en un frasco color ámbar. Esta mezcla se conserva en buenas condiciones para su uso durante un año.
8. Indicador Rojo de Metilo. Pesar 0.1 g de la sal de sodio del rojo de metilo y aforar a 100 ml con agua.
9. Disolución de EDTA (0.01 M). Pesar 3.723 g de sal disódica del ácido etil endiaminotetraacético dihidratada; disolver en agua y diluir a 1l. Valorar con una disolución de carbonato de calcio.
10. Disolución de carbonato de calcio (1mg/ml). Pesar 1 g de carbonato de calcio anhidro (patrón primario o reactivo especial bajo en metales pesados, álcalis y magnesio) en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Colocar un embudo en el cuello del matraz y añadir poco a poco el ácido clorhídrico hasta la disolución total del

carbonato de calcio. Añadir 200 ml de agua y llevar a ebullición durante unos minutos para eliminar el CO₂. Enfriar y añadir unas gotas de indicador rojo de metilo y ajustar al color naranja intermedio por adición de amoniaco 3N o ácido clorhídrico, según se requiera. Transferir a un matraz y aforar a 1l con agua (1 ml = 1 mg de CaCO₃).

11. Disolución de hidróxido de sodio (NaOH) (0.1 N). Pesar 4 g de hidróxido de sodio y diluir a 1l de agua.

12. Disolución de ácido clorhídrico. Tomar 100 ml de ácido clorhídrico y diluya en 100 ml de agua.

Preparación y análisis de la muestra

13. Si la muestra contiene partículas o materia orgánica requiere un tratamiento previo al análisis. Se recomienda llevar a cabo una digestión con ácido nítrico - ácido sulfúrico o ácido nítrico - ácido perclórico y ajustar posteriormente el pH de la disolución a un valor de 9, utilizando disolución de amoniaco.

14. Colocar 50 ml de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

15. Añadir 1 ml ó 2 ml de disolución amortiguadora. Generalmente un ml es suficiente para alcanzar un pH de 10 a 10.1.

16. Añadir una cantidad adecuada (0.2 g) del indicador eriocromo negro T hasta que la muestra debe tomar un color vino rojizo.

17. Titular con la disolución de EDTA 0.01 M agitando continuamente hasta que desaparezcan los últimos matices rojizos. Añadir las últimas gotas con intervalos de 3 s a 5 s. En el punto final la muestra cambia de color rojizo a azul.

CALCULOS

Dureza total expresada como CaCO₃ (mg/l) = (A-B) X C X 1,000/D

Dónde:

A= ml de EDTA gastados en la titulación en la muestra;

B= ml de EDTA gastados en la titulación en el blanco (si fue utilizado);

C= mg de CaCO₃ equivalentes a 1 ml de EDTA, y

D= ml de muestra.

Expresar la dureza total como mg/l CaCO₃ con la precisión correspondiente.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por microorganismo.	Usar bata, guantes de látex, goggles.	Plástico en residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. ¿Qué tipo de agua suele presentar más dureza, aguas superficiales o aguas subterráneas?
2. ¿Con que parámetros de calidad del agua tiene relación la dureza? Explique él porque.
3. Describa el ciclo del calcio o magnesio.
4. Mencione los rangos de concentración de calcio y magnesio que determinan la clasificación del grado de dureza en el agua.
5. Diferencia de las aguas duras, semi-duras, duras y muy duras.

INTRODUCCIÓN

Los cloruros son aniones que generalmente se encuentran contenidos en las aguas naturales. Debido a que el agua es un solvente universal, tiene la capacidad de dar un enlace de hidrógeno, y el ion cloruro electronegativo tiene la capacidad de aceptar más de un enlace con el hidrógeno lo que la magnitud de su concentración es muy variable, siendo mayor normalmente cuando aumenta el contenido mineral de las aguas a estas interacciones se les denomina interacciones ion-dipolo y al grupo de moléculas de agua que se enlazan directamente al ion cloruro se les denomina capa de solvatación (Durst y Gokel, 2007).

El ion cloruro en aguas naturales tienen su origen como consecuencia de la disolución de las rocas sedimentarias, las aguas residuales tanto industriales como urbanas, suelen presentar elevadas concentraciones. La elevada concentración de cloruro en el agua afecta el crecimiento de las plantas, así también causa daños en sistemas de tuberías. La presencia de una elevada concentración de este ion en los residuos humanos y ganaderos, puede indicar la contaminación fecal del agua (Fabuss y Fabuss, 1974; Heredia, 2004).

El incremento de cloruro en el agua puede ser causado por diversos factores, puede ser indicativo de contaminación causado principalmente por las cantidades considerables de cloruro de sodio que el ser humano utiliza en la preparación de sus alimentos, el cual es desechado en su totalidad a través de la orina y excrementos y a su vez desechados al drenaje que son desembocados en los cuerpos de agua (ríos, arroyos, lagos, mares). Otra causa del incremento de cloruros en el agua de los pozos localizados en las zonas costeras, es a causa de la tendencia a la intrusión salina. La intrusión salina ocurre al sobre bombear el pozo, produciéndose una diferencia en la carga hidrostática a favor del agua causando un movimiento de esta agua hacia la zona de extracción del pozo (García, 2011).

La determinación de cloruros en esta práctica se basa en una valoración con nitrato de plata utilizando como indicador cromato de potasio. La plata reacciona con los cloruros para formar un precipitado de cloruro de plata de color blanco. En las inmediaciones del punto de equivalencia al agotarse el ión cloruro, empieza la precipitación del cromato. La formación de cromato de plata puede identificarse por el cambio de color de la disolución a anaranjado-rojizo así como en la forma del precipitado. En este momento se da por terminada la valoración.

OBJETIVO

Conocer y aplicar la técnica nitrato de plata para la determinación de los iones cloruro en una muestra de agua.

MATERIAL

- 1 Vaso de precipitado de 1 l.
- 1 Embudo con papel filtro.
- 5 Frascos para muestreo de polietileno o vidrio de boca ancha de 500 ml de capacidad.
- 1 Matraz aforado de 1 l.
- 1 Matraz volumétrico.
- 1 Bureta de 25 a 50 ml con certificado o en su caso debe estar calibrada.
- 1 Mortero

EQUIPO

- 1 Parrilla calentadora
- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg
- 1 Potenciómetro para medición de pH

REACTIVOS

- Agua destilada
- Muestras de agua de diferentes procedencias.

- Nitrato de plata (AgNO_3)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Cromato de potasio (K_2CrO_4)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Sulfato de aluminio y potasio dodecahidratado [$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$]
- Amoníaco concentrado (NH_3)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Posible exposición a soluciones tóxicas.	Uso de bata, goggles y guantes de látex.	Enjuagar abundantemente con agua a temperatura ambiente en el lavavajos o regadera según sea el caso.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Se deben tomar las muestras en envases limpios de polietileno o de vidrio. Pueden utilizarse muestras compuestas o simples. Tomar un volumen de 500 ml. Se debe preservar la muestra a 4°C hasta su análisis. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de una semana.

Preparación de disoluciones.

2. Disolución indicadora de cromato de potasio. Pesar 50 g de cromato de potasio y disolver en 500 ml de agua y añadir disolución patrón de nitrato de plata hasta que se produzca un precipitado rojo claro. Proteger la disolución de la luz y dejar estabilizar durante 24 h después de la adición de la disolución de nitrato de plata. Filtrar la disolución para remover el precipitado y aforar a 1 l con agua.

3. Disolución estándar de nitrato de plata (0.014N). Moler 5 g de cristales de nitrato de plata y secar a 100°C durante 2 h. Pesar 2.4 g de los cristales pulverizados de nitrato de plata disolverlos en aproximadamente 1 l de agua. Valorar contra la disolución patrón de cloruro de sodio 0.014N.
4. Disolución patrón de cloruro de sodio (0.014N). Secar 3 g de cloruro de sodio a 140°C. Pesar 824.1 mg de la sal seca disolver en agua y aforar a 1 l en un matraz volumétrico.
5. Disolución de hidróxido de sodio (0.1N). Pesar 4g de hidróxido de sodio disolver en 1 l de agua.
6. Disolución de ácido sulfúrico (0.1N). Tomar cuidadosamente 3 ml de ácido sulfúrico concentrado y llevar a 1 l de agua.
7. Suspensión de hidróxido de aluminio. Pesar 125 g de sulfato de aluminio y potasio o sulfato de aluminio y amonio, y llevar a 1 l con agua. Calentar a 60°C y añadir 55 ml de amoniaco lentamente y agitando. Permitir reposar la disolución durante unas horas, decantar el agua sobrenadante y lavar el precipitado por adiciones sucesivas de agua, mezclando bien y decantando. Repetir el procedimiento anterior hasta eliminar el olor a amoniaco. Cuando está recién preparada, la suspensión ocupa un volumen aproximado de 1 l.

Acondicionamiento de la muestra

8. Utilizar un volumen de muestra de 100 ml. Ajustar el pH entre 7 y 10 utilizando las disoluciones de hidróxido de sodio (0.1N) y/o ácido sulfúrico (0.1N).
9. Si la muestra tiene mucho color, añadir de 3 ml a 5 ml de la suspensión de hidróxido de aluminio antes de acondicionar. Mezclar, dejar sedimentar y filtrar con papel filtro cualitativo.

Valoración

10. A 100 ml de muestra acondicionada, adicionar 1 ml de disolución indicadora de cromato de potasio. Valorar con la disolución patrón de nitrato de plata hasta el vire de amarillo a naranja rojizo, manteniendo un criterio constante en el punto final.
11. Titular un blanco con las muestras.

CÁLCULOS

Calcular la concentración de iones Cloruro en la muestra original, en mg/l como sigue:

$$\text{Cl}^- \text{ mg /L} = [(A - B) \times N \times 35,450] / \text{ ml de muestra}$$

Donde:

A= ml de disolución de nitrato de plata gastados en la valoración de la muestra;

B= ml de disolución de nitrato de plata gastados en la valoración del blanco, y

N= normalidad del nitrato de plata.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por microorganismos.	Usar el equipo de laboratorio (bata, guantes, goggles.)	Residuos biológicos infecciosos.

PREGUNTAS

1. Mencione porque el cloruro es difícil de encontrarse en su estado puro en la naturaleza y con qué elementos se le encuentra comúnmente asociado, mencione el nombre de los compuestos.
2. ¿Qué efectos tiene la presencia de altos niveles de cloruro en agua, sobre peces y otros organismos acuáticos?
3. ¿Que son los cloruros?
4. ¿Cuáles son las causas de tener presencias de cloruros en los ecosistemas acuáticos?
5. ¿A qué se debe la diferencia de los valores de cloruros presentes en los diferentes ecosistemas acuáticos?

PRÁCTICA No 9. DETERMINACIÓN SALINIDAD Y TEMPERATURA

INTRODUCCIÓN

La temperatura y la salinidad del agua son dos de los principales factores que influyen en los procesos vitales de organismos que viven dentro de los ecosistemas acuáticos (Cifuentes *et al.*, 2003).

La salinidad es la concentración de sales disueltas en el agua de mar expresado en UPS (Unidades Prácticas de Salinidad). La salinidad de los océanos influye directamente en las características de estructura y funcionamiento de los organismos que viven en ellos. La composición química del agua del mar en cuanto a la cantidad de sales disueltas, es casi la misma que se presenta en los fluidos orgánicos de los seres del reino animal, ya que estos dos medios solamente estarán separados por membranas y tejidos semipermeables que permitirán la entrada y salida de agua según la cantidad de sales, fenómeno que se conoce con el nombre de intercambio osmótico (Martínez Córdova *et al.*, 1998). La salinidad siempre se ve afectada por la temperatura pues varía según la intensidad de la evaporación o el aporte de agua dulce de los ríos aumente en relación a la cantidad de agua.

La temperatura del agua del mar tiene además una influencia decisiva en la vida y por lo tanto en la distribución de los animales marinos, ya que interviene de manera directa en sus procesos fisiológicos, o sea, en su propio funcionamiento, como es el caso del metabolismo y la reproducción. También lo hace indirectamente por la influencia que tiene la temperatura sobre otros factores del medio ambiente, como la salinidad o la concentración de gases disueltos en el agua del mar (Cifuentes *et al.*, 2003).

OBJETIVO

Conocer el uso de equipos para determinar salinidad y temperatura en el agua.

MATERIAL

- 1 Cinta métrica (5m)
- 1 Termómetro de -10

EQUIPO

- 1 Multiparametro
- 1 Refractómetro
- 1 GPS.
- 1 Botella de Van Dorn

REACTIVO

- 1 de agua destilada.
- Muestra de agua de diferentes zonas (Mar, estero, lagunas, ríos.)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Ninguna	Ninguno	Ninguno

Nota: Al extraer muestra de agua de alguna profundidad es necesario tomar en seguida la lectura ya que en el ambiente superficial es totalmente diferente al profundo, lo que puede alterar los datos de la práctica.

PROCEDIMIENTO

1. Registrar la hora y la ubicación exacta de donde se tomara la muestra
2. Calibrar el multiparametro y el refractómetro, introduciendo el sensor en agua destilada, dejar que la lectura se estabilice hasta estar calibrado.
3. Bajar la temperatura del termómetro asta estar calibrado.
4. Introducir el termómetro por cada muestra extraída y tomar lectura de la temperatura.
5. Tomar una gota de la muestra y colocarla en la celda de lectura del refractómetro y anotar su lectura.

6. Para tomar lectura de la profundidad introducir la botella de Van Dorn hasta una cierta profundidad tomando lectura de georefenciación, profundidad, salinidad y temperatura.
7. Discutir tus resultados en el grupo de la variación de la salinidad y temperatura a los diferentes puntos de profundidad y de georefenciación.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por organismos patógenos.	Tener el manejo adecuado del agua extraída	Desechos biológicos

Preguntas

1. ¿Qué relación tiene la temperatura con la salinidad?
2. ¿Cuál fue el comportamiento de la salinidad respecto a la profundidad? Si se presentaran cambios ¿A qué se debe ese valor?
3. ¿Qué factores influyen en el rango más alto de salinidad de las muestras que tomaste?
4. ¿Porque a mayor temperatura hay mayor concentración de sales?
5. De tus valores obtenidos en práctica de salinidad y temperatura. Ejemplifica con una gráfica tus resultados y explica el comportamiento con respecto a la profundidad.

PRÁCTICA No 10. DETERMINACIÓN DE OXIGENO DISUELTO (OD)

INTRODUCCIÓN

El Oxígeno Disuelto (OD) es la cantidad de oxígeno que está disponible en el agua y que es esencial para la vida acuática. El nivel de oxígeno disuelto puede ser un indicador de que contaminada está el agua y que bien puede dar soporte esta agua a la vida vegetal y animal. Generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si los niveles de oxígeno disuelto son demasiado bajos, algunos peces y otros organismos no podrán sobrevivir o migraran a otro hábitat que les proporcione las condiciones adecuadas para su supervivencia. El Oxígeno que se encuentra disuelto en el agua proviene, generalmente de la disolución del oxígeno atmosférico (Cifuentes *et al.*, 2003).

La solubilidad de oxígeno como de cualquier otro gas en el agua, depende de la presión atmosférica de cada sitio, de la temperatura de los cuerpos de agua y su contenido en sales disueltas (Vallentyne, 1978).

El oxígeno gaseoso se disuelve en el agua por diversos procesos como la difusión entre la atmósfera y el agua, oxigenación por el flujo del agua sobre las rocas y otros detritos, la agitación del agua por las olas y el viento y la fotosíntesis de plantas acuáticas (López-Martínez, 2008).

El oxígeno disuelto es de vital importancia para todos los seres vivos acuáticos ya que este gas es consumido para realizar sus funciones metabólicas necesarias para su desarrollo por lo que el consumo del oxígeno dependerá de cada especie (Cifuentes *et al.*, 2003)

La medición del oxígeno disuelto en el agua se basa en el método electrométrico, donde los electrodos de membrana sensible al oxígeno, ya sean galvánicos o polarizados están constituidos por dos electrodos de metal en contacto con un electrolito soporte, separado de la disolución de muestra por medio de una membrana selectiva.

En el cátodo, que usualmente es oro o platino, ocurre la reducción del oxígeno mientras que en el ánodo ocurre la oxidación del metal (plata o plomo). La

diferencia básica entre el sistema galvánico y el polarizado es que en el primero la reacción en el electrodo ocurre espontáneamente, mientras que en el segundo es necesario aplicar un potencial externo para polarizar el electrodo indicador.

OBJETIVO

Determinar el oxígeno disuelto en una muestra de agua.

MATERIAL

- 1 Barra de agitación magnética.
- 1 Matraz aforado de 100 ml.
- 2 vasos de precipitados de 250 ml.

EQUIPO

- 1 Parrilla de agitación magnética.
- 1 Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
- 1 Medidor de oxígeno disuelto con electrodo de membrana sensitiva al oxígeno, de tipo galvánico o polarizado.

REÁCTIVO

- Agua destilada.
- Muestras de agua de diferentes procedencias.
- Cloruro de cobalto (CoCl_2)
- Sulfito de sodio (Na_2SO_3)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipo de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Exposición de soluciones químicas: cloruro de cobalto y sulfito de sodio.	Manejar adecuadamente los reactivos utilizando el traje del laboratorio (bata, guantes, goggles, botas o zapatos cerrados).	Lavar con abundante agua la zona en la que se derramo el reactivo.

PROCEDIMIENTO

Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

1. Se debe evitar que la muestra se agite, que tenga contacto con el aire o con la luz. El análisis de la muestra debe realizarse inmediatamente después de su recolección, por lo cual no es necesario adicionar ningún conservador. Si la muestra tiene que ser transportada, se debe mantener a 4°C aproximadamente y no se debe almacenar por más de 8 h.

Preparación de disoluciones.

2. Disolución saturada de cloruro de cobalto. Pesar 4.5 g de cloruro de cobalto y disolver en 10 ml de agua.
3. Disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto (OD). Pesar 5 g de sulfito de sodio, aforar a 100 ml de agua y añadir 2 gotas de la disolución saturada de cloruro de cobalto.

Preparación y análisis de la muestra.

4. En un vaso de precipitado de 250 ml agregar la disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto.
5. Encienda la parrilla de agitación para colocar el vaso de precipitado con la muestra agregando la barra de agitación magnética.

6. Una vez homogenizada la muestra tener el electrodo previamente lavado con agua destilada para calibrar el medidor de oxígeno con la disolución estándar de concentración nula de oxígeno disuelto.
7. Introducir el electrodo a la muestra de agua que desea analizar.
8. Leer directamente del instrumento la concentración de oxígeno.
9. Discute tus resultados con tu salón de clases.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipo de desechos	Como descartarlos	Tipo de contenedor
Agua contaminada por bacterias	Tener el manejo adecuado del agua extraída	Desechos biológicos

Preguntas

1. En donde hay mayor concentración de oxígeno disuelto, en lugares con alturas mayores a 2000 metros de altura sobre el nivel del mar o lugares menores a los 2000 metros de altura sobre el nivel del mar?
2. ¿Cuál es la importancia del oxígeno disuelto en la acuicultura?
3. Tú como acuicultor, ¿Cuáles serían tus recomendaciones para tener un cultivo en buenas condiciones de oxígeno?
4. Describe cada uno de los factores por los que se ven afectadas las concentraciones de oxígeno en el agua.
5. Describe otro método que conozcas para determinar oxígeno disuelto.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah M. y Eek E. (1995). Automatic method for the determination of total CO₂ in natural waters. *Water Res.* 29(5), 1231-1234.
- Brown, T., LeMay, E., Bursten, B., Burdge., J (2004). *Química la ciencia central*. Editorial Pearson Educación. 9ª. Edición. México. 1046 pp.
- Bruice, P., (2007). *Química orgánica*. Editorial Pearson Educación. 5ª Edición. México. 1318 pp.
- Butturini, A; Sabater, S; Romani, A.M; (2009) *La química de las aguas. Los nutrientes. Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. 97-115pp.
- Carrillo-Inungaray, M., Zavala-Cuevas, L., Martínez-Ibarra, F. J., & Barra-Zamudio, D. (2008). V congreso internacional de ingeniería bioquímica y XVI congreso nacional de ingeniería bioquímica. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Cifuentes, L.J.L., Torres García, P., Frías, M.M., 2003. *El océano y sus recursos. II las ciencias del mar: Oceanografía geológica y oceanografía química*. Editorial. Fondo de cultura económica. México. 170 pp.
- Cifuentes, L.J.L., Torres García, P., Frías, M.M., 2003. *El océano y sus recursos. III las ciencias del mar: Oceanografía física, matemáticas e ingeniería*. Editorial. Fondo de cultura económica. México. 162 pp.
- Cifuentes, L.J.L., Torres García, P., Frías, M.M., 2003. *El océano y sus recursos. IV las ciencias del mar: oceanografía biológica*. Editorial Fondo de cultura económica. México. 199 pp.
- DOF.2000-NOM-127-SSA1-1994, *Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. Diario oficial de la Federación, 22 de noviembre del 2000.
- DOF.2001-AA-012-SCFI-2001. *Análisis de agua - determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba*. Diario Oficial de la Federación, 17 de abril del 2001.

DOF.2001-NMX-aa-034-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la Federación, 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-038-SCFL-2001. Análisis de agua- determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación, 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-072-SCFI-2001. Análisis de agua determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-073-SCFI-2001. Análisis de agua determinación de cloruros totales en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-079-SCFI-2001. Análisis de agua determinación de nitratos en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación 1 de agosto del 2001.

DOF.2001-NMX-AA-115-SCFI-2001. Análisis de agua - criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos. Diario Oficial de la Federación, 17 de abril del 2001.

DOF.2011-NMX-AA-154-SCFI-2011. Análisis de agua determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario oficial de la federación 1 de agosto del 2011.

Durst, H., y Gokel, W. (2007). Química orgánica experimental. Editorial McGraw-Hill.España.579 pp.

Fabuss, M., y Fabuss, B. (1974). Encyclopedia of industrial chemical analysis, Vol. 19: New York:Jhon Wiley and Sons.

- Fernández, M.T; Rodríguez, H; (2005). El papel de la solubilización de fósforo en los biofertilizantes microbianos. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*,XXXIX Septiembre-Diciembre, 27-34
- Fernández, N., Ramírez, A., Solano, F. (2003). Índices Físico Químicos de Calidad Del Agua. En: Conferencia Internacional Usos Múltiples del Agua: Para la Vida y el Desarrollo Sostenible. Universidad del Valle-Instituto Cinara. 211 pp..
- Fraga, J., y Jesus, A. 2008. Coastal and marine protected areas in Mexico. International Collective in Support of Fishworkers. 79 p.
- García Roche, M.O., García Melian, M., y Cañas Pérez, R. (1994). Nitratos, Nitritos y compuestos de N-Nitroso, serie vigilancia 13. Centro panamericano de ecología Humana y Salud, Metepec, Edo. de México, México.
- García, R. (2011). Manual de prácticas de laboratorio de ingeniería sanitaria. Universidad Autónoma de Chihuahua. Editado por Mandis Carreon. 59 pp.
- Garza, .H., Correa, T., y López, E. (1992). Parásitos y Enfermedades de la Trucha. Calidad del agua. Editorial Pesca. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N.L, México.
- Harris, D. (2007). Análisis químico cuantitativo. 3ra Edición, Editorial Reverté. España. 739 pp.
- Heredia, J., Torregrosa, J., Gonzales, T., Domínguez, J. (2004). Análisis químico de aguas residuales. Editorial @becedario. Universidad de Extremadura. España.235 pp.
- Hernández., 2010. Importancia del agua para los seres vivos. Elemental Watson la revista 1 (1), 8-15.
- Hughes, T.P., Bellwood, D.R., Folke, C., Steneck, R., y Wilson,J. 2005. New paradigms for supporting the resilience of marine ecosystems. Trends in Ecology and Evolution. Elsevier. Vol. 20. No. 7.380-386 pp.
- Jimenez, B. (2005). La contaminación ambiental en México: causas, efecto y tecnología apropiada. Editorial Limusa.México.926 pp.

- Kinkelin, P., Michel, C.H y Ghittino, P. (1985). Tratado de las enfermedades de los peces. Zaragoza España. Acribia. 41-48 pp.
- Kramer, J.(1982). Alkalinity and acidity en Minear R. A. y Keith, L.H. Wateranalysis, Vol. 1.Inorganicspecies, Part 1: New York: AcademicPress.
- López-Martínez. J. (2008). Variabilidad Ambiental y Pesquerías de México. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, México, 3-5, 20-31 pp..
- Manahan S. (2007). Introducción a la química ambiental. 1ra Edición. Reverté Ediciones. España. 603 pp.
- Marco, L., Azario, R., Metzler, C., y García, M. del C. (2004). La turbidez como indicador básico de calidad de aguas potabilizadas a partir de fuentes superficiales. Propuestas a propósito del estudio del sistema de potabilización y distribución en la ciudad de Concepción del Uruguay (Entre Ríos, Argentina). Higiene y Sanidad Ambiental, 4: 72-82
- Martín García, M. L., Aragón Revuelta, P., González Benito, C (2002). Análisis Químico de Suelos y Aguas, Manual de Laboratorio. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- Martínez Córdova, L.R. (1998). Ecología de los sistemas acuícolas. Bases ecológica para el desarrollo de la acuicultura. Editorial AGT. México. 6-7,153-154 pp.
- OPS, OMS., (1980). Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Nitratos, nitritos y compuestos de N-nitroso. Criterios de salud ambiental 5. pp. 21-25.
- Organización Mundial de la Salud. 1998. Guías para ambientes seguros en aguas recreativas, Vol. 1: Aguas costeras y aguas dulces, versión preliminar.
- Ramos Márquez, E.C. (2006). Universidad Veracruzana. Facultad de bioanálisis zona Veracruz. Manual de laboratorio instrumentación básica. 135 pp.
- Ramos, R., Sepulveda, R., Villalobos, F.(2003). El agua en el ambiente: muestreo y análisis. Editores Universidad Autónoma de Baja California y Plaza y Valdés Editores.

- Sanchez, O., Herzig, M., Peters, E., Márquez, R., y Zambrano, L. (2007).
Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México.
Editorial Progreso. 294 pp.
- Sette, R. (1996). Tratamiento de aguas residuales. Editorial Reverte S.A.
España.697 pp.
- Severiche, C., Castillo, M., y Acevedo, R. (2013). Manual de Métodos Analíticos
para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en el agua.
Editado por la Fundación Universitaria Andaluza Inca Garcilaso. Colombia.
95 pp.
- Vallentyne, J.R. (1978). Introducción a la limnología. Los lagos y el hombre.
Editorial Omega. Barcelona. 29-31, 45-53 pp.
- Vanous, R.D., Larson, P.E., y Hach, C.C. (1982). The theory and Measurement of
Turbidity and Residue en Minear, R.A y Keith, L.H., Water Analysis, Vol. 1.
Inorganic Species, Part 1: New York: Academic Press.