



MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ANALITICOS PARA AGUAS Y EFLUENTES

**Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial
y Medio Ambiente**

Dirección Nacional de Medio Ambiente

Laboratorio

AUTORIDADES

Don JUAN ANTONIO CHIRUCHI
Ministro de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente

Dr. JUAN GABITO ZOBOLI
Subsecretario de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente

Dra. SILVIA USHER
Directora General de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente

Lic. CARLOS SERRENTINO
Director Nacional de Medio Ambiente

RESPONSABLE

Ing. Qca. Silvia Aguinaga

RECOPIACION, REVISION TECNICA Y EDICION

Ing. Qca. Rosario Lucas

ELABORACION DE PROCEDIMIENTOS

Lic. Sandra Castro Scarone
Bach. Gabriela Medina
Q.F. Patricia Simone

Q.F. Raquel Huertas
Ing. Qca. Magdalena Hill
Ing. Qca. Rosario Lucas
Bach. Mónica Mosacatelli

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Directora de la División de Educación Ambiental Psic. As. Luján Jara, y especialmente a la Lic. Claudia Mogiardino y al Arq. Jorge Barcala por la diagramación y armado de este manual.

P R E S E N T A C I O N

Este manual ha sido elaborado por el Laboratorio de la Dirección Nacional de Medio Ambiente en el marco de las competencias asignadas al Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, por el Artículo 13 del Decreto 253/79 que contiene las « Normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de contaminación de aguas».

Los métodos analíticos contenidos en el manual se basan en el « American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater » y fueron desarrollados y adaptados por los profesionales del Laboratorio con la experiencia acumulada durante 10 años en la realización de análisis en calidad de aguas y efluentes.

Estas normativas técnicas han sido cuidadosamente seleccionadas teniendo en cuenta la necesidad de dar cumplimiento al Decreto mencionado y además ser referencia para los laboratorios involucrados en la protección del ambiente y en el control de la contaminación.

El manual está dividido en cinco secciones que corresponden a la determinación de parámetros fisicoquímicos, metales, constituyentes inorgánicos, orgánicos y microbiológicos en aguas y efluentes. En esta primera edición se presentan 44 normas técnicas identificadas por códigos de acuerdo al parámetro, al tipo de muestra y a la metodología. Para este manual se ha previsto un formato que permita la incorporación de otros procedimientos a medida que los mismos sean desarrollados.

Este conjunto de normas técnicas es una contribución a la toma de decisiones en la problemática ambiental. En este tema es esencial que los datos sean confiables y comparables para lo cual debe contarse con métodos analíticos probados, estandarizados y acordes al desarrollo tecnológico nacional.

Aspiramos a que este manual sea una herramienta útil para ayudar a mantener y mejorar la calidad de nuestro ambiente y agradecemos a todos aquellos profesionales dedicados al tema, que nos hagan llegar los comentarios y aportes para mejorar y enriquecer el mismo.



Ing. Qca. Silvia Aguinaga

**SECCION I****PROPIEDADES FISICAS**

Cod.

02041	Conductividad. Método conductimétrico.
10603	Dureza Total. Método titulométrico con EDTA.
10602	Dureza Total. Método por cálculo.
10301	pH. Método electrométrico.
10430	Sólidos Sedimentables. Método gravimétrico.
10406	Sólidos Suspendidos, Volátiles y Fijos. Método gravimétrico.
10471	Sólidos Totales, Volátiles y Fijos. Método gravimétrico.
02074	Turbidez. Método Nefelométrico.

SECCION II**II A) DETERMINACION DE METALES**

Cod.

33011	Arsénico. Método de espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros.(HGAAS).
48001	Cadmio. Método FLAAS*.
20003	Calcio. Método FLAAS.
20109	Calcio. Método titulométrico con EDTA.
30004	Cinc. Método FLAAS.
29006	Cobre. Método FLAAS.
24002	Cromo total. Método FLAAS.
12002	Magnesio. Método FLAAS.
12101	Magnesio. Método por cálculo.
80013	Mercurio. Método de espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío. CVAAS.
28001	Niquel. Método FLAAS.
82001	Plomo. Método FLAAS.
19001	Potasio. Método FLAAS.
11003	Sodio. Método FLAAS.

* FLAAS: Espectrofotometría de absorción atómica por llama

II B) CONTROL DE CALIDAD

Cod.

IIB01	Determinación del Límite de Detección y Cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.
-------	--

CONTENIDO

SECCION III

DETERMINACION DE CONSTITUYENTES INORGANICOS NO-METALICOS

Cod.

10112	Alcalinidad. Método titulométrico.
07506	Amonio. Método electrométrico.
06602	Cianuro. Método titulométrico.
06606	Cianuro libre. Método Colorimétrico.
06600	Cianuro total. Método Colorimétrico.
17204	Cloruro. Método argentométrico.
07308	Nitrato. Método de espectrofotometría ultravioleta.
14103	Silicato. Método colorimétrico del molibdosilicato.
16302	Sulfato. Método turbidimétrico.
16102	Sulfuro. Método electrométrico.
16103	Sulfuro. Método potenciométrico.

SECCION IV

DETERMINACION DE CONSTITUYENTES ORGANICOS

Cod.

06521	Aceites y grasas. Método de Extracción Soxhlet.
08202	Demanda Bioquímica de Oxígeno. Técnica de dilución.
08303	Demanda Química de Oxígeno. Método colorimétrico, reflujo cerrado.

SECCION V

V A) ANALISIS MICROBIOLOGICOS EN AGUA

Cod.

36013	Coliformes fecales. Técnica de filtración por membrana.
36002	Coliformes totales. Técnica de filtración por membrana.
36103	Estreptococos fecales. Técnica de filtración por membrana.
36403	Vibrio cólera. Técnica de aislamiento e identificación.

V B) CONTROL DE CALIDAD

Cod.

VB002	Verificación de Coliformes totales.
VB003	Verificación de Coliformes fecales.
VB004	Verificación de Estreptococos fecales.

SECCION I

PROPIEDADES FISICAS

SECCION I

PROPIEDADES FISICAS

Cod.

02041	Conductividad. Método conductimétrico.
10603	Dureza Total. Método titulométrico con EDTA.
10602	Dureza Total. Método por cálculo.
10301	pH. Método electrométrico.
10430	Sólidos Sedimentables. Método gravimétrico.
10406	Sólidos Suspendidos, Volátiles y Fijos. Método gravimétrico.
10471	Sólidos Totales, Volátiles y Fijos. Método gravimétrico.
02074	Turbidez. Método Nefelométrico.



DETERMINACION DE CONDUCTIVIDAD

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la medida de conductividad en aguas y efluentes industriales.

2. DEFINICIONES

La conductividad es la capacidad que posee una solución acuosa de conducir la corriente eléctrica, a 25°C.

3. PRINCIPIO

El método consiste en la medida directa de la conductividad utilizando una celda de conductividad previamente estandarizada con una solución de KCl.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

El análisis puede ser realizado tanto en campo como en el laboratorio.

Si el análisis no es realizado durante las 24 horas de recolectada la muestra, ésta debe ser filtrada con un filtro de 0.45micras y preservada a 4°C hasta 28 días luego de su recolección. El filtro y el equipo de filtración deben ser enjuagados con agua destilada y desionizada, y previo a su uso, enjuagarlos con la muestra a filtrar.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Medidor de conductividad.
- 5.2 Celda de conductividad.
- 5.3 Termómetro con precisión de 0.1°C, en el rango de 20-30°C, o sensor de temperatura en el equipo.
- 5.4 Matraz aforado de 1 L.
- 5.5 Vasos de bohemia.

6. REACTIVOS

- 6.1 Agua destilada y desionizada.

CONDUCTIVIDAD

6.2 Solución estándar de KCl 0.01 M:

disolver 0.7456 g de cloruro de potasio (KCl) secado previamente 2 horas a 105°C en agua destilada y diluir a 1 L en matraz aforado a 25°C. Esta solución estándar de referencia tiene, a 25°C, una conductividad de 1412 $\mu\text{mhos/cm}$. Preservar dicha solución en un frasco de vidrio de borosilicato.

7. PROCEDIMIENTO

Es preferible que la medida sea 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.

7.1 Seguir las instrucciones del medidor de conductividad utilizado.

7.2 Determinación de la constante de la celda:

Enjuagar la celda de conductividad con al menos tres porciones de la solución de KCl 0.01 M. Ajustar la temperatura de la cuarta porción a $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ o realizar las correcciones necesarias para que el valor quede determinado a 25°C y medir.

Si el medidor de conductividad lee resistencia (R) en ohms, medir la resistencia de esta cuarta porción y la temperatura. Calcular la constante de la celda, C, como:

$$C, \text{ cm}^{-1} = 0.001412 R_{\text{KCl}} [1 + 0.019(T-25)]$$

donde:

R_{KCl} = resistencia medida en ohms.

T = temperatura en °C.

7.3 Medida de la conductividad:

Enjuagar 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.

Ajustar la temperatura de la muestra a $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ o realizar las correcciones necesarias para que el valor quede determinado a 25°C.

Medir la resistencia o la conductividad de la muestra.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

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

$$k, \mu\text{mhos/cm} = \frac{1.000.000 \times C}{R_m [1 + 0.019(T-25)]}$$

donde:

k = conductividad

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

Rm = resistencia medida de la muestra en ohms.

T = temperatura de medida en °C.

8.2 Cuando se mide conductividad de la muestra sin compensación de temperatura, la conductividad a 25°C se calcula como:

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

donde:

k_m = conductividad medida en $\mu\text{mho/cm}$ a T °C

T = temperatura de medida en °C.

8.3 Ciertos instrumentos poseen compensación de temperatura y leen la conductividad en unidades de $\mu\text{mho/cm}$, en dicho caso la lectura es corregida automáticamente a 25°C, y se reporta directamente el valor medido.

Tabla de equivalencias:

S/m	=	(ohms-m) ⁻¹
mho/cm	=	(ohms-cm) ⁻¹
$\mu\text{S/cm}$	=	$\mu\text{mho/cm}$

S - siemens

9. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, 1992. pp 2-43.

2- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes*. 2th Edition. Cincinnati, EPA, 1983. pp 120.1.



DETERMINACION DE DUREZA TOTAL

Método titulométrico con EDTA

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de dureza total en aguas superficiales, subterráneas y efluentes domésticos e industriales.

2. DEFINICION

La dureza total se define como la suma de concentración de iones calcio y magnesio, expresados como carbonato de calcio, en mg/L.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Los iones calcio y magnesio forman complejos estables con etilendiaminotetra-acetato disódico. El punto final de la titulación es detectado por el indicador Negro de Eriocromo-T, el cual posee rosado en la presencia de calcio y magnesio y un color azul cuando los cationes están formando complejo con EDTA.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envases de plástico o vidrio. Acidificar con HNO_3 hasta $\text{pH} < 2$. La muestra puede ser almacenada hasta 6 meses.

5. MATERIALES

- 5.1 Matraz erlenmeyer de 250 mL
- 5.2 Buretas de 25 mL
- 5.3 Pipetas aforadas de 10 mL
- 5.4 Pipetas graduadas de 1 mL
- 5.5 Matraz aforado de 1000 mL

6. REACTIVOS

- 6.1 Solución Buffer:
disolver 1.179 g de etilendiaminotetra-acetato disódico dihidratado y 780 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ o 644 mg de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 50 mL de agua destilada. Agre-

DUREZA TOTAL

gar a esta solución 16.9 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) y 143 mL de hidróxido de amonio (NH_4OH) concentrado. Mezclar y diluir a 250 mL con agua destilada. Almacenar en botella de plástico.

6.2 Indicador Negro de Eriocromo-T (NET):

mezclar 0.5 g de NET con 100 g de NaCl. Pulverizar en mortero.

6.3 Solución titulante de EDTA 0.01M:

disolver 3.723 g de etilendiaminotetra-acetato disódico dihidratado en agua destilada y diluir a 1000 mL. Guardar en botella de plástico. Titular contra solución patrón de calcio.

6.4 Solución estándar de calcio, 1 g CaCO_3 /L:

pesar 1.000 g de CaCO_3 anhidro seco en un matraz erlenmeyer de 500 mL. Agregar lentamente solución de HCl 6 N hasta que todo el carbonato de calcio se halla disuelto. Agregar 200 mL de agua destilada y hervir 5 minutos para eliminar completamente el CO_2 . Enfriar, agregar unas gotas de rojo de metilo y ajustar al color intermedio naranja agregando solución 3N de NH_4OH o solución 6 N de HCl. Transferir cuantitativamente y enrasar a 1000 mL en matraz aforado con agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Titulación de la solución de EDTA:

a) Tomar 10.0 mL de solución estándar de calcio y diluir a 50 mL en un matraz erlenmeyer.

Agregar 1.0 mL de solución buffer. El pH deberá estar entre 10.0 y 10.1, en caso contrario descartar la solución buffer.

b) Agregar una punta de espátula de reactivo indicador.

Titular con solución de EDTA lentamente y agitando continuamente hasta viraje del color de la solución de rosado a azul. Completar la titulación dentro de los cinco minutos siguientes al agregado de la solución buffer.

7.2 Titulación de la muestra:

a) Seleccionar un volumen de muestra que requiera un gasto de EDTA menor a 15 mL. Diluir la muestra a 50 mL con agua destilada.

Agregar 1 o 2 mL de solución buffer. El pH deberá ser 10.0 ± 0.1 , en caso contrario descartar la solución buffer.

b) Agregar una punta de espátula de reactivo indicador.

Titular con solución de EDTA lentamente y agitando continuamente hasta viraje

de color de la solución de rosado a azul. Completar la titulación dentro de los cinco minutos siguiente al agregado de la solución buffer.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$T = \frac{P \times V_1}{G_1}$$

donde:

T : mg de CaCO_3 equivalentes a 1000 mL de EDTA

P : mg CaCO_3 /L de la solución estándar de calcio

V_1 : volumen de solución estándar de calcio tomados en la titulación de la solución de EDTA, (10.0 mL)

G_1 : gasto de la solución de EDTA consumidos en su titulación

$$\text{Dureza total, mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{T \times G_2}{V_2}$$

donde:

V_2 : volumen de muestra tomados para la determinación, mL

G_2 : volumen de solución de EDTA consumidos en la titulación de la muestra, mL

9. BIBLIOGRAFIA

- 1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 2-36 - 2-38.



DETERMINACION DE DUREZA

Método por cálculo

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de dureza total en aguas superficiales, subterráneas y efluentes domésticos e industriales.

2. DEFINICION

La dureza total se define como la suma de concentración de iones calcio y magnesio, expresados como carbonato de calcio, en mg/L.

3. REFERENCIAS

- 3.1 Determinación de calcio. Método de espectrofotometría de absorción atómica (Cod. 20003).
- 3.2 Determinación de magnesio. Método de espectrofotometría de absorción atómica (Cod. 12002).

4. PRINCIPIO

Se calcula la dureza como la suma de las concentraciones de los iones calcio y magnesio, los que se determinan según las referencias 3.1 y 3.2 respectivamente.

5. CALCULO Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{Dureza total, mg CaCO}_3/\text{L} = 2.497[\text{Ca}] + 4.118[\text{Mg}]$$

donde:

[Ca] : concentración de calcio expresada en mg/L

[Mg] : concentración de magnesio expresada en mg/L

6. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 2-36.



DETERMINACION DE pH

Método electrométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de pH en aguas y efluentes industriales.

2. DEFINICIONES

El pH o la actividad del ión hidrógeno indican a una temperatura dada, la intensidad de las características ácidas o básicas del agua.

El pH se define como el logaritmo de la inversa de la actividad de los iones hidrógeno,

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

$[\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno en mol/L.

3. PRINCIPIO

El método consiste en la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas usando un electrodo combinado o un electrodo estándar de hidrógeno de vidrio con un electrodo de referencia.

4. INTERFERENCIAS

- 4.1 El electrodo de vidrio generalmente no está sujeto a interferencias como color, turbidez, materia coloidal, oxidantes, reductores o alta salinidad, excepto para un «error de sodio», que se da a pH mayores de 10. Este error se puede reducir usando un electrodo especial de bajo error de sodio.
- 4.2 Recubrimientos de material graso o partículas pueden dificultar la respuesta del electrodo. Estos recubrimientos pueden ser removidos con una frotación muy suave o utilizando detergentes, seguido de un enjuague con agua destilada. Un tratamiento adicional es utilizar ácido clorhídrico (1+9) para remover cualquier película restante.
- 4.3 Las medidas de pH son afectadas por la temperatura en dos formas: por efectos mecánicos causados por cambios en las propiedades de los electrodos y por efectos químicos causados por cambio de equilibrios. En el primer caso las

DETERMINACION DE pH

interferencias pueden ser controladas utilizando instrumentos que posean compensación de temperatura o calibrando el sistema electrodo-instrumento a la temperatura de las muestras. La segunda fuente de error depende de las muestras y no puede ser controlada, por lo cual se debe reportar la temperatura con cada medida de pH realizada.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

El análisis puede ser realizado tanto en campo como en el laboratorio. En caso de que el análisis se realice en el laboratorio, llenar el recipiente de muestreo completamente sin cámara de aire. Realizar la medida antes de 2 horas de recolectada la muestra.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Medidor de pH.
- 6.2 Electrodo de referencia de potencial constante y electrodo de vidrio. O se puede utilizar un electrodo combinado el cual posee ambos electrodos, de medida y de referencia, en un mismo cuerpo.
- 6.3 Termómetro o sensor de temperatura para compensación automática en el instrumento.
- 6.4 Agitador magnético y barras agitadoras.
- 6.5 Vasos de Bohemia.

7. REACTIVOS

- 7.1 Agua destilada y desionizada.
- 7.2 Agua destilada y desaireada con conductividad menor a 2 umhos/cm. Para desairear calentar a ebullición durante 15 minutos y enfriar.
- 7.3 Soluciones buffer estándar de pH conocido, necesarias para calibrar el instrumento:
 - a) Solución buffer de pH = 4,004 a 25°C.
Pesar 10,12 g de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ y diluirlo a 1 L en matraz aforado con agua destilada.
 - b) Solución buffer de pH = 6,863 a 25°C.
Pesar 3,387 g de KH_2PO_4 secado previamente a 110-130°C durante 2 horas y 3,533 g de Na_2HPO_4 . Disolver y llevar a 1 L en matraz aforado con agua destilada.

c) Solución buffer de pH = 10,014 a 25°C.

Pesar 2,092 g NaHCO₃ y 2,640 g de Na₂CO₃, disolver y llevar a 1 L en matraz aforado con agua destilada.

NOTA: Reemplazar las soluciones buffer cada cuatro semanas.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Calibración del instrumento:

a) Para ello se debe seguir las instrucciones del medidor de pH. En la calibración se usan como mínimo dos de las soluciones buffer, cuyos valores de pH deben cubrir el rango de pH esperado por la muestra a medir.

b) Llevar los buffers y la muestra a la misma temperatura. (Si el equipo lo permite utilizar compensación de temperatura). El valor correspondiente de pH de los buffers debe ser corregido a la temperatura de los mismos.

8.2 Medida:

a) Medir el pH de la muestra indicando la temperatura de la misma. Realizar la medida con una agitación moderada para minimizar la entrada de dióxido de carbono y suficiente como para homogeneizar la muestra.

b) Una vez finalizada la medida enjuagar y secar suavemente los electrodos y proceder a ubicarlos en la solución de reserva de los mismos.

9. EXPRESION DE RESULTADOS

Los resultados se deben reportar en unidades de pH con una precisión de 0.1 y la temperatura con una precisión de 1 °C.

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, 1992. pp 4-65 - 4-69.

2- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes*. 2th Edition. Cincinnati, EPA, 1983. pp 150.1-1 - 150.1-3.



DETERMINACION DE SOLIDOS SEDIMENTABLES

Método Volumétrico

1. OBJETIVO

Esta norma técnica se utiliza para la determinación de sólidos sedimentables en efluentes industriales y domésticos.

2. DEFINICION

Los sólidos sedimentables son los materiales que sedimentan de una suspensión en un período de tiempo definido en un cono Imhoff.

3. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

Recolectar la muestra en envases de vidrio o de plástico de 1L de capacidad. Refrigerar a 4°C. Analizar lo antes posible.

4. MATERIALES

4.1 Cono Imhoff graduado de 1000 mL de capacidad.

5. PROCEDIMIENTO

a) Verter en el cono Imhoff 1000 mL de muestra perfectamente mezclada. Dejar sedimentar y leer el volumen del sedimento a los 10 minutos en la escala.

b) A los 45 minutos, raspar las paredes del cono con varilla de vidrio para desprender las partículas adheridas. Dejar sedimentar 15 minutos más y leer el volumen del sedimento en la escala a los 60 minutos de iniciado el ensayo.

6. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Los resultados se expresan en mL de sólidos sedimentables/L de muestra a los 10 minutos y a los 60 minutos.

El límite inferior prácticamente medible está generalmente en el rango de 0.1 a 1 mL/L, dependiendo del cono Imhoff utilizado.

7. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 2-57.

**SOLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES, VOLATILES Y FIJOS****Método Gravimétrico****1. OBJETIVO**

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos, en aguas, efluentes industriales y domésticos.

2. DEFINICION

- 2.1 Los sólidos suspendidos totales son los materiales retenidos por un filtro estándar de fibra de vidrio y secado 103-105 °C.
- 2.2 Los sólidos suspendidos fijos son los residuos resultantes luego de calcinar a 550 ± 50 °C la muestra retenida en el filtro.
- 2.3 Los sólidos suspendidos volátiles corresponden a los compuestos perdidos durante la calcinación a 550 ± 50 °C de la muestra retenida en el filtro. Se determinan por diferencia de peso entre sólidos suspendidos totales y fijos.

3. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

La muestra se debe recolectar en botellas de vidrio o plástico de 1 L de capacidad. Refrigerar la muestras a 4°C. Analizar antes de 24 horas de preferencia, como máximo 7 días de realizado el muestreo.

4. EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Filtros de fibra de vidrio: Whatman 934 AH o Gelman A/E o Milipore AP 40. Preferentemente de 4,7 cm de diámetro.
- 4.2 Equipo de filtración por vacío:
embudo de membrana filtrante, preferentemente de 4,7 cm de diámetro, frasco de succión de suficiente capacidad para la muestra, trampa de agua, bomba de vacío.
- 4.3 Estufa para operar a 103-105°C.
- 4.4 Mufla para operar a 550 ± 50 °C.
- 4.5 Desecador conteniendo un desecante con indicador coloreado de humedad.
- 4.6 Balanza analítica de precisión 0.1 mg.
- 4.7 Probetas

SOLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Preparación del papel de filtro:

Colocar el filtro en el embudo de filtración. Aplicar vacío y enjuagar con tres porciones de 20 mL de agua destilada. Continuar la succión hasta eliminar totalmente el agua. Secar en estufa 103-105°C por 1 hora en un soporte de porcelana o similar. Si se va a determinar volátiles muflar por 15 min. a 550 °C, enfriar en desecador y pesar. Repetir el ciclo de muflado, enfriado y pesado hasta peso constante.

5.2 Determinación:

a) Una vez que se obtuvo el peso constante del filtro, pesarlo inmediatamente antes de usarlo.

b) Colocar el filtro en el embudo de filtración, mojar el filtro con una pequeña cantidad de agua destilada.

c) Tomar un volúmen de muestra homogeneizada que de un residuo seco entre 2.5 y 200 mg. Verter el volumen medido en el embudo de filtración. Comenzar la succión. Lavar 3 veces sucesivas con 10 mL de agua destilada cada vez, permitiendo un completo drenaje en los lavados. Continuar la succión por 3 minutos hasta que la filtración sea completa.

d) Remover el filtro y colocarlo sobre un soporte de porcelana. Secar por 1 hora a 103-105°C en estufa, enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar. Repetir el ciclo de secado, enfriado, y pesado hasta peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor que el 4% del peso previo o 0.5 mg.

e) Colocar el filtro anterior en la mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Enfriar en desecador y pesar. Repetir la secuencia hasta obtener peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor que el 4% del peso previo o 0.5 mg.

6. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{SST, mg/L} = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$\text{SSF, mg/L} = \frac{(P_3 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$\text{SSV, mg/L} = \text{SST} - \text{SSF}$$

donde:

SST = sólidos suspendidos totales en mg/L.

SSF = sólidos suspendidos fijos en mg/L.

SSV = sólidos suspendidos volátiles en mg/L.

P1 = peso del filtro preparado en mg.

P2 = peso del filtro más el residuo seco a 103-105°C en mg.

P3 = peso del filtro más el residuo calcinado a 550 °C en mg.

V = volumen de muestra tomado en mL.

7. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Washington, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 2-56.



SOLIDOS TOTALES, VOLATILES Y FIJOS

Método Gravimétrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de sólidos totales, volátiles y fijos en aguas, efluentes industriales y domésticos. El análisis de sólidos volátiles puede ser empleado en el control de las plantas de tratamientos de efluentes porque ofrecen una estimación de la cantidad de materia orgánica presente.

2. DEFINICION

- 2.1 Los sólidos totales son los residuos resultantes luego de la evaporación y secado de la muestra en una estufa a 103-105°C. Los sólidos totales incluyen volátiles y fijos.
- 2.2 Los sólidos fijos son los residuos resultantes luego de calcinar la muestra a 550±50 °C.
- 2.3 Los sólidos volátiles corresponden a los compuestos perdidos durante la calcinación a 550±50 °C. Se determinan por diferencia de peso entre sólidos totales y fijos.

3. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico de 1 L de capacidad. Refrigerar a 4°C. Analizar antes de los 7 días.

4. EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Cápsulas de porcelana de 90 mm de diámetro.
- 4.2 Baño de agua, con soporte para las cápsulas
- 4.3 Estufa para operar a 103-105°C.
- 4.4 Mufla para operar a 550 ± 50°C.
- 4.5 Desecador conteniendo un desecante con indicador coloreado de humedad.
- 4.6 Balanza analítica de precisión 0.1 mg.
- 4.7 Probetas

SOLIDOS TOTALES

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Preparación de cápsulas:

Colocar las cápsulas en mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Dejar enfriar en desecador y pesar antes de su uso.

5.2 Determinación:

a) Tomar un volumen de muestra homogeneizada que de un residuo seco entre 2.5 y 200 mg. Verter el volumen medido en la cápsula preparada y evaporar en el baño de agua a sequedad. Evitar pérdidas de la muestra por ebullición.

b) Secar la muestra en estufa a $103-105^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Enfriar en desecador y pesar. Repetir el ciclo de secado, enfriado en desecador y pesado hasta que se obtenga peso constante o que la pérdida de peso sea menor al 4 % que el peso previo o menos de 0.5 mg (el que sea menor).

c) Calcinar la muestra en mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 1 hora. Enfriar en desecador y pesar. Repetir el ciclo de secado, enfriado en desecador y pesado hasta que se obtenga peso constante o que la pérdida de peso sea menor al 4 % que el peso previo o menos de 0.5 mg (el que sea menor).

6. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$ST, \text{ mg/L} = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$STF, \text{ mg/L} = \frac{(P_3 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$STV, \text{ mg/L} = ST - STF$$

donde:

ST = sólidos totales en mg/L

STF = sólidos totales fijos en mg/L

STV = sólidos totales volátiles en mg/L

P1 = peso de la cápsula preparada en mg.

P2 = peso de la cápsula más el residuo seco a $103-105^\circ\text{C}$ en mg.

P3 = peso de la cápsula más el residuo calcinado a 550°C en mg.

V = volumen de muestra tomado en mL.

7. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 2-54.



DETERMINACION DE TURBIDEZ

Método Nefelométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de la turbidez en aguas naturales y tratadas.

2. DEFINICION

La turbidez es una medida de la propiedad óptica que causa dispersión y absorción de la luz con disminución de la transmisión en línea recta. Se miden en unidades de turbidez nefelométrica, (NTU).

3. PRINCIPIO DEL METODO

Este método está basado en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas con la luz dispersada por una suspensión estándar de referencia bajo las mismas condiciones. Cuanto mayor sea la intensidad de la luz dispersada, mayor será la turbidez.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Se debe realizar la determinación en el día en que se realiza el muestreo. De lo contrario, almacenar la muestra hasta 24hs en la oscuridad.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Turbidímetro: es un nefelómetro con una fuente de luz para iluminar la muestra y uno o más detectores fotoeléctricos con mecanismo de lectura para indicar la intensidad de la luz dispersada a 90° del camino de luz incidente.
- 5.2 Tubos para la muestra: de vidrio transparente y limpios.
- 5.3 Matraces aforados de 100 mL
- 5.4 Pipetas aforadas de 5 y 10 mL
- 5.5 Balanza analítica de 1 mg de precisión.

TURBIDEZ

6. REACTIVOS

- 6.1 Agua libre de turbidez: se obtiene pasando agua destilada a través de un filtro de membrana de diámetro de poro de 0.2 μm . Para todas las soluciones utilizar agua libre de turbidez.
- 6.2 Solución I:
disolver 1.00 g de sulfato de hidrazina en agua destilada y diluir a 100 mL en matraz aforado. Preparar mensualmente.
- 6.3 Solución II:
disolver 10.00 g de hexametileno- tetraamina en agua destilada y diluir a 100 mL en matraz aforado. Preparar mensualmente.
- 6.4 Suspensión stock de turbidez, 400 NTU:
en un matraz aforado de 100 mL mezclar 5.0 mL de solución I con 5.0 mL de solución II. Dejar reposar 24 hs a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, luego enrasar y mezclar. Preparar mensualmente.
- 6.5 Suspensión estándar de turbidez, 40 NTU:
diluir 10.0 mL de suspensión stock de turbidez en 100 mL con agua libre de turbidez en matraz aforado. Preparar semanalmente.

7. PROCEDIMIENTO

a) Realizar la calibración del equipo de acuerdo al manual de instrucciones. Una vez calibrado con la solución de 40 NTU, proceder a las lecturas de turbidez de las diferentes muestras.

b) Si la turbidez de la muestra es mayor de 40 NTU diluir la muestra con agua libre de turbidez hasta que la turbidez caiga entre 30 - 40 NTU.

Nota: al llenar los tubos con muestra y estándares dejar reposar suficiente tiempo para que escapen las burbujas

8. EXPRESION DE RESULTADOS

La turbidez se informa en NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez)

$$\text{Turbidez, NTU} = \frac{A \times V}{T}$$

donde:

A : NTU de la muestra diluída

V : volumen del matraz de dilución, mL

T : volumen de muestra tomado para diluir, mL

9. BIBLIOGRAFIA

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 2-9 - 2-11.

SECCION II

METALES

SECCION II

II A) DETERMINACION DE METALES

Cod.

33011	Arsénico. Método de espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros.(HGAAS).
48001	Cadmio. Método FLAAS*.
20003	Calcio. Método FLAAS.
20109	Calcio. Método titulométrico con EDTA.
30004	Cinc. Método FLAAS.
29006	Cobre. Método FLAAS.
24002	Cromo total. Método FLAAS.
12002	Magnesio. Método FLAAS.
12101	Magnesio. Método por cálculo.
80013	Mercurio. Método de espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío. CVAAS.
28001	Niquel. Método FLAAS.
82001	Plomo. Método FLAAS.
19001	Potasio. Método FLAAS.
11003	Sodio. Método FLAAS.

* FLAAS: Espectrofotometría de absorción atómica por llama

II B) CONTROL DE CALIDAD

Cod.

IIB01	Determinación del Límite de Detección y Cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.
-------	--



DETERMINACION DE ARSENICO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generación Continua de Hidruros

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar arsénico en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,001 a 0,050 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 193,7 nm.

El arsénico es medido previa conversión del mismo al hidruro volátil (AsH_3) por reducción con borohidruro de sodio en solución ácida. Este hidruro es transportado hacia una celda de cuarzo caliente donde es atomizado.

Si existe arsénico en estado de oxidación V para generar el hidruro este debe primero reducirse al estado de oxidación III, esto hace que la sensibilidad decrezca levemente. Por esto previamente debe convertirse todo el arsénico presente al estado de oxidación III con ioduro de sodio o potasio.

El contenido de arsénico se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de aguas con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a $\text{pH} < 2$ con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

ARSENICO

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con generador continuo de hidruros.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 5.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40$ g/mL, ppa.
- 6.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 6.3 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 6.4 Solución estándar de arsénico de 1000 mg/L:
Disolver 1,3200 g de óxido de arsénico III (As_2O_3) (ppa, para Absorción Atómica) en 25 mL de solución de hidróxido de potasio (KOH, ppa) 20% w/v. Neutralizar con H_2SO_4 20% v/v. Diluir a 1L en matraz aforado, con H_2SO_4 1%. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 6.5 Solución de borohidruro de sodio (NaBH_4) 0,4% * :
Disolver 2,5 g de hidróxido de sodio (NaOH ppa) y 2,0 g de NaBH_4 (ppa para Absorción Atómica) en 500 mL de agua destilada. El reactivo pierde sensibilidad con el tiempo, prepararlo diariamente.
* NOTA: Preparar este reactivo a la concentración indicada por el manual del generador de hidruros utilizado.
- 6.6 Solución de ácido clorhídrico (HCl) 5 M * :
Diluir 210 mL de HCl conc. (5.2.2) a 500 mL con agua destilada.
* NOTA: Preparar este reactivo a la concentración indicada por el manual del generador de hidruros utilizado.
- 6.7 Solución de yoduro de potasio (KI) al 20%:
Disolver 20 g de KI (ppa) en 100 mL de agua destilada.
- 6.8 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de arsénico en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de arsénico menor a 0,001 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado.

Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

d) Agregar KI 20% (6.7) (antes de llevar a volumen en 7.1.c o a una alícuota de la solución obtenida en ese punto), tal que su concentración final sea del 1%, esperar 15 minutos antes de medir.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,001 y 0,050 mg/L de arsénico a partir de la solución 6.4, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea el 1%. Agregar también KI 20% (6.7) tal que su concentración final sea del 1%, esperar 15 minutos antes de medir.

ARSENICO

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de arsénico

Longitud de onda: 193,7 nm

Magnitud medida: concentración, altura de pico o área de pico (depende del equipo usado)

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,001 a 0,050 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de arsénico

Longitud de onda: 193,7 nm

Magnitud medida: concentración, altura de pico o área de pico (depende del equipo usado)

b) Realizar una medida aproximada del contenido de arsénico en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de arsénico tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A. Tener en cuenta que la suma del contenido de arsénico de la muestra más la adición no supere los 0,050 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.

8.2 Se determina la concentración de arsénico en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.

8.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, As (mg/L) < LC * FC.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3.

8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{As (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de As en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de As en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 -AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE CADMIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar cadmio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,025 a 3 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

- 2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 228,8 nm. El contenido de cadmio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólido en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.

CADMIO

- 5.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40$ g/mL, ppa.
- 6.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 6.3 HCl (1+1): Diluir HCl (6.2) con igual cantidad de agua destilada.
- 6.4 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 6.5 Solución estándar de cadmio de 1000 mg/L:
Disolver 1,0000 g de cadmio metálico (ppa) en el mínimo volumen de HCl (1+1) (6.3). Diluir a 1 L en matraz aforado, con HCl 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 6.6 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de cadmio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de cadmio menor a 0,025 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.
Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.
Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado. En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,025 y 3,0 mg/L de cadmio a partir de la solución 6.5, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de cadmio

Longitud de onda: 228,8 nm

Corrección de fondo: lámpara de deuterio

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,025 a 3 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de cadmio

Longitud de onda: 228,8 nm

Corrección de fondo: lámpara de deuterio

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de cadmio en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de cadmio tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A.. Tener en cuenta que la

CADMIO

suma del contenido de cadmio de la muestra más la adición no supere los 3 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.
- 8.2 Se determina la concentración de cadmio en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.
- 8.3 Si C_M es menor a LDM informar:
No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

- 8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:
Se detecta, Cd (mg/L) < LC * FC.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3.
- 8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$Cd \text{ (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Cd en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Cd en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE CALCIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar calcio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,1 a 20,0 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

- 2.1 Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica. Código IIB01.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 422,8 nm.

El contenido de calcio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 8.1).

4. INTERFERENCIAS

La sensibilidad del calcio se ve disminuída por la presencia de elementos que puedan formar oxisales estables como fósforo, aluminio. Para disminuir este efecto se agrega solución de lantano al 0,5%.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

CALCIO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 6.2 Plancha calefactora.
- 6.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 6.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 6.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 6.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 6.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 6.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

7. REACTIVOS

- 7.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40 \text{ g/mL}$, ppa.
- 7.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 7.3 Solución estándar de calcio de 1000 mg/L:
agregar a 2,4980g de carbonato de calcio (CaCO_3 , ppa para Absorción Atómica, secado a 180_C durante 1 hora) 100 mL de agua destilada, agregar gota a gota el mínimo volumen de HCl (aprox. 20 mL) hasta completa disolución del carbonato. Diluir a 1L en matraz aforado, con agua destilada. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 7.4 Solución de óxido de lantano 50000 mg/L (La_2O_3 , ppa):
Disolver 58,65 g de La_2O_3 en 250 mL de HCl . Agregar el ácido lentamente hasta que el material es disuelto y diluir a 1L con agua destilada.
- 7.5 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Digestión de la muestra

- a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de calcio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la

solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de calcio menor a 0,1 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA : Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (clorhídrico, NO sulfúrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

d) Agregar solución de óxido de lantano (7.4) (antes de llevar a volumen en 8.1.c o a una alícuota de la solución obtenida en ese punto), tal que su concentración final sea del 0,5%.

8.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,1 y 20,0 mg/L de calcio a partir de la solución 7.3, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%. Agregar también solución de óxido de lantano 5% (7.4) tal que su concentración final sea del 0,5%.

8.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de calcio

Longitud de onda: 422,8 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

CALCIO

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,1 a 20,0 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

8.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de calcio

Longitud de onda: 422,8 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de calcio en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. Agregar a cada una solución de óxido de lantano (7.5) tal que su concentración final sea del 0,5%. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de calcio tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A. Tener en cuenta que la suma del contenido de calcio de la muestra más la adición no supere los 20,0 mg/L.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.

9.2 Se determina la concentración de calcio en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 8.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 8.2.

9.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

9.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

$$\text{Se detecta, Ca (mg/L) < LC * FC.}$$

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3.

9.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{Ca (mg/L) = (} C_M * FD_M - C_B * FD_B \text{) * FC}$$

Donde :

C_M = concentración de Ca en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Ca en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE CALCIO

Método titulométrico con EDTA

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de ión calcio en aguas naturales y tratadas. También se emplea para determinar la dureza del agua correspondiente a los iones calcio.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Los iones calcio y magnesio forman complejos estables con etilendiaminotetra-acetato disódico. Si el pH es suficientemente alto (12 ó 13) como para que el magnesio precipite como hidróxido, el calcio puede ser determinado directamente. El punto final de la titulación es detectado por el indicador Murexida, el que vira de rosado a púrpura en el punto final.

3. INTERFERENCIAS

3.1 En muestras que contienen fósforo en concentraciones mayores a 50 mg/L, no se puede usar este método para la determinación de calcio.

4. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

Recolectar la muestra en recipiente de plástico o vidrio. Acidificar con HNO_3 hasta $\text{pH} < 2$. La muestra puede ser almacenada hasta 6 meses.

5. MATERIALES

- 5.1 Matraz erlenmeyer de 250 mL
- 5.2 Buretas de 25 mL
- 5.3 Pipetas aforadas de 10 mL
- 5.4 Pipetas graduadas de 1 mL
- 5.5 Matraz aforado de 1000 mL

CALCIO

6. REACTIVOS

- 6.1 Hidróxido de sodio 10 N.
- 6.2 Reactivo indicador Negro de Eriocromo-T (NET):
mezclar 0.5 g de NET con 100 g de NaCl. Pulverizar en mortero.
- 6.3 Reactivo indicador Murexida:
mezclar 200 mg de murexida con 100 g de NaCl y pulverizar la mezcla en mortero.
- 6.4 Solución titulante de EDTA 0.01M:
disolver 3.723 g de etilendiaminotetra-acetato disódico dihidratado en agua destilada y diluir a 1000 mL. Guardar en botella de plástico. Titular contra solución patrón de calcio.
- 6.5 Solución Buffer:
disolver 1.179 g de etilendiaminotetra-acetato disódico dihidratado y 780 mg de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ o 644 mg de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ en 50 mL de agua destilada. Agregar a esta solución 16.9 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) y 143 mL de hidróxido de amonio NH_4OH concentrado. Mezclar y diluir a 250 mL con agua destilada. Guardar en botella de plástico.
- 6.6 Solución estándar de calcio:
pesar 1.000 g de $CaCO_3$ anhidro seco (estándar primario) en un matraz erlenmeyer de 500 mL. Colocar un embudo en el matraz y agregar lentamente solución de HCl 6N hasta que todo el carbonato de calcio se halla disuelto. Agregar 200 mL de agua destilada y hervir 5 minutos para eliminar completamente el CO_2 . Enfriar, agregar unas gotas de rojo de metilo y ajustar al color intermedio naranja agregando solución 3N de NH_4OH o HCl 6N. Transferir cuantitativamente y enrasar a 1000 mL con agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Titulación de la solución de EDTA

a) Tomar 10.0 mL de solución estándar de calcio y diluir a 50 mL en un matraz erlenmeyer.

Agregar 1.0 mL de solución buffer. El pH deberá estar entre 10.0 ± 0.1 , en caso contrario descartar la solución buffer.

b) Agregar una punta de espátula del reactivo indicador negro de eriocromo-T. Titular con solución de EDTA lentamente y agitando continuamente hasta viraje del color de la solución de rosado a azul. Completar la titulación dentro de los cinco minutos siguientes al agregado de la solución buffer.

7.2 Titulación de la muestra:

a) Tomar 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. Agregar 1 o 2 mL de solución NaOH 10 N. El pH deberá estar entre 12 y 13.

b) Agregar una punta de espátula 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 púrpura. Luego del punto final agregar 1 o 2 gotas más de la solución de EDTA para verificar que el color no cambia.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$T = \frac{P \times V_1}{G_1}$$

donde:

T: mg de CaCO₃ equivalentes a 1000 mL de EDTA

P: mg CaCO₃ /L de la solución estándar de calcio

V₁: volumen de solución estándar de calcio tomados en la titulación de la solución de EDTA, (10.0 mL)

G₁: gasto de la solución de EDTA consumidos en su titulación

$$\text{Dureza de calcio, mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{T \times G_2}{V_2}$$

$$\text{Calcio, mg/L} = \frac{T \times G}{V_2 \times 2.5}$$

donde:

V₂: volumen de muestra tomados para la determinación, mL

G₂: gasto de solución de EDTA consumidos en la titulación de la muestra, mL

9. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3-57 - 3-58.



DETERMINACION DE CINC TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar cinc en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,01 a 1,5 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 213,9 nm. El contenido de cinc se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a $\text{pH} < 2$ con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.

CINC

5.7 Papel de filtro libre de ceniza.

5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d= 1,40$ g/mL, ppa.

6.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.

6.3 HCl (1+1) Diluir HCl (6.2) con igual cantidad de agua destilada.

6.4 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.

6.5 Solución estándar de cinc de 1000 mg/L:

Disolver 1,0000 g de cinc metálico (ppa) en el mínimo volumen de HCl (1+1) (6.3). Diluir a 1 L en matraz aforado, con HCl 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.

Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.

6.6 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de cinc en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de cinc menor a 0,01 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento. Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavado abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,01 y 1,5 mg/L de cinc a partir de la solución 6.5, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cinc
Longitud de onda: 213,9 nm
Corrección de fondo: lámpara de deuterio
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,01 a 1,5 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cinc
Longitud de onda: 213,9 nm
Corrección de fondo: lámpara de deuterio
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de cinc en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de cinc tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A.
Tener en cuenta que la suma del contenido de cinc de la muestra más la adición

no supere los 1,5 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.
- 8.2 Se determina la concentración de cinc en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.
- 8.3 Si C_M es menor a LDM informar:
No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:
- $$FC = V / T$$
- Donde:
V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.
T = toma de la muestra en mL.
- 8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:
Se detecta, Zn (mg/L) < LC * FC.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3.
- 8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{Zn (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

- C_M = concentración de Zn en la digestión de la muestra en mg/L
 FD_M = factor de dilución de la muestra
 C_B = concentración de Zn en la digestión del blanco en mg/L
 FD_B = factor de dilución del blanco.
FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE COBRE TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar cobre en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,05 a 15 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectroscopía de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 324,8 nm. El contenido de cobre se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.

COBRE

- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 5.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40$ g/mL, ppa.
- 6.2 HNO_3 (1+1) Diluir HNO_3 con igual volumen de agua destilada.
- 6.3 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 6.4 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 6.5 Solución estándar de cobre de 1000 mg/L:
Disolver 1,0000 g de cobre metálico (ppa) en el mínimo volumen de HNO_3 (1+1) (6.2). Diluir a 1 L en matraz aforado con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 6.6 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de cobre en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de cobre menor a 0,05 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.
Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.
Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento. Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado. En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar de 0,05 y 15,0 mg/L de cobre a partir de la solución 6.5, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cobre
Longitud de onda: 324,8 nm
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,05 a 15 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cobre
Longitud de onda: 324,8 nm
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de cobre en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de cobre tal que la con-

COBRE

centración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A.
Tener en cuenta que la suma del contenido de cobre de la muestra más la adición no supere los 15 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.
- 8.2 Se determina la concentración de cobre en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.
- 8.3 Si C_M es menor a LDM informar:
No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

- 8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:
Se detecta, Cu (mg/L) < LC * FC.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3.
- 8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$Cu \text{ (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Cu en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Cu en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE CROMO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar cromo total en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,25 a 10 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. DEFINICIONES

Cromo total: es el contenido total de cromo en sus estados de oxidación III y VI.

3. REFERENCIAS

3.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

4. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 357,9 nm. El contenido de cromo se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 8.1).

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (7.1). Analizar antes de 6 meses.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 6.2 Plancha calefactora.

CROMO

- 6.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 6.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 6.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 6.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 6.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 6.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

7. REACTIVOS

- 7.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40 \text{ g/mL}$, ppa.
- 7.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 7.3 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/v, ppa.
- 7.4 Solución estándar de Cromo de 1000 mg/L:
Disolver 1,9230 g de óxido de cromo VI (CrO_3 , ppa para Absorción Atómica) en agua destilada y diluir a 1 L en matraz aforado, con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 7.5 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de cromo en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de cromo menor a 0,25 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.
Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.
Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado. En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

8.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar de 0,25 y 20,0 mg/L de cromo a partir de la solución 7.4, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

8.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cromo
Longitud de onda: 357,9 nm
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: reductora

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,25 a 20 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

8.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:
Lámpara de cátodo hueco de cromo
Longitud de onda: 357,9 nm
Combustible: acetileno
Oxidante: aire
Tipo de llama: reductora

b) Realizar una medida aproximada del contenido de cromo en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los

CROMO

3 matraces restantes adiciones de solución estándar de cromo tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A.

Tener en cuenta que la suma del contenido de cromo de la muestra más la adición no supere los 20 mg/L.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.

9.2 Se determina la concentración de cromo en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 8.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 8.2.

9.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

9.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, Cr total (mg/L) < LC * FC.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3.

9.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$Cr \text{ total (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Cr en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Cr en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE MAGNESIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar magnesio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,02 a 1,0 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

- 2.1 Norma técnica N° IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 285,2 nm.

El contenido de magnesio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 8.1).

4. INTERFERENCIAS

La sensibilidad del magnesio se ve disminuída por la presencia de elementos que puedan formar oxisales estables como fósforo, aluminio. Para disminuir este efecto se agrega solución de lantano al 0,5%.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

MAGNESIO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 6.2 Plancha calefactora.
- 6.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 6.4 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 6.5 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 6.6 Papel de filtro libre de ceniza.
- 6.7 Matraces aforados de 25 - 100 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

7. REACTIVOS

- 7.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d= 1,40$ g/mL reactivo A.C.S.
- 7.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, reactivo A.C.S.
- 7.3 Solución estándar de magnesio de 1000 mg/L:
Agregar a 1,6580 g de óxido de magnesio (MgO estándar primario, reactivo A.C.S.) agua destilada para humedecer, agregar la mínima mínima cantidad de HNO_3 para disolver el óxido. Diluir, en matraz aforado, a 1L con agua destilada. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 7.4 Solución de óxido de lantano 50000 mg/L (La_2O_3):
Disolver 58,65 g de La_2O_3 en 250 mL de HCl. Agregar el ácido lentamente hasta disolución del material y diluir a 1000 mL con agua.
- 7.5 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de magnesio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la

digestión. En el caso de estimar un contenido de magnesio menor a 0,02 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (clorhídrico, NO sulfúrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

8.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar de 0,02, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 y 1,0 mg/L de magnesio a partir de la solución 7.3, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%. Agregar también solución de óxido de lantano 5% (7.4) tal que su concentración final sea del 0,5%.

8.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de magnesio

Longitud de onda: 285,2 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,02 a 1,0 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

MAGNESIO

8.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de magnesio

Longitud de onda: 285,2 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de magnesio en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. Agregar a cada una solución de óxido de lantano (7.4) tal que su concentración final sea del 0,5%. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de magnesio tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A. Tener en cuenta que la suma del contenido de magnesio de la muestra más la adición no supere los 1,0 mg/L.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM) con estándares de 0,005 y 0,01 mg/L. Ver Norma técnica BII01.

9.2 Se determina la concentración de magnesio en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 8.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 8.2.

9.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

9.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, Mg (mg/L) < LC * FC.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3.

9.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{Mg (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Mg en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Mg en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

10.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE MAGNESIO

Método por cálculo

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de magnesio en aguas naturales.

2. REFERENCIAS

- 2.1 Determinación de dureza. Método titulométrico con EDTA. (Cod. 10603).
- 2.2 Determinación de calcio. Método titulométrico con EDTA. (Cod. 20109).

3. PRINCIPIO

Se estima la concentración de magnesio como la diferencia entre la dureza total y la dureza de calcio, los que se determinan según las referencias 2.1 y 2.2 respectivamente.

4. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

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

donde:

D : dureza total expresada en mg CaCO₃/L

Ca : concentración de calcio expresada en mg CaCO₃/L

5. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3-74.



DETERMINACION DE MERCURIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Vapor Frío

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar mercurio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,0002 a 0,0050 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones realizando una toma mayor o menor de la muestra.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectroscopía de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 253,7 nm.

El mercurio es medido previa conversión del mismo a su forma de metal libre (Hg^0) por reducción con cloruro estannoso en solución ácida. Este vapor ("vapor frío") es transportado hacia una celda de cuarzo donde es medido.

El contenido de mercurio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a $pH < 2$ con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 28 días.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con generador de vapor frío.

5.2 Baño de agua.

5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.

MERCURIO

- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 500 mL.
- 5.7 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada. En lo posible usar material exclusivo para la determinación de mercurio.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40 \text{ g/mL}$, ppa.
 - 6.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
 - 6.3 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
 - 6.4 Solución de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) 5% w/v:
Disolver 50 g de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (ppa) en 1 L de agua destilada.
 - 6.5 Solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 5% w/v:
Disolver 50 g de KMnO_4 (ppa) en 1 L de agua destilada.
 - 6.6 Solución estándar de mercurio de 1000 mg/L:
Disolver 1,3540 g de HgCl_2 (ppa para Absorción Atómica) en agua. Diluir a 1L en matrtaaz aforado, con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
 - 6.7 Solución de cloruro de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH.HCl}$) 10% w/v:
Disolver 100 g de $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ (ppa) en 1 L de agua destilada.
 - 6.8 Solución de cloruro estannoso ($\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 10 % * :
Disolver 20 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (ppa para determinación de mercurio) en 40 mL de HCl . Diluir, en erlenmeyer a 200 mL con agua destilada. El reactivo pierde sensibilidad con el tiempo, prepararlo diariamente.
- * NOTA: Preparar este reactivo a la concentración indicada por el manual del generador de vapor frío usado.
- 6.9 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. La toma a realizar depende del contenido estimado de mercurio, de la capacidad máxima del accesorio generador de vapor frío, de la especificación a cumplir por la muestra, y especialmente de la sensibilidad del equipo.

Si se dispone de una estimación del contenido total de mercurio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. Suponiendo que el volumen máximo que acepte el generador de vapor frío sea de 300 mL, detecte 50 ng de Hg⁰, y la especificación sea de 0,0002 mg/L, tomar 250,0 mL de muestra. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 500 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con material aforado, se realiza una toma en peso.

b) Por cada 100 mL de muestra agregar 1,5 mL de HNO₃, 1,5 mL de H₂SO₄, 5 mL de solución de KMnO₄ (6.5) o más hasta que permanezca el color púrpura (no permitir que se decolore). Agregar 8 mL de solución de persulfato de potasio (6.4). Calentar en baño de agua a 95°C durante 1 hora. Si es necesario agregar más solución de KMnO₄ (6.5).

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, recoger el digerido en un vaso del generador de vapor frío.

d) Agregar solución de hidroxilamina al 10% (6.7) tal que desaparezca el color púrpura (agregar primero al blanco, luego agregar la misma cantidad a las muestras).

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar en los vasos del generador conteniendo 25, 50, 100 y 250 ng de mercurio agregar 250 mL de agua, 1,5 mL de HNO₃, 1,5 mL de H₂SO₄, la necesaria de solución de KMnO₄ (6.5) hasta permanencia de coloración púrpura durante 30 minutos y la misma cantidad de solución de hidroxilamina (6.7) que a las muestras.

MERCURIO

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de mercurio

Longitud de onda: 253,7 nm

Magnitud medida: concentración, altura de pico o área de pico (depende del equipo usado)

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 25 a 250 ng de mercurio. Agregar solución de cloruro estannoso 10% (6.8), según indique el manual del generador de vapor frío usado, y realizar la medida.

c) Medir las muestras y blancos.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM) (ambos en ng) . Ver Norma técnica BII01.

8.2 Se determina el contenido en ng de mercurio en la digestión de la muestra y blanco (Q_M y Q_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.2.

8.3 Si Q_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM / T_M , expresado en ng/mL.

Donde:

T_M = Toma de muestra en mL

8.4 Si Q_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, Hg (ng/mL) < LC / T_M .

Donde:

T_M = Toma de muestra en mL

8.5 Si Q_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{Hg (ng/mL)} = (Q_M / T_M - Q_B / T_B)$$

Donde:

Q_M = Contenido de Hg en la muestra digerida en ng

Q_B = Contenido de Hg en el blanco digerido en ng

T_M = Toma de muestra en mL

T_B = Toma del blanco en mL

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.19. 3.20



DETERMINACION DE NIQUEL TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar níquel en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,2 a 20 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 232,0 nm. El contenido de níquel se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.

NIQUEL

- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 5.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40$ g/mL, ppa.
- 6.2 HNO_3 (1+1) Diluir HNO_3 con igual volumen de agua destilada.
- 6.3 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 6.4 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 6.5 Solución estándar de níquel de 1000 mg/L:

Disolver 1,0000 g de níquel metálico (ppa) en el mínimo volumen de HNO_3 (1+1) (6.2). Diluir a 1 L en matraz aforado, con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.

Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.

- 6.6 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de níquel en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de níquel menor a 0,2 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento. Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado. En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (sulfúrico y/o clorhídrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,2 y 20,0 mg/L de níquel a partir de la solución 6.5, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:
 Lámpara de cátodo hueco de níquel
 Longitud de onda: 232,0 nm
 Corrección de fondo: lámpara de deuterio
 Combustible: acetileno
 Oxidante: aire
 Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,2 a 20 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:
 Lámpara de cátodo hueco de níquel
 Longitud de onda: 232,0 nm
 Corrección de fondo: lámpara de deuterio
 Combustible: acetileno
 Oxidante: aire
 Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de níquel en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los

NIQUEL

3 matraces restantes adiciones de solución estándar de níquel tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A. Tener en cuenta que la suma del contenido de níquel de la muestra más la adición no supere los 20 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.
- 8.2 Se determina la concentración de níquel en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.
- 8.3 Si C_M es menor a LDM informar:
No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

- 8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:
Se detecta, Ni (mg/L) < LC * FC.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.2.
- 8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$Ni \text{ (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Ni en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Ni en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE PLOMO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar plomo en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,3 a 25,0 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) con llama a 217,0 nm. El contenido de plomo se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 7.1).

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (6.1). Analizar antes de 6 meses.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 5.2 Plancha calefactora.
- 5.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 5.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.

PLOMO

- 5.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 5.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 5.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 5.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d= 1,40$ g/mL, ppa.
- 6.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 6.3 Solución estándar de plomo de 1000 mg/L:
Disolver 1,5980 g de nitrato de plomo (ppa para Absorción Atómica) en HNO_3 1% v/v y diluir a 1 L en matra aforado, con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 6.4 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de plomo en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de plomo menor a 0,3 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.
Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.
Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener

una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento. Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado. En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (clorhídrico, NO sulfúrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

7.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,3 y 25,0 mg/L de plomo a partir de la solución 6.3, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%.

7.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de plomo

Longitud de onda: 217,0 nm

Corrección de fondo: lámpara de deuterio

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,3 a 25,0 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

7.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodo de plomo

Longitud de onda: 217,0 nm

Corrección de fondo: lámpara de deuterio

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

Tener en cuenta que la suma del contenido de plomo de la muestra más la adición no supere los 25 mg/L.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

- 8.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.
- 8.2 Se determina la concentración de plomo en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.
- 8.3 Si C_M es menor a LDM informar:
No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:
- $$FC = V / T$$
- Donde:
V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.
T = toma de la muestra en mL.
- 8.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:
Se detecta, Pb (mg/L) < LC * FC.
Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3.
- 8.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$Pb \text{ (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

- C_M = concentración de Pb en la digestión de la muestra en mg/L
 FD_M = factor de dilución de la muestra
 C_B = concentración de Pb en la digestión del blanco en mg/L
 FD_B = factor de dilución del blanco.
FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE POTASIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar potasio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,05 a 4,0 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 769,9 nm.

El contenido de potasio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 8.1).

4. INTERFERENCIAS

Para evitar la ionización se agrega como buffer de ionización, solución de cloruro de cesio al 1%.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (7.1). Analizar antes de 6 meses.

POTASIO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 6.2 Plancha calefactora.
- 6.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 6.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 6.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 6.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 6.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 6.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

7. REACTIVOS

- 7.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d= 1,40$ g/mL, ppa.
- 7.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 7.3 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 7.4 Solución estándar de potasio de 1000 mg/L:
Disolver 1,9070 g de cloruro de potasio (KCl, ppa para Absorción Atómica, secado a 110_C) en agua. Diluir a 1L en matraz aforado, con HNO_3 1% v/v.
Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 7.5 Solución de cloruro de cesio 10 % (CsCl):
Disolver 12,67 g de CsCl (ppa para Absorción Atómica) en 1L de agua.
- 7.6 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Digestión de la muestra

- a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de potasio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la

solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de 5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de potasio menor a 0,05 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (clorhídrico y/o sulfúrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavado abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

d) Agregar solución de cloruro de cesio (6.5) (antes de llevar a volumen en 7.1.c o a una alícuota de la solución obtenida en ese punto), tal que su concentración final sea del 1%.

8.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,05 y 4,0 mg/L de potasio a partir de la solución 7.4, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%. Agregar también solución de cloruro de cesio 10% (7.5) tal que su concentración final sea del 1%.

8.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de potasio

Longitud de onda: 769,9 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

POTASIO

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,05 a 4,0 mg/L.

c) Medir las muestras y blancos.

8.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de potasio

Longitud de onda: 769,9 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de potasio en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados.: A, B, C y D. Agregar a cada una solución de cloruro de cesio (6.5) tal que su concentración final sea del 1%. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de potasio tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A. Tener en cuenta que la suma del contenido de potasio de la muestra más la adición no supere los 4,0 mg/L.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.

9.2 Se determina la concentración de potasio en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 7.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 7.2.

9.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC, expresado en mg/L.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

9.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, $K \text{ (mg/L)} < LC * FC$.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3.

9.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$K \text{ (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de K en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de K en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DE SODIO TOTAL

Método de Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar sodio en aguas y efluentes industriales en el rango de 0,02 a 1,0 mg/L*, es posible determinar mayores o menores concentraciones por dilución o concentración de la muestra respectivamente.

*NOTA: Los extremos del rango de concentraciones pueden variar según el equipo utilizado.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica IIB01: Determinación del límite de detección y de cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

3. PRINCIPIO

La muestra es digerida para reducir la interferencia por materia orgánica y convertir todo el metal a una forma libre determinable por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) a 589,0 nm.

El contenido de sodio se determina mediante una curva de calibración.

Para muestras de agua con bajo contenido de sólidos en suspensión con una turbidez menor a 1 NTU no es necesario realizar la digestión (punto 8.1).

4. INTERFERENCIAS

Para evitar la ionización se agrega como buffer de ionización, solución de cloruro de cesio al 1%.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en frasco de polietileno de alta densidad de 1L de capacidad de cierre hermético. Ajustar a pH<2 con ácido nítrico (7.1). Analizar antes de 6 meses.

SODIO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con llama.
- 6.2 Plancha calefactora.
- 6.3 Balanza analítica de precisión 10 mg.
- 6.4 Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- 6.5 Pipetas aforadas de 5 - 100 mL.
- 6.6 Erlenmeyers de 100 - 125 mL.
- 6.7 Papel de filtro libre de ceniza.
- 6.8 Matraces aforados de 25 - 1000 mL.

NOTA: Todo el material de vidrio utilizado deberá lavarse con detergente y agua y enjuagarse por inmersión en una solución de HNO_3 al 5% v/v durante toda la noche, o un enjuague único con una solución de HNO_3 al 20% v/v. Luego se enjuagan tres veces con agua destilada.

7. REACTIVOS

- 7.1 Acido nítrico (HNO_3) 65 %, $d = 1,40 \text{ g/mL}$, ppa.
- 7.2 Acido clorhídrico (HCl) 37 %, ppa.
- 7.3 Acido sulfúrico (H_2SO_4) 95-98 % w/V, ppa.
- 7.4 Solución estándar de sodio de 1000 mg/L:
Disolver 2,5420 g de cloruro de sodio (NaCl , ppa para Absorción Atómica, secado a 140°C durante 1 hora) en agua. Diluir a 1L en matraz aforado, con HNO_3 1% v/v. Almacenar en frasco de plástico. Es estable por 1 año.
Pueden usarse soluciones estándar para Absorción Atómica comerciales.
- 7.5 Solución de cloruro de cesio 10% (CsCl):
Disolver 12,67 g de CsCl (ppa para Absorción Atómica) en 1L de agua.
- 7.6 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Digestión de la muestra

a) Homogeneizar la muestra. Si se dispone de una estimación del contenido total de sodio en la muestra realizar una toma con pipeta aforada tal que la solución final esté en el rango de medida. La toma mínima a realizar será de

5,00 mL, en el caso de muestras muy concentradas diluirlas luego de la digestión. En el caso de estimar un contenido de sodio menor a 0,02 mg/L, y de ser necesario, concentrar la muestra durante la digestión.

Transferir la toma a un Erlenmeyer de 100 - 125 mL.

Paralelamente se realiza un blanco de digestión sustituyendo la muestra por agua destilada.

NOTA: Si las características físicas de la muestra son tales que no se puede realizar una toma representativa de la misma con pipeta aforada, se realiza una toma en peso.

b) Agregar 5 mL de HNO_3 . Calentar en una plancha calefactora tal que se obtenga una ebullición leve, concentrar al menor volumen tal que no ocurra precipitación. Si es necesario agregar más ácido y seguir calentando hasta obtener una solución clara. No permitir que la solución se seque durante el calentamiento.

Puede quedar un pequeño precipitado no soluble en agua que es luego filtrado.

En caso de que la digestión con HNO_3 no sea suficiente, usar mezcla de ácidos (clorhídrico y/o sulfúrico). En este caso la medida se realizará por adiciones estándar.

c) Lavar el Erlenmeyer con agua, si es necesario filtrar con papel de filtro lavando abundantemente el precipitado, y recoger el filtrado en un matraz aforado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua destilada, homogeneizar.

d) Agregar solución de cloruro de cesio (7.5) (antes de llevar a volumen en 8.1.c o a una alícuota de la solución obtenida en ese punto), tal que su concentración final sea del 1%.

8.2 Curva de calibración

Preparar soluciones estándar entre 0,02 y 1,0 mg/L de sodio a partir de la solución 7.4, con el agregado de HNO_3 tal que su concentración final sea del 1%. Agregar también solución de cloruro de cesio 10% (7.5) tal que su concentración final sea del 1%.

8.3 Determinación directa

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de sodio

Longitud de onda: 589,0 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar la curva de calibración con los estándares de 0,02 a 1,0 mg/L.

SODIO

c) Medir las muestras y blancos.

8.4 Determinación por adiciones estándar

a) Parámetros instrumentales:

Lámpara de cátodo hueco de sodio

Longitud de onda: 589,0 nm

Combustible: acetileno

Oxidante: aire

Tipo de llama: oxidante

b) Realizar una medida aproximada del contenido de sodio en la muestra (x).

c) Tomar 4 alícuotas iguales de la muestra con pipeta aforada en matraces aforados: A, B, C y D. Agregar a cada una solución de cloruro de cesio (7.5) tal que su concentración final sea del 1%. En el matraz A aforar con agua destilada. Realizar en los 3 matraces restantes adiciones de solución estándar de sodio tal que la concentración en el matraz B sea el doble que la concentración en A; en el matraz C el triple y en el D cuatro veces la concentración de A.

Tener en cuenta que la suma del contenido de sodio de la muestra más la adición no supere los 1,0 mg/L.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Se determina los límites de cuantificación (LC) y detección (LDM). Ver Norma técnica BII01.

9.2 Se determina la concentración de sodio en la digestión de la muestra y blanco (C_M y C_B) o en una dilución de los mismos a partir de la curva de calibración obtenida en 8.1, o a partir de la curva de adición obtenida en 8.2.

9.3 Si C_M es menor a LDM informar:

No detectable, Límite de detección = LDM * FC.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido según:

$$FC = V / T$$

Donde:

V = volumen del matraz aforado usado para recoger el filtrado de digestión en mL.

T = toma de la muestra en mL.

9.4 Si C_M es mayor a LDM pero menor a LC informar:

Se detecta, Na (mg/L) < LC * FC.

Donde FC es el factor de concentración de la muestra, obtenido como en 9.3.

9.5 Si C_M es mayor a LC informar el valor obtenido según:

$$\text{Na (mg/L)} = (C_M * FD_M - C_B * FD_B) * FC$$

Donde :

C_M = concentración de Na en la digestión de la muestra en mg/L

FD_M = factor de dilución de la muestra

C_B = concentración de Na en la digestión del blanco en mg/L

FD_B = factor de dilución del blanco.

FC = factor de concentración de la muestra, obtenido como en 8.3

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 3.9. 3.12



DETERMINACION DEL LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION EN ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se usa para determinar los límites de detección y cuantificación en Espectrofotometría de Absorción Atómica por llama, vapor frío y generador de hidruros.

2. DEFINICIONES

Límite de detección del método (LDM): Es la menor concentración del elemento en la muestra sometida al método total, que es posible diferenciar de un blanco de método.

Blanco de método: Es un blanco del procedimiento total, incluido los pasos de digestión.

Límite de detección instrumental (LDI): Es la menor concentración del elemento que es posible diferenciar del ruido del instrumento, sirve de guía para determinar el LDM, como regla general, el LDM es 4 veces superior al LDI.

Límite de cuantificación (LC): Es la menor concentración del elemento que es posible cuantificar. Se asume como 5 veces el LDM.

3. PROCEDIMIENTO

3.1 Determinación del Límite de detección instrumental (LDI)

a) Se preparan 2 soluciones estándar de 2 concentraciones diferentes del elemento de interés. El estándar de menor concentración se prepara aproximadamente a una concentración 5X del límite de detección esperado (este depende de las características del equipo figurando frecuentemente en el manual del uso del mismo) y el segundo estándar se prepara al doble de concentración (10X).

b) Se realizan 20 o más lecturas de cada estándar leyendo un blanco (o solvente) entre cada lectura de los estándares. La secuencia de lectura es blanco, estándar de menor concentración, blanco, estándar de mayor concentración. Repetir 20 veces la secuencia.

c) Promediar las 2 lecturas lecturas del blanco tomadas inmediatamente antes y después de cada estándar y restárselo a cada lectura del estándar.

d) Calcular la media y la desviación estándar para el conjunto de lecturas corregidas del estándar mayor. Hacer lo mismo para el conjunto de lecturas corregidas del estándar menor.

e) Si la relación entre las medias no corresponde a la relación de concentraciones

LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

nes, dentro del error estadístico, descartar los datos.

f) Si los datos pasan el test de la relación de las medias, calcular el límite de detección instrumental según:

$$LDI = (LD_1 + LD_2) / 2$$

Donde:

$$LD_1 = (C_1 \times 2 \tilde{O}_1) / M_1$$

$$LD_2 = (C_2 \times 2 \tilde{O}_2) / M_2$$

C_1 : Concentración del estándar 1

C_2 : Concentración del estándar 2

\tilde{O}_1 : Desviación estándar de las lecturas del estándar 1

\tilde{O}_2 : Desviación estándar de las lecturas del estándar 2

M_1 : Media obtenida del estándar 1

M_2 : Media obtenida del estándar 2

3.2 Determinación del límite de detección del método (LDM)

a) Determinar la influencia de la matriz en la determinación del analito. Para esto medir la concentración del analito en 2 diluciones diferentes de la muestra (x y 10x). En el caso que la concentración de analito sea muy pequeña adicionarle, a una porción de la muestra una cantidad de analito equivalente a por lo menos 20-100 veces el LDI y diluirla 10 veces. Si la relación de concentraciones obtenidas es igual a la relación de las diluciones (10), implica que la matriz no afecta la medida y se puede usar el LDI calculado en 3.1 como una buena aproximación al LDM.

b) Si la relación de concentraciones obtenida en 3.2a no se corresponde a la relación de diluciones (10), proceder como en 3.1 realizando adiciones a la muestra en vez de preparar estándares acuosos. Realizar los cálculos de la misma forma a la realizada en 3.1.

3.3 Determinación del Límite de Cuantificación (LC)

Calcular el LC según:

$$LC = 5 * LDM$$

4. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 1.1. 1.12

SECCION III CONSTITUYENTES INORGANICOS NO-METALICOS

SECCION III

DETERMINACION DE CONSTITUYENTES INORGANICOS NO-METALICOS

Cod.

10112	Alcalinidad. Método titulométrico.
07506	Amonio. Método electrométrico.
06602	Cianuro. Método titulométrico.
06606	Cianuro libre. Método Colorimétrico.
06600	Cianuro total. Método Colorimétrico.
17204	Cloruro. Método argentométrico.
07308	Nitrato. Método de espectrofotometría ultravioleta.
14103	Silicato. Método colorimétrico del molibdosilicato.
16302	Sulfato. Método turbidimétrico.
16102	Sulfuro. Método electrométrico.
16103	Sulfuro. Método potenciométrico.



DETERMINACION DE ALCALINIDAD

Método titulométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de alcalinidad en aguas naturales y tratadas.

2. DEFINICIONES

La alcalinidad de un agua es su capacidad para neutralizar un ácido. La alcalinidad de un agua natural o tratada se debe principalmente a los aniones bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos.

Alcalinidad a la fenolftaleína es la correspondiente a los iones hidróxidos más la mitad de la concentración de los iones carbonatos.

Alcalinidad total es la atribuible a los iones hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos.

3. PRINCIPIO DEL METODO

La alcalinidad se determina por titulación con una solución estándar de un ácido mineral fuerte a los puntos sucesivos de equivalencia del bicarbonato y el ácido carbónico.

El indicador de fenolftaleína permite cuantificar la Alcalinidad a la fenolftaleína. Para determinar la Alcalinidad total se emplea el indicador anaranjado de metilo.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en recipientes de plástico de buen cierre. Mantener la muestra refrigerada a 4°C. Realizar la determinación dentro de las 24 horas de realizado el muestreo.

5. MATERIALES

- 5.1 Buretas 10 y 25 mL
- 5.2 Agitador magnético
- 5.3 Pipetas aforadas de 10, 20, 50 y 100 mL

ALCALINIDAD

5.4 Matraz erlenmeyer

6. REACTIVOS

- 6.1 Agua destilada libre de dióxido de carbono:
debe usarse para la preparación de todas las soluciones estándar y stock. Si el agua destilada tiene un pH menor a 6.0, debe ser hervida por 15 minutos, enfriada a temperatura ambiente y usada inmediatamente.
- 6.2 Solución de carbonato de sodio 0.05 N:
secar 3 a 5 g de estándar primario Na_2CO_3 a 250°C durante 4 horas y enfriar en desecador. Pesar 2.5 ± 0.2 g con una precisión de 1 mg, transferir a matraz aforado de 1 L y enrasar. No almacenar más de una semana.
- 6.3 Solución estándar de ácido sulfúrico 0.1N:
disolver 2.8 mL de ácido sulfúrico concentrado en 1 L de agua destilada. Estandarizar con 20.00 mL de carbonato de sodio 0.05 N con aproximadamente 60 mL de agua.
- 6.4 Solución estándar de ácido sulfúrico 0.02 N:
diluir 200 mL de ácido sulfúrico 0.1 N a 1 L. Estandarizar con 10.00 mL de carbonato de sodio 0.05 N.
- 6.5 Indicador acuoso anaranjado de metilo 0.5 g/L.
- 6.6 Indicador de fenolftaleína 5 g/L:
disolver 0.5 g de fenolftaleína en 50 mL de etanol al 95% y añadir 50 mL de agua.

7. PROCEDIMIENTO

Se recomienda que se usen volúmenes de muestra que necesiten menos de 50 mL de la solución tituladora, pues se obtiene un punto final más preciso. Para muestras de alcalinidad menor a 20 mg/L titular con el ácido sulfúrico estándar de 0.02 N.

- 7.1 Alcalinidad total:
Se agrega 0.1 mL de indicador anaranjado de metilo a una muestra adecuada (50, 100 mL) contenida en un matraz erlenmeyer de 250 mL. Titular con solución de ácido sulfúrico valorado 0.1 N hasta el viraje a color naranja salmón.
- 7.2 Alcalinidad a la fenolftaleína:
Se agrega dos gotas del indicador de fenolftaleína a una muestra de volumen adecuado (50, 100 mL) contenida en un matraz erlenmeyer de 250 mL. Titular

con solución de ácido sulfúrico valorado 0.1 N hasta viraje de color.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

La normalidad del ácido sulfúrico estándar es:

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

donde:

N = normalidad del ácido sulfúrico en eq/L.

A = g Na_2CO_3 /L de la solución de carbonato de sodio 0.05 N.

B = mL de solución de carbonato de sodio tomados para la valoración del ácido.

C = mL de ácido utilizados en su valoración.

$$\text{Alcalinidad, mg CaCO}_3 /\text{L} = \frac{G \times N \times 50000}{T}$$

donde:

G = mL de ácido sulfúrico utilizados en la titulación.

N = normalidad del ácido sulfúrico utilizado para la determinación.

T = mL de muestra.

9. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standardd Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 2-26 - 2-27.



DETERMINACION DE AMONIO

Método electrométrico

1. OJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para determinación de amonio en agua potable, aguas superficiales, efluentes industriales y domésticos. Se puede determinar amonio en concentraciones entre 0.06 a 1400 mg NH₃-N/L.

2. DEFINICION

Se considera amonio disuelto a la suma del amoníaco disuelto (NH_{3(aq)}) más los iones amonio (NH₄⁺).

3. PRINCIPIO

El electrodo ión selectivo de amonio está constituido por una membrana hidrofóbica permeable a los gases que separa la solución problema de la solución interna de cloruro de amonio.

Los equilibrios conformados por amonio disuelto, amoníaco disuelto y amoníaco gas se desplazan hacia la formación de este último con el aumento del pH a 11 con una base fuerte. El amoníaco acuoso difunde a través de la membrana y cambia el pH de la solución interna. Este cambio se mide con un electrodo de pH.

4. INTERFERENCIAS

4.1 Altas concentraciones de iones disueltos, mercurio y plata afectan la medida, no así el color ni la turbidez.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar en envases de vidrio o plástico de un litro de capacidad. Ajustar a pH < 2 con ácido sulfúrico o clorhídrico concentrado. Refrigerar a 4°C. Analizar antes de la 24 hs de recolectada la muestra.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 pH-metro con escala expandida en milivolts con una resolución de 0,1 mV o un analizador de ión específico.
- 6.2 Electrodo selectivo de amonio.
- 6.3 Agitador magnético térmicamente aislado.
- 6.4 Barras magnéticas recubiertas de teflón.

7. REACTIVOS

- 7.1 Agua libre de amoníaco (destilada y desionizada).
- 7.2 Hidróxido de sodio 10 M:
disolver 40 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 100 mL de agua destilada.
- 7.3 Acido sulfúrico o ácido clorhídrico concentrado.
- 7.4 Solución stock de amonio, 1.0 g N/L:
disolver 3.819 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) anhidro, secado a 100°C, en agua, y diluir a 1000 mL en matraz aforado.
- 7.5 Solución estándar de amonio, 10 mg N/L:
diluir 10.0 mL de la solución stock de amonio a 1000 mL con agua.

NOTA: Todos los reactivos deben ser calidad puro para análisis (ppa).

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Curva de calibración:

- a) Preparar soluciones estándares de las siguientes concentraciones: 1000, 100, 10,1 y 0,1 mg N/L por dilución de la solución stock de amonio (7.4) y de la solución estándar de amonio (7.5), cuando corresponda.
- b) Colocar 100 mL de cada solución estándar en vasos de Bohemia de 150 mL. Sumergir el electrodo en la solución estándar de menor concentración y mezclar mediante agitación magnética. Controlar la velocidad de agitación tal que no se produzcan burbujas de aire que obstruyan la membrana del electrodo. Trabajar con la misma velocidad de agitación y a la misma temperatura durante la calibración y la medida de las muestras problema.

c) Agregar solución de hidróxido de sodio 10 M para alcanzar un pH igual a 11, generalmente un mL es suficiente.

Mantener el electrodo en solución hasta obtener una lectura estable.

d) Graficar el logaritmo decimal de la concentración de amoníaco expresada como nitrógeno ($\text{NH}_3\text{-N}$) versus potencial registrado en mV. Si el electrodo funciona bien la pendiente de la recta será aproximadamente 59.

Precauciones:

Chequear el electrodo de acuerdo a las instrucciones del fabricante para asegurar un buen funcionamiento del mismo.

No agregar hidróxido de sodio antes de sumergir el electrodo porque el amoníaco se puede perder al alcalinizar la solución.

8.2 Medida:

Diluir la muestra, en caso de ser necesario, para tener una concentración de NH_3 dentro del rango de la curva de calibración.

Colocar 100 mL de muestra en un vaso de Bohemia y seguir los pasos descritos en el numeral 8.1 b) y c). Agregar 1 ml de hidróxido de sodio 10 M y anotar el exceso necesario para obtener un pH de 11.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

$$\text{Amonio, mg NH}_3\text{-N/L} = A \times B \times (101 + C) / 101$$

donde:

A = factor de dilución de la muestra

B = concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ leída de la curva de calibración.

C = volúmen en exceso de NaOH 10 M agregado, en mL.

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, 1992. pp 4-81 - 4-82.

2- ORION RESEARCH INCORPORATED. *Manual instructivo del electrodo selectivo de amonio marca Orion modelo 95-12*.



DETERMINACION DE CIANURO

Método Titulométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica es aplicable para la determinación de cianuro libre en aguas y efluentes industriales para concentraciones mayores a 1 mg/L.

Se puede aplicar tanto para la determinación de cianuro libre como total, para cianuro total se debe realizar destilación de la muestra previo a la determinación según referencia 2.1. Si durante la destilación la muestra se concentra hasta 10 veces, se pueden determinar concentraciones desde 0.1 mg/L

2. REFERENCIAS

2.1 Normativa técnica para la determinación de Cianuro total (Código 06600).

3. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envase de vidrio, polietileno o polipropileno de 1L. Ajustar a $\text{pH} > 12$ inmediatamente luego de extraída la muestra. Refrigerar a 4°C , mantener en la oscuridad. Analizar lo antes posible.

4. PRINCIPIO

El ión cianuro es titulado con una solución estándar de nitrato de plata para formar el complejo soluble $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$. Luego que todo el ión cianuro ha sido complejeado, el exceso de ión plata es detectado por un indicador sensible a la plata, p-dimetilamino- benzalrhodanina.

5. MATERIALES

- 5.1 Bureta de 10 mL de capacidad.
- 5.2 Balanza analítica con una precisión de 0.1 mg.
- 5.3 Matraz erlenmeyer de 250 mL.

CIANURO

6. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser calidad puro para análisis (ppa).

- 6.1 Solución indicadora:
disolver 20 mg de p-dimetilaminobenzalrhodanina en 100 mL de acetona.
- 6.2 Solución estándar de nitrato de plata, 0.0192 M:
secar 5 g de nitrato de plata a 150 °C hasta peso constante². Pesar 3.2647 g de nitrato de plata (AgNO_3) y diluir en matraz aforado a 1L con agua destilada. Almacenar en envase de vidrio color ambar. Esta solución equivale a aproximadamente 1000 mg/L de cianuro.
- 6.3 Hidróxido de sodio 0.04 M:
disolver 1.6 g de NaOH en 1L de agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

a) Pipetear en un erlenmeyer de 250 mL un volumen de muestra tal que se requieran entre 1 y 10 mL de la solución estándar de nitrato plata (6.2). Diluir a 100 mL usando solución de hidróxido de sodio 0.04 M. Agregar 0.5 mL de solución indicadora.

b) Titular con el estándar de nitrato de plata hasta que el color cambia de amarillo a salmón. Titular un blanco conteniendo la misma cantidad de hidróxido de sodio que la muestra.

8. CALCULO Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{mg CN/L} = \frac{(A - B) \times N \times 52036}{V}$$

donde:

A = mL de estándar de nitrato de plata gastados en la titulación de la muestra

B = mL de estándar de nitrato de plata gastados en la titulación del blanco

N = normalidad de la solución estándar de nitrato de plata

V = mL de muestra utilizados para la determinación

9. BIBLIOGRAFIA

- 1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination de Water and Wastewater*. 18th edition. Washington. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 4-24.
- 2- Kolthoff,M ; Sandell,E ; Meehan,E. *Análisis Químico Cuantitativo*. Ed. Nigar. 6^{to} edición, 1979. pp 823.



DETERMINACION DE CIANURO TOTAL

Destilación y Método Colorimétrico

1. OBJETIVO

Esta norma técnica se utiliza para la determinación de cianuro total en aguas y efluentes industriales, en concentraciones mayores de 1 µg/L.

2. REFERENCIAS

2.1 Normativa técnica para determinación de cianuro por titulometría con nitrato de plata.(Código 06602).

3. PRINCIPIO

El ión cianuro (CN⁻) puede encontrarse en aguas como ión libre o formando complejos tanto orgánicos como inorgánicos de variada estabilidad. La determinación de cianuro total implica la destilación previa de la muestra en medio ácido para disociar estos complejos y eliminar posibles interferencias.

El ácido cianhídrico, liberado de la muestra acidificada por destilación a vacío, es recogido en una solución de hidróxido de sodio. El ion cianuro en el destilado alcalino, es convertido a cloruro de cianógeno y este compuesto en presencia de reactivo ác. barbitúrico-pyridina desarrolla un color rosado que se determina colorimétricamente.

4. INTERFERENCIAS

Las interferencias posibles son eliminadas o reducidas al mínimo con la destilación.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envase de vidrio, polietileno o polipropileno de 1L. Ajustar a pH > 12 inmediatamente luego de extraída la muestra. Refrigerar a 4°C, mantener en la oscuridad. Analizar lo antes posible.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Equipo de destilación (Figura 1):
matraz de destilación, refrigerante, tubo receptor de vapores ácidos, trampa de agua y trompa de vacío.
- 6.2 Manta eléctrica.
- 6.3 Espectrofotómetro a la longitud de onda de 580 nm, con celdas de 1 cm de paso óptico o filtrofotómetro provisto de un filtro rojo con el máximo de transmitancia entre 570-580 nm y paso de luz de 1 cm
- 6.4 Pipetas aforadas de 1 - 100 mL.
- 6.5 Pipetas graduadas de 5 mL.
- 6.6 Micropipetas de 10 a 100 μL y de 100 a 1000 μL .
- 6.7 Matraces aforados con tapón de 50 y 100 mL.
- 6.8 Probetas de 100-500 mL.

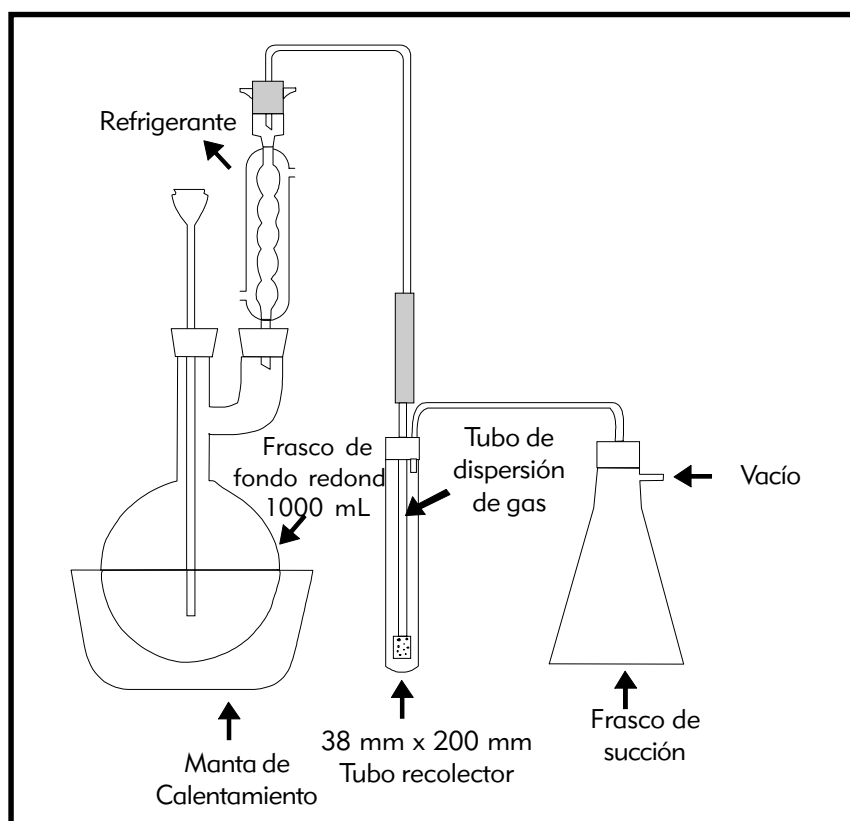


Figura 1

7. REACTIVOS

Todos los reactivos deben de ser calidad puro para análisis (ppa).

- 7.1 Agua destilada libre de cianuro.
- 7.2 Hidróxido de sodio 1 M:
disolver 40 g de hidróxido de sodio en 1 L de agua.
- 7.3 Hidróxido de sodio 0.04 M:
diluir 20 mL de la solución de hidróxido de sodio 1 M en 500 mL de agua.
- 7.4 Solución de cloruro de magnesio:
disolver 510 g de cloruro de magnesio hexahidratado ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) en un litro de agua.
- 7.5 Acido sulfúrico (1+1):
diluir al medio ácido sulfúrico conc. (95-97% y d = 1.84 g/mL).
- 7.6 Carbonato de plomo ($PbCO_3$) grado reactivo en polvo.
- 7.7 Acido sulfámico (NH_2SO_3H) grado reactivo en polvo.
- 7.8 Cloramina-T:
disolver 1,0 g de cloramina-T en 100 mL de agua.
Prepararla semanalmente y almacenar en el refrigerador.
- 7.9 Solución stock de cianuro 1000 mg/L:
disolver 1,6 g de NaOH y 1,88 g de NaCN en 1L de agua. Esta solución se valora semanalmente con nitrato de plata (ref. 2.1).
- 7.10 Solución estándar de cianuro 10 mg/L:
diluir 100 veces la solución stock con hidróxido de sodio 0.04 M.
- 7.11 Reactivo pyridna-ácido barbitúrico:
pesar 15 g de ácido barbitúrico en un erlenmeyer de 250 mL y agregar suficiente agua como para mojar el ácido. Agregar 75 mL de pyridina y mezclar.
Agregar 15 mL de ácido clorhídrico conc., mezclar y enfriar a temperatura ambiente. Diluir con agua a 250 mL. Este reactivo es estable por un mes, descartarlo si aparece precipitado.
- 7.12 Buffer de fosfato 1 M:
disolver 138 g de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ en 1 L de agua. Refrigerar.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Destilación:

- a) Mezclar adecuadamente la muestra. Tomar 500 mL de muestra o una alícuota de muestra, tal que el contenido de CN en la solución final esté en el rango de la curva de calibración. La toma se coloca en el matraz de destilación y se diluye con agua a aproximadamente 500 mL.
- b) Agregar 40 mL de NaOH 1M en el tubo de recolección de gas. Si se sabe que se genera ácido sulfhídrico desde el matraz de destilación, agregar 50 mg de carbonato de plomo en este tubo para precipitar el sulfuro.
- c) Armar el equipo de destilación según figura 1, conectar el agua para refrigerar y la bomba de vacío tal que ingrese 2 burbujas de aire/seg en el matraz del destilador.
- d) Agregar 2g de ácido sulfámico en el matraz a través del tubo de entrada de aire. Y por medio de este mismo tubo adicionar 50 mL de ácido sulfúrico (1 + 1). Enjuagar el tubo con agua destilada, y permitir la entrada de aire por 3 min. para mezclar. Adicionar 20 mL del catalizador cloruro de magnesio por el tubo de entrada de agua, y enjuagar las paredes del tubo con agua.
- e) Calentar hasta ebullición y reflujar por 1 h. Luego dejar enfriar 15 min. Mantener siempre el burbujeo inicial de aire.
Diluir el destilado a 50 mL, en matraz aforado. La muestra está lista para determinar el contenido de cianuro total.

8.2 Curva de calibración:

- a) En matraces aforados de 50 mL pipetear 30, 75, 100, 250 y 500 μL de la solución estándar de cianuro (7.10), con la micropipeta correspondiente, para obtener 0.3; 0.75; 1.0; 2.5 y 5.0 μg de cianuro en 50 mL. Adicionar 20 mL de hidróxido de sodio 0.04 M.
- b) Pipetear 4 mL del buffer de fosfato y mezclar. Pipetear 2.0 mL de cloramina-T, mezclar y esperar 1 min. Agregar 5.0 mL del reactivo ác. barbitúrico-pyridina (7.11). Aforar con agua. Preparar un blanco de reactivos.
Proseguir con la medida como se indica en el numeral 8.3.c).

NOTA: Preparar la curva de calibración todos los días porque el reactivo de pyridina-barbitúrico se va oxidando.

8.3 Determinación:

- a) Pipetear en un matraz aforado de 50 mL una alícuota del destilado tal que la concentración final esté en el rango de medida (T_2). Si T_2 es menor de 20 mL diluir a aproximadamente 20 mL con hidróxido de sodio 0.04 M.
- b) Continuar con el desarrollo de color como en el numeral 8.2.b. Corroborar que luego del agregado del buffer el pH esté entre 5 y 6. En caso que sea mayor agregar más buffer o neutralizar la alícuota de la muestra con un ácido inmediatamente antes del agregado del buffer.
- c) Medir la absorbancia a 580 nm, de los estándares y de la muestra, contra el blanco de reactivos, a los 10-12 minutos de agregado el reactivo ác. barbitúrico-pyridina.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

De la curva de Absorbancia vs μg de cianuro, determinar los μg de cianuro en la alícuota ensayada.

$$\text{CN}^- (\text{mg/L}) = \frac{A \times 50}{T_1 \times T_2}$$

Donde:

A = μg de cianuro en la alícuota ensayada determinados de la curva de absorbancia vs μg de cianuro

T_1 = volumen de muestra destilada en mL

T_2 = alícuota del destilado en que se hace la determinación en mL

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination de Water and Wastewater*. 18th edition. Washington. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 4-24 - 4-26.



DETERMINACION DE CIANURO LIBRE

Método Colorimétrico

1. OBJETIVO

Esta norma técnica se utiliza para la determinación de cianuro libre en aguas y efluentes industriales, en concentraciones mayores a 0.01 mg/L.

2. REFERENCIAS

2.1 Normativa técnica para determinación de cianuro por titulometría con nitrato de plata. (Código 06602).

3. PRINCIPIO

El ión cianuro libre es convertido a cloruro de cianógeno y este compuesto en presencia de reactivo ác. barbitúrico-pyridina desarrolla un color rosado que se determina colorimétricamente.

4. INTERFERENCIAS

4.1 Formaldehído en concentraciones mayores de 0.5 mg/L.

4.2 Sulfocianuro (SCN^-) reacciona con cloramina-T, creando una interferencia positiva. Para verificar la presencia de sulfocianuro se enmascara al ión cianuro con formaldehído.

4.3 El ión sulfuro afecta negativamente la colorimetría.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envase de vidrio, polietileno o polipropileno de 1L. Ajustar a $\text{pH} > 12$ inmediatamente luego de extraída la muestra. Refrigerar a 4°C , mantener en la oscuridad. Analizar lo antes posible.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

6.1 Espectrofotómetro a longitud de onda de 580 nm con celdas de 1 cm de paso

CIANURO LIBRE

óptico o filtrómetro provisto de un filtro rojo con el máximo de transmitancia entre 570-580 nm y paso de luz de 1 cm.

6.2 Pipetas aforadas de 1 - 10 mL.

6.3 Pipetas graduadas de 5 mL.

6.4 Micropipetas de 10 a 100 μ L y de 100 a 1000 μ L.

6.5 Matraces aforados con tapón de 50 y 100 mL.

7. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser calidad puro para análisis (ppa).

7.1 Hidróxido de sodio 40 g/L :
disolver 20 g de NaOH en 500 mL de agua.

7.2 Hidróxido de sodio 0.04 M:
diluir 20 mL de la solución de hidróxido de sodio 40 g/L en 500 mL de agua.

7.3 Cloramina-T:
disolver 1.0 g de cloramina-T en 100 mL de agua. Prepararla semanalmente y almacenar en el refrigerador.

7.4 Solución stock de cianuro 1000 mg/L:
disolver 1.6 g de NaOH y 1.88 g de cianuro de sodio (NaCN) en 1L de agua. Esta solución se valora semanalmente con nitrato de plata (ref. 2.1).

7.5 Solución estándar de cianuro 10 mg/L:
diluir 100 veces la solución stock con hidróxido de sodio 0.04 M.

7.6 Reactivo piridina-ácido barbitúrico:
pesar 15 g de ác. barbitúrico en un erlenmeyer de 250 mL y agregar suficiente agua como para mojar el ácido. Agregar 75 mL de piridina y mezclar. Agregar 15 mL de ácido clorhídrico conc., mezclar y enfriar a temperatura ambiente. Diluir con agua a 250 mL. Este reactivo es estable por un mes, descartarlo si aparece precipitado.

7.7 Buffer de fosfato 1M:
disolver 138 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1 L de agua. Refrigerar.

7.8 Agua destilada libre de cianuro.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Curva de calibración:

a) En matraces aforados de 50 mL pipetear 30, 75, 100, 250 y 500 μL de la solución estándar de cianuro (7.5), con la micropipeta correspondiente, para obtener 0.3; 0.75; 1.0; 2.5 y 5.0 μg de cianuro en 50 mL. Adicionar 20 mL de hidróxido de sodio 0.04 M.

b) Pipetear 4 mL del buffer de fosfato y mezclar. Pipetear 2.0 mL de cloramina-T, mezclar y esperar 1 min. Agregar 5.0 mL del reactivo ác. barbitúrico-pyridina. Aforar con agua. Preparar un blanco de reactivos. Proseguir con la medida como se indica en el numeral 8.2.c).

NOTA: Preparar la curva de calibración todos los días porque el reactivo de pyridina-barbitúrico se va oxidando.

8.2 Determinación:

a) Pipetear en un matraz aforado de 50 mL una alícuota de la muestra tal que la concentración esté en el rango de medida (T_2). Si T_2 es menor a 20 mL, diluir a aproximadamente 20 mL con hidróxido de sodio 0.04 M.

b) Continuar con el desarrollo de color como en el numeral 8.1.b). Corroborar que luego del agregado del buffer el pH esté entre 5 y 6. En caso que sea mayor agregar más buffer o neutralizar la alícuota de la muestra con un ácido mineral inmediatamente antes del agregado del buffer.

c) Medir la absorbancia a 580 nm, de los estándares y de la muestra, contra el blanco de reactivos, a los 10-12 minutos de agregado el reactivo ác. barbitúrico-pyridina.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

De la curva de Absorbancia vs μg de cianuro, determinar los μg de cianuro en la alícuota ensayada.

$$\text{CN}^-, (\text{mg/L}) = \frac{A}{T}$$

donde:

A = μg de cianuro en la alícuota ensayada determinados de la curva de absorbancia vs μg de cianuro.

T = volumen de muestra ensayada en mL.

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination de Water and Wastewater*. 18th edition. Washington. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 4-24 - 4-26.



DETERMINACION DE CIANURO TOTAL

Destilación y Método Colorimétrico

1. OBJETIVO

Esta norma técnica se utiliza para la determinación de cianuro total en aguas y efluentes industriales, en concentraciones mayores de 1 µg/L.

2. REFERENCIAS

2.1 Normativa técnica para determinación de cianuro por titulometría con nitrato de plata.(Código 06602).

3. PRINCIPIO

El ión cianuro (CN⁻) puede encontrarse en aguas como ión libre o formando complejos tanto orgánicos como inorgánicos de variada estabilidad. La determinación de cianuro total implica la destilación previa de la muestra en medio ácido para disociar estos complejos y eliminar posibles interferencias.

El ácido cianhídrico, liberado de la muestra acidificada por destilación a vacío, es recogido en una solución de hidróxido de sodio. El ion cianuro en el destilado alcalino, es convertido a cloruro de cianógeno y este compuesto en presencia de reactivo ác. barbitúrico-pyridina desarrolla un color rosado que se determina colorimétricamente.

4. INTERFERENCIAS

Las interferencias posibles son eliminadas o reducidas al mínimo con la destilación.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envase de vidrio, polietileno o polipropileno de 1L. Ajustar a pH > 12 inmediatamente luego de extraída la muestra. Refrigerar a 4°C, mantener en la oscuridad. Analizar lo antes posible.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Equipo de destilación (Figura 1):
matraz de destilación, refrigerante, tubo receptor de vapores ácidos, trampa de agua y trompa de vacío.
- 6.2 Manta eléctrica.
- 6.3 Espectrofotómetro a la longitud de onda de 580 nm, con celdas de 1 cm de paso óptico o filtrofotómetro provisto de un filtro rojo con el máximo de transmitancia entre 570-580 nm y paso de luz de 1 cm
- 6.4 Pipetas aforadas de 1 - 100 mL.
- 6.5 Pipetas graduadas de 5 mL.
- 6.6 Micropipetas de 10 a 100 μL y de 100 a 1000 μL .
- 6.7 Matraces aforados con tapón de 50 y 100 mL.
- 6.8 Probetas de 100-500 mL.

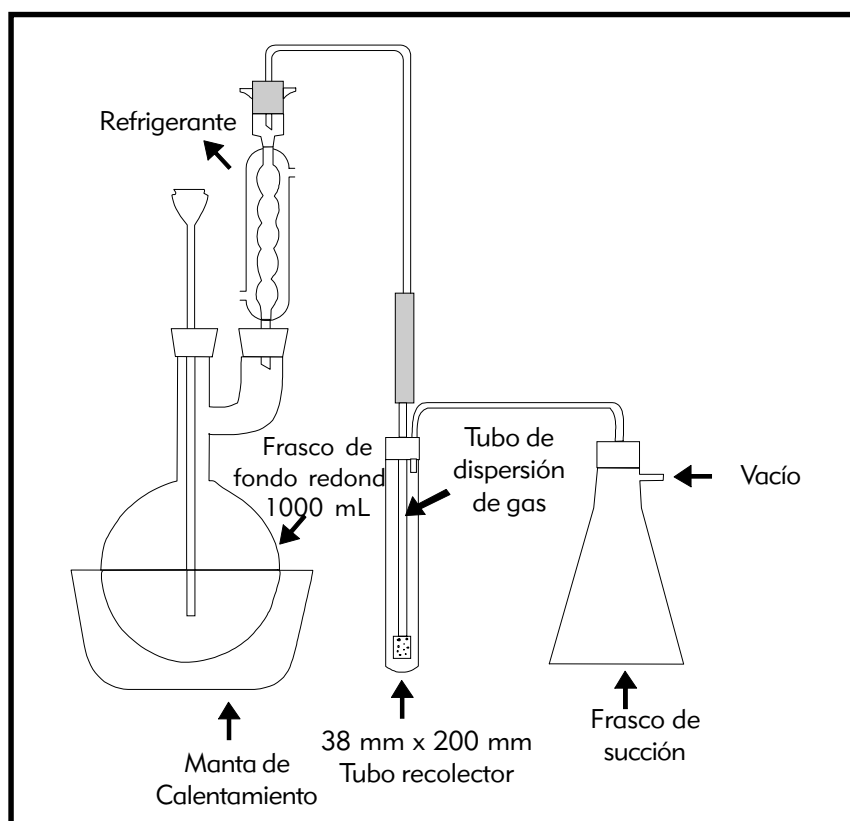


Figura 1

7. REACTIVOS

Todos los reactivos deben de ser calidad puro para análisis (ppa).

7.1 Agua destilada libre de cianuro.

7.2 Hidróxido de sodio 1 M:
disolver 40 g de hidróxido de sodio en 1 L de agua.

7.3 Hidróxido de sodio 0.04 M:
diluir 20 mL de la solución de hidróxido de sodio 1 M en 500 mL de agua.

7.4 Solución de cloruro de magnesio:
disolver 510 g de cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en un litro de agua.

7.5 Acido sulfúrico (1+1):
diluir al medio ácido sulfúrico conc. (95-97% y d = 1.84 g/mL).

7.6 Carbonato de plomo (PbCO_3) grado reactivo en polvo.

7.7 Acido sulfámico ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$) grado reactivo en polvo.

7.8 Cloramina-T:
disolver 1,0 g de cloramina-T en 100 mL de agua.
Prepararla semanalmente y almacenar en el refrigerador.

7.9 Solución stock de cianuro 1000 mg/L:
disolver 1,6 g de NaOH y 2,51 g de NaCN en 1L de agua. Esta solución se valora semanalmente con nitrato de plata (ref. 2.1).

7.10 Solución estándar de cianuro 10 mg/L:
diluir 100 veces la solución stock con hidróxido de sodio 0.04 M.

7.11 Reactivo pyridna-ácido barbitúrico:
pesar 15 g de ácido barbitúrico en un erlenmeyer de 250 mL y agregar suficiente agua como para mojar el ácido. Agregar 75 mL de pyridina y mezclar. Agregar 15 mL de ácido clorhídrico conc., mezclar y enfriar a temperatura ambiente. Diluir con agua a 250 mL. Este reactivo es estable por un mes, descartarlo si aparece precipitado.

7.12 Buffer de fosfato 1 M:
disolver 138 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1 L de agua. Refrigerar.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Destilación:

- a) Mezclar adecuadamente la muestra. Tomar 500 mL de muestra o una alícuota de muestra, tal que el contenido de CN en la solución final esté en el rango de la curva de calibración. La toma se coloca en el matraz de destilación y se diluye con agua a aproximadamente 500 mL.
- b) Agregar 40 mL de NaOH 1M en el tubo de recolección de gas. Si se sabe que se genera ácido sulfhídrico desde el matraz de destilación, agregar 50 mg de carbonato de plomo en este tubo para precipitar el sulfuro.
- c) Armar el equipo de destilación según figura 1, conectar el agua para refrigerar y la bomba de vacío tal que ingrese 2 burbujas de aire/seg en el matraz del destilador.
- d) Agregar 2g de ácido sulfámico en el matraz a través del tubo de entrada de aire. Y por medio de este mismo tubo adicionar 50 mL de ácido sulfúrico (1+1). Enjuagar el tubo con agua destilada, y permitir la entrada de aire por 3 min. para mezclar. Adicionar 20 mL del catalizador cloruro de magnesio por el tubo de entrada de agua, y enjuagar las paredes del tubo con agua.
- e) Calentar hasta ebullición y reflujar por 1 h. Luego dejar enfriar 15 min. Mantener siempre el burbujeo inicial de aire. Diluir el destilado a 50 mL, en matraz aforado. La muestra está lista para determinar el contenido de cianuro total.

8.2 Curva de calibración:

- a) En matraces aforados de 50 mL pipetear 30, 75, 100, 250 y 500 μ L de la solución estándar de cianuro (7.10), con la micropipeta correspondiente, para obtener 0.3; 0.75; 1.0; 2.5 y 5.0 μ g de cianuro en 50 mL. Adicionar 20 mL de hidróxido de sodio 0.04 M.
- b) Pipetear 4 mL del buffer de fosfato y mezclar. Pipetear 2.0 mL de cloramina-T, mezclar y esperar 1 min. Agregar 5.0 mL del reactivo ác. barbitúrico-pyridina (7.11). Aforar con agua. Preparar un blanco de reactivos. Proseguir con la medida como se indica en el numeral 8.3.c).

NOTA: Preparar la curva de calibración todos los días porque el reactivo de pyridina-barbitúrico se va oxidando.

8.3 Determinación:

a) Pipetear en un matraz aforado de 50 mL una alícuota del destilado tal que la concentración final esté en el rango de medida (T_2). Si T_2 es menor de 20 mL diluir a aproximadamente 20 mL con hidróxido de sodio 0.04 M.

b) Continuar con el desarrollo de color como en el numeral 8.2.b. Corroborar que luego del agregado del buffer el pH esté entre 5 y 6. En caso que sea mayor agregar más buffer o neutralizar la alícuota de la muestra con un ácido inmediatamente antes del agregado del buffer.

c) Medir la absorbancia a 580 nm, de los estándares y de la muestra, contra el blanco de reactivos, a los 10-12 minutos de agregado el reactivo ác. barbitúrico-pyridina.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

De la curva de Absorbancia vs μg de cianuro, determinar los μg de cianuro en la alícuota ensayada.

$$\text{CN}^- (\text{mg/L}) = \frac{A \times 50}{T_1 \times T_2}$$

Donde:

A = μg de cianuro en la alícuota ensayada determinados de la curva de absorbancia vs μg de cianuro

T_1 = volumen de muestra destilada en mL

T_2 = alícuota del destilado en que se hace la determinación en mL

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination de Water and Wastewater*. 18th edition. Washington. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 4-24 - 4-26.



DETRMINACION DE CLORUROS

Método argentométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación del ión cloruro en aguas limpias que contengan concentraciones de cloruro entre 1.5 y 100 mg/L. Se podrán determinar concentraciones mayores por dilución de muestra.

2. PRINCIPIO DEL METODO

El cloruro se determina en una solución neutra o ligeramente alcalina por titulación con nitrato de plata estándar, usando cromato de potasio como indicador del punto final. El cloruro de plata es cuantitativamente precipitado antes de que sea formado el cromato de plata de color rojo.

3. INTERFERENCIAS

Sustancias en cantidades normalmente encontradas en aguas no interfieren.

- 3.1 Los iones bromuros, ioduros y cianuros son medidos como equivalentes de la concentración de cloruros.
- 3.2 Los iones sulfuros, tiosulfatos y sulfitos afectan la determinación pero pueden ser eliminados por tratamiento con peróxido.
- 3.3 Ortofosfato en concentraciones mayores a 25 mg/L, produce precipitados de fosfato de plata.
- 3.4 Hierro en concentraciones mayores a 10 mg/L, enmascara el punto final de la titulación.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en frascos de plástico o vidrio. No es necesario el agregado de preservante.

CLORURO

5. MATERIALES

- 5.1 Buretas de 2, 10 y 25 mL
- 5.2 Erlenmeyer de 250 mL
- 5.3 Pipetas aforadas de 100 mL
- 5.4 Pipetas graduadas de 1 y 5 mL
- 5.5 Matraz aforado de 1000 mL

6. REACTIVOS

- 6.1 Solución estándar de nitrato de plata 0.0141N:
disolver 2.395 g de nitrato de plata (AgNO_3) en agua destilada y diluir a 1000 mL. Guardar en frasco color ambar y estandarizar contra la solución de cloruro de sodio (6.2).
- 6.2 Solución estándar de cloruro de sodio 0.0141 N:
secar aproximadamente entre 1 y 2 g de cloruro sodio (NaCl) a 140°C . Pesar exactamente 824.0 mg de NaCl , disolver en agua destilada y diluir en matraz aforado de 1000 mL.
- 6.3 Reactivo indicador de cromato de potasio:
disolver 50 g de cromato de potasio en agua destilada. Agregar solución de nitrato de plata, gota a gota hasta producir un ligero precipitado rojo de cromato de plata. Dejar reposar durante 12 hs, filtrar y diluir a 1000 mL con agua destilada.
- 6.4 Suspensión de hidróxido de aluminio:
disolver 125 g de sulfato de aluminio y potasio dodecahidratado ($\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) en 1 L de agua destilada. Calentar a 60°C y agregar agitando 55 mL de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH). Dejar reposar 1 hora, transferir a un vaso grande, y lavar el precipitado a través de adiciones sucesivas, mezclando y decantando, hasta que el agua de lavado se encuentre libre de cloruros. Recién preparada la suspensión ocupa un volumen de aproximadamente 1 L.
- 6.5 Reactivo indicador de fenolftaleína:
solución alcohólica al 5%.
- 6.6 Solución de hidróxido de sodio 1N.
- 6.7 Solución de ácido sulfúrico 1N.
- 6.8 Peróxido de hidrógeno al 30%.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Titulación de la solución estándar de nitrato de plata

a) Tomar en un erlenmeyer de 250 mL, 20 mL de la solución estándar de cloruro de sodio (6.2). Diluir a 100 mL. Agregar 1 mL de solución indicadora. Valorar la solución de nitrato de plata hasta un punto final de color amarillo-rosado. Valorar diariamente.

7.2 Determinación

a) Tomar en un erlenmeyer de 250 mL, 100 mL de muestra o una alícuota diluída a 100 mL.

Si la muestra es altamente coloreada, agregar 3 mL de suspensión de hidróxido de aluminio, mezclar, sedimentar y filtrar.

Si existe presencia de sulfuro, sulfito o tiosulfato, agregar 1 mL de peróxido de hidrógeno y calentar por un minuto.

Ajustar la muestra a pH entre 7 y 10 con ácido sulfúrico o hidróxido de sodio.

b) Agregar 1 mL de solución indicadora. Titular con solución estándar de nitrato de plata (6.1), hasta color amarillo-rosado como punto final.

Titular siempre un blanco de agua destilada, en las mismas condiciones.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$N = \frac{P \times V}{58.5 \times G}$$

donde:

N : normalidad del nitrato de plata en eq/L.

P : masa de NaCl pesado para la preparación de la solución estándar de cloruro de sodio, g.

V : volumen de la solución estándar de NaCl tomado para la valoración de la solución de nitrato de plata, 20 mL.

G : gasto de nitrato de plata en su valoración, mL.

$$\text{Cloruro, mg/L} = \frac{(A - B) \times N \times 35450}{V}$$

donde:

A : gasto de titulante en la valoración de la muestra, mL.

B : gasto de titulante por el blanco, mL.

V : volumen de muestra tomado para el ensayo, mL.

9. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 4-49 - 4-50.



DETERMINACION DE NITRATOS

Método de espectrofotometría ultravioleta

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para una estimación rápida de la concentración de nitratos en muestras con bajos contenidos en materia orgánica, como en aguas naturales no contaminadas y en agua potable.

2. PRINCIPIO

Los nitratos absorben la radiación ultravioleta a la longitud de onda de 220 nm. La materia orgánica también absorbe a 220 nm, por consiguiente es necesario realizar la corrección de la absorbancia midiendo a 275 nm donde los nitratos no absorben. La concentración de nitrato se determina mediante una curva de calibración.

3. INTERFERENCIAS

- 3.1 La materia orgánica disuelta, los surfactantes, nitritos, Cromo (+6) presentan interferencias al método.
- 3.2 Los aniones clorito y clorato afectan la medida, aunque no es común que estén presentes en aguas naturales.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en envases de vidrio de un volumen mínimo de 200 mL, sin cámara de aire y cerrar herméticamente.
Analizar tan pronto como sea posible.

Si no es posible analizar antes de 24 hs de recolectada la muestra ajustar a pH < 2 con ácido clorhídrico o sulfúrico y refrigerar a 4°C.

NOTA: si la muestra se preserva con ácido no se pueden determinar nitratos y nitritos como especies individuales.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Espectrofotómetro con lámpara UV, a longitud de onda de 220 nm y 275 nm.

NITRATO

5.2 Matraz aforado de 100 mL y 1L.

5.3 Pipeta aforada de 10 mL.

6. REACTIVOS

6.1 Acido clorhídrico 1 M.

6.2 Agua destilada.

6.3 Solución stock de nitrato de potasio, 100 mg NO₃-N/L:
secar el nitrato de potasio a 105°C durante 24 hs. Disolver
0,7218 g en agua destilada. Agregar 2 mL de cloroformo para preservar la
solución y diluir a 1000 mL en matraz aforado. Esta solución es estable por
seis meses.

6.4 Solución intermedia de nitrato de potasio, 10 mg NO₃-N/L:
diluir diez veces la solución stock de nitrato con agua destilada y agregar 2 mL
de cloroformo. Esta solución es estable por seis meses.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 Curva de calibración:

- a) Preparar soluciones estándares de nitrato en un rango entre 0 y 7 mg N/L por dilución de la solución intermedia de nitrato (6.4).
- b) Medir la absorbancia de los estándares a 220 y 275 nm contra un blanco de agua.
- c) Graficar Absorbancia corregida vs concentración de nitrato.
Verificar la curva periódicamente.

7.2 Determinación:

La muestra debe ser clara, si es necesario filtrarla.
Medir la absorbancia de la muestra a 220 y 275 nm contra un blanco de agua.

8. CALCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

La absorbancia corregida se calcula como:

$$\text{Abs. nitratos} = (\text{Abs}_{220} - \text{Abs}_{275})$$

Si el valor corregido es mayor al 10 % de la lectura realizada a 220 nm, este método no debe ser aplicado.

La concentración de nitratos se obtiene con la curva de calibración y el valor de absorbancia corregido.

Los resultados se expresan como mg/L de nitrato como nitrógeno ($\text{mg NO}_3\text{-N /L}$).

9. BIBLIOGRAFIA

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, 1992. pp 4-87 - 4-88.



DETERMINACION DE SILICATOS

Método colorimétrico del molibdosilicato

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de sílice reactiva en aguas relativamente puras, para concentraciones entre 1-30 mg SiO₂/L. Es posible determinar niveles de sílice mayores por dilución de la muestra, y niveles menores usando un paso de luz mayor.

2. DEFINICIONES

Se denomina sílice reactiva a la sílice que reacciona con molibdato para formar ácido molibdosilícico.

3. PRINCIPIO DEL METODO

El molibdato de amonio a pH 1.2 aproximadamente, reacciona con sílice y fosfatos presentes formando heteropoliácidos. El ácido oxálico destruye el ácido molibdofosfórico pero no el ácido molibdosilícico. La intensidad del color amarillo formado es proporcional a la concentración de sílice reactiva al molibdato, la cual se mide en un espectrofotómetro a la longitud de onda de 410 nm. La concentración se determina mediante una curva de calibración.

4. INTERFERENCIAS

- 4.1 En lo posible evitar el uso de materiales de vidrio para no contaminar con sílice.
- 4.2 Interfieren en la medida grandes cantidades de hierro, color, turbidez, sulfuros.

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en recipientes de polietileno o polipropileno. Mantenerla refrigerada a 4°C como máximo 28 días.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro o colorímetro, longitud de onda 410 nm.

SILICATO

- 6.2 Pipetas aforadas de 25 mL
- 6.3 Pipetas graduadas de 1 mL
- 6.4 Matraz aforado de 100 y de 1000 mL

7. REACTIVOS

Guardar todos los reactivos en frascos de plástico.

- 7.1 Acido clorhídrico: solución 1+1
- 7.2 Solución de molibdato de amonio:
disolver 10 g de molibdato de amonio tetrahidratado en agua destilada con agitación y suave calentamiento, y diluir a 100 mL en matraz aforado. Filtrar si es necesario. Ajustar a pH 7- 8 con hidróxido de amonio o con hidróxido de sodio.
- 7.3 Solución de ácido oxálico:
disolver 7.5g de ácido oxálico monohidratado en agua destilada y diluir a 100 mL.
- 7.4 Solución stock de sílice 1 g SiO₂ /L:
disolver 4.73 g de metasilicato de sodio nanohidratado (Na₂SiO₃·9H₂O) en agua destilada recién hervida y enfriada, y diluir a 1000 mL. Valorar según el método gravimétrico 4500-Si C del Standart Methods for Examination of Water and Wastewater. Alternativamente se pueden utilizar una solución standard comercial de Silicio
- 7.5 Solución estándar de sílice 100 mg SiO₂/L:
diluir 10 mL de solución stock a 100 mL en matraz aforado, con agua recién hervida y enfriada.

8. PROCEDIMIENTO

- 8.1 Curva de calibración:
 - a) Preparar por lo menos 5 estándares con concentraciones entre 0 y 30 mg/L, por dilución de la solución estándar de sílice (7.5).
 - b) Pipetear 25.0 mL de cada solución estándar.
 - c) Agregar en rápida sucesión 0.5 mL de ácido clorhídrico (1+1) y 1 mL de molibdato de amonio. Mezclar por inversión por lo menos 6 veces y esperar 5 a 10 minutos. Agregar 1 mL de solución de ácido oxálico y agitar vigorosamente. Leer la absorbancia a 410 nm, entre los 2 y 15 minutos del agregado del

oxálico.

d) Realizar la curva de absorbancia vs mg SiO₂/L.

8.2 Determinación:

a) Si la muestra lo requiere, filtrar para eliminar color o turbidez.

b) Pipetear 25.0 mL de muestra o una alícuota diluída a 25.0 mL.

c) Seguir los pasos descritos en el numeral 8.1 c).

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{Sílice, mg SiO}_2/\text{L} = \frac{A \times 1000}{V}$$

donde:

A : mg de sílice leídos en la curva de calibración.

V : mL de muestra utilizado en la determinación.

Es conveniente intercalar un patrón con cada serie de muestras para verificar la validez de la curva de calibración.

Los resultados se expresan en mg SiO₂/L.

Límite de detección del método: 1 mg SiO₂/L.

10. BIBLIOGRAFIA

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 4-119 - 4-121.



DETERMINACION DE SULFATOS

Método turbidimétrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de sulfato en aguas en efluentes industriales y domésticos para concentraciones entre 1 y 40 mg/L.

2. PRINCIPIO DEL METODO

El ión sulfato es precipitado en medio acético con cloruro de bario para formar cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme.

La absorción de luz producida por la suspensión del sulfato de bario se mide con un fotómetro y la concentración de sulfato es determinada por comparación con la lectura realizada en una curva estándar.

3. INTERFERENCIAS

3.1 Material suspendido o color en grandes cantidades. Remover por filtración. Si las cantidades son bajas se puede corregir corriendo blancos en los cuales no es agregado el cloruro de bario.

3.2 Sílice en concentraciones mayores a 500 mg/L.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en botellas de plástico o vidrio y mantenerla refrigerada a 4°C como máximo durante 28 días.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

5.1 Fotómetro:

a) Turbidímetro.

b) Espectrofotómetro a longitud de onda de 420 nm con camino óptico 2.5 a 10 cm con la celda correspondiente.

c) Filtrofotómetro equipado con un filtro violeta con el máximo de transmitancia cercano a los 420 nm. y paso de luz de 2.5 a 10 cm.

5.2 Agitador magnético: usar velocidad de agitación constante.

SULFATO

- 5.3 Timer
- 5.4 Espátula
- 5.5 Matraz erlenmeyer de 500 mL
- 5.6 Pipetas aforadas de 20 y 100 mL
- 5.7 Matraz aforado de 1000 mL

6. REACTIVOS

- 6.1 Solución buffer A:
disolver 30 g de cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 5 g de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 1.0 g de nitrato de potasio (KNO_3) y 20 mL de ácido acético (CH_3COOH) (99%), en 500 mL de agua destilada. Llevar a 1000 mL.
- 6.2 Solución buffer B (necesario cuando la concentración de sulfato de la muestra es menor a 10 mg/L):
disolver 30 g de cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 5 g de acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 1.0 g de nitrato de potasio (KNO_3), 0.111 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4) y 20 mL de ácido acético (CH_3COOH) (99%), en 500 mL de agua destilada. Llevar a 1000 mL.
- 6.3 Cristales de cloruro de bario (BaCl_2), 20 a 30 mesh.
- 6.4 Solución estándar de sulfato 100 mg/L:
disolver 0.1479 g sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), en agua destilada y llevar a 1000 mL en matríz aforado.

7. PROCEDIMIENTO

- 7.1 Curva de calibración:
 - a) Realizar una curva de calibración con concentraciones que contengan entre 1 y 10 mg/L o entre 10 y 40 mg/L de sulfato a partir de la solución estándar de sulfato, para que la curva contenga la concentración de la muestra.
 - b) Pipetear 100.0 mL de una solución estándar en un matraz erlenmeyer de 250 mL. Agregar 20.0 mL de solución buffer A para soluciones de concentraciones mayores a 10 mg/L, o 20.0 mL de buffer B para concentraciones menores a 10 mg/L.
 - c) Agregar una punta de espátula de cristales de BaCl_2 y agitar a velocidad constante durante 60 ± 2 seg.

Después de finalizada la agitación, colocar la solución en la celda y medir la absorbancia a los 5 ± 0.5 min, a 420 nm.

d) Repetir los pasos descritos en los numerales 7.1 b) y c) para los demás estándares. Realizar un blanco de agua destilada y reactivos.

e) Graficar absorbancia vs $\text{mg SO}_4^{2-}/\text{L}$.

7.2 Determinación:

a) Tomar 100.0 mL de la muestra o una alícuota diluida a 100.0 mL en un matraz erlenmeyer de 250 mL. Agregar 20.0 mL de solución buffer A cuando se estime que la concentración de sulfato es mayor a 10 mg/L, o 20.0 mL de solución buffer B si se estima que la concentración de sulfato es menor a 10 mg/L.

b) Seguir los pasos descritos en el numeral 7.1 c).

c) Si la muestra posee color y/o turbidez medir la absorbancia de la muestra (blanco de muestra).

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

8.1 Medida con buffer A

$$\text{Sulfato, mg SO}_4^{2-}/\text{L} = \frac{C \times 1000}{V}$$

donde:

C : mg/L de la muestra, determinado con la curva de calibración, usando como dato de absorbancia: (Abs.muestra - Abs. blanco de muestra)

V : mL de muestra tomados para la determinación

8.2 Medida con buffer B

$$\text{Sulfato, mg SO}_4^{2-}/\text{L} = \frac{(M - B) \times 1000}{V}$$

donde:

M : mg/L aparente de la muestra leída de la curva de calibración

B : mg/L del blanco leído de la curva de calibración

V : mL de muestra tomados para la determinación

9. BIBLIOGRAFIA

1-AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington , APHA, 1992. pp 4-134.



DETERMINACION DE SULFURO

Método Potenciométrico

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para determinación de sulfuro en efluentes industriales, en concentraciones superiores a 10 mg/L.

2. PRINCIPIO

La determinación incluye todo el sulfuro presente como ácido sulfhídrico, sulfuro ácido y los sulfuros metálicos solubles. Los HS^- y H_2S son convertidos a S^{2-} con un buffer antioxidante. El ión sulfuro se determina por titulación potenciométrica con una solución estándar de perclorato de plomo, usando el electrodo de ión selectivo de plata/sulfuro como indicador del punto final de la valoración. La muestra no debe contener mercurio, por que el sulfuro de mercurio es muy insoluble.

3. MUESTREO Y PRESERVACION

Recolectar la muestra en recipientes de plástico e inmediatamente diluirla al medio con buffer SAOB II. Evitar que quede cámara de aire en el recipiente. Proteger de la luz. Analizar antes de 7 días.

4. EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Electrodo indicador de plata/sulfuro.
- 4.2 Electrodo de referencia plata/cloruro de plata.
- 4.3 Medidor de voltaje en mV.
- 4.4 Agitador magnético.
- 4.5 Vaso de bohemia de 150 mL.
- 4.6 Bureta de 10 mL.
- 4.7 Matraz aforado de 100-1000 mL.
- 4.8 Pipetas aforadas de 50 mL.
- 4.9 Balanza analítica de precisión 1 mg.

SULFURO

5. REACTIVOS

- 5.1 Agua destilada y desaireada:
el agua debe ser destilada y desaireada para evitar posibles oxidaciones del ión sulfuro. Para desairear calentar a ebullición durante 15 minutos y luego mantenerla en un recipiente tapado.
- 5.2 Hidróxido de sodio 10 M:
disolver 40 g de NaOH en 100 mL de agua destilada.
- 5.3 Buffer antioxidante de sulfuro (SAOB II):
a 600 mL de agua destilada y desaireada agregar 200 mL de NaOH 10 M, 35 g de ácido ascórbico (ppa) y 67 g de EDTA disódica (ppa), agitar para disolver y llevar a 1L con agua destilada. Esta solución será incolora o poseerá un leve color amarillo pálido-pardo, descartar cuando se torna marrón oscuro. Guardar en frasco hermético para evitar oxidaciones.
- 5.4 Solución estándar I de perclorato de plomo $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$ 0,100 M:
disolver 40,610 g de perclorato de plomo (ppa) en agua y llevar a 1000 mL en matraz aforado.
Se puede comprar la solución estandarizada.
- 5.5 Solución estándar II de perclorato de plomo 0.010 M:
diluir 10 veces la solución estándar I de perclorato de plomo.

6. PROCEDIMIENTO

a) Tomar con pipeta aforada 50 mL de muestra a titular en un vaso de bohemía de 150 mL. Colocar el electrodo indicador y el de referencia en el vaso. Agitar durante la valoración.

b) Agregar el titulante (*) en incrementos de 0.5-1.0 mL. Medir el voltaje. Cuando el cambio en el potencial por incremento comienza a aumentar pasar a agregar el perclorato de plomo en incrementos de 0.1-0.2 mL y continuar hasta 1.0 mL después del punto final.

(*): Si la concentración de sulfuro está entre 10 y 100 mg/L valorar con la solución estándar II de perclorato de plomo (5.5). Si la concentración de sulfuro es mayor de 100 mg/L valorar con la solución estándar I de perclorato de plomo (5.4).

c) El punto final de la valoración es cuando se observa un salto de potencial entre 40 - 100 mV. Anotar el gasto en mL, de perclorato de plomo correspondiente a ese punto final, G.

7. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

La concentración de sulfuro en la muestra corresponde a:

$$S^{2-}, \text{ mg/L} = \frac{M \times G \times 32060}{V}$$

Donde:

M = molaridad de la solución de perclorato de plomo titulante en mol/L

G = gasto de titulante en mL

V = volumen de muestra tomado para la determinación en mL

Nota: Cuando la muestra se diluye a la mitad en el muestreo por el agregado del buffer SOABII se debe multiplicar la concentración por 2

8. BIBLOGRAFIA

1- ORION RESEARCH INCORPORATED. *Instruction Manual sulfide ion electrode, silver ion electrode*. 1980.

SECCION IV

CONSTITUYENTES ORGANICOS

SECCION IV

DETERMINACION DE CONSTITUYENTES ORGANICOS

Cod.

06521 Aceites y grasas. Método de Extracción Soxhlet.

08202 Demanda Bioquímica de Oxígeno. Técnica de dilución.

08303 Demanda Química de Oxígeno. Método colorimétrico, reflujo cerrado.



DETERMINACION DE ACEITES Y GRASAS EN EFLUENTES INDUSTRIALES

Método de Extracción Soxhlet

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de aceites y grasas en efluentes industriales y domésticos.

2. DEFINICIONES

Aceites y grasas se considera cualquier material recuperado de la muestra acidificada, como una sustancia soluble en éter de petróleo y no volatilizables durante el ensayo. Incluye además de aceites y grasas, otros materiales extractables por el solvente.

Los aceites y grasas quedan definidos por el método de análisis utilizado.

3. PRINCIPIO

Los aceites y las grasas viscosas presentes, así como los sólidos, son separados por filtración de la muestra líquida acidificada, mientras que los jabones metálicos son hidrolizados por la acidificación. Una vez separados de la solución, en el material retenido en el filtro se realiza una extracción en un equipo Soxhlet, utilizando como solvente éter de petróleo. La ganancia de peso en el frasco de extracción luego de evaporado el solvente corresponde al contenido de aceites y grasas presentes en la muestra.

El método es enteramente empírico y resultados duplicados concordantes pueden ser obtenidos solamente por una estricta adherencia a todos los detalles.

El tiempo y la velocidad de extracción deben ser respetados con exactitud, así como el tiempo y la temperatura de secado del material extraído.

4. MUESTREO Y PRESERVACION

4.1 Recolectar de 100 a 1000 mL de muestra (según la cantidad de aceites y grasas que se estime presente en la muestra) en un frasco de vidrio de boca ancha, con cámara de aire. El frasco debe ser enjuagado previamente con el solvente.



DETERMINACION DE LA DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de demanda bioquímica de oxígeno en efluentes industriales, vertidos domésticos y aguas contaminadas.

2. DEFINICION

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) corresponde a la cantidad de oxígeno consumido para la degradación bioquímica de la materia orgánica contenida en la muestra, durante un intervalo de tiempo específico y a una temperatura determinada.

3. PRINCIPIO

La muestra o una dilución adecuada de la misma, es incubada por 5 días a 20°C en la oscuridad. Se mide la concentración de oxígeno disuelto antes y después de la incubación, y el consumo de oxígeno corresponde a la demanda bioquímica de oxígeno.

4. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

Recolectar la muestra en envases de plástico o vidrio. Tomar la muestra y llenar el frasco evitando airear. Llenar el recipiente hasta el borde superior sin cámara de aire.

Realizar el análisis inmediatamente, si no es posible refrigerar la muestra a 4°C y comenzar el análisis antes de 24 horas de la recolección.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1 Muestras conteniendo cloro residual, metales o compuestos orgánicos tóxicos no permiten el desarrollo de las bacterias que degradan la materia orgánica. Tales muestras requieren un estudio y tratamiento especial.
- 5.2 El consumo de oxígeno por parte de los compuestos inorgánicos, en las condiciones del análisis, queda incluido en la medida de DBO.



DETERMINACION DE LA DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO

Método espectrofotométrico, reflujo cerrado

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de demanda química de oxígeno en efluentes domésticos e industriales y aguas contaminadas.

2. DEFINICION

La demanda química de oxígeno (DQO) es la medida de oxígeno equivalente a la materia orgánica que es susceptible a ser oxidada por un oxidante químico fuerte, en condiciones específicas de temperatura y tiempo.

3. PRINCIPIO

La muestra se oxida con una cantidad conocida de dicromato de potasio en exceso, en medio ácido y con catalizadores. El dicromato de potasio remanente es determinado espectrofotométricamente a 600 nm.

4. INTERFERENCIAS

- 4.1 Los iones inorgánicos reducidos tales como: hierro ferroso, sulfuro, magnesio, manganeso, etc, son oxidados cuantitativamente bajo las condiciones de análisis. Para muestras conteniendo niveles significativos de estos iones, suponiendo que se oxidan estequiométricamente, y conociendo su concentración inicial se obtiene el valor de la DQO por medio de correcciones.
- 4.2 Los compuestos alifáticos volátiles de cadena larga no son oxidados, porque al volatilizarse no toman contacto con la solución oxidante.

5. MUESTREO Y PRESERVACION DE LA MUESTRA

Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico, sin cámara de aire. Refrigerar a 4°C, mantener en la oscuridad. Si no se analiza inmediatamente luego de extraída la muestra, acidificar con ácido sulfúrico a $\text{pH} < 2$ y refrigerar. Analizar antes de 7 días.

DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Espectrofotómetro o colorímetro, longitud de onda 600 nm. Con adaptador de celda (tubos de digestión) de 25 mm de diámetro.
- 6.2 Digestor: block de aluminio con huecos para alojar tubos de 25 mm de diámetro y que opere a $150 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 6.3 Tubos de digestión: tubos de borosilicato con tapa de rosca resistente al calor y contratapa de teflón, de 50 mL de capacidad y 25 mm de diámetro.
- 6.4 Matraces aforados de 1000 mL.
- 6.5 Pipetas aforadas de 1, 2, 3, 4, 5, 10 mL.
- 6.6 Pipetas graduadas de 10 mL.

7. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser calidad pura para análisis (ppa).

- 7.1 Solución de digestión:
Agregar a 500 mL de agua destilada 10.216 g de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) previamente secado a 103°C por 2 horas, 167 mL de H_2SO_4 conc. y 33.3 g de sulfato mercúrico (HgSO_4). Disolver, enfriar a temperatura ambiente y enrasar a 1000 mL.
- 7.2 Solución de ácido sulfúrico:
Agregar sulfato de plata (Ag_2SO_4) a ácido sulfúrico conc. en una relación de 5.5 g/kg de H_2SO_4 . Esperar 1 o 2 días antes de usar esta solución para permitir la disolución completa del Ag_2SO_4 .
- 7.3 Solución estándar de ftalato ácido de potasio (KHP), 500 mg O_2/L :
Secar ftalato ácido de potasio (KHP) hasta peso constante a 120°C . Disolver 425 mg en agua destilada y diluir a 1000 mL en matraz aforado. Conservar la solución refrigerada a 4°C .
- 7.4 Agua destilada, libre de materia orgánica.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Curva de calibración:

- a) Pipetear en 7 tubos de digestión: 1, 2, 3, 4, 5, 8 y 10 mL de la solución estándar de KHP y completar un volumen final de 10 mL con agua destilada. Estas soluciones corresponden a 50, 100, 150, 200, 250, 400, 500 mg O_2/L respectivamente.

- b) Hacer un blanco de reactivos, pipeteando 10 mL de agua destilada en un tubo de digestión.
- c) Agregar a cada tubo de digestión 6 mL de solución de digestión (7.1) y 14 mL de solución de ácido sulfúrico (7.2).
- d) Tapar bien los tubos de digestión y agitarlos vigorosamente. Colocar los tubos en el digestor a 150°C durante 2 horas. Enfriar los tubos a temperatura ambiente colocándolos en una gradilla. La gradilla debe ser adecuada para no deteriorar la calidad del vidrio de los tubos, los que se usan como celda en el espectrofotómetro.
- e) Invertir los tubos varias veces y esperar a que el sólido sedimente.
- f) Descartar los tubos de digestión cuya solución posea color verde. Leer la absorbancia a 600 nm.
- g) Graficar la absorbancia versus mg O₂/L y trazar la mejor recta.

Hacer una curva de calibración por cada lote de reactivos preparados.

8.2 Determinación:

- a) Pipetear 10 mL de muestra o una dilución adecuada en un tubo de digestión.
- b) Seguir los pasos descritos en los numerales 8.1 c), d) y e).
- c) Si la solución digerida posee color verde repetir los pasos anteriores con una dilución mayor de la muestra.
- d) Leer la absorbancia a 600 nm.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{DQO, mg O}_2/\text{L} = \frac{C \times 10}{T}$$

donde:

C = mg O₂/L de la muestra leídos de la curva de calibración
T = mL de muestra tomada para el ensayo

Los resultados se expresan en mg de oxígeno consumido/L.

10. BIBLIOGRAFIA

- 1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Washington DC, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 5-6 - 5-10.
- 2- HACH Technical center for Applied Analytical Chemistry. *Introduction to Chemical Oxygen Demand*. Booklet N° 8. Hach Company, U.S.A.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Botellas de incubación, de 300 mL de capacidad, preferentemente con sello de agua. Las botellas deben ser lavadas con detergente, bien enjuagadas y secadas antes de su uso.
- 6.2 Incubadora controlada termostáticamente a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Excluir toda luz para prevenir la posibilidad de producción de oxígeno disuelto por fotosíntesis.
- 6.3 Electrodo de membrana selectiva al oxígeno, con compensación automática de temperatura y medidor apropiado.

7. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser calidad puro para análisis (ppa).

- 7.1 Solución buffer de fosfato:
Disolver 8.5 g de KH_2PO_4 , 21.75 g de K_2HPO_4 , 33.4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.7 g de NH_4Cl en 500 mL de agua destilada y diluir a 1 L. El pH debe ser 7.2.
- 7.2 Solución de sulfato de magnesio:
Disolver 22.5 g de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y diluir a 1L.
- 7.3 Solución de cloruro de calcio:
Disolver 27.5 g de cloruro de calcio (CaCl_2) en agua destilada y diluir a 1 L.
- 7.4 Solución de cloruro férrico:
Disolver 0.25 g de cloruro férrico (FeCl_3) $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y diluir a 1 L.
- 7.5 Soluciones ácida y alcalina:
Para neutralización de muestras caústicas o ácidas se utilizan soluciones 1N.
A) Solución ácida: agregar 28 mL de H_2SO_4 (cc) lentamente y con agitación a agua destilada y diluir a 1L.
B) Solución alcalina: disolver 40 g de NaOH en agua destilada y diluir a 1L.
- 7.6 Agua destilada, preferentemente no usar agua desionizada por la posible contaminación con materia orgánica.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Preparación del agua de dilución:

- a) Colocar un volúmen deseado de agua destilada en un recipiente adecuado y

adicionar 1 mL de las soluciones: de buffer fosfato, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, y cloruro férrico por litro de agua. Termostatar el agua de dilución previo a su uso a 20°C. El contenido de oxígeno debe ser próximo al de saturación a 20°C.

b) Blanco del agua de dilución: incubar una botella de DBO llena de agua de dilución por 5 días a 20°C conjuntamente con el ensayo de la muestra. Medir la concentración de oxígeno antes y después de la incubación. El consumo de oxígeno disuelto al cabo de los 5 días no debe ser mayor de 0.2 mg/L y preferiblemente no más de 0.1 mg/L. Un consumo mayor de 0.2 mg/L indica contaminación del agua con materia orgánica. Rever el suministro de agua.

8.2 Pretratamiento de la muestra:

a) El pH del agua de dilución no debe ser afectado por dilución de la muestra. En caso necesario ajustar entre 6.5-7.5 el pH de las muestras con una solución de ácido sulfúrico o hidróxido de sodio de tal fuerza que la cantidad de reactivo no diluya la muestra en más del 0.5%.

b) La muestra debe estar a temperatura ambiente (aprox. 20°C) antes de realizar las diluciones.

8.3 Técnica de dilución:

a) Realizar varias diluciones de la muestra para obtener un consumo de oxígeno de no menos de 2 mg/L y un oxígeno residual no menor a 1 mg/L, después de 5 días de incubación.

Si no se cuenta con un dato estimado de la DBO de la muestra, realizar diluciones en los siguientes rangos:

- 100 a 1000 veces para efluentes industriales no tratados.
- 20 a 100 veces para aguas servidas crudas y tratadas.
- 5 a 20 veces para efluentes tratados biológicamente.
- 1 a 5 veces para aguas de río poluídos.

Se realizarán como mínimo cuatro diluciones por muestra que incluyan el valor de la DBO estimada.

Luego de homogeneizar la muestra preparar las diluciones directamente en las botellas de DBO, usando pipeta graduada. Para las diluciones mayores que 100 realizar una dilución primaria intermedia en material volumétrico graduado antes de realizar la dilución final en la botella.

Llenar las botellas con el agua de dilución evitando airear y de forma que al

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

cerrarlas se hayan desplazado todas las burbujas de aire.

8.4 Determinación:

a) Medida de oxígeno disuelto de la muestra (OD_m): determinar el oxígeno disuelto de la muestra con el electrodo de oxígeno según las instrucciones del manual, evitando airear la muestra.

b) Incubación: Incubar las botellas de DBO conteniendo las diluciones de la muestra y el blanco del agua de dilución a $20 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 5 días.

c) Medida de oxígeno disuelto final: Luego de los 5 días de incubación determinar el oxígeno disuelto en las diluciones de la muestra.

9. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

9.1 Método gráfico:

Graficar la concentración de oxígeno disuelto final versus volumen de muestra (mL) tomados para la dilución. De esta gráfica se determina la mejor recta y se calcula la pendiente (K).

$$\text{DBO}_{5r}, \text{ mg/L} = -K \times V - Y + \text{OD}_m$$

Donde:

K = pendiente de la recta

V = capacidad de la botella de DBO, (300 mL)

Y = intercepción de la recta con el eje de las y

OD_m = concentración de oxígeno disuelto en la muestra original

9.2 Método clásico:

Utilizar este método para muestras de bajo contenido en materia orgánica, cuando no es necesario diluir; o cuando de las diluciones realizadas se tiene un único resultado que cumple con las condiciones del numeral 8.3a).

$$\text{DBO}_{5r}, \text{ mg/L} = \frac{(\text{OD}_i - \text{OD}_f) \times V}{T}$$

Donde:

ODi = concentración de oxígeno disuelto inicial (medido luego de la dilución)

ODf = concentración de oxígeno disuelto final

V = capacidad de la botella de DBO, (300 mL)

T = mL de muestra tomados para la dilución

10. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Washington DC, APHA, AWWA, WWCF, 1992. pp 5-2 - 5-6.

2- HACH Technical center for Applied Analytical Chemistry. Introduction to Biochemical Oxygen Demand. Booklet N° 7. Hach Company, U.S.A.

ACEITES Y GRASAS

4.2 Acidificar a $\text{pH} < 2$ con HCl (1+1) en el mismo recipiente en el cual fue extraída la muestra. Refrigerar a 4°C . Analizar antes de los 28 días.

NOTA: Recoger una muestra exclusivamente para la determinación de aceites y grasas. No realizar composición de muestras.

5. EQUIPOS Y MATERIALES

- 5.1 Equipo de extracción Soxhlet: matraz de extracción, embudo Soxhlet y refrigerante.
- 5.2 Bomba de vacío.
- 5.3 Manta eléctrica de calentamiento.
- 5.4 Estufa a 103°C .
- 5.5 Embudo Buchner.
- 5.6 Cono de extracción.
- 5.7 Papel de filtro de 11 cm de diámetro, Whatman N°40 o equivalente.
- 5.8 Piedras de ebullición.

6. REACTIVOS

- 6.1 Acido clorhídrico (1+1).
- 6.2 Eter de petróleo con punto de ebullición entre 60°C a 70°C . El solvente utilizado no debe dejar residuos medibles en su evaporación, en este caso destilar el solvente previo a su utilización.
- 6.3 Tierra de diatomeas en suspensión 10 g/L en agua destilada.

NOTA: No usar tubos o recipientes de plástico para transferir el solvente entre los distintos recipientes.

7. PROCEDIMIENTO

- 7.1 Marcar el nivel de líquido en el frasco de muestreo para luego determinar el volumen de muestra tomado. Denominar a dicho volumen en mL como V.
- 7.2 Verificar que el pH de la muestra es menor que 2, en caso contrario acidificar con HCl (1+1).
- 7.3 Colocar un papel de filtro en el embudo Buchner y humedecerlo con agua destilada. Haciendo vacío pasar 100 mL de la suspensión de tierra diatomeas a través del filtro y lavar con 1 L de agua destilada.

- 7.4 Filtrar la totalidad de la muestra recogida y acidificada. Usando pinzas transferir el filtro a un vidrio reloj.
Pasar un papel de filtro humedecido en solvente por el embudo Buchner y por el frasco de muestreo, asegurándose de remover las películas de grasas y material sólido presente. Juntar ambos filtros, envolverlos y colocarlos en el cono de extracción.
- 7.5 Secar el cono de extracción en una estufa de aire caliente a 103°C por 30 minutos. Los compuestos volatilizables a 103°C se perderán durante este proceso.
- 7.6 Pesar el matraz de extracción conteniendo perlas de ebullición. Denominar a dicho peso como p_1 .
- 7.7 Colocar el cono en el embudo Soxhlet. Agregar aproximadamente 200 mL de éter de petróleo al frasco de extracción. Extraer aceites y grasas a una velocidad de 20 ciclos por hora durante 4 horas, tiempo tomado a partir del primer ciclo.
- 7.8 Destilar el solvente del frasco de extracción en un baño de agua a 70°C. Cuando se observa que la condensación del solvente finaliza, sacar el frasco de extracción del baño de agua, cubrir el baño con un soporte adecuado y secar el frasco sobre el soporte durante 15 minutos, en el último minuto, pasar aire a través del residuo usando un vacío apropiado.
- 7.9 Enfriar el frasco de extracción en un desecador por 30 minutos y pesar. Denominar a dicho peso como p_2 .

8. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

$$\text{aceites y grasas, mg/L} = \frac{(p_2 - p_1) \times 1000}{V}$$

donde:

- p_1 = peso del matraz con las perlas de ebullición previo a la extracción en mg.
 p_2 = peso del matraz con las perlas de ebullición luego de la extracción en mg.
 V = volumen de muestra filtrado en mL.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water Wastewater*. 18th Edition. Washington, APHA, 1992. pp 5-28.

SECCION V

MICROBIOLOGIA

SECCION V

V A) ANALISIS MICROBIOLOGICOS EN AGUA

Cod.

- | | |
|-------|--|
| 36013 | Coliformes fecales. Técnica de filtración por membrana. |
| 36002 | Coliformes totales. Técnica de filtración por membrana. |
| 36103 | Estreptococos fecales. Técnica de filtración por membrana. |
| 36403 | Vibrio cólera. Técnica de aislamiento e identificación. |

V B) CONTROL DE CALIDAD

Cod.

- | | |
|-------|--|
| VB002 | Verificación de Coliformes totales. |
| VB003 | Verificación de Coliformes fecales. |
| VB004 | Verificación de Estreptococos fecales. |



DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES

Técnica de Filtración por Membrana

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de coliformes fecales en aguas naturales superficiales o subterráneas, aguas recreacionales y aguas residuales, filtrando un volumen medido de la muestra, o la dilución adecuada de la misma y obteniendo resultados en 24 horas.

2. REFERENCIA

2.1 Norma técnica código VB003 para la verificación de Coliformes Fecales.

3. DEFINICION

El grupo de bacterias coliformes fecales para la técnica de filtración por membrana se define como todos los bacilos gram negativos, aeróbicos y algunos anaeróbicos facultativos, no formadores de endosporas, que cuando se incuban en medio M-FC con lactosa por 24 hs a 44.5 ± 0.2 °C desarrollan colonias color azul.

4. PRINCIPIO

El principio de esta técnica consiste en la filtración de un volumen medido de muestra a través de una membrana de nitrato de celulosa y su incubación en un medio de cultivo selectivos a 44.5 °C. Este medio selectivo y la temperatura de incubación disminuyen el desarrollo de bacterias no coliformes que afectarían negativamente el crecimiento de los coliformes fecales.

5. INTERFERENCIAS

Aguas con gran turbidez y baja densidad de coliformes totales; con tóxicos orgánicos como los fenoles; o cuando existe una carga bacteriana de no coliformes muy grande.

6. MUESTREO Y PRESERVACION

La muestra debe ser colectada en frascos de vidrio o de polipropileno autoclavable, de boca ancha estériles. No debe llenarse el frasco por completo, debe quedar una

COLIFORMES FECALES

cámara de aire para poder homogeneizar la muestra antes de procesarla. La misma debe conservarse a 4°C hasta ser analizada. El período máximo de conservación de la muestra en frío es de 6 - 8 horas.

Cuando se trata de muestras de agua que fueron cloradas, el frasco debe contener $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en una concentración de 100 mg/L de muestra para neutralizar el cloro residual, sin producir efectos importantes sobre los coliformes de la muestra. En un frasco de muestreo de 120 mL, 0.1 mL de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10%, es suficiente para neutralizar 15 mg/L de cloro residual.

Cuando la muestra posee una alta cantidad de metales pesados, el frasco de muestreo debe contener EDTA a pH 6.5 como agente quelante en una concentración de 372 mg/L, para disminuir la toxicidad de los mismos.

Si la muestra es de agua de ríos, arroyos, lagos o reservorio, recolectar la muestra por lo menos 15 cm por debajo de la superficie y si es posible en contra corriente.

7. EQUIPOS Y MATERIALES

- 7.1 Equipo de filtración: embudo y platina porosa que se puedan trabar entre sí y sean autoclavables; bomba de vacío; kitasato de 1 litro; trampa de agua entre el kitasato y la bomba de vacío.
- 7.2 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 7.3 Incubadora de 44.5 ± 0.2 °C.
- 7.4 Equipo de recuento: microscopio binocular con un aumento de 10 a 15X. (De preferencia).
- 7.5 Autoclave
- 7.6 Mecheros
- 7.7 Placas de Petri estériles de plástico descartables (o de vidrio) de 50 mm de diámetro aproximadamente u otro tamaño adecuado.
- 7.8 Filtros de nitrocelulosa cuadrículados estériles de $0.45 \pm 0.02\mu\text{m}$ de diámetro de poro. Libre de glicerina y sin áreas hidrofóbicas.
- 7.9 Pinzas para filtros de acero inoxidable sin extremidades rugosas.
- 7.10 Tubos de ensayo de vidrio estériles para diluciones con tapa de algodón o de rosca.
- 7.11 Pipetas de vidrio graduadas estériles.
- 7.12 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.
- 7.13 Termómetros calibrados para controlar las incubadoras de coliformes.

8. REACTIVOS

- 8.1 Agua peptonada estéril al 1% y pH neutro.
- 8.2 Etanol al 95%
- 8.3 Medio de cultivo líquido M-FC
- 8.4 Agar
- 8.5 Agua destilada

9. PROCEDIMIENTO

9.1 Preparación de las placas de Petri

Si las placas son de plástico pueden ser reutilizadas después de lavadas, si se tratan con hipoclorito y posteriormente con etanol 70% durante 30 minutos y luego se comprueba su esterilidad.

9.2 Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo debe ser preparado como lo indica el envase, sin necesidad de ser autoclavado, agregándole agar al 1.5% y fundir. Una vez fundido y termostatizado a 45°C se reparte en las placas de Petri en una atmósfera aséptica, colocando aproximadamente 3 mL de medio por placa de 50 mm de diámetro.

9.3 Preparación de la muestra

El volumen de muestra a ser filtrado se determina de acuerdo a la densidad bacteriana esperada y el origen de la muestra. En caso de ser necesario se preparan las diluciones en agua peptonada estéril. Se recomienda filtrar 3 volúmenes diferentes de muestra en múltiplos de 10 o las diluciones realizadas, como se indica en la siguiente tabla.

Volumenes de muestra o de diluciones sugeridas para diferentes tipos de aguas

Dilución	no	no	no	no	10	100	1000	10000
Toma	100	50	10	1	1	1	1	1
Subterráneas	X	X	X					
Agua de Aljibe	X	X	X					
Lagos, reservorios	X	X	X					
Recreacionales			X	X	X			
Ríos				X	X	X	X	
Desechos colorados				X	X	X		
Desechos crudos					X	X	X	X

COLIFORMES FECALES

9.4 Filtración e incubación de la muestra

Descontaminar los embudos de filtración al inicio del procesamiento de cada muestra, humedeciendo el embudo con alcohol y luego flambearlo, una vez que el alcohol se consume hacer pasar suficiente agua estéril para lavar el sistema y enfriarlo más rápidamente.

Colocar un filtro de nitrocelulosa estéril con la superficie cuadrículada hacia arriba sobre el portafiltros poroso del embudo, utilizando pinzas humedecidas con alcohol, flambeadas y a temperatura ambiente. Posicionar el embudo sobre éste y trabar el sistema. Verter el volumen a filtrar y filtrar. Luego de filtrada destrabar el sistema, retirar el filtro con pinzas estériles y colocarlo sobre la placa con medio de cultivo M-FC, evitando la formación de burbujas de aire.

Si el volumen a filtrar es pequeño (1 mL), colocar en el embudo aproximadamente 10 mL de agua peptonada estéril y luego la muestra, para lograr una mejor distribución de la misma sobre la membrana al ser filtrada.

Se recomienda procesar por duplicado cada volumen a filtrar.

La placa de Petri con el filtro se coloca en la estufa de incubación a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ en posición invertida durante 24 hs.

9.5 Recuento

Las colonias típicas de coliformes fecales desarrolladas en el medio selectivo indicado son de distintas tonalidades de azul.

Las colonias grises, o crema son consideradas no coliformes, aunque existen colonias de *E. coli* atípicas que se presentan de color crema por lo que se recomienda realizar la verificación.

Para el recuento utilizar preferentemente un microscopio binocular con un aumento de 10 o 15X y una fuente de luz fluorescente posicionada formando un ángulo de 60-80° con respecto al filtro.

10. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

El recuento de colonias se realiza en filtros que contengan entre 20 y 60 colonias de coliformes fecales típicas.

La ecuación que se emplea es la siguiente:

$$\text{Total colonias coliformes fecales} = \frac{\text{colonias de coliformes contadas} \times 100}{\text{mL de muestra filtrados}}$$

Los resultados deben expresarse por Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ 100 mL.

Realizar la verificación de los coliformes fecales según la normativa técnica que se menciona en la referencia 2.1.

11. BIBLIOGRAFIA

1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and. 18 ed. Washington D.C., APHA, AWWA, WPCF,1992. pp 9-54, 9-58.

2- FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.

3- PUBLICACION DEL CURSO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, Diretoria de Treinamiento e Transferencia de Tecnologia y Diretoria de Tecnologia e Qualidade Ambiental, CETESB, Sao Paulo, 1988.



DETERMINACION DE COLIFORMES TOTALES

Tecnica de Filtración por Membrana

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de Coliformes Totales en aguas naturales superficiales o subterráneas, aguas recreacionales y aguas residuales filtrando un volumen medido de la muestra, o la dilución adecuada de la misma y obteniendo resultados en 24 horas.

2. REFERENCIA

2.1 Norma técnica Código VB002 para la verificación de Coliformes Totales.

3. DEFINICION

El grupo de bacterias coliformes para la técnica de filtración por membrana se define como todos los bacilos gram negativos, aeróbicos y algunos anaeróbicos facultativos, no formadores de endosporas, que cuando se incuban en medio Endo con lactosa por 24 hs. a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, desarrollan colonias color rojo con brillo verde metálico.

4. PRINCIPIO

El principio de esta técnica consiste en la filtración de un volumen medido de la muestra a través de una membrana de nitrato de celulosa y su incubación en medio de cultivo selectivo a 35°C .

La incorporación en los medios de cultivo de determinados colorantes, permiten que la producción de ácido y aldehído debida a la fermentación de la lactosa sea visualizada por la formación de colonias rojas con brillo verde metálico, típicas de coliformes totales.

5. INTERFERENCIAS

Aguas con gran turbidez y baja densidad de coliformes totales; con tóxicos orgánicos como los fenoles; o cuando existe una carga bacteriana de no coliformes muy grande.

COLIFORMES TOTALES

6. MUESTREO Y PRESERVACION

La muestra debe ser colectada en frascos de vidrio, o de polipropileno autoclavable, de boca ancha, estériles. No debe llenarse el frasco por completo, dejando una cámara de aire para poder homogeneizar la muestra antes de procesarla.

La muestra debe conservarse a 4°C hasta ser analizada. El período máximo de conservación de la muestra en frío es de 6 - 8 horas.

Para aguas que fueron cloradas el frasco debe contener $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en una concentración de 100 mg/L de muestra para neutralizar el cloro residual, sin producir efectos importantes sobre los coliformes de la muestra. En un frasco de muestreo de 120 mL, 0.1 mL de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10%, es suficiente para neutralizar 15 mg/L de cloro residual.

Cuando la muestra posee una alta cantidad de metales pesados, el frasco de muestreo debe contener EDTA a pH 6.5 como agente quelante en una concentración de 372 mg/L, para disminuir la toxicidad de los mismos.

Cuando la muestra es de agua de ríos, arroyos, lagos o reservorio, recolectar la muestra por lo menos 15 cm debajo de la superficie y si es posible, contra corriente.

7. EQUIPOS y MATERIALES

- 7.1 Equipo de filtración: embudo y platina porosa que se puedan trabar entre sí y sean autoclavables; bomba de vacío; kitasato de 1 litro; trampa de agua entre el kitasato y la bomba de vacío.
- 7.2 Balanzas con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 7.3 Incubadoras de $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
- 7.4 Equipo de recuento: microscopio binocular con un aumento de 10 a 15X y una fuente de luz fluorescente posicionada formando un ángulo de $60-80^\circ$ con la placa. (De preferencia).
- 7.5 Autoclave
- 7.6 Mecheros
- 7.7 Placas de Petri estériles, de plástico descartables o de vidrio de 50 mm de diámetro aproximadamente u otro tamaño adecuado.
- 7.8 Filtros de nitrocelulosa cuadrículados estériles de $0.45 \mu\text{m} \pm 0.02 \mu\text{m}$ de diámetro de poro. Libre de glicerina y sin áreas hidrofóbicas.
- 7.9 Pinzas de acero inoxidable para filtros, sin extremidades rugosas.

7.10 Tubos de ensayo de vidrio estériles para diluciones con tapa de algodón o de rosca.

7.11 Pipetas de vidrio graduadas estériles.

7.12 Materiales de vidrio para preparación del medio de cultivo.

7.13 Termómetros calibrados para controlar la incubadora de coliformes.

8. REACTIVOS

8.1 Agua peptonada estéril al 1% y pH neutro.

8.2 Etanol al 95%

8.3 Medio de cultivo líquido M-Endo

8.4 Agar

8.5 Agua destilada

9. PROCEDIMIENTO

9.1 Preparación de las placas de Petri

Si las placas son de plástico pueden ser reutilizadas después de lavadas, si se tratan con hipoclorito y posteriormente con etanol 70% durante 30 minutos y luego se comprueba su esterilidad.

9.2 Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo debe ser preparado como lo indica el envase, sin necesidad de ser autoclavado, agregándole agar al 1.5% y fundir.

Una vez fundido y termostatzado a 45°C se reparte en las placas de Petri en una atmósfera estéril colocando aproximadamente 3 mL de medio por placa de 50 mm de diámetro.

9.3 Preparación de la muestra

El volumen de muestra a ser filtrado se determina de acuerdo a la densidad bacteriana esperada y el origen de la muestra. En caso de ser necesario se preparan las diluciones en agua peptonada estéril. Se recomienda filtrar 3 volúmenes diferentes de muestra en múltiplo de 10 o las diluciones realizadas, como se indica en la siguiente tabla:

COLIFORMES TOTALES

Volumenes de muestra o de diluciones sugeridas para diferentes tipos de aguas

Dilución	no	no	no	no	10	100	1000	10000
Toma	100	50	10	1	1	1	1	1
Subterráneas	X	X	X					
Agua de Aljibe	X	X	X					
Lagos, reservorios	X	X	X					
Recreacionales			X	X	X			
Ríos				X	X	X	X	
Desechos colorados				X	X	X		
Desechos crudos					X	X	X	X

9.4 Filtración e incubación de la muestra

Descontaminar los embudos de filtración al inicio del procesamiento de cada muestra humedeciendo el embudo con alcohol y luego flambearlo, una vez que el alcohol se consume hacer pasar suficiente agua estéril para lavar el sistema y enfriarlo más rápidamente.

Colocar un filtro de nitrocelulosa estéril con la superficie cuadrículada hacia arriba sobre el portafiltros poroso del embudo utilizando pinzas humedecidas en alcohol, flambeadas y a temperatura ambiente. Posicionar el embudo sobre éste y trabar el sistema. Verter el volumen a filtrar y filtrar. Luego de filtrada destrabar el sistema, retirar el filtro con pinzas estériles y colocarlo sobre la placa con medio de cultivo M-Endo, evitando la formación de burbujas de aire.

Si el volumen a filtrar es poco (1 mL) colocar en el embudo aproximadamente 10 mL de agua peptonada estéril y luego la muestra, para lograr una mejor distribución de la misma sobre la membrana al ser filtrada.

Se recomienda procesar por duplicado cada volumen a filtrar.

La placa de Petri con el filtro se coloca en la estufa de incubación a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en posición invertida durante el tiempo adecuado según el origen de la muestra.

Las muestras que consisten en aguas tratadas pueden incluir microorganismos estresados que presentan un crecimiento más lento y demoran entre 22 - 24 hs en manifestar el brillo verde metálico. Por el contrario, si el origen de la muestra son aguas naturales las colonias típicas de coliformes pueden observarse entre las 16 a 18 hs de incubación pudiéndose perder el brillo verde metálico a las 24 horas de incubadas.

9.5 Recuento

Las colonias típicas de coliformes totales son aquellas rojas o rosado oscuro que presentan brillo verde metálico en la superficie ya sea como un pequeño punto o en toda la superficie de la colonia.

Colonias que no presentan brillo, pudiendo ser rosadas, rojas, blancas o sin color son consideradas como no coliformes.

Para el recuento utilizar preferentemente un microscopio binocular con un aumento de 10 o 15X y una fuente de luz fluorescente posicionada formando un ángulo de 60-80° con respecto al filtro.

10. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

El recuento de colonias se realiza en filtros que contengan entre 20 y 80 colonias de coliformes típicas y no más de 200 colonias de cualquier tipo.

La ecuación que se emplea es la siguiente:

$$\text{Total de colonias de coliformes} = \frac{\text{colonias de coliformes contadas} \times 100}{\text{mL de muestra filtrados}}$$

Los resultados deben expresarse por Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ 100 mL.

Si las colonias crecen uniéndose sobre la membrana se informa como crecimiento confluyente con o sin presencia de coliformes y se sugiere la realización de otro muestreo del mismo punto.

Si el número de colonias típicas de coliformes fuera entre 20 y 80 pero la placa posee más de 200 colonias de cualquier tipo, se informa como mayor al recuento realizado y se aconseja la realización de otro muestreo en ese punto.

Realizar la verificación de los coliformes totales según la normativa técnica que se menciona en la referencia 2.1.

11. BIBLIOGRAFIA

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 9-54, 9-58.

2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.

3 - GUIA PARA LA CALIDAD DEL AGUA POTABLE, Organización Panamericana de la Salud, Vol. 3, Publicación científica N° 508, 1988.

4 - PUBLICACION DEL CURSO DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, Diretoria de Treinamiento e Transferencia de Tecnologia y Diretoria de Tecnologia e Qualidade Ambiental, CETESB, Sao Paulo, 1988.



DETERMINACION DE ESTREPTOCOCOS FECALES

Tecnica de Filtración por Membrana

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de estreptococos fecales en aguas naturales superficiales o subterráneas, aguas recreacionales y aguas residuales filtrando un volumen medido de la muestra o la dilución adecuada de la misma y obteniéndose resultados en 24 horas.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica Código VB004 para la verificación de estreptococos fecales.

3. DEFINICION

El grupo de estreptococos fecales para la técnica de filtración por membrana se define como todos los cocos gram positivos que desarrollan colonias de color rojo claro y rojo oscuro cuando se incuban en medio Agar m-Enterococcus para estreptococos fecales.

4. PRINCIPIO

El principio de esta técnica consiste en el filtrado de un volumen medido de muestra a través de una membrana de nitrato de celulosa y su incubación en un medio selectivo a 35°C.

La fermentación de carbohidratos presentes en el medio, con la azida de sodio como agente selectivo inhibiendo las bacterias gram negativas, y el cloruro trifeníl tetrazolio hace que las colonias positivas presenten un color rojo oscuro como resultado de la reducción tetrazólica a un azocolorante ácido.

5. INTERFERENCIAS

Aguas con gran turbidez y baja densidad de estreptococos fecales; con tóxicos orgánicos como los fenoles; o cuando existe una carga de bacterias no pertenecientes al grupo de estreptococos grande.

ESTREPTOCOCOS FECALES

6. MUESTREO Y PRESERVACION

La muestra debe ser colectada en frascos de vidrio o de polipropileno autoclavable, de boca ancha estériles. No debe llenarse el frasco por completo, debe quedar una cámara de aire para poder homogeneizar la muestra antes de procesarla.

La misma debe conservarse a 4°C hasta ser analizada. El período máximo de conservación de la muestra en frío es de 6 - 8 horas.

Cuando se trata de muestras de agua que fueron cloradas, el frasco debe contener $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en una concentración de 100 mg/L de muestra para neutralizar el cloro residual, sin producir efectos importantes sobre los estreptococos de la muestra. En un frasco de muestreo de 120 mL, 0.1 mL de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 10%, es suficiente para neutralizar 15 mg/L de cloro residual.

Cuando la muestra posee un alto contenido de metales pesados, el frasco de muestreo debe contener EDTA a pH 6.5 como agente quelante en una concentración de 372 mg/L, para disminuir la toxicidad de los mismos.

Si la muestra es de agua de ríos, arroyos, lagos o reservorio, recolectar la muestra por lo menos 15 cm por debajo de la superficie y si es posible, contra corriente.

7. EQUIPOS Y MATERIALES

- 7.1 Equipo de filtración: embudo y platina porosa que se puedan trabar entre sí y sean autoclavables; bomba de vacío; kitasato de 1 litro; trampa de agua entre el kitasato y la bomba de vacío.
- 7.2 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 7.3 Incubadora de $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
- 7.4 Equipo de recuento: microscopio binocular con un aumento de 10 a 15X, y una fuente de luz fluorescente posicionada formando un ángulo de 60° - 80° con la placa. (De preferencia).
- 7.5 Autoclave.
- 7.6 Mecheros.
- 7.7 Placas de Petri estériles de plástico descartables o de vidrio de 50 mm de diámetro aproximadamente u otro tamaño adecuado.
- 7.8 Filtros de nitrocelulosa cuadrículados estériles de $0.45\mu\text{m} \pm 0.02\mu\text{m}$ de diámetro de poro. Libre de glicerina y sin áreas hidrofóbicas.
- 7.9 Pinzas para filtros, de acero inoxidable sin extremidades rugosas.

7.10 Tubos de ensayo de vidrio estériles para diluciones con tapa de algodón o de rosca.

7.11 Pipetas de vidrio graduadas estériles.

7.12 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.

7.13 Termómetros calibrados para controlar las incubadoras.

8. REACTIVOS

8.1 Agua peptonada estéril al 1% y pH neutro.

8.2 Etanol al 95%.

8.3 Medio de cultivo Agar m - Enterococcus para estreptococos fecales.

8.4 Agua destilada.

9. PROCEDIMIENTO

9.1 Preparación de las placas de Petri

Si las placas son de plástico pueden ser reutilizadas después de lavadas, si se tratan con hipoclorito y posteriormente con etanol 70% durante 30 minutos y luego se comprueba su esterilidad.

9.2 Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo debe ser preparado como lo indica el envase, sin necesidad de ser autoclavado y posteriormente fundido.

Una vez fundido y termostatzado a 45°C, se reparte en las placas de Petri en una atmósfera estéril colocando aproximadamente 3 mL de medio por placa de 50 mm de diámetro.

9.3 Preparación de la muestra

El volumen de muestra a ser filtrado se determina de acuerdo a la densidad bacteriana esperada y el origen de la muestra. En caso de ser necesario se preparan las diluciones en agua peptonada estéril. Se recomienda filtrar 3 volúmenes diferentes de muestra en múltiplo de 10 o las diluciones realizadas, como se indica en la siguiente gráfica:

ESTREPTOCOCOS FECALES

Volumenes de muestra o de diluciones sugeridas para diferentes tipos de aguas

Dilución	no	no	no	no	10	100	1000	10000
Toma	100	50	10	1	1	1	1	1
Subterráneas	X	X	X					
Agua de Aljibe	X	X	X					
Lagos, reservorios	X	X	X					
Recreacionales			X	X	X			
Ríos				X	X	X	X	
Desechos colorados				X	X	X		
Desechos crudos					X	X	X	X

9.4 Filtración e incubación de la muestra

Descontaminar los embudos de filtración al inicio del procesamiento de cada muestra, humedeciendo el embudo con alcohol y luego flambeándolo, una vez que el alcohol se consume, hacer pasar suficiente agua estéril para lavar el sistema y enfriarlo más rápidamente.

Colocar un filtro de nitrocelulosa estéril con la superficie cuadrículada hacia arriba sobre el portafiltros poroso del embudo, utilizando pinzas humedecidas en alcohol, flambeadas y a temperatura ambiente. Posicionar el embudo sobre éste y trabar el sistema. Verter el volumen a filtrar y filtrar. Luego de filtrada, destrabar el sistema, retirar el filtro con pinzas estériles y colocarlo sobre la placa con medio de cultivo Agar m - Enterococcus para estreptococos fecales, evitando la formación de burbujas de aire.

Si el volumen a filtrar es pequeño (1 mL), colocar en el embudo aproximadamente 10 mL de agua peptonada estéril y luego la muestra, para lograr una mejor distribución de la misma sobre la membrana al ser filtrada.

Se recomienda procesar por duplicado cada volumen a filtrar.

La placa de Petri con el filtro se dejan reposar por 30 minutos y luego se colocan en la estufa de incubación a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en posición invertida durante 48 horas.

9.5 Recuento

Las colonias típicas son aquellas que desarrollan un color rojo claro u oscuro sobre el medio de cultivo m- Enterococcus para estreptococos fecales.

Para el recuento utilizar preferentemente un microscopio binocular con un aumento de 10 o 15X, en caso de ser necesario.

10. CALCULOS Y EXPRESION DE RESULTADOS

El recuento de colonias se realiza en filtros que contengan entre 20 y 60 colonias de estreptococos.

La ecuación que se emplea es la siguiente:

$$\text{Total colonias estreptococos} = \frac{\text{colonias de estreptococos contadas} \times 100}{\text{mL de muestra filtrados}}$$

Los resultados deben expresarse por Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ 100 mL.

Realizar la verificación de estreptococos fecales según la normativa técnica que se menciona en la referencia 2.1

11. BIBLIOGRAFIA

- 1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. Washington D.C., APHA, AWWA, WPCF, 5.92. pp 9-69, 9-73.
- 2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.
- 3 - BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 5.84, Vol.2, Section 12, pp 1043 - 1071.



DETERMINACION DE *Vibrio cholerae* EN AGUAS

Vibrio cholerae. Aislamiento e identificación.

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica es aplicable para un constante control sistemático de *Vibrio cholerae* tanto a nivel de aguas naturales (agua de uso domiciliario), superficiales o subterráneas, aguas recreacionales y aguas residuales.

2. REFERENCIAS

2.1 Norma técnica código 36002 para la determinación de Coliformes Totales por la Técnica de Filtración por Membrana.

2.2 Norma técnica Código VB002 para la verificación de Coliformes Totales determinados por la Técnica de Filtración por Membrana.

3. DEFINICION

El género *Vibrio* se encuentra dentro de la familia *Vibrionaceae* junto con tres géneros más: *Aeromonas*, *Photobacterium* y *Plesiomonas*.

El mismo esta constituido por bacilos, Gram negativos de 0.5 a 0.8 μm de diámetro y 1.4 a 2.6 μm de largo, anaerobios facultativos, móviles y no forman endosporas.

Las cepas de *Vibrio cholerae* que reaccionan con el antisuero somático 01 se denominan *V. cholerae* 01, las restantes serovariedades se denominan *V. cholerae* no 01, siendo las primeras las causantes de la enfermedad del cólera.

Dentro de *V. cholerae* 01 hay dos clases de biotipos: el clásico y El Tor que se encuentran separados en dos serotipos: Ogawa e Inaba y a veces un tercer serotipo: Hikojima.

Existe actualmente un serogrupo dentro de los *V. cholerae* no 01, el 0 139 que también es causante de la enfermedad del cólera.

4. PRINCIPIO

Esta normativa se basa en la aplicación de diferentes técnicas de muestreo para la obtención de colonias aisladas de posible *V. cholerae*, y su posterior identificación por pruebas bioquímicas y serológicas.

VIBRIO CHOLERAЕ

El perfil bioquímico que corresponde al *V. cholerae* sería el siguiente:

OXIDASA	TSI	STRING	ADH	LDC	ODC	T ₁ N ₀	T ₁ N ₁	SACAROSA	LACTOSA	VP	0129 10µg	0129 150µg
+	A/A	+	-	+	+	+	+	+	-	V	+	+

5. MUESTREO Y PRESERVACION

Todas las muestras, independientemente de su origen, deben ser recolectadas en frascos o bidones estériles y deben ser transportadas refrigeradas a 4°C hasta el momento de su análisis.

En caso de que se utilice el Hisopo de Moore, debe ser colocado en bolsas plásticas estériles o en frascos de boca ancha, con agua peptonada alcalina simple concentración y enviarse refrigerado al laboratorio, no superando las 8 horas de efectuado el muestreo en ningún caso.

La metodología de muestreo a utilizar, así como la técnica de aislamiento a emplear, dependen del tipo de agua a muestrear, siendo la salinidad de la misma un factor determinante para la elección de esta última.

Las tres alternativas de muestreo son las siguientes

A. Enriquecimiento directo

Consiste en la toma de un volumen adecuado de agua utilizando un recipiente limpio y estéril. Deben emplearse guantes descartables que serán desechados entre toma y toma.

Es aplicable a aguas de uso domiciliario, aguas de mar, estuarios, ríos, lagos, aguas residuales, etc., teniendo en consideración para cada caso el volumen de muestra a procesar.

En aguas domiciliarias, el volumen a recolectar es 1L de muestra como volumen óptimo.

Para ríos, lagos, aguas residuales, etc. muestrear 500 mL.

B. Filtración por membrana

Si la muestra proviene de aguas marinas utilizar un filtro de nitrocelulosa estéril de 0.22 µm de diámetro de poro, si es de otro origen emplear el filtro de 0.45 µm de diámetro de poro. En ambos casos usar un prefiltro estéril en aquellas muestras

cuya turbidez dificulte el filtrado.

Para aguas domiciliarias, filtrar un volumen de 1 litro; para aguas naturales filtrar entre 4 y 5 litros de muestra.

C. Hisopo de Moore

Es una técnica recomendada principalmente para aguas residuales.

Los hisopos se preparan enrollando una tira a lo largo de gasa de 90 a 120 cm de largo por 15 cm de ancho, atando firmemente el centro con un hilo que resista la esterilización por autoclave 15 minutos.

Para el estudio de aguas residuales, los hisopos deben colocarse principalmente en la entrada de las plantas de tratamiento, arriba de la corriente en cualquier sitio del vertedero, dejándose allí por 24 - 72 horas.

El hisopo se recoge con guantes descartables y se coloca en bolsas plásticas o recipiente de boca ancha.

6. EQUIPOS Y MATERIALES

- 6.1 Equipo de filtración: embudo y platina porosa que se puedan trabar entre sí y sean autoclavables; bomba de vacío; kitasato de 1 litro; trampa de agua entre el kitasato y la bomba de vacío.
- 6.2 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 6.3 Incubadora de 37°C - $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
- 6.4 Autoclave.
- 6.5 Equipo para medir pH con sensibilidad de 0.1 unidades de pH.
- 6.6 Mecheros.
- 6.7 Placas de Petri estériles, de plástico descartables o de vidrio.
- 6.8 Filtros de nitrocelulosa cuadrículados estériles de $0.22\mu\text{m}$ o $0.45\mu\text{m} \pm 0.02 \mu\text{m}$ de diámetro de poro. Libre de glicerina y sin áreas hidrofóbicas.
- 6.9 Pinzas para filtros, de acero inoxidable sin extremidades rugosas, humedecida en alcohol y flambeadas antes de su uso.
- 6.10 Tubos de ensayo de vidrio, estériles con tapa.
- 6.11 Pipetas de vidrio graduadas estériles.
- 6.12 Frascos de muestreo estériles.
- 6.13 Bidones estériles de 5 litros para muestreo.
- 6.14 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.
- 6.15 Termómetros calibrados para controlar la incubadora.
- 6.16 Prefiltro estéril.

VIBRIO CHOLERAE

7. REACTIVOS

7.1 MEDIOS DE CULTIVO

- 7.1.1 Mac Conkey agar: para visualizar el metabolismo con respecto a la lactosa.
- 7.1.2 TCBS: medio selectivo y diferencial para el crecimiento de *Vibrio sp.* Se realiza 24 hs antes de su uso.
- 7.1.3 TSA: se lee resistencia a O 129 y Polimixina B.
- 7.1.4 TSI: para metabolismo de los azúcares y producción de H₂S.
- 7.1.5 LIA: decarboxilación de la lisina y producción de H₂S.
- 7.1.6 HIA: para crecimiento de cepa para tests serológicos.
- 7.1.7 SC: utilización de citrato como fuente de carbono.
- 7.1.8 Agar Fenilalanina: deaminación de la fenilalanina con producción ác. fenilpirúvico.
- 7.1.9 MIO: movilidad, decarboxilación de la ornitina.
- 7.1.10 SIM: movilidad y producción de indol a partir del triptofano de las proteínas.
- 7.1.11 Inositol: utilización de otros azúcares para diferenciar *Vibrio sp.* de *Aeromonas sp.*
- 7.1.12 Arabinosa: igual que el inositol.
- 7.1.13 Base de Moeller + arginina: decarboxilación de la arginina. (*)
- 7.1.14 T₁N₀ al T₁N₁₀ : Triptona al 1% y diferentes porcentajes de NaCl hasta llegar a 10%, para saber si es halófilo el microorganismo o no y diferenciar dentro de la especie *Vibrio sp.*
- 7.1.15 Caldo Nitrato: utilización del nitrato como aceptor de electrones con reducción del NO₃ a NO₂ o N₂.
- 7.1.16 Voges Proskauer: producción de acetoina de la fermentación de azúcar. (*)

A los medios marcados con (*) hay que adicionarles NaCl hasta una concentración final de 1% teniendo en cuenta el NaCl ya presente en el medio de cultivo.

7.2 REACTIVOS

- 7.2.1 Agua Peptonada Alcalina simple concentración: Peptona 10 g, cloruro de sodio 10 g, agua destilada 1000 mL. pH = 8.6 ± 0.2.
- 7.2.2 Discos para el test de citocromo oxidasa o los reactivos correspondientes (Referencia 2.2).
- 7.2.3 Discos de vibriostático 0129 de concentración 10 y 150 µg.
- 7.2.4 Discos de polimixina B 50µg para ensayo de biotipo.
- 7.2.5 Antisueros polivalente 01 y 0 139.
- 7.2.6 Antisueros Ogawa e Inaba.

- 7.2.7 Etanol al 95%.
- 7.2.8 Agar.
- 7.2.9 Agua destilada.

8. PROCEDIMIENTO

8.1 PROCESAMIENTO DE MUESTRA

A. Enriquecimiento directo

Una vez llegada la muestra al laboratorio, se coloca un volumen de muestra (500 mL) en un recipiente conteniendo el mismo volumen de agua peptonada alcalina (APA) a pH= 8.6 de doble concentración. Incubar a 37 °C durante 6-8 horas.

Alternativamente pueden incubarse 450 mL de muestra en 50 mL de APA 10 veces concentrada, o relación 1:4 de muestra y APA de simple concentración.

B. Filtración por membrana

La filtración se realiza como está descrita en la referencia 2.1 pero colocando un prefiltro estéril sobre la membrana para las muestras muy turbias. Una vez filtrado se colocan todas las membrana y los prefiltros de la muestra en un recipiente con 100 mL de APA simple concentración. Incubar 6-8 horas a 37°C.

C. Hisopo de Moore

Colocar el hisopo en un frasco de boca ancha con APA simple concentración e incubar a 37°C por 6 - 8 horas.

8.2 AISLAMIENTO DE *Vibrio cholerae*

Independientemente del método de procesamiento empleado, posteriormente a la incubación en APA, sembrar una ansada de la película superficial del agua peptonada alcalina en placas de Petri con medio TCBS, e incubar por 24 horas a 37°C.

Seleccionar colonias sospechosas es decir, colonias amarillas, (porque fermentan la sacarosa), planas, ligeramente convexas, de 2 mm de diámetro con centro opaco y borbes translúcidos. No todas las colonias amarillas desarrolladas en este medio son de *V. cholerae*. Repicar las colonias seleccionadas (aproximadamente un número de 8 -10) en placas con medio TSA e incubar 24 horas a 37°C.

A partir de TSA realizar las pruebas de oxidasa, Tinción de Gram, TSI, decarboxilasas (lisina, arginina y ornitina), crecimiento en T₁N₀ y T₁N₁ , que permiten la identificación presuntiva.

VIBRIO CHOLERAE

Si las bioquímicas antes mencionadas concuerdan con las de *V. cholerae*, realizar las pruebas bioquímicas complementarias con los medios de cultivo y reactivos que figuran en el ítem 7. Efectuar la prueba serológica de aglutinación en placa con los antisueros polivalentes O1 y O139. Si el resultado es positivo O1, se hace aglutinación con los antisueros Ogawa e Inaba.

El diagnóstico serológico presuntivo se debe realizar a partir de colonias desarrolladas en TSA, ya que las colonias crecidas en TCBS son pegajosas y dificultan la aglutinación.

Finalmente realizar los ensayos de toxicidad o en su defecto enviar la muestra al organismo que los realice.

9. BIBLIOGRAFIA

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. Washington D.C.,APHA, AWWA, WPCF,1992. pp 9-94, 9-95.

2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.

3 - BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY,1984, Vol.1, Section 5 pp 516 - 538.

4 - Elisa L. Elliot, Charles A. Kaysner y col. Metodología de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos para la recuperación, Identificación y Enumeración de las Especies Patogénicas de Vibrio, incluyendo *V. cholerae*, *V.parahaemolyticus*, *V.vulnificus* y otras especies.

5 - AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE *Vibrio cholerae*. Ministerio de Salud y Accion Social, Secretaría de Salud Pública, Dirección Nacional de Medicina Sanitaria, Instituto Nacional de Microbiología»Carlos G. Malbran», Buenos Aires, 1993.

6 - Laboratory Methods for the Diagnosis of *Vibrio cholerae*. Centers for Disease Control and Prevention. Pan American Health Organization. World Health Organization, March 1993.



TECNICA DE VERIFICACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para verificar coliformes totales determinados por la técnica de filtración por membrana y evitar obtener resultados falsos positivos.

2. DEFINICION

Se define como colonia de coliformes totales verificada a través de técnicas que evidencian fermentación de lactosa, aquella que evidencia formación de gas cuando se incuba en Caldo Lauril Triptosa y en Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante a 35°C durante 48 horas.

En el caso de que la verificación se realice a través de técnicas bioquímicas rápidas, se define como colonia de coliformes totales verificada aquella que presenta el siguiente perfil: citocromo-oxidasa negativa y β -galactosidasa positivas.

3. PRINCIPIO

Estos procedimientos de verificación de coliformes totales se basan en la capacidad de los mismos para fermentar la lactosa, inhibiendo el verde brillante y la bilis el desarrollo de otras bacterias. Este grupo es deficiente en permeasa pero no en β -galactosidasa la cual produce la ruptura de la lactosa en glucosa y galactosa.

4. EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 4.2 Incubadora de $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$.
- 4.3 Autoclave.
- 4.4 Equipo para medir pH.
- 4.5 Mecheros.
- 4.6 Placas de Petri estériles de plástico descartables o de vidrio.
- 4.7 Tubos de ensayo de vidrio estériles con tapa de algodón o de rosca, con campana de Durham.
- 4.8 Pipetas de vidrio graduadas estériles.
- 4.9 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.
- 4.10 Termómetros calibrados para controlar la incubadora.

COLIFORMES TOTALES

5. REACTIVOS

- 5.1 Medio de cultivo Caldo Lauril Triptosa.
- 5.2 Medio de cultivo Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante.
- 5.3 Discos para el test bioquímico de Citocromo oxidasa (CO).
- 5.4 Discos para el test bioquímico de β - galactosidasa (ONPG).
- 5.5 Medio de cultivo, no selectivo, TSA o Agar Nutritivo.
- 5.6 Etanol al 95%.
- 5.7 Agua destilada.

Una segunda alternativa para la realización de las pruebas de citocromo oxidasa β -galactosidasa es el empleo de los siguientes reactivos y materiales:

Citocromo oxidasa

- tetramethyl paraphenylenediamine dihydrochloride 1%
- papel de filtro Whatman N° 1 o equivalente.

β - galactosidasa

- solución de fosfato monosódico 1.0 M a pH 7.0.
- solución de o- nitrofenil β -D- galactopiranosida (ONPG).
- tolueno.

6. PROCEDIMIENTO

Se aplica tanto a colonias típicas como a las atípicas. En caso de que las colonias contadas a partir de una muestra de agua de desecho sean más de 50, se realiza la verificación al 10% de las colonias obtenidas.

El medio de cultivo para coliformes totales, M-Endo, ocasionalmente puede producir colonias de coliformes totales atípicas de color rojo oscuro sin brillo metálico, por lo que es importante la verificación tanto de colonias típicas como atípicas para lograr un mejor reconocimiento de las mismas por parte del técnico analista.

Si los coliformes a verificar provienen de muestras de agua para beber debe verificarse la totalidad de las colonias desarrolladas.

6.1 Alternativa A - Fermentación de lactosa

Repicar las colonias elegidas al azar para la verificación a tubos con campana de Durham y medio de cultivo Caldo Lauril Triptosa. Incubar a $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ por 48

horas. Los tubos positivos, es decir los que evidencian la producción de gas, son repicados a tubos con campana de Durham y medio de cultivo Lactosa Bilis Verde Brillante incubándose 48 horas a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Si se detecta producción de gas en ambos medios dentro de las 48 horas, se excluye la posibilidad de resultado falso positivo, siendo verificados así los coliformes totales.

Si de alguna colonia repicada solo se detecta producción de gas en el medio Caldo Lauril Triptosa, transferir desde el tubo positivo a otro tubo con Lactosa Bilis Verde Brillante para testarlo nuevamente.

6.2 Alternativa B - Test Bioquímicos Rápidos

Obtener colonias aisladas y puras repicando a un medio nutritivo como por ejemplo, Tryptic Soy Agar (TSA).

6.2.1 Test de CO:

a) Si se cuenta con los discos comerciales:

suspender la colonia en un tubo con 0.5 mL de agua destilada estéril y luego colocar el disco. Esperar 30 segundos para leer la reacción.

Será un resultado positivo aquella colonia que desarrolle un color rojo intenso sobre el disco.

b) En caso de que no se cuente con los discos comerciales entonces se realiza esta prueba de la siguiente manera:

preparar una solución acuosa fresca al 1% de tetrametil parafenilendiamina dihidrocloruro. Impregnar una tirilla de papel de filtro con la misma y colocar una porción de la colonia a verificar sobre el papel de filtro utilizando un ansa de platino, vidrio, etc. para evitar falsos positivos con el óxido del metal.

Cuando la colonia desarrolla un color rosado sobre el papel de filtro se lee como positivo.

6.2.2 Test ONPG:

a) Si se cuenta con los discos de papel comerciales:

colocar 0.5 mL de agua destilada en un tubo de ensayo, esterilizar, suspender una ansada de cultivo, colocar el disco de ONPG e incubar 30 minutos a 37°C .

El resultado puede ser leído en un período máximo de 4 horas, siendo positivas aquellas colonias que desarrollan color amarillo.

COLIFORMES TOTALES

b) En caso de no poseer los discos comerciales el procedimiento para el desarrollo de esta prueba es el siguiente:

preparar una solución de fosfato monosódico 1.0 M disolviendo 6.9 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 45 mL de agua, agregar 3 mL de NaOH 30% y ajustar pH a 7.0. Diluir a 50 mL y guardar refrigerada.

Preparar solución de ONPG disolviendo 80 mg de o-nitrofenil- β -D-galactopiranosida (ONPG) en 15 mL de agua a 37°C y agregar 5 mL de NaH_2PO_4 1.0 M. Conservar refrigerada. Antes de usar calentar a 37°C.

Emulsionar una ansada de inóculo en un tubo de fermentación, agregar una gota de tolueno y agitar. Dejar reposar 5 minutos en Baño de agua a 35°C. Agregar 0.25 mL de solución de ONPG a cada tubo y reincubar. Leer los tubos a los 30, 60 minutos y 24 horas.

Resultado positivo es aquel tubo en el que se desarrollo color amarillo.

7. RECUENTO

Debe ajustarse el conteo inicial efectuado sobre la membrana filtrante basado en el porcentaje obtenido a partir de las verificaciones positivas de coliformes totales de acuerdo al ítem 6.1 o 6.2.

8. EXPRESION DE RESULTADOS

Los resultados se expresan como Unidades formadoras de colonia (UFC) de coliformes totales verificados en 100 mL de muestra.

9. BIBLIOGRAFIA

1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. Washington D.C., APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 9-54, 9.58 y 9-11.

2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.

3 - BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 1984, Vol 1, Section 5.



TECNICA DE VERIFICACION DE COLIFORMES FECALES

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para verificar coliformes fecales determinados por la técnica de filtración por membrana y así evitar obtener resultados falsos positivos.

2. DEFINICION

Se define como colonia verificada de coliformes fecales aquella que evidencia formación de gas cuando se incuban en Caldo Lauril Triptosa y medio EC durante 48 horas a 35°C.

3. PRINCIPIO

La verificación de coliformes fecales se basa en la capacidad de los mismos para fermentar la lactosa, inhibiendo la sal biliar presente en el medio de cultivo EC, el desarrollo de bacterias formadoras de endosporas y bacterias gram positivas.

4. EQUIPOS y MATERIALES

- 4.1 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 4.2 Incubadoras para $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y para $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.
- 4.3 Autoclave.
- 4.6 Equipo para medir pH .
- 4.7 Mecheros.
- 4.8 Placas de Petri estériles de plástico descartables o de vidrio.
- 4.9 Tubos de ensayo de vidrio estériles con tapa de algodón o de rosca, con campana de Durham.
- 4.10 Pipetas de vidrio graduadas estériles.
- 4.11 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.
- 4.12 Termómetros calibrados para controlar las incubadoras de coliformes.

COLIFORMES FECALES

5. REACTIVOS

- 5.1 Medio de cultivo Caldo Lauril Triptosa
- 5.2 Medio de cultivo EC
- 5.3 Etanol al 95%
- 5.5 Agua destilada

6. PROCEDIMIENTO

A partir de la membrana filtrante incubada en medio para coliformes fecales (M-FC), se repican por lo menos 10 colonias aisladas típicas y se transfieren a tubos con Caldo Lauril Triptosa con campana de Durham. Se incuban dichos tubos a 35°C por 24 horas y 48 horas. Se observa producción de gas.

De los tubos positivos, es decir en aquellos que se observa producción de gas se transfiere una ansada a tubos con medio EC y campana de Durham, se incuba 44.5°C por 24 horas.

La producción de gas en este medio verifica la presencia de coliformes fecales.

7. RECUENTO

Debe ajustarse el conteo inicial efectuado sobre la membrana filtrante basado en el porcentaje obtenido a partir de las verificaciones positivas de coliformes fecales.

8. EXPRESION DE RESULTADOS

Los resultados se expresan como recuento de UFC de coliformes fecales verificados en 100 mL de muestra.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1 -AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed.Washington D.C., APHA, AWWA, WPCF,1992. pp 9-54, 9.58.
- 2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.
- 3 -BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY,1984, Vol.1, Section 5.



TECNICA DE VERIFICACION DE ESTREPTOCOCOS FECALES

1. OBJETIVO

Esta normativa técnica se utiliza para verificar estreptococos fecales, determinados por la técnica de filtración por membrana y evitar obtener resultados falsos positivos al realizar el recuento.

2. DEFINICION

Se define como colonia verificada de pertenecer al grupo de estreptococos fecales aquella que presenta las siguientes características: gram positiva, coco de 0.5 a 1.0 μm de diámetro, catalasa negativa, creciendo en el medio Bilis Esculina Azida Agar a 35°C y en Brain Heart Infusion Broth a 45°C.

3. PRINCIPIO

Las bacterias gram negativas son inhibidas por acción de la azida de sodio, mientras que las bacterias gram positivas diferentes de los estreptococos ven inhibido su desarrollo por las sales biliares presentes en el medio.

Los estreptococos crecen rápidamente en el medio Bilis Esculina Azida Agar e hidrolizan la esculina, provocando la coloración marrón del medio, lo que constituye una reacción positiva, indicando tolerancia a la bilis y capacidad de hidrolizar la esculina.

4. EQUIPOS Y MATERIALES

- 4.1 Balanza con una sensibilidad de por lo menos 10 mg.
- 4.2 Incubadoras para $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y para $45 \pm 0.5^\circ\text{C}$
- 4.3 Autoclave.
- 4.4 Microscopio.
- 4.5 Equipo para medir pH.
- 4.6 Mecheros.
- 4.7 Placas de Petri estériles de plástico descartables o de vidrio.
- 4.8 Tubos de ensayo de vidrio, estériles con tapa de algodón o de rosca.
- 4.9 Pipetas de vidrio graduadas estériles.
- 4.10 Materiales de vidrio para preparación de los medios de cultivo.
- 4.11 Termómetros calibrados para controlar las incubadoras.
- 4.12 Porta y cubre objetos.

ESTREPTOCOCOS FECALES

5. REACTIVOS

- 5.1 Medio de cultivo Brain Heart Infusion Agar.
- 5.2 Medio de cultivo Brain Heart Infusion Broth.
- 5.3 Medio de cultivo Bilis Esculina Azida Agar.
- 5.4 Etanol al 95%.
- 5.5 Agua destilada.
- 5.6 Peróxido de hidrógeno al 3%.

6. PROCEDIMIENTO

Repicar colonias típicas crecidas en el filtro de nitrocelulosa a placas de Petri con Brain Heart Infusion Agar para obtener colonias aisladas, e incubar a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

Transferir una ansada de una colonia aislada en Brain Heart Infusion Agar a tubos con Brain Heart Infusion Broth e incubar a la misma temperatura por 24 horas.

De la misma colonia preparar un frotis para coloración de Gram y en otro porta objetos esparcir parte de la colonia que se está analizando para realizarle la prueba de catalasa. Dicha prueba consiste en colocar una ó dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3% sobre el preparado y observar el desarrollo de burbujas debido al desprendimiento de oxígeno. Si se observan burbujas se lee como catalasa positivo.

Posteriormente transferir, por un lado, una ansada del tubo con Brain Heart Infusion Broth a una placa con Bilis Esculina Azida Agar e incubar a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Por otro lado, colocar una ansada del mismo tubo en otro tubo con Brain Heart Infusion Broth e incubar a 45 ± 0.5 durante 48 horas.

7. RECUENTO

Se consideran como colonias verificadas de pertenecer al grupo de estreptococos fecales aquellas que son cocos Gram positivos, catalasa negativas, creciendo tanto en Bilis Esculina Azida Agar a 35°C como en Brain Heart Infusion Broth a 45°C .

Debe ajustarse el conteo preliminar efectuado sobre la membrana filtrante basado en el porcentaje obtenido a partir de las verificaciones positivas de estreptococos fecales.

8. EXPRESION DE RESULTADOS

Los resultados se expresan como recuento de UFC de estreptococos fecales verificados en 100 mL de muestra.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18 ed. Washington D.C., APHA, AWWA, WPCF, 1992. pp 9-69, 9-73.
- 2 - FORMULARIO PARA A AVALIAÇÃO DE LABORATORIOS BACTERIOLOGICOS DE ANALISES DE AGUAS. CETESB, SAO PAULO.
- 3 - BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, 1984, Vol.2, Section 12. pp 1043 - 1071.